

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ И ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ им. А.Е. АРБУЗОВА  
КАЗАНСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН

*На правах рукописи*

Салахутдинова Ольга Александровна

САМООРГАНИЗАЦИЯ И СВОЙСТВА ВЫСОКОРАЗБАВЛЕННЫХ ВОДНЫХ  
РАСТВОРОВ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЛЬУРИЛА И БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ:  
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И СТРОЕНИЯ ВЕЩЕСТВ

02.00.04 – Физическая химия

Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Научный руководитель:  
доктор химических наук, доцент  
Рыжкина Ирина Сергеевна

Казань – 2016

**СОДЕРЖАНИЕ**

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
<b>ГЛАВА 1 САМООРГАНИЗАЦИЯ И СВОЙСТВА РАЗБАВЛЕННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</b>	
1.1 Водные растворы – неравновесные наногетерогенные системы.....	12
1.2 Структура воды и водных растворов	
Модели, описывающие структуру и свойства воды.....	15
1.3 Экспериментальные доказательства наногетерогенности водных растворов и изменения их структуры под воздействием химических и физических факторов.....	28
1.4 Влияние температуры на самоорганизацию и свойства водных растворов.....	40
1.5 Особенности биологического действия высокоразбавленных растворов химических веществ и слабых физических факторов.....	46
1.6 Образование наноассоциатов – ключ к решению проблем высокоразбавленных водных растворов.....	52
<b>ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	
2.1 Объекты исследования.....	65
2.1.1 Мочевина, незамещенный гликольбурил и его алкилированные производные.....	65
2.1.2 Бензойная кислота и её производные.....	66
2.1.3 Бромид цетилтриметиламмония.....	67
2.2 Приготовление растворов .....	67
2.3 Изучение влияния пониженного уровня внешних низкочастотных электромагнитных полей.....	69
2.4 Методы исследования.....	70
2.4.1 Динамическое рассеяние света.....	70
2.4.2 Электрофоретическое рассеяние света.....	72
2.4.3. Метод анализа траектории наночастиц.....	74
2.4.4 Кондуктометрия.....	76
2.4.5 рН-Метрия .....	77
2.4.6 Метод электронного парамагнитного резонанса .....	78

2.4.7 УФ-спектроскопия.....	79
2.5 Биологические эксперименты.....	79
<b>ГЛАВА 3. САМООРГАНИЗАЦИЯ И СВОЙСТВА ВЫСОКОРАЗБАВЛЕННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЛЬУРИЛА И БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ: ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И СТРОЕНИЯ ВЕЩЕСТВ</b>	
3.1 Изучение влияния гипoeлектромагнитных условий и строения растворенного вещества на самоорганизацию и физико-химические свойства высокоразбавленных водных растворов производных гликольурила и бензойной кислоты.....	82
3.2 Изучение влияние температуры в интервале 25-45 °С на способность к самоорганизации высокоразбавленных растворов <i>n</i> -аминобензойной кислоты и бромида цетилтриметиламмония.....	116
3.3 Взаимосвязь самоорганизации, физико-химических свойств и биологической активности высокоразбавленных растворов <i>n</i> -аминобензойной, салициловой кислот, бромида цетилтриметиламмония.....	131
<b>ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ.....</b>	<b>139</b>
<b>ЛИТЕРАТУРА.....</b>	<b>141</b>
<b>Приложение.....</b>	<b>165</b>

## ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

АСК - ацетилсалициловая кислота

АСМ – атомно-силовой микроскоп

АТН – анализ траектории наночастиц

БАВ – биологически активное вещество

БЦТА – бромид цетилтриметиламмония

ВС – водородная связь

ДРС – динамическое рассеяние света

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

КД – когерентный домен

ККМ – критическая концентрация мицеллообразования

КР-спектроскопия – спектроскопия комбинационного рассеяния

КЭД – квантовая электродинамика

МП - магнитное поле

ПАБК – пара-аминобензойная кислота

ПАВ – поверхностно-активное вещество

ПАСК – пара-аминосалициловая кислота

СК – салициловая кислота

ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия

УФ – ультрафиолетовая спектроскопия

ЭМП – электромагнитное поле

ЭПР – электронный парамагнитный резонанс

ЭРС – электрофоретическое рассеяние света

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы** Высокоразбавленные водные растворы биологически активных веществ (БАВ) обладают огромными потенциальными возможностями и представляют значительный интерес с точки зрения фундаментальных и прикладных исследований в области химии растворов, зарождения и эволюции биосферы, экологии, фармакологии, токсикологии, медицины, сельского хозяйства. Однако физико-химические основы действия высококонцентрированных растворов до недавнего времени оставались неясными.

В последнее десятилетие научным коллективом под руководством академика А.И. Коновалова (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН) разработан оригинальный методологический подход к изучению высококонцентрированных растворов. В ходе систематического изучения комплексом физико-химических методов (динамическое (ДРС) и электрофоретическое (ЭРС) рассеяние света, кондуктометрия, тензиометрия, рН-метрия, диэлькометрия, поляриметрия, атомно-силовая микроскопия (АСМ), УФ-, ЭПР-спектроскопия) высококонцентрированных водных растворов впервые обнаружено, что растворы многих БАВ в широкой области расчетных концентраций ( $10^{-20}$ - $10^{-6}$  М) представляют собой самоорганизованные дисперсные системы, дисперсной фазой в которых являются масштабные наноразмерные молекулярные ансамбли (до 400 нм), названные наноассоциатами. Впервые показано, что формирование наноассоциатов обуславливает возникновение немонотонных концентрационных зависимостей физико-химических свойств и, что особенно интересно и важно, коррелирует с некоторыми биологическими свойствами высококонцентрированных растворов.

Установлено, что исходные растворы многих изученных БАВ ( $10^{-5}$ - $10^{-1}$  М) также представляют собой наногетерогенные системы, в которых образуются частицы размером 1-10 нм и сотни нм, представляющие собой агрегаты вещества и супрамолекулярные домены. По мере разбавления при соблюдении процедуры приготовления растворов домены претерпевают перестройку, преобразуясь в наноассоциаты.

Разработанная методика изучения высококонцентрированных растворов, включающая в себя использование экранирующего пермаллового контейнера, защищающего содержимое от внешних низкочастотных электромагнитных полей (ЭМП) (гипоэлектромагнитные условия), позволила впервые получить доказательства

различной природы наноассоциатов и доменов. Найдено, что образование наноассоциатов происходит только при выдерживании высокоразбавленных ( $10^{-20}$ - $10^{-6}$  М) растворов в естественных условиях. В растворах, выдержанных в гипоелектромагнитных условиях, расчетные концентрации которых ниже пороговой ( $c_p$ ), наноассоциаты не образуются, свойства растворов соответствуют свойствам растворителя - воды. Следовательно, для формирования наноассоциатов необходимы низкочастотные ЭМП, являющиеся неотъемлемой составной частью естественной среды обитания живых организмов.

В настоящее время на пути дальнейшего физико-химического обоснования действия высокоразбавленных растворов остается нерешенным ряд важных вопросов, например,

- образование наноассоциатов в диапазоне физиологически важных температур;
- влияние химического и пространственного строения растворенного БАВ на самоорганизацию высокоразбавленных растворов;
- взаимосвязь немонотонных зависимостей параметров наноассоциатов и физико-химических свойств растворов БАВ в области высоких разбавлений, позволяющая прогнозировать возникновение немонотонного профиля «концентрация-биоэффект» при воздействии растворов на биосистему, а также дающая возможность объяснения смены знака и «зоны молчания» на профиле биоэффекта и т.д.

В этой связи работа по изучению влияния температуры на самоорганизацию и свойства водных растворов БАВ различного химического и пространственного строения, а также накопление новых экспериментальных данных и их систематизация на основе более широкого круга объектов исследования, поиск ответов на поставленные вопросы, является весьма актуальной.

**Цель исследования** состоит в изучении влияния физиологически важных температур, гипоелектромагнитных условий, а также различного химического и пространственного строения веществ в ряду структурных аналогов некоторых БАВ на самоорганизацию и свойства высокоразбавленных растворов, установлении взаимосвязи между параметрами наноассоциатов, физико-химическими и биологическими свойствами растворов исследованных веществ.

Для достижения цели были поставлены и решены следующие задачи:

1. Провести систематическое исследование самоорганизации (методы ДРС, ЭРС) и физико-химических свойств (удельная электропроводность, pH) разбавленных растворов некоторых производных гликольурила и бензойной кислоты, выдержанных в естественных и гипoeлектромагнитных условиях.
2. Изучить влияние химического и пространственного строения растворенного вещества на самоорганизацию и свойства разбавленных растворов в ряду производных бензойной кислоты, алкилированных гликольурилов и гликольурилов, содержащих фрагмент (S)-Met, (R)-Met, (SR)- Met.
3. Установить возможность образования наноассоциатов в диапазоне температур 25-45 °C на примере разбавленных растворов природных (4-аминобензойная кислота, ПАБК) и синтетических (бромид цетилтриметиламмония, БЦТА) биологически активных веществ, проследить за изменениями физико-химических свойств растворов в зависимости от разбавления и температуры с использованием методов ДРС, ЭРС, анализа траектории наночастиц (АТН), спектроскопии ЭПР спиновых зондов, кондуктометрии.
4. На основании результатов по изучению самоорганизации и свойств растворов исследованных БАВ выбрать вещества, высокоразбавленные растворы которых потенциально способны к проявлению биоэффектов, изучить биологическую активность растворов этих веществ, установить наличие взаимосвязи между параметрами наноассоциатов, физико-химическими и биологическими свойствами растворов исследованных веществ и объяснить полученные результаты с позиций самоорганизации растворов.

#### Научная новизна

• В результате изучения разбавленных растворов (расчетные концентрации  $1 \cdot 10^{-16}$  –  $1 \cdot 10^{-3}$  М) производных гликольурила и бензойной кислоты, выдержанных в естественных и гипoeлектромагнитных условиях, впервые найдено, что гидрофобность алкильных радикалов у атома азота гликольурила и гидрофильные свойства заместителей в ароматическом кольце бензойной кислоты оказывают драматическое влияние на самоорганизацию высокоразбавленных растворов. В обоих рядах - производных гликольурила и бензойной кислоты - выявлены вещества, растворы которых ниже пороговой концентрации, лежащей в интервале

$1 \cdot 10^{-7}$  –  $1 \cdot 10^{-4}$  М, способны или не способны к образованию наноассоциатов и немонотонным изменениям свойств.

- На примере растворов гликольурила, содержащего фрагмент (S)-Met, (R)-Met или (SR)-(Met) впервые показано, что самоорганизация и свойства высокоразбавленных растворов существенным образом зависят от конфигурации энантимеров. Растворы гликольурила, содержащего фрагмент (S)-Met, (SR)-Met ниже пороговой концентрации  $1 \cdot 10^{-4}$  М способны к пространственно-временной самоорганизации, следствием которой является образование наноассоциатов и немонотонные изменения свойств, а в растворах гликольурила с фрагментом (R)-Met эта способность отсутствует.
- Впервые изучены температурные зависимости в интервале 25–45 °С параметров наноассоциатов, обуславливающих немонотонные изменения физико-химических свойств разбавленных растворов 4-аминобензойной кислоты и бромида цетилтримеламмония с расчетными концентрациями  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-7}$  М от температуры.
- Установлена взаимосвязь между изменениями параметров наноассоциатов, физико-химическими свойствами растворов бромида цетилтриметиламмония, 4-аминобензойной и 2-гидроксибензойной кислот в зависимости от разбавления и их биологическим действием в отношении роста бактерий и энергообмена микробиоценоза активного ила, влияющего на степень очистки сточных вод. На основании установленной взаимосвязи впервые с позиций самоорганизации дано объяснение биоэффектов растворов этих соединений до и после пороговой концентрации.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные результаты носят фундаментальный характер, являются важной составной частью физико-химического обоснования действия высокоразбавленных растворов, необходимого для объяснения немонотонных зависимостей «концентрация-биоэффект», разработки лекарственных средств нового поколения и создания экологически безопасных, ресурсо- и энергосберегающих технологий (Программа фундаментальных научных исследований Президиума РАН на 2013–2020 гг., п.44.45.46,48). Экспериментально установленная биологическая активность разбавленных растворов регуляторов роста микроорганизмов (ПАБК, салициловая

кислота, БЦТА) открывают новые перспективы их использования и расширяют спектр биологического действия.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты изучения самоорганизации (размер,  $\zeta$ -потенциал) и физико-химических свойств (кондуктометрия, рН) разбавленных растворов производных гликольурила, бензойной кислоты с расчетными концентрациями  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-1}$  М, выдержанных в естественных и гипoeлектромагнитных условиях.
3. Оценка влияния различий химического и пространственного строения растворенного вещества на самоорганизацию и свойства разбавленных растворов в ряду структурных аналогов бензойной кислоты, алкилированных гликольурилов и гликольурилов, содержащих фрагмент (*S*)-Met, (*R*)-Met и (*SR*)-Met.
2. Результаты изучения температурных (25-45 °С) зависимостей параметров (размер,  $\zeta$ -потенциал) доменов и наноассоциатов, а также физико-химических свойств (кондуктометрия, спектроскопия ЭПР спиновых зондов) разбавленных растворов 4-аминобензойной кислоты и броимда цетилтриметиламмония.
4. Объяснение немонотонных зависимостей «концентрация-биоэффект» с позиций самоорганизации растворов на примере исследованного круга соединений и использованных в работе биотестов.

#### **Результаты работы обоснованы и достоверны**

Научные положения, выводы и результаты, сформулированные в диссертации, обоснованы экспериментальными данными. Экспериментальная часть работы выполнена на высоком научном уровне с применением современных методов исследования и использованием высокоточной и высокочувствительной поверенной измерительной техники. Объем экспериментального материала, взаимосогласованность результатов, комплексное использование современных физико-химических методов исследования позволяют заключить, что полученные Салахутдиновой Ольгой Александровной данные являются достоверными.

**Апробация работы** Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на Итоговых научных конференциях Казанского научного центра РАН (Казань, 2011-2013); VI Международном конгрессе «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2012); Международной конференции «Структура воды: физические и биологические аспекты» (Санкт-

Петербург, 2013); XXV Всероссийском Симпозиуме Современная химическая физика (Туапсе, 2013); XXI Всероссийской конференции «Структура и динамика молекулярных систем» (Уфа, 2014); XXVI Международной Чугаевской конференции по координационной химии (Казань, 2014); IX Всероссийской конференции «Высокореакционные интермедиаты химических и биохимических реакций»: (Московская область, 2014); II научно-практической конференции магистров, аспирантов и молодых учёных «Химия в федеральных университетах» (Екатеринбург, 2014), XII Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах. От эффектов в растворах к новым материалам» (Иваново, 2015).

**Работа выполнена** в лаборатории физико-химии супрамолекулярных систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН) в соответствии с научным направлением «Научные основы создания новых материалов с заданными свойствами, в том числе высокоточных наноматериалов» (п. 45) в рамках госбюджетной темы 2 «Синтез и закономерности самоорганизации новых функционализированных макроциклов и амфифилов - супрамолекулярных тектонов и разработка стратегии их применения в современных нано- и биотехнологиях» (№ гос. регистрации 01201455264). Работа поддержана Программой фундаментальных научных исследований Президиума РАН «Происхождение биосферы и эволюция геобиологических систем», направление «Физика, химия и биология воды», Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 13 -03- 00002).

**Публикации** Основное содержание работы изложено в 17 публикациях, среди них 6 статей, глава в монографии, тезисы 10 докладов на 4 Международных и 3 Всероссийских конференциях.

**Объём и структура работы** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (глава 2) и тематически разделенного обсуждения результатов (глава 3), выводов, списка цитируемой литературы, приложения. Диссертация изложена на 175 страницах, содержит 12 таблиц, 69 рисунков и список литературы из 231 наименования.

**Благодарности** Автор выражает благодарность сотрудникам ИОФХ им. А.Е. Арбузова г.н.с. академику РАН А.И. Коновалову, в.н.с. И.С. Рыжкиной, м.н.с. Л.И. Муртазиной, м.н.с. Ю.В. Киселевой, м.н.с. С.Ю. Сергеевой за постоянное внимание, помощь в проведении исследований и поддержку; с.н.с. М.К. Кадинову и м.н.с. А.И. Литвинову за помощь в проведении ЭПР-экспериментов; с.н.с. А.П. Тимошевой за помощь в изучении растворов методами диэлькометрии и поляриметрии; с.н.с. А.В. Черновой за помощь в изучении растворов методом УФ-спектроскопии; м.н.с. А.П. Волошиной за помощь в проведении биологических исследований; в.н.с. А.Н. Кравченко (ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН) за предоставленные гликольурилы; ассистенту Е.Г. Евтушенко за помощь в проведении измерений методом АТН (Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова); доценту Павловой Т.П. (ФГБОУ ВПО «КНИТУ») за помощь в проведении исследований по биологической очистке сточных вод.

## ГЛАВА 1

**САМООРГАНИЗАЦИЯ И СВОЙСТВА РАЗБАВЛЕННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)****1.1 Водные растворы – неравновесные наногетерогенные системы**

В настоящее время в науке существует представление, что вода и водные растворы представляют собой способные к самоорганизации неравновесные наногетерогенные динамические системы, чувствительные к различным слабым воздействиям [1-5]. Это представление базируется на большом количестве экспериментальных [6-20], теоретических [21-28] и некоторых новых расчётных данных [29-32].

Реальная вода является сложной системой, состоящей не только из молекул воды. Например, содержание в ней диссоциированных ионов гидроксония и гидроксид-ионов лежит в интервале  $10^{-8}$ - $10^{-5}$  М. Суммарные концентрации изотопов  $O^{18}$ ,  $O^{17}$  и D составляют соответственно 0,1 М, 0,02 М и 0,15 М. Кроме того, в воде содержатся растворенные газы – азот, кислород, углекислый газ и другие, а также примеси органических и неорганических веществ, в том числе химические компоненты материала сосуда, в котором она хранится [1, 2, 5].

Известно, что вода характеризуется весьма лабильным окислительно-восстановительным потенциалом вследствие генерации активных форм кислорода и азота под воздействием внешних факторов низкой интенсивности [2]. К факторам низкой интенсивности, широко изучаемым в настоящее время, относятся космофизические, геофизические и радиационные [33-35]. По мнению авторов [33] приблизиться к раскрытию механизма активации воды во внешней окружающей среде позволяют обнаруженные ими закономерности вариации токов. Анализ состава продуктов химических реакций, вызванных электромагнитной активацией воды, показал, что важнейшими оксидантами, образующимися при активации молекул воды низкоинтенсивным электромагнитным излучением, является супероксид кислорода  $O_2^-$ , пероксид водорода  $H_2O_2$ , гидроксид-ион  $OH^-$  и другие интермедиаты, определяющие оксидантный статус водной среды. По измерению окислительно-восстановительного потенциала и рН во время лабораторного моделирования

воздействия космического электромагнитного излучения (ЭМИ), было установлено, что к закислению воды может приводить воздействие ЭМИ не только в миллиметровом (как это ранее считалось), но и в более длинноволновом – метровом диапазоне. В зависимости от удельной мощности в пределах  $10^{-8} \div 10^{-6}$  Вт·см<sup>-2</sup>, характерном для интенсивности космического излучения на уровне поверхности Земли, достигнутый окислительно-восстановительный потенциал может сохраняться ещё в течение 1-2 суток [34].

Поскольку водные растворы - это сложные наногетерогенные системы, то свойства водных растворов следует описывать в рамках понятий и закономерностей открытых неравновесных систем [36-42].

В первую очередь, обозначим, что вкладывается в смысл слова «система» [40]. Система - совокупность взаимосвязанных элементов, образующих единый в конкретном рассмотрении объект - структурно-функциональную целостность. Под открытыми системами в неравновесной термодинамике понимают системы, которые обмениваются материей — веществом и (или) энергией — с окружающей средой, т.е. имеют источники и стоки материи. Эти источники и стоки, как правило, имеются во многих точках системы (среды) [40].

Для сложных систем, таких как вода и её растворы, необходимо использовать неаддитивный системный подход - тип отношений в системе, где целое не может быть познано и объяснено на основе только знаний о его частях, целое не равно сумме его частей. В этом заключается отличие системного подхода от редукционизма – линейного проецирования свойств общего на свойства частного. Механизмы линейных процессов - однонаправленные, где наблюдаемый эффект однозначно связан с действующим агентом. Механизмы же нелинейных процессов всегда многопараметрические, специфичные, действующие параметры объединены друг с другом сложными связями. Именно поэтому нелинейная система может непредсказуемо реагировать на изменение своих независимых переменных [40].

Понимание свойств и поведения сложной системы возможно только при переходе от линейной декартовой парадигмы к нелинейной синергетической [30, 31].

Синергетика – междисциплинарное направление научных исследований, в рамках которого изучаются процессы перехода открытых нелинейных систем между крайними состояниями (порядок-беспорядок, регулярность-хаос) в средах различной

природы. Синергетика изучает коллективное (упорядоченное в пространстве, кооперативное) поведение сложных систем с когерентным (согласованном во времени) взаимодействием их элементов [30].

Одним из ключевых понятий в описании открытых систем служит термин «самоорганизация». Тремя важнейшими параметрами среды, определяющими её принципиальную способность к самоорганизации, являются открытость, нелинейность и удаленность от состояния равновесия [36, 37].

Процессу самоорганизации присущи следующие характеристики [36]:

- имеется обязательный обмен энергией (энергией и веществом) с окружающей средой;
- имеется необходимый и достаточный набор прямых и обратных связей, положительных и отрицательных;
- макроскопическое поведение системы описывается несколькими величинами (параметром порядка и управляющими параметрами);
- при преодолении некоторого критического значения управляющего параметра (связанного с поступлением энергии/вещества) система спонтанно переходит в новое упорядоченное состояние, что позволяет скачкообразно увеличить диссипацию энергии и экспорт энтропии;
- новое состояние обусловлено согласованным (когерентным) поведением элементов системы, эффект упорядочения проявляется только на макроскопическом уровне;
- новое состояние существует только при безостановочном потоке энергии/вещества в систему;
- при увеличении интенсивности обмена система проходит через ряд следующих критических переходов, в результате чего структура усложняется вплоть до возникновения хаоса.

В процессе самоорганизации свойства возникающих структур принципиально отличаются от свойств исходных элементов системы [38].

Важным качеством сложной системы, помимо способности к самоорганизации, является её устойчивость к внешним воздействиям. Устойчивость обуславливает способность системы возвращаться в своё исходное состояние после внешнего воздействия. Это качество возникает благодаря сложной структуре многочисленных

обратных связей, которые могут разными способами восстанавливать систему даже после сильных потрясений и возмущений. Однако у способности системы к самовосстановлению и устойчивости всегда есть пределы [36, 42].

## **1.2 Структура воды и водных растворов. Модели, описывающие структуру и свойства воды**

С конца XIX века по настоящее время проблема структуры воды остаётся в центре внимания исследователей. Современное естествознание обладает огромным объёмом экспериментального и теоретического материала о свойствах и структуре воды - уникального вещества, которое участвует практически во всех процессах и явлениях, происходящих в окружающем нас мире [43, 44].

Можно выделить несколько подходов, определивших главные этапы представлений в этой области знаний. В результате систематического изучения макроскопических физико-химических свойств жидкостей на первом этапе были установлены аномальные проявления воды среди других жидких систем, которые дополнялись со временем [44, 45]:

1. При плавлении льда происходит уменьшение объема;
2. Критическая температура воды  $T_{кр} = 647,3\text{K}$  аномально высока для вещества с такой низкой молекулярной массой; также аномально высоким является значение критического давления  $P_{кр} = 21,43\text{ МПа}$ ;
3. Низкое значение коэффициента изотермической сжимаемости ( $50,9 \cdot 10^{-11}\text{ Па}^{-1}$  при  $0^\circ\text{C}$ );
4. Изобарный коэффициент термического расширения воды аномально мал;
5. Температурные зависимости плотности и изотермической сжимаемости воды не имеют аналогов среди жидкостей: обе экстремальны;
6. Теплоемкость воды при постоянном объеме  $C_v$  аномально велика;
7. Вода сохраняет устойчивость при температурах на 30 и более градусов ниже температуры плавления и на 100 градусов при атмосферном давлении выше температуры кипения.

Следующий этап характеризовался развитием исследований воды на молекулярном уровне с использованием широкого арсенала современных физических методов. В настоящее время внимание в этой области всё больше сосредотачивается

на изучении низкочастотных спектров, непосредственно связанных с элементарными молекулярно-кинетическими движениями молекул воды (нейтронные, ИК- и диэлектрические спектры в микроволновом, субмиллиметровом и далёком ИК-диапазонах длин волн). Именно физический эксперимент позволил сформулировать большинство структурных моделей воды на втором этапе исследований. Их разнообразие в основном сконцентрировалось в моделях двух типов: 1) льдоподобный каркас с частично заполненными пустотами [46]; 2) размытая тетраэдрическая сетка или случайная сетка Н-связей [47].

Согласно первому типу ближняя упорядоченность в воде, т.е. взаиморасположение молекул воды в непосредственной близости друг от друга, рассматривается как слегка нарушенный тепловым движением льдоподобный каркас, пустоты которого частично заполнены мономерными молекулами воды [46]. В теории структурных дефектов Самойлова, также как в хорошо известных качественных теориях о структуре воды (теория структур Бернала-Фаулера, мерцающих кластеров Франка и Вена и многих других), используются представления о гетерогенности воды на основе формирования в нанометровом диапазоне молекулярных кластеров с временами релаксации менее 1 пикосекунд (пс) [5].

Установлено, что электронная структура атома кислорода воды обладает тетраэдрической симметрией. Неподделенные электронные пары кислорода расположены приблизительно по тетраэдрическим направлениям. Благодаря этой симметрии, молекулы воды могут образовывать от одной до четырех небифуркатных водородных связей, вследствие чего в воде возможно образование сетки водородных связей с дефектами [1].

Представление о том, что основой структуры воды является сетка водородных связей, охватывающая все молекулы воды, распространено [1, 31, 47-49]. Разногласия касаются в основном устройства этой сетки. Одно из более изученных – пространственная сетка водородных связей [48, 49]. Строение сетки разнообразно, в ней не существует преобладающих конфигураций, напоминающих структуры каких-либо кристаллов, или другие а priori заданные структуры. Молекулы непрерывно меняют своих соседей, среднее время жизни водородных связей составляет несколько пс, хотя некоторые из них могут существовать на порядок дольше [31].

К основным свойствам пространственной сетки Н-связей относятся [48]:

1. Устойчивость — способность передавать возмущения на весь объем. С этим свойством сетки связано явление отрицательной сольватации — увеличение подвижности молекул растворителя вблизи достаточно больших однозарядных ионов.

2. Лабильность — широкое распределение по углам и расстояниям водородной связи без ее разрыва, способность легко образовывать достаточно большие полости. Это свойство сетки обусловлено спецификой именно Н-связей. В жидкости это свойство объясняет явление сольвофобной сольватации — сольватации нейтральных или слабозаряженных частиц. Именно лабильность ответственна за возможность легко образовывать достаточно большие полости, способные принять сольвофобную частицу или сольвофобную часть молекулы.

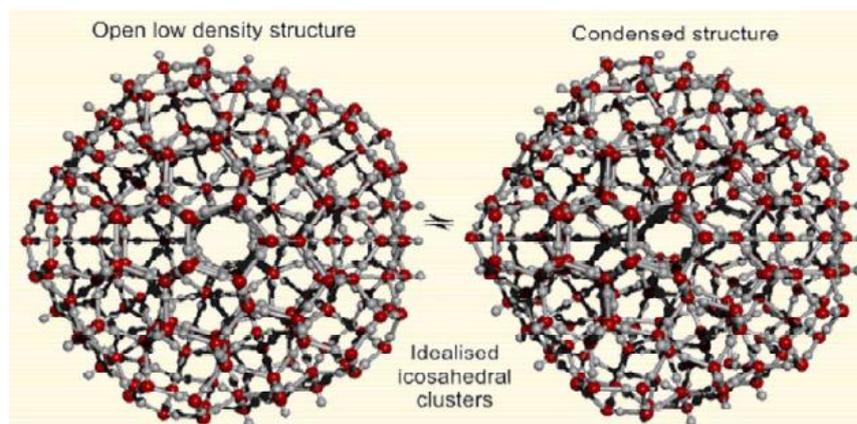
3. Упругость — стремление сетки к сохранению первоначальной конфигурации, способность выталкивать примеси к местам дефектов сетки и объединять их вместе, уменьшая сольвофобную поверхность, обуславливая как бы микрорасслаивание на сетке.

4. Скоррелированность различных видов движений частиц, составляющих пространственную сетку водородных связей [48, 49].

Модели размытой тетраэдрической сетки оказались более близкими к первоначальным представлениям третьего по времени этапа исследований, связанного с развитием компьютерного моделирования методами молекулярной динамики и Монте-Карло. Компьютерный эксперимент дал возможность получить функции радиального распределения и рассчитать макроскопические свойства воды. Это послужило основой для обоснования моделей случайной сетки. Однако сделанные выводы прямо могут относиться только к мгновенной или плотностно усреднённой структурам воды, где в качестве структурной единицы выступают отдельные частицы и рассматриваются их различные агрегаты [44].

В работах [50-53] предложен подход, где совместно используются экспериментальные функции радиального распределения и данные компьютерного эксперимента, получаемые методом Монте-Карло. В результате была предложена ещё одна модель структуры воды, в которой процесс «частичной диссоциации» трёхмерной сетки Н-связей определяется образованием конфигураций, комплементарных льдоподобным тетраэдрическим конфигурациям. Распределение масс частиц и характер их движения формируют локальные зоны повышенной

плотности с характерными пространственными отличиями, проявляющимися вплоть до расстояний  $\sim 8 \text{ \AA}$  от центральной частицы. Таким образом, в этой модели объединяются рациональные черты модели искажённой тетраэдрической сетки и льдоподобной модели с частично заполненными пустотами [44].



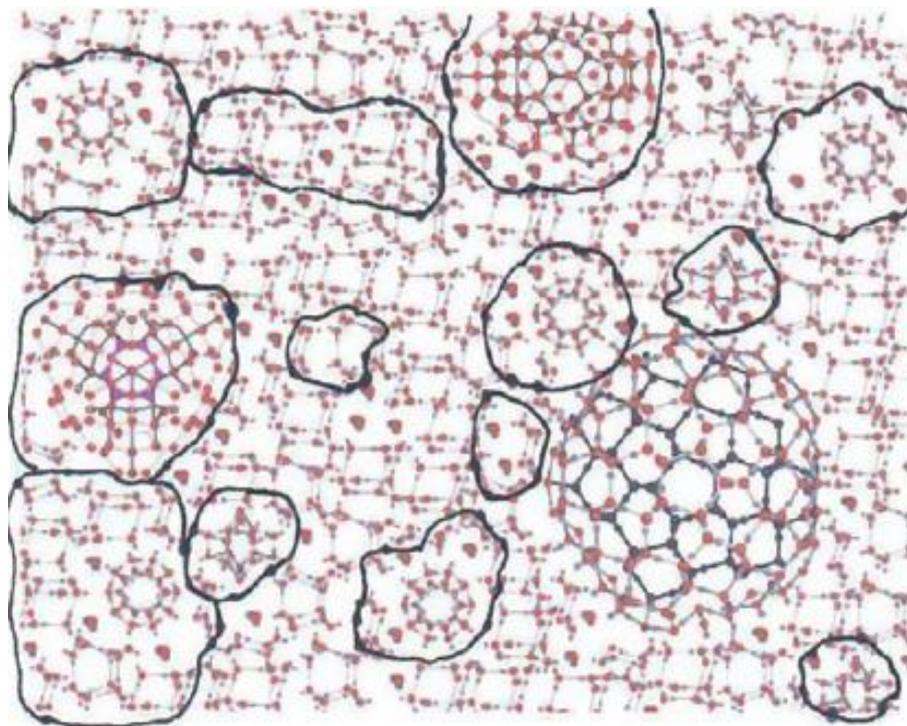
**Рисунок 1.1.** Икосаэдрические водные кластеры  $(\text{H}_2\text{O})_n$  [54, 55].

Одной из самых популярных моделей, описывающих структуру воды, является модель Мартина Чаплина, в рамках которой методом компьютерного моделирования рассчитаны структуры полимеров воды  $(\text{H}_2\text{O})_n$ , где  $n$  изменяется от 2 до 280 (рисунок 1.1) [54, 55]. Идея модели заключается в том, что два состояния воды ответственны за развернутую и свернутую форму квазикристаллической икосаэдрической структуры, состоящей из 280 молекул. Модели Чаплина взяты на вооружение многими экспериментаторами. В частности с помощью этих моделей были объяснены недавно полученные экспериментальные данные об образовании в водных растворах гидратированного фуллерена в широкой области концентраций  $10^{-11}$ - $10^{-3}$  М стабильных во времени кластерных наноструктур, обладающих широким спектром биологической активности, в том числе антиоксидантной и радиопротекторной [8, 56, 57].

К сожалению, ни одна из существующих моделей не описывает жидкого состояния воды в целом, а численные методы не учитывают все возможные взаимодействия. По данным компьютерного моделирования можно говорить не о реально существующих в жидкой воде структурах, а о предполагаемых локальных

фрагментах, которые могут быть стабилизированы в тех или иных специфических условиях [44].

Однако в последнее время на основе расчетов методом молекулярной динамики сделаны выводы о том, что в сетке водородных связей присутствуют крупномасштабные (до сотен ангстрем), долгоживущие (сотни и тысячи пикосекунд) кластеры, состоящие из десятков тысяч молекул воды [29-32]. В моделях чистой воды, чистого аргона и водных растворов аргона и гелия были обнаружены крупномасштабные и долговременные корреляции, простирающиеся на десятки ангстрем и длящиеся до сотен пикосекунд. В работе [29] рассматриваются два подхода к изучению коллективных движений – исследование пространственного размещения долгоживущих водородных связей и выявление корреляций в движении молекул. Именно широкое распределение времен жизни водородных связей привело авторов к выводу о том, что наличие групп молекул, участвующих в долгоживущих водородных связях имеет прямое отношение к коллективному движению. Молекулы, соединенные водородной связью, вынуждены в течение времени жизни связи двигаться согласованно, т.е. участвовать в коллективном движении. По расчетным данным кластеры могут содержать внутри себя молекулы, не участвующие в долгоживущих связях. Кластеры постоянно меняют свой состав: одни молекулы покидают их, другие – к ним присоединяются. Полученные результаты объясняются существованием в жидкости вихревых движений, охватывающих области пространства, превышающие по размерам использованные в эксперименте периодические ячейки. Авторы также выдвигают предположение, что внедренные в сетку водородных связей атомы благородных газов должны быть вовлечены в коллективные движения молекул воды [32].



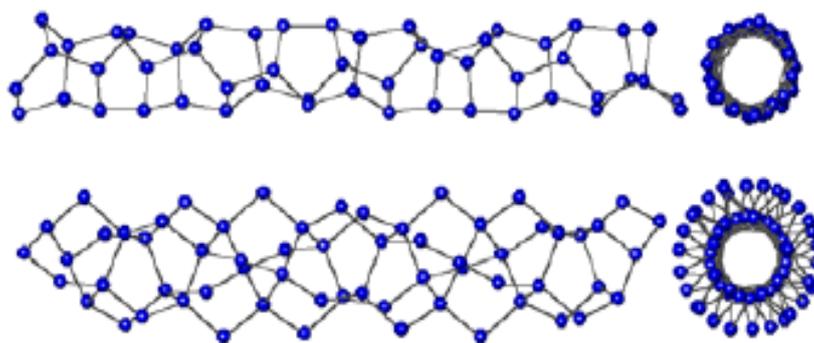
**Рисунок 1.2.** Схематическое представление заполняющей водное пространство смеси элементов, которые существуют в некоторой пропорции из малых (2–4 молекулы воды) и более крупных кластеров, вплоть до расчетных, состоящих из 280 молекул воды, показанных на рис. 1 [3].

В обзоре [3] подчеркивается ключевая роль «наногетерогенности жидкой воды», результатом которой является уникальная способность изменения ее структуры под воздействием температуры, давления, состава, магнитных и электрических полей. Считается, что в жидкой воде на молекулярном уровне существует динамическое равновесие между изменяющимися в процентном соотношении скоплениями различных олигомеров и полимеров. Архитектура этих скоплений и составляющих их частей зависит от температуры (отсюда многие ее аномальные зависимости свойств от температуры), давления и состава. Поэтому структура наиболее сильно реагирует на состав, включая очень разбавленные растворы, на магнитные и электрические поля. На рисунке 1.2 представлена простейшая с позиций материаловедения версия наногетерогенной модели жидкой воды, которая дает представление о связи молекул и их скоплениях в конденсированной фазе вещества [3].

Задача создания идеологии процесса самоорганизации воды, отвечающей реальности с учетом влияния внешних электромагнитных полей, и разработки

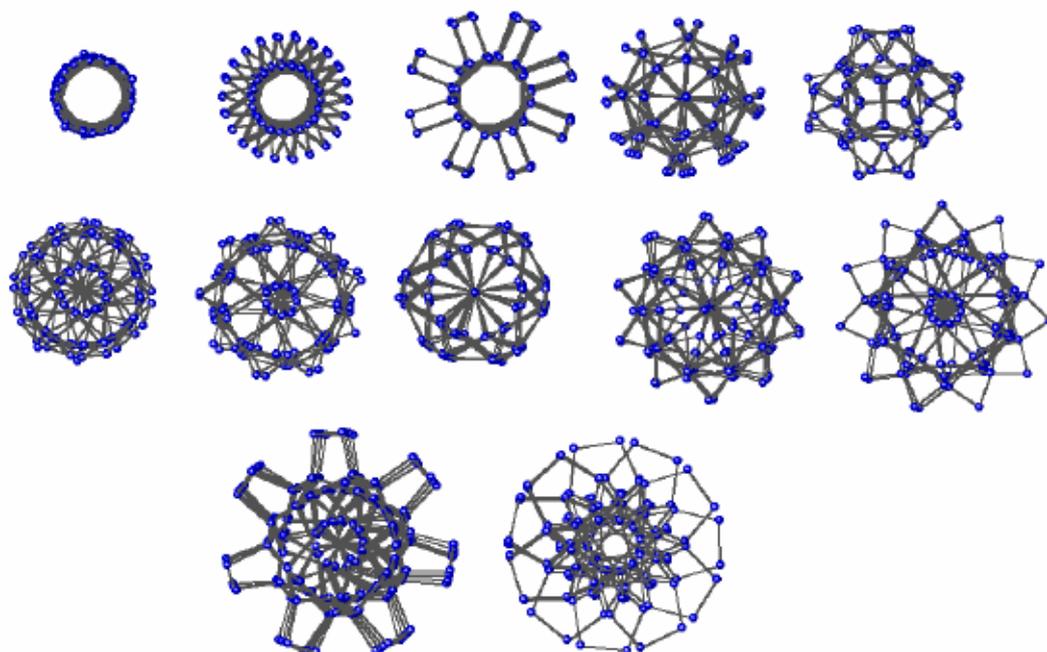
алгоритмов расчёта такой самоорганизации была предложена Н.А. Бульенковым на основе принципов нелинейной кристаллографии или «обобщённой кристаллографии» [24-26], которая включает в себя классическую кристаллографию [58] как частный случай. Н.А. Бульенков, введя в кристаллографию новый для неё критерий «кристаллического модуля» — структуры, с помощью которой в системе достигается «полная связанность» всех составляющих её атомов [26], создал ранее отсутствовавший математический аппарат для решения задач обобщённой кристаллографии. Им были также разработаны принципы модульного дизайна [24]. Главным отличием «модульной» кристаллографии стал отказ от основополагающего для классической кристаллизации принципа «минимума свободной энергии». Обобщённая модульная концепция кристаллической самоорганизации всех стабильных структур позволяет охватить как связанные равновесные кристаллические структуры, так и неравновесные напряжённые структуры [40].

Основным элементом самоорганизации воды во фрактальные кристаллы является структура, получившая в кристаллографии воды наименование «спираль  $30_{11}$ ». Компьютерная модель такой спирали (рисунок 1.3) показывает, что она представляет собой трубку с внутренним диаметром порядка 3.2 нм по кислородному каркасу, внутри и снаружи выложенному протонами.



**Рисунок 1.3.** Структуры спиралей  $30_{11}$  (вверху)  $40_9$  (внизу) [2, 40].

Поскольку протоны обладают магнитными моментами, эта структура является парамагнитной и способна взаимодействовать с внешними магнитными полями. Поддерживаемые поступающей из окружающей среды энергией, фрактальные кристаллы образуют обширные, постоянно нарастающие иерархические структуры, которые объединяют сотни молекул воды [40] (рисунок 1.4).



**Рисунок 1.4.** Поперечные сечения некоторых спиралей с разной симметрией [2, 40].

Ещё одно направление в изучении структуры воды, способное логично объяснить возникновение некоторых аномальных свойств и наногетерогенную структуру воды, связано с представлением о том, что вода представляет собой смесь молекул двух модификаций: орто- (спины протонов параллельны) и пара- (спины протонов антипараллельны), причём в статистически равновесной фазе воды содержатся  $1/4$  часть пара- и  $3/4$  части орто-воды.

Установлено различие физико-химических свойств орто- и пара-воды [59-63]. Молекулы орто-воды обладают магнитным моментом, а в молекулах пара-воды этот момент отсутствует; следовательно, орто-молекулы воды имеют спин-спиновое взаимодействие между собой и молекулами растворенного магнитного вещества. Поскольку магнитный момент протона значительно меньше электронного, то спин-спиновое взаимодействие молекул орто-воды слабое. Однако при достаточно большой величине магнитного момента молекул растворённого вещества магнитное взаимодействие молекул орто-воды с молекулами такого вещества будет существенным, что может привести к образованию наноразмерных магнитных спиновых комплексов из орто-молекул воды [62].

В работе [61] в рамках простой модели Изинга показана возможность возникновения магнитных спиновых наноструктур, встроенных в супрамолекулярные комплексы водных растворов с малым содержанием магнитной примеси. Возникающие спиновые комплексы придают дополнительную устойчивость ассоциатам водного раствора, увеличивая их время жизни, и могут выступать в качестве носителей и передатчиков информации, как о внешних воздействиях, а также содержать информацию о структуре этих ассоциатов. Авторам также представляется, что эти спиновые комплексы могут служить своеобразными каналами влияния электромагнитных полей на живые организмы и передачи биоэффекта от растворенных лекарственных препаратов к биологическим объектам, а сами внешние электромагнитные поля выступают в качестве инструментов для образования и управления этими каналами [61].

Предложена концепция квантовых отличий орто-пара спиновых изомеров воды [63]:

1. Пара-вода не «магнит» (магнитный момент = 0), орто-вода - «магнит», взаимодействует с магнитным полем и проявляется в магнитной резонансной томографии.

2. Колебательно-вращательные кванты орто- и пара-воды отличаются, но десятки уровней расположены близко (зазор менее  $5 \text{ см}^{-1}$ ) и образуют смешанные квантовые состояния (СКС), обеспечивая спин-конверсию воды.

3. Особый интерес для понимания роли орто- и пара- изомеров в изменении свойств воды и биорастворов, например, температурной электропроводимости вызывает то, что орто-молекулы воды вращаются всегда, обеспечивая транспорт воды через водные каналы мембран или ускоренную диффузию.

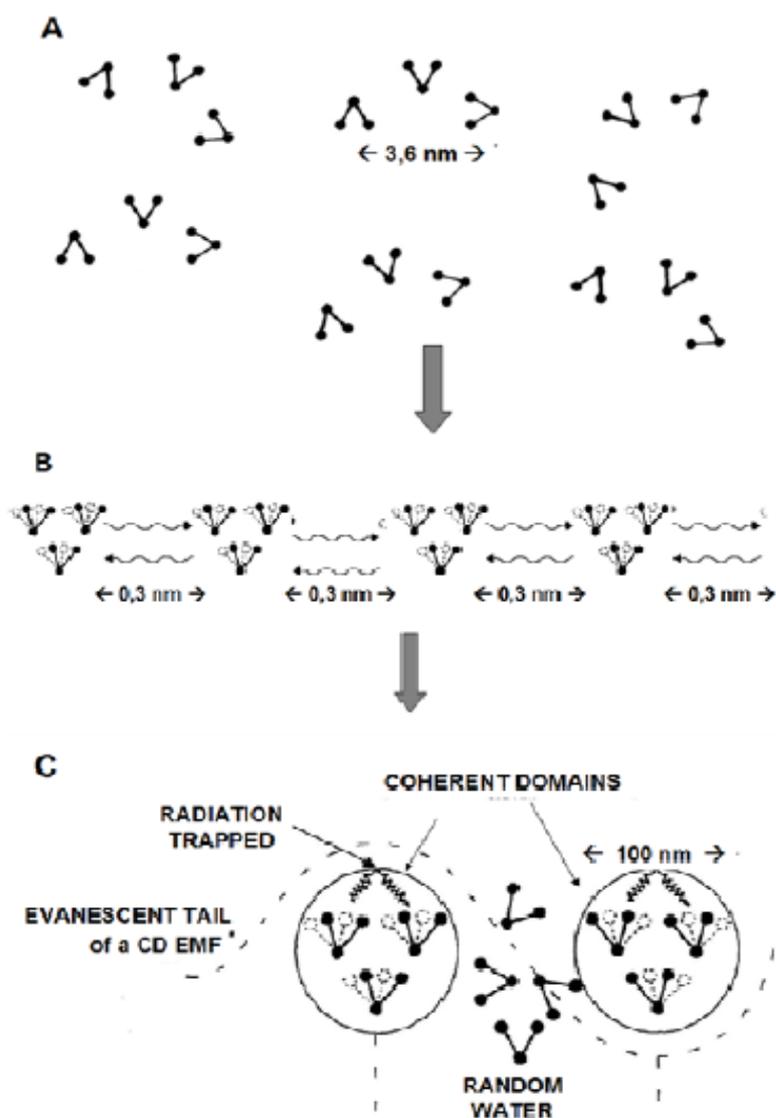
4. Часть молекул пара-воды не вращается и образует водородо-связанные комплексы, например, льдоподобные структуры гидратных оболочек био-полимеров.

5. Резонансная накачка СКС слабыми ЭМП меняет орто/пара отношение воды и доли мобильной и связанной воды в клетках и органах и вне, оказывая влияние на обмен веществ и их функционирование.

По-видимому, орто- и пара-модификации воды могут играть значительную роль в возникновении ее наногетерогенности [61, 62].

В настоящее время все больше исследователей приходят к выводу о том, что обычная квантовая механика, а именно теория, описывающая исключительно движение небольшого количества тел, подвергнутых взаимному притяжению, не является корректной концептуальной основой для исследования жидкой воды. Следует обратиться к особой теории множеств частиц, такой как квантовая теория поля (КТП), в частности наиболее разработанной ее части - квантовой электродинамике (КЭД), которая способна обосновать возможность возникновения и существования во времени в воде и водных растворах стабильных структур размером десятки, сотни и тысячи нм [21-23, 27, 28, 64, 65]. Согласно КЭД жидкая вода является двухфазной системой, в которой одна фаза находится в когерентном состоянии [21-23], в котором все молекулы взаимосвязаны, в то время как другая состоит из несвязанных молекул и представляет собой состояние, аналогичное газу (рис.1.5).

Вот как описывается физическая картина строения жидкой воды в рамках КЭД в работах [22, 64]. «Как и все квантовые элементы, молекула воды может только колебаться. Колебания происходят между основным состоянием и особым возбужденным состоянием. Они вызывают соответствующее колебание электромагнитного поля с длиной волны  $\lambda = hc/E_{ex}$ , где  $h$  – постоянная Планка,  $c$  – скорость света, а  $E_{ex}$  – энергия возбужденного состояния. Внутри области, размер которой определяется длиной волны  $\lambda$ , на все молекулы воздействует поле, обладающее четко определенной фазой (это в действительности является свойством когерентности). Во время флуктуаций, частицы двигаются в унисон, и эта область называется когерентным доменом (КД, CD).»



**Рисунок 1.5.** Возникновение когерентности. Ансамбль квантовых частиц, где вода рассматривается в качестве примера. (А) Молекулы воды в виде пара осциллируют независимо друг от друга некогерентным путем, поскольку между ними большие расстояния (плотность ниже критической плотности. (В) Когда пар конденсируется (температура становится ниже пороговой и плотность возрастает выше порога), молекулы воды начинают осциллировать в фазе (минимум энергии) – условие когерентности. (С) Когерентно осциллирующие молекулы воды вместе с ЭМП ассоциируются в когерентные домены (CDs), погруженные в плотную газо-подобную некогерентную воду. Отношение некогерентной и когерентной (CDs) воды в жидкой воде зависит от температуры [22].

Когда плотность молекул воды мала, как в газе или паре, продолжительность флуктуаций очень коротка и структура КД быстро исчезает, производя лишь

небольшую коррекцию (реальный газ) по отношению к структуре идеального газа (рисунок 1.5. А).

Если плотность превышает критическую величину, и температура  $T$  опускается ниже критической отметки, КД существует гораздо дольше, т.к. энергия каждой частицы становится ниже, чем ее энергия в свободном состоянии (рисунок 1.5. В). Когда совокупность молекул становится достаточно плотной, электромагнитное поле, производимое колебаниями молекул, становится достаточно велико, чтобы молекулы осциллировали дольше, и этот процесс из переходного состояния переходил в стабильное (рисунок 1.5. С). Такая конфигурация обладает меньшей энергией, чем предыдущая хаотическая конфигурация индивидуальных частиц.

В случае жидкой воды, средняя энергия осциллирующей молекулы при комнатной температуре оценивается в 1.53 эВ, средняя энергия электромагнитного поля в 3.55 эВ на молекулу, когда как энергия взаимного притяжения между полем и молекулой –5.34 эВ, создавая остаток -0.26 эВ при когерентности по сравнению со случаем свободных не осциллирующих частиц.

Таким образом, из КЭД следует, что жидкая вода представляет собой совокупность КД. Расчеты показывают, что разница в энергии основного и первого возбужденного состояния КД воды составляет 12,06 эВ, что всего на 0.54 эВ ниже энергии ионизации молекул воды 12,60 эВ. Размер каждого КД соответствует длине волны квантового перехода из основного в возбужденное состояние, значит размер КД воды (при комнатной температуре) — около 0,1 микрона, что соответствует длине волны фотона мягкого рентгеновского излучения  $1000 \text{ \AA}$  (100 нм). В нормальной дистиллированной воде отдельные КД не зависят друг от друга. У каждого КД есть «хвост», или поле, простирающееся наружу, и поля разных доменов соприкасаются друг с другом, «склеивая» их (рисунок 1.5 С). Благодаря этому все они образуют конгломерат доменов. Но в такой ситуации разные КД не формируют общей когерентности друг с другом. Это случай характерен для дистиллированной воды.

Когерентность является наложением двух форм, чьи доли оставляют 0.87 и 0.13, соответственно, так что в каждый момент в КД находится 13% квази-свободных электронов. Значит, когерентная вода, является потенциальным донором электронов. В возбужденном состоянии многие электроны почти свободны, и требуется совсем немного энергии, чтобы они стали полностью свободными.

Нужно отметить, что электродинамическое притяжение, ответственное за образование КД, является настоящим коллективным процессом, который невозможно обнаружить при взаимодействии лишь нескольких частиц. В пограничной области КД, глубина которого оценивается в  $\sim 40 \text{ \AA}$ , возникает многоуровневая поляризованная структура, где все квази-свободные электроны ориентированы наружу, по отношению к их родным молекулам, с расстояниями от основной группы электронов от  $0.35$  до  $0.70 \text{ \AA}$ . Как следствие, можно выявить существование границы раздела между КД и некогерентной водой с разницей электрического потенциала от  $50$  до  $120 \text{ мВ}$ .

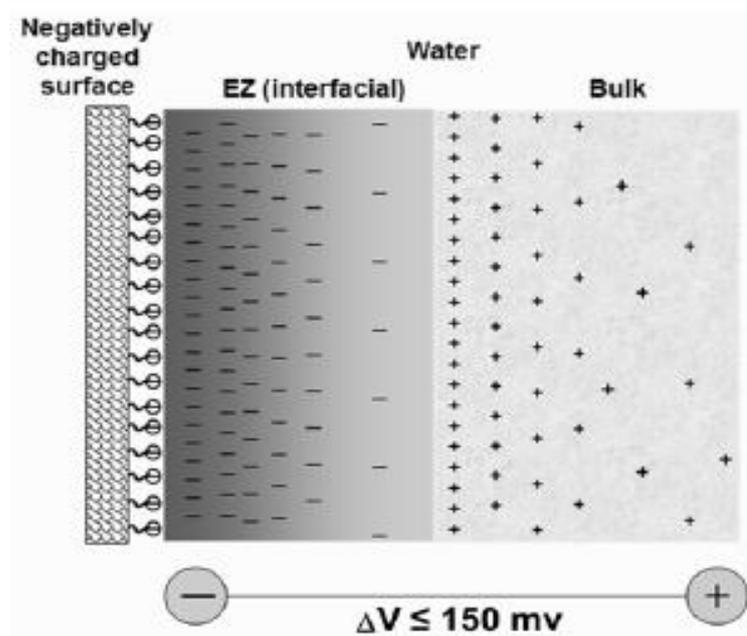
Итак, КД окружен облаком квази-свободных электронов. Эту электронную плазму можно возбудить очень малой порцией энергии, меньше  $0,2 \text{ эВ}$ . Возбуждение превращает электронную плазму в микровихрь, вращающийся вокруг КД. Таким образом, любой внешний шум может превращать КД воды в когерентные вихри. Например, при простом перемешивании или встряхивании воды небольшие порции освобождающейся энергии способны продуцировать вращение вихрей, принадлежащих КД, когда квази-свободные электроны начинают вращаться с частотой порядка килogerц. Это вращение — движение без трения, поскольку когерентность подразумевает, что вся эта масса молекул движется, не испытывая столкновений. Движение без трения может длиться очень долго, что отличает его от времени жизни возбужденного состояния отдельного атома, длящегося около  $10^{-10}$  -  $10^{-11} \text{ с}$ . Оно может не затухать в течение многих часов, недель и даже лет.

Таким образом, с точки зрения КЭД вода является уникальной субстанцией, которая при определенных граничных условиях (давление и температура) создает систему, находящуюся в состоянии устойчивого неравновесия вследствие сосуществования двух ее фаз, которые обладают разными термодинамическими параметрами. Одна из фаз представлена КД с низкой энтропией, а другая представляет собой «объемную» воду с высокой энтропией [27, 28].

### 1.3 Экспериментальные доказательства наногетерогенности водных растворов и изменения их структуры под воздействием химических и физических факторов

В последнее время, несмотря на отсутствие однозначного теоретического объяснения наногетерогенности воды и водных растворов и протекающих в них коллективных взаимодействий, с развитием технических возможностей появляется все больше экспериментальных доказательств наногетерогенности водных растворов и изменений их структуры под воздействием физических факторов [6-17, 56, 57, 64-81].

Примером уникальной способности изменения структуры и свойств воды под воздействием различных физических факторов [2, 3] служат результаты, свидетельствующие о существовании отрицательно заряженного слоя воды (пограничный слой, “exclusion zone”, EZ-вода, интерфейсная вода), примыкающего к гидрофильной поверхности и имеющего ширину, превосходящую нанометровый диапазон и достигающую десятки микрометров [66-70].



**Рисунок 1.6.** Схематическое представление водной системы вблизи отрицательно заряженной поверхности [68].

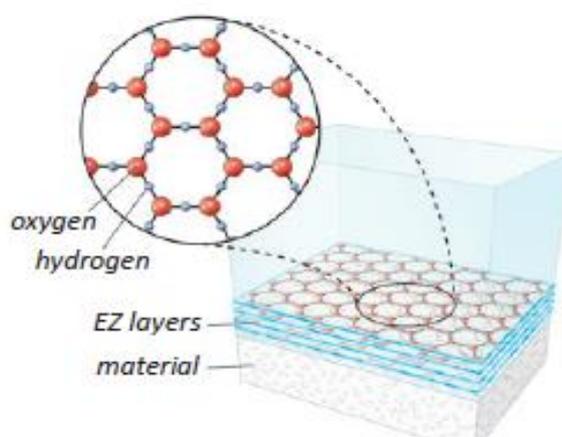
К основным свойствам EZ-воды относятся [71]:

1. EZ-вода заряжена отрицательно (потенциал достигает -150 мВ) относительно контактирующей с ней «объемной» воды. По проводнику, соединяющему электрод, помещенный в EZ-воду, и электрод в «объемной» воде, течет слабый, но постоянный ток.

2. При освещении EZ-воды ток нарастает, а в спектре действия выделяется свет с  $\lambda=3100$  нм. При этом возрастает и толщина слоя EZ-воды (при освещении ИК светом с  $\lambda=3100$  нм наблюдается четырехкратное увеличение толщины слоя).

3. На границе между EZ-водой и «объемной» водой концентрируются протоны.

Водная система, в которой сосуществуют EZ-вода и «объемная» вода, представляет собой систему с разделением зарядов, нечто вроде конденсатора, у которого роль отрицательной обкладки выполняет EZ-вода, а положительной «объемная» вода с избытком протонов. Лучистая энергия существенно увеличивает емкость этого конденсатора. Еще одно неожиданное свойство EZ-воды – поглощение УФ света с максимумом при  $\lambda=270$  нм и вызванная этим флуоресценция.

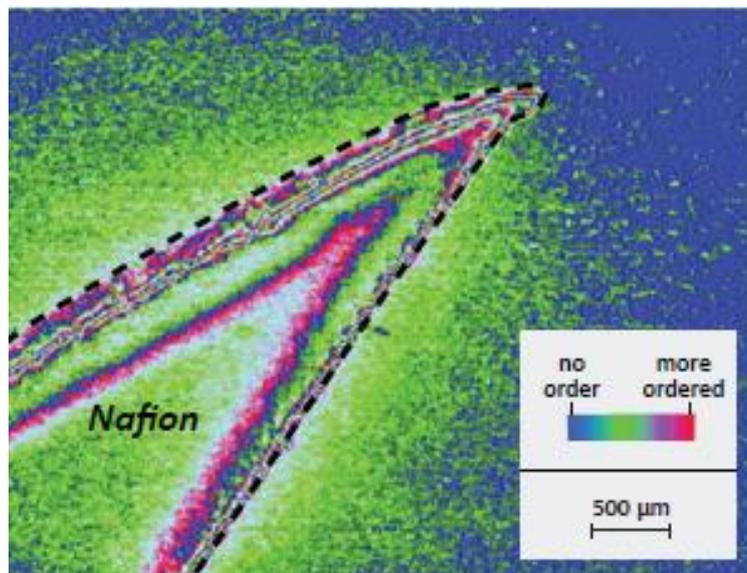


**Рисунок 1.7.** Слой, состоящий из молекул воды, составленных в соты, объединяется в структуру EZ-воды. Слои укладываются параллельно поверхности материала для построения EZ-слоя [70].

Дж. Поллак [70] предполагает, что схематически структура в EZ-воде выглядит в виде сот из молекул воды, упакованных в параллельные слои.

Таким образом, EZ-вода обладает свойствами жидкокристаллической фазы, характеризуется четко выраженной ориентацией и ограниченной подвижностью

молекул воды (рисунок 1.8), исключает растворенное вещество, электрически заряжена. [66].



**Рисунок 1.8.** Стреловидный образец листа нафiona (очерчен пунктиром) в воде, сфотографированного с помощью поляризационного микроскопа. Темные области указывают на случайную ориентацию молекул; светлые области (см масштаб справа) указывают на высокую степень молекулярного порядка [70].

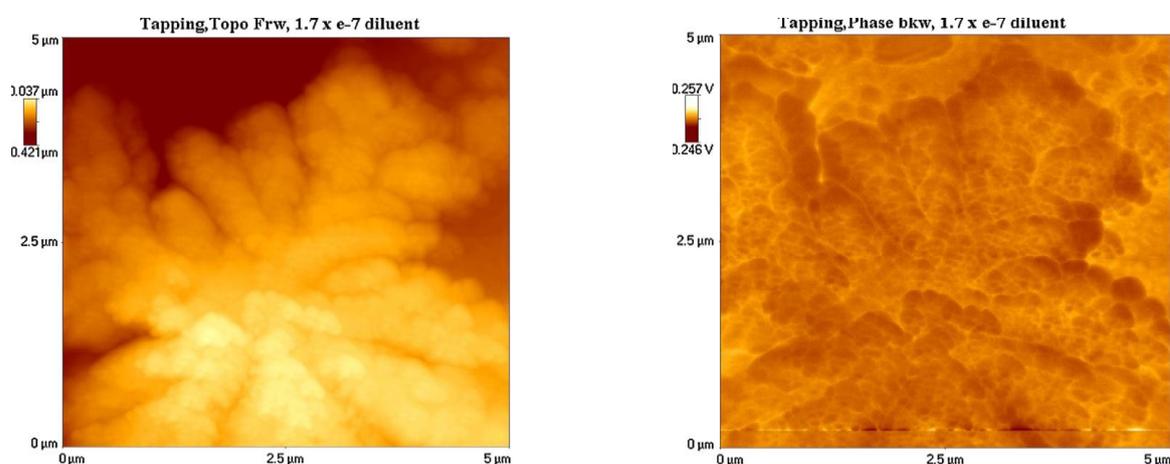
Спектральные характеристики, присущие такому поверхностному слою воды, обнаружены в растворах некоторых солей, аминокислот, сахаров, что свидетельствует о том, что растворение заряженных или гидрофильных веществ сопровождается образованием структур, окруженных поверхностным слоем воды, отличающейся от «объемной» [66-69].

В работе [22] в рамках КЭД анализируется образование EZ-воды, а также обсуждается связь EZ-воды с живыми системами. Причина аномальных свойств воды в биосистемах объясняется тем, что вода в них почти полностью интерфейсная, будучи повсеместно близко прилегающей к каким-либо макромолекулам или каким-либо поверхностям.

В работах последних лет [6, 7, 16, 17, 72-76, 92] значительно расширился комплекс применяемых современных физико-химических методов и диапазон изучаемых концентраций растворов (до  $1 \cdot 10^{-7}$  М). Это говорит о возрастающем

интересе к процессам, протекающим в растворах в широкой области концентраций, и о существовании множества нерешенных вопросов в этой области.

В работах [6, 7] с помощью трансмиссионной электронной (ТЭМ), атомно-силовой (АСМ) и электросиловой микроскопии (ЭСМ), ИК- и КР-спектроскопии найдены доказательства существования в естественных условиях стабильных больших водных кластеров, содержащих от миллионов до миллиардов молекул воды, размером от десятков нанометров до миллиметров в диаметре, образующихся в разбавленных растворах NaCl, начиная с концентрации  $10^{-7}$  М и ниже. Показано, что кластеры образуются в растворах в результате последовательных разведений исходного раствора.

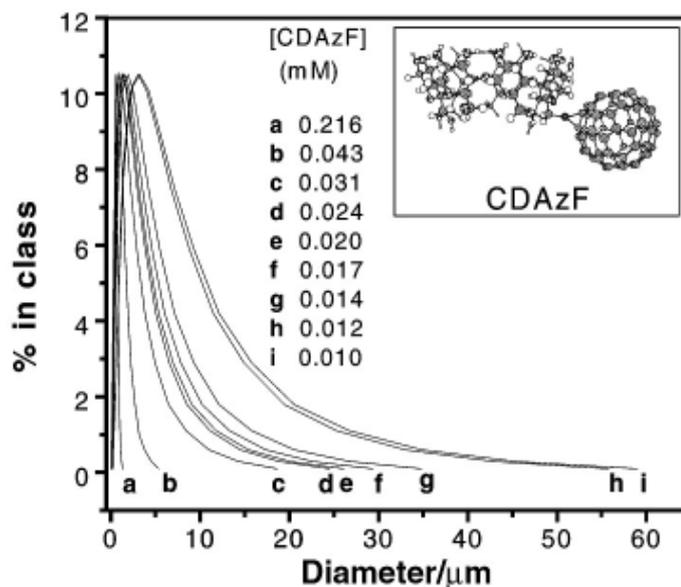


**Рисунок 1.9.** АСМ и ЭСМ изображения кластеров в растворе NaCl с концентрацией  $1.7 \cdot 10^{-7}$  М [7].

Методами АСМ и ЭСМ (рисунок 1.9) обнаружено, что кластеры электрически заряжены (до  $\sim 4$  мВ). Заряд кластеров объясняется тем, что в результате разбавления доминирующее взаимодействие между ионами после переходной концентрации раствора  $\sim 10^{-4}$  М сменяется доминированием диполь-дипольного взаимодействия. В концентрациях ниже этой переходной точки, молекулы воды притягивают друг друга, формируя кластеры с постоянным дипольным моментом [7].

Работа [72] является одной из первых, в которой с помощью методов динамического рассеяния света (ДРС) и сканирующей электронной микроскопии в водных растворах, содержащих NaCl (5.5-0.785 М), ДНК (25-4.5 г·л<sup>-1</sup>), β-

циклодекстрин ( $1.4 \cdot 10^{-2}$ - $3.5 \cdot 10^{-4}$  М), комплекс фуллерена и циклодекстрина ( $2 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-5}$  М), обнаружены структуры размером в несколько сотен и тысяч нанометров (200-5000 нм) (рисунок 1.10).

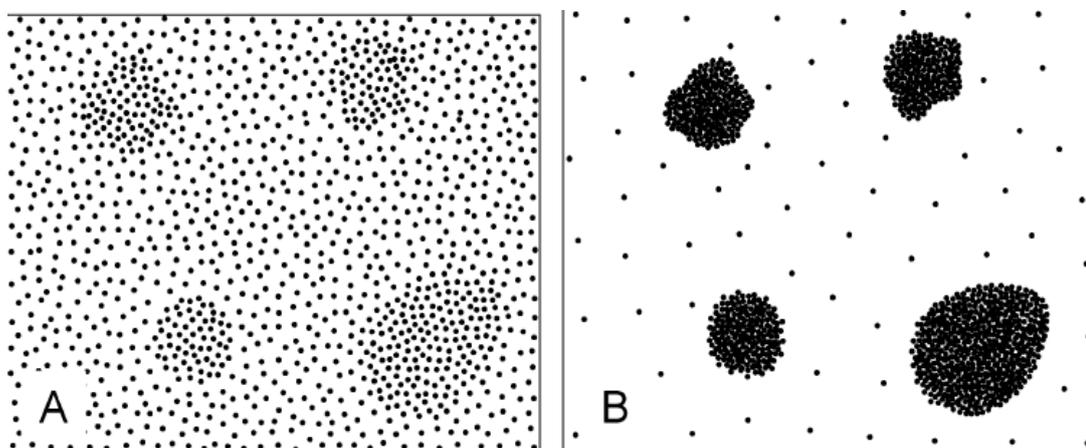


**Рисунок 1.10.** Распределение частиц по размерам в растворах моно-6-аза-6-деокси-β-циклодекстрин-[60]фуллерена (CDAzF) при различных концентрациях [72].

Факты неожиданного увеличения размера структур с уменьшением концентрации вещества привели к выводам о том, что наблюдаемые кластеры размером несколько сотен нанометров, состоящие из растворенного вещества и воды, способны к агрегации, зависящей от многих фактов – температуры, времени, концентрации и предыстории растворов [72].

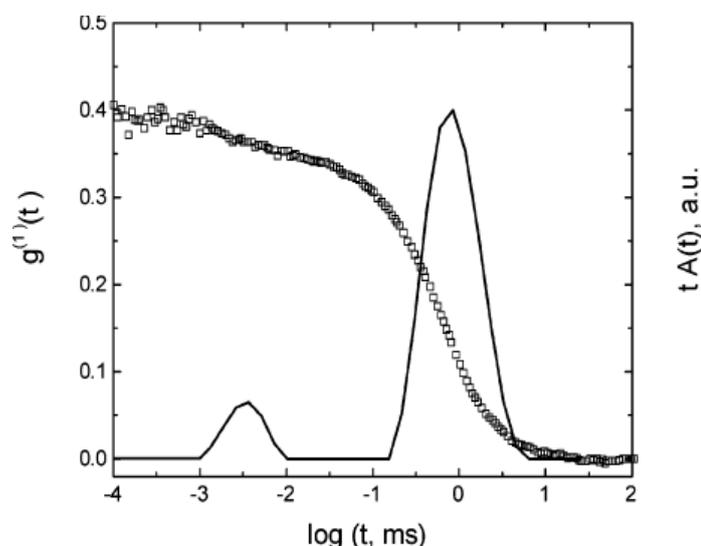
Пионерскими работами, положившими начало направлению исследования самоорганизации водных растворов методом ДРС и статического рассеяния света, являются работы [73-76] (рисунок 1.11, 1.12). Установлено, что в водных растворах неорганических и органических веществ образуются «гигантские кластеры» (супрамолекулярные домены) размером, достигающим сотни нанометров (30-500 нм) при концентрации вещества  $1 \cdot 10^{-6}$ – 6 М. Изучение кинетики образования таких доменов и их стабильности показало, что в зависимости от природы растворенного вещества временная шкала образования доменов меняется от нескольких минут до

нескольких недель, а период сохранения их стабильности лежит в интервале от 1 до 15 месяцев.



**Рисунок 1.11.** Схематическое изображение двух возможных структур доменов в растворах веществ и смешанных растворителях. На схеме (A) показан пример более свободных структур, на схеме (B) – связанных [73].

С помощью динамического и статического рассеяния света было убедительно доказано, что супрамолекулярные домены не являются «нанопузырьками» газов, присутствующих в растворах [76]. Никакой разницы не было обнаружено между растворами, приготовленными в обычных условиях (при 1 атм) и образцами, приготовленными с дегазированными растворителями. Аналогичным образом, не наблюдается уменьшения интенсивности светорассеяния при дегазировании растворов в целом, в которых структуры больших размеров уже были обнаружены [76].



**Рисунок 1.12.** Бимодальное распределение по размерам частиц и корреляционная функция, полученные при исследовании водного раствора, содержащего 4,1 % масс. *D*-глюкозы [74].

На основе экспериментальных данных, полученных методом лазерной интерферометрии, высказано предположение [10, 11], что образование в воде и водных системах осциллирующих надмолекулярных и субнадмолекулярных комплексов размером от 3 до 100 мкм обуславливают протоны и гидроксид-ионы. Объединение надмолекулярных структур (ионных пар из гидратированных протонов и гидроксид-ионов) в субнадмолекулярные комплексы, из которых возникают цепочки и пространственные фракталы, происходит в результате действия сил электромагнитной природы. Изучение в работе [77] воды методом лазерной микроскопии показало существование в воде ассоциатов молекул воды размером от 4 до 40 мкм, отличающиеся на границе раздела фаз от неассоциированной воды показателем преломления света.

Методом спектроскопии мерцаний в шумах (СМШ) установлено, что процесс растворения NaCl в концентрации 3,5 масс. % (~0.5 М) протекает через этапы: образование неустойчивых коллоидных частиц, неустойчивых сольватных кластеров ионных пар (нСКИП), неустойчивых растворенных полимеров глобулярного типа и только через 12 часов начинается новый процесс формирования термодинамически устойчивых уСКИП и устойчивых полимерных глобул на их основе, который в основном заканчивается к 500 часу (приблизительно 2 суток) [78]. Процесс достижения термодинамического равновесия сопровождается разделением на две большие группы с массами меньше (малые и средние кластеры  $l_{gm} \geq 4.5$ ) и больше

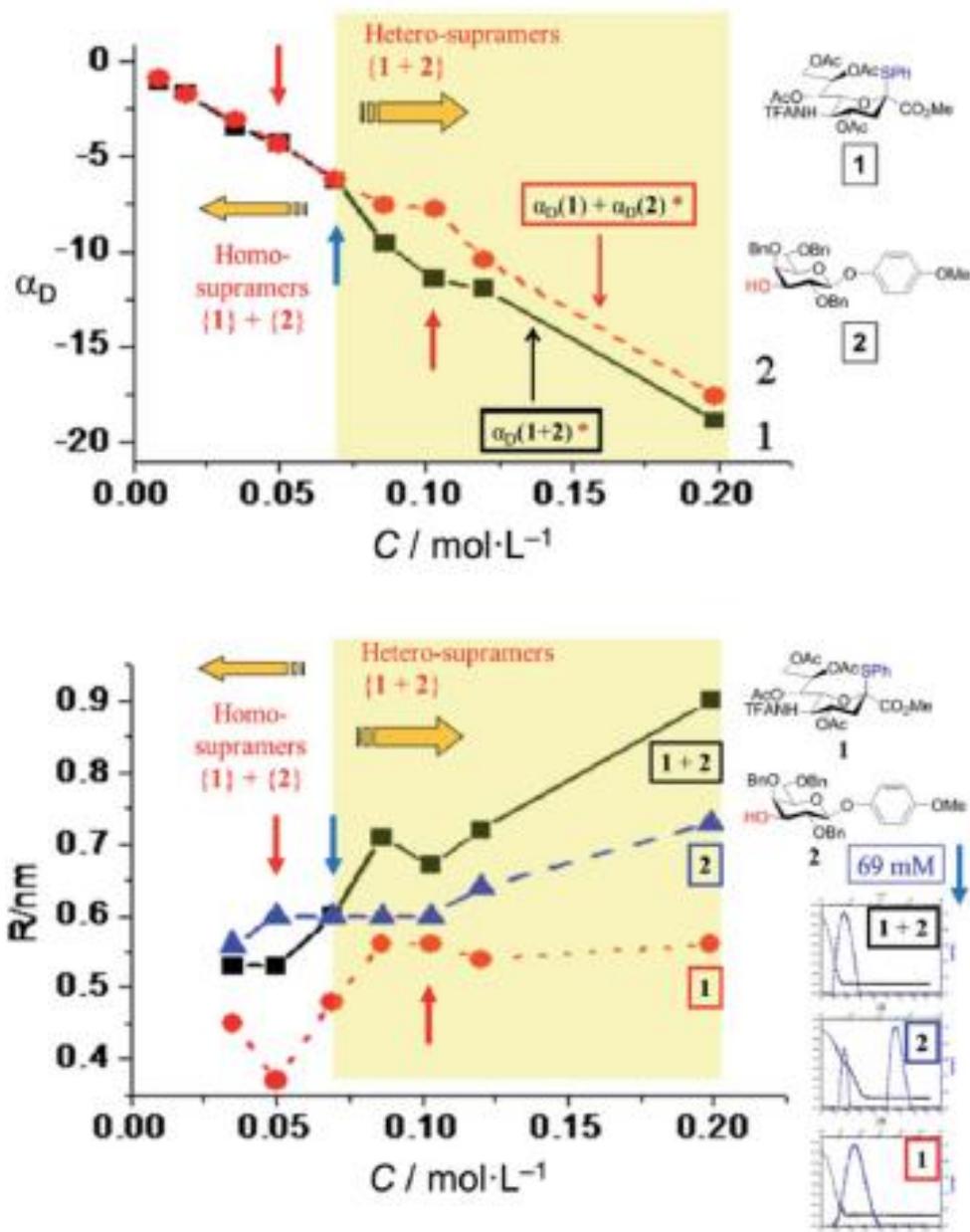
тысяч кДА ( $l_{gm}=6$ , гигантские осцилляторы, субмикрочастицы). В работах, выполненных методом СМШ, отмечается, что процесс образования кластеров зависит от процедуры приготовления растворов, времени и внешних факторов. В частности, представлена модель старения раствора NaCl, показано влияние атмосферного давления на среднюю массу СКИП. Интересно и важно то, что структура раствора, полученная непосредственным растворением NaCl, отличается от структуры, полученной разбавлением. Следовательно, структура сформированного раствора NaCl может рассматриваться как термодинамически устойчивая нанодисперсная суспензия полимерных СКИП в воде. Этими же авторами исследован процесс кластерообразования в воде, метаноле, н-гексаноле и гексане. Жидкости имеют дальний порядок, описываемый статистическим ансамблем кластеров. Кластеры представлены плотными и рыхлыми структурами и могут переходить из первой формы во вторую и наоборот. Эти кластеры осциллируют и общаются с помощью осцилляции с окружающими их другими кластерами [79-81]. Таким образом, методом СМШ показано, что упомянутые жидкости можно рассматривать как нанодисперсные эмульсии кластеров, т.е. как термодинамически устойчивые лиофильные коллоидные системы.

В работе [82] методами динамической калориметрии и спектроскопии ЯМР получены данные об образовании надмолекулярных структур в системах вода-азотная кислота и вода-азотная кислота-ацетон, обладающих реакционной способностью и влияющих на скорость окисления ацетона.

Научным коллективом О.Л. Кононова (ИОХ им. Н.Д. Зелинского) выявлено существенное влияние надмолекулярных структур (супрамеров), обнаруженных физико-химическими методами, на механизм химических превращений, выход и стереоселективность реакций [4]. По результатам изучения самоорганизации растворов исходных реагентов и их оптических свойств для целенаправленного синтеза продуктов реакции авторы выбирают те концентрации растворов реагентов, где супрамеры имеют параметры, обуславливающие перегибы на концентрационной зависимости удельного оптического вращения (рисунок 1.13).

Одним из путей воздействия на стереоселективность реакции является изменение способа смешения растворов реагентов, в частности, при пропускании их

через узкие капилляры [83], в результате которого, вероятно, достигается эффект образования структур, аналогичных EZ-воде.



**Рисунок 1.13.** Обнаружение гетеросупрамеров. Оптическое вращение ( $\alpha_D^{28}$ ) в растворах гликозильного донора (1), гликозильного акцептора (2) в MeCN и их смеси 1:1 при различных концентрациях. Гидродинамические радиусы (R) светорассеивающих частиц в MeCN в растворах гликозильного донора (1), гликозильный акцептор (2) и их смеси 1:1 при различных концентрациях. Затененная область отмечает диапазон концентраций, где существует гетеросупрамеры {1 + 2}. Полные данные ДРС для растворов с концентрацией 69 ммоль л<sup>-1</sup> представлены в правом нижнем углу [4].

Существует мнение, что без изменения взгляда на способность жидкостей, и в частности воды, к самоорганизации, наука не сможет трактовать множество экспериментально наблюдаемых фактов, протекающих как в модельных, так и в живых системах [39].

В последние годы в экспериментальных работах, посвященных изучению наногетерогенности воды и водных растворов, подчеркивается важная роль низкочастотного электромагнитного поля, а наблюдаемые эффекты трактуются с привлечением КЭД [3, 22, 27, 64, 84].

В работе [84] методами флуоресцентной микроскопии, ИК-, УФ-, фотон-корреляционной спектроскопии представляются доказательства образования диссипативных структур в чистой жидкой воде, подверженной трем видам низкоэнергетических физических воздействий: разбавление, повторное фильтрование, длительный контакт с гидрофильной поверхностью, такой как нафион.

По определению диссипативные структуры – регулярные образования в пространстве/времени, возникающие в открытых системах в условиях диссипации энергии (рассеяния до понижения ее качества до тепловой) [36].

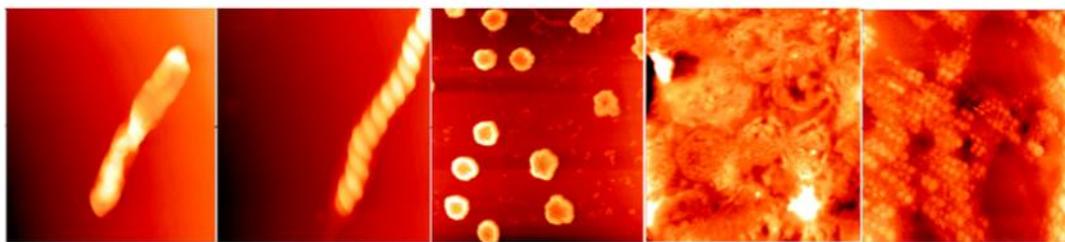
Отмечается, что метод ИК-спектроскопии не дает информации об образовавшихся структурах в воде [84]. В УФ-спектрах всех трех систем найдены новый абсорбционный пик в области длин волн 225-325 нм (приблизительно около 270 нм). Сходный результат был получен при изучении EZ-воды на расстоянии 100 мкм от поверхности нафиона [68]. Поглощение при длине волны с максимумом 270 нм ( $A_{270}$ ) линейно связано с электропроводностью растворов, что подтверждает единую природу явления, т.е. присутствие структур воды, учитывая, что по химическому составу исследованные системы представляют собой чистую воду. Методом флуоресцентной микроскопии установлено образование в изученных водных системах структур размером порядка мкм, вязкость которых отличается от вязкости объемной воды. Фотон-корреляционная спектроскопия ясно указывает на присутствие в воде агрегатов воды больших размеров [84].

Авторы [84] приходят к выводу, что изученные ими системы являются действительно открытыми системами, далекими от термодинамического равновесия, которые позволяют структурам с локальной упорядоченностью возникать из хаоса. Появление стабильных структур, которые выдерживают фазовые переходы от

жидкости к твердому состоянию, означает существование когерентных пространственно-временных диссипативных структур, способных обмениваться энергией и веществом с окружающей средой и переходить на более высокий уровень самоорганизации. Образцы «нафионовой» воды нагревали до 65 °С и не увидели существенных изменений в числе и размере агрегатов. Это означает, что обнаруженные агрегаты слабо зависят от температуры и не являются «нанобаблами» [84]. Природа этих диссипативных структур анализируется и объясняется в терминах термодинамически далеких от равновесия открытых систем и необратимых процессов, показывающих их спонтанно квантовую природу и способность возникновения этих структур с локальной упорядоченностью из хаоса [84].

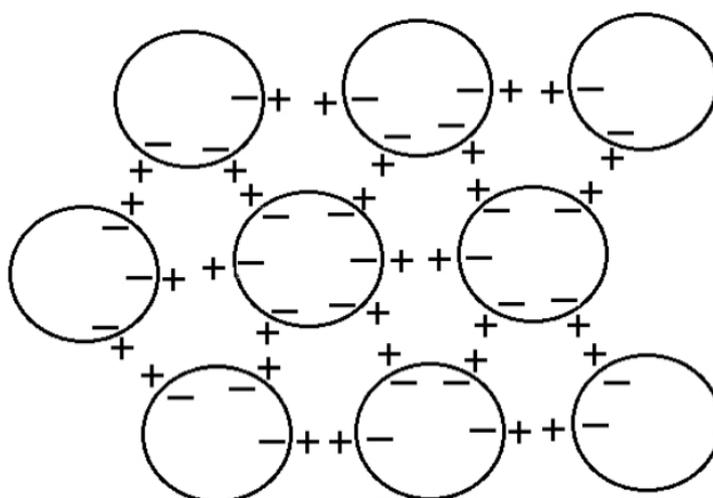
В работе [22] показано, что свойства поверхностной (интерфейсной) EZ-воды могут быть обусловлены свойствами когерентной воды. В рамках КЭД анализируется образование EZ-воды, причина её аномальных свойств. Авторы приходят к выводу, что все вышеперечисленные свойства EZ-воды [71] являются следствием когерентных коллективных осцилляций, происходящих в объеме жидкой воды и на ее границах. Представленные когерентные динамические механизмы, предполагаемые КЭД в воде, отрывают новые горизонты в биологии. Проблема взаимосвязанности частей организма, синхронизации их работы, самоуправления биохимических процессов, объяснение которых отсутствует в биохимии, основывающейся только на случайной кинетике молекулярных реакций, находит естественное объяснение в представленном подходе. Особую роль играют взаимодействия различных образований, основывающиеся на их способности к когерентной динамике, позволяющей им резонировать друг с другом.

В работе [64] в рамках КЭД анализируются экспериментальные данные, полученные Ш-И. Ло с соавторами [6, 7], свидетельствующие о существовании в разбавленных растворах стабильных водных кластеров размером сотни нм, подтвержденных методами ТЭМ и АСМ (рисунок 1.14), и предлагается объяснение образования кластеров за счет особых сферических диполей, сформированных квантовыми когерентными доменами, предсказанными теорией КЭД (рисунок 1.15).



**Рисунок 1.14.** АСМ–изображения различных форм, полученные из разбавленных растворов хлорида натрия. Все участки площадью 5 микрон [64].

На рисунок 1.15 представлено схематическое изображение трехмерной упаковки, сформированной сферическими когерентными доменами [64].



**Рисунок 1.15.** Сферические когерентные домены формируются в 3-мерную дипольную структуру. Симметрия шестого порядка является результатом плотной упаковки сфер [64].

Сферические когерентные домены размером около 100 нм в диаметре не являются диполями в обычном смысле этого слова. Квантовая теория поля предсказывает, что эти домены отрицательно заряжены на периферии (на поверхности сферы). В тоже время, положительно заряженные протоны как бы окружают домен, что происходит в и EZ-воде [68]. Дель Джудиче [22] выдвинул гипотезу, что EZ-вода являет собой макроскопический когерентный домен, стабилизированный на гидрофильной поверхности, где они могут превратиться в структуры со специфичными слоями, предложенные Дж. Поллаком [70]. Следовательно, эти сферические домены могут имитировать дипольные

взаимодействия через отрицательные заряды на их периферии, притягивающие положительные заряды на внешнюю поверхность для формирования трехмерного симметричного гигантского электрета (диполя). Симметрия 6-го порядка возникает из близко сложенных сфер, которые дают рост кластерам в виде “снежинок”(рисунок 1.13) [64].

Несмотря на все разнообразие существующих моделей и представлений о структуре воды, они не дают окончательных ответов на все вопросы, являясь скорее ключом к новым лабиринтам неведомого. Одним из таких неразработанных вопросов, который в настоящее время начинает интенсивно изучаться, является вопрос о влиянии температуры на самоорганизацию и свойства водных растворов [1, 16, 17, 77, 81, 86, 87, 90-92].

#### **1.4 Влияние температуры на самоорганизацию и свойства водных растворов**

В работе [1] показано, что температурная зависимость потенциальной энергии внешних электронов в воде имеет минимум при температуре 40 °С, аналогичный минимуму изотермической сжимаемости самой воды. Минимум изотермической сжимаемости и экстремумы других свойств воды при изменении температуры характерны для фазовых переходов второго рода. Такой переход наблюдается обычно в результате скачкообразного изменения характера межмолекулярного взаимодействия (ферромагнетизм, сегнетоэлектричество, сверхтекучесть, сверхпроводимость, изменение симметрии решётки). Фазовые переходы второго рода характеризуются наличием перегибов, изломов и скачков на зависимостях свойств [36, 85].

То, что температурная зависимость потенциальной энергии внешних электронов в воде аналогична температурным зависимостям ряда физических свойств чистой воды, свидетельствует о том, что внешние электроны активно участвуют в водородной связи молекул воды. Они выполняют функцию электронных мостиков между молекулами воды. Один протон между двумя парами связанных с кислородом разных молекул электронов осуществляет межмолекулярную связь во всех дефектных структурах – дефектных льдах и воде – и определяет их температурные зависимости [1].

В работе [86] методом спектрального анализа проанализирована легкая ( $\text{H}_2\text{O}$ ) и тяжелая ( $\text{D}_2\text{O}$ ) вода при температурах от 4 до 50 °С в области частот от 0,15 до 6,5 ТГц. Показано, что при температурах, соответствующих максимальной плотности  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{D}_2\text{O}$ , выраженных особенностей обнаружено не было. Однако в диапазоне температур 35–40 °С отчетливо прослеживается, что для  $\text{H}_2\text{O}$  происходит резкое изменение степени структурированности воды, тогда как для  $\text{D}_2\text{O}$  в указанном диапазоне температур выраженных перепадов не наблюдается. Представленные в работе [86] данные также свидетельствуют о наличии структурных особенностей воды в интервале температур 35–40 °С, которые с физической точки зрения труднообъяснимы. В этой же области температур изобарная теплоемкость имеет минимум, тогда как для подавляющего большинства веществ теплоемкость монотонно возрастает с температурой. Причем этот минимум наблюдается при температуре около 35 °С, т.е. в непосредственной близости к отмеченному выше интервалу температур (35–40 °С). В данном случае важно добавить, что изобарная теплоемкость тяжелой воды во всем температурном диапазоне существования жидкой фазы при атмосферном давлении минимума не имеет. Таким образом, вода по своим свойствам существенно отличается не только от других жидкостей, но и от своих изотопологов.

В работе [87] помимо структурных особенностей дистиллированной воды изучены структурные особенности водных растворов с содержанием  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  и  $\text{MgCl}_2$  в интервале  $4.0 \cdot 10^{-6}$  до  $1.0 \cdot 10^{-2}$  М при температуре растворов 20 °С и 40 °С путем измерения их электрической ёмкости в диапазоне частот от 1 до 300 кГц. При температуре 20 °С электрическая ёмкость дистиллированной воды многократно снижается. При нагревании до 40 °С её ёмкость на частотах 10 и 30 кГц возрастает. При нагревании дистиллированной воды и растворов  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  и  $\text{MgCl}_2$  наблюдается возрастание их ёмкости на разных значениях частоты. Делается заключение о том, что в растворах происходит изменение структуры, приводящее к увеличению количества диполей или кластеров, совершающих колебательные движения при определённой частоте [87]. Сделан вывод, что размеры кластеров зависят не только от концентрации [88], но и от температуры раствора [77], присутствия дейтерия [78] и других факторов.

Найденные изменения при частотах 30 и 100 кГц при использовании растворов NaCl могут свидетельствовать о том, что при малых концентрациях растворов соли ( $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-4}$  М) в них происходит формирование структурных элементов, ограничивающих подвижность диполей в условиях резонанса на частотах 30 и 100 кГц. Дальнейшее повышение концентрации растворов солей (до  $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-2}$  М) приводит к изменению в них надмолекулярных структурных образований, изменению гидратации ионов и, соответственно, к возрастанию подвижности диполей воды в условиях резонанса. Частично аналогичный эффект описан в работах других авторов с использованием водных растворов NaCl [77, 89].

Распределение кластеров в жидкостях зависит от температуры и способа ее достижения. В работе [81] методом спектроскопии мерцаний в шумах (СМШ) показано, что при  $320 \pm 5$  К ( $47 \pm 5$  °С) на всех кривых изменения энергетических характеристик малых кластеров воды (от 11 до 1119 молекул воды) при изменении температуры обнаруживается вторая после 277 К точка перегиба, которая свидетельствует об общей перестройке структуры воды. Возможно, эта перестройка приводит к известному коллапсу биологических систем при температурах выше 42 °С.

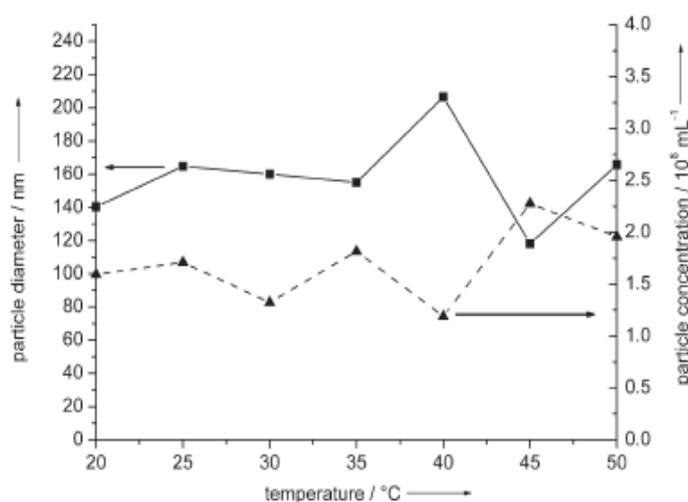
В работе [77] при помощи метода лазерной микроскопии изучено влияние температуры в интервале 20–40 °С на гигантские гетерофазные кластеры воды образцов дистиллированной воды и 0,01 М растворов NaCl, KCl, RbCl и LiCl. Установлено, что общая концентрация кластеров с размерами от 2 до 40 мкм снижается по мере повышения температуры раствора. Крупные кластеры воды размером 30 мкм и более исчезают при нагревании до температуры более 30 °С. Расчётным методом показано, что энергия активации разрушения кластеров составляет  $95$ – $140$  кДж·моль<sup>-1</sup> и зависит от природы водной системы. Определённое количество кластеров размером 4 мкм сохраняется при нагревании вплоть до 38 °С. В заключении работы [77] отмечается способность воды к релаксации содержания ГГКВ - медленное охлаждение воды благоприятствует механизмам восстановления кластерных структур в воде.

Таким образом, при изучении воды и водных растворов методами спектрального анализа [86], лазерной микроскопии [77], измерения электрической

емкости [87] в диапазоне температур 20-50 °С обнаружены экстремумы измеряемых величин при температурах 30, 35, 38 °С и в интервале 35-40 °С.

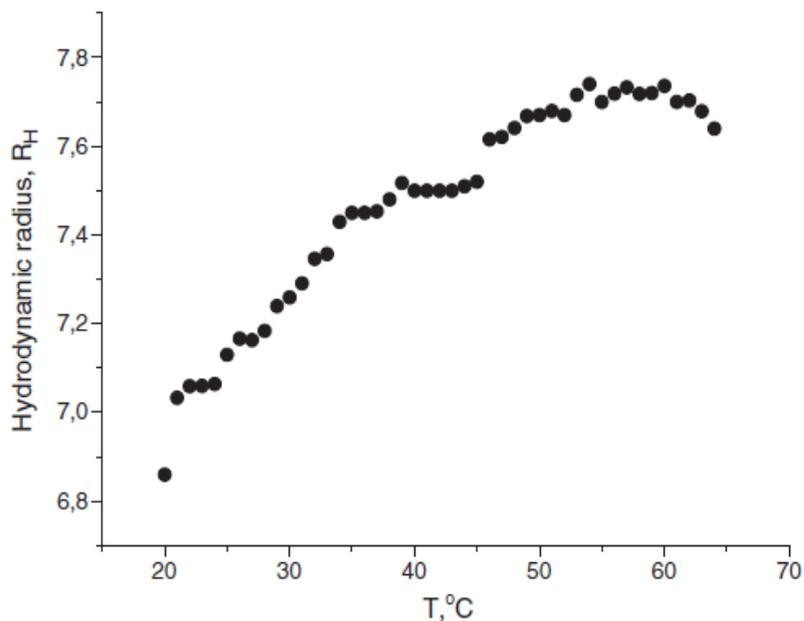
В работах последних лет [16, 17, 90-92], выполненных комплексом современных физико-химических методов, изучено влияние на водные растворы температуры в более широком диапазоне 20-65 °С. В частности, приводятся доказательства относительно существования в воде динамического фазового перехода при температуре  $T_H \approx 42$  °С [90, 91]. При этой температуре происходит существенное изменение характера теплового движения молекул воды. Это проявляется в особенностях квазиупругого некогерентного рассеяния тепловых нейтронов, поведении изотермической сжимаемости, диаметра кривой энтропия-температура на линии сосуществования парообразной и жидкой фаз, сдвиговой вязкости и других свойствах. Предполагается, что динамический фазовый переход происходит также во внутриклеточной воде, где он стимулирует денатурацию белковых цепей и смерть теплокровных организмов [90, 91].

В работе [17] методами анализа траектории наночастиц (АТН), АСМ и масс-спектрометрии ESI (ESI-МС) показано образования сферических супрамолекулярных агрегатов диаметром 100-200 нм в водном растворе  $\alpha$ -аминокислот при концентрации несколько миллимоль и исследовано влияние на размеры и количество структур в растворах температуры в интервале 20-50 °С. Показано, что наличие агрегатов существенно не зависит от температуры.



**Рисунок 1.16.** Анализ траектории наночастиц тирозинфосфата (3 мМ, рН 9 с NaOH) с увеличением температуры. Диаметр и концентрация частиц зависят от температуры. Стрелками обозначены оси, к которым принадлежит каждая кривая [17].

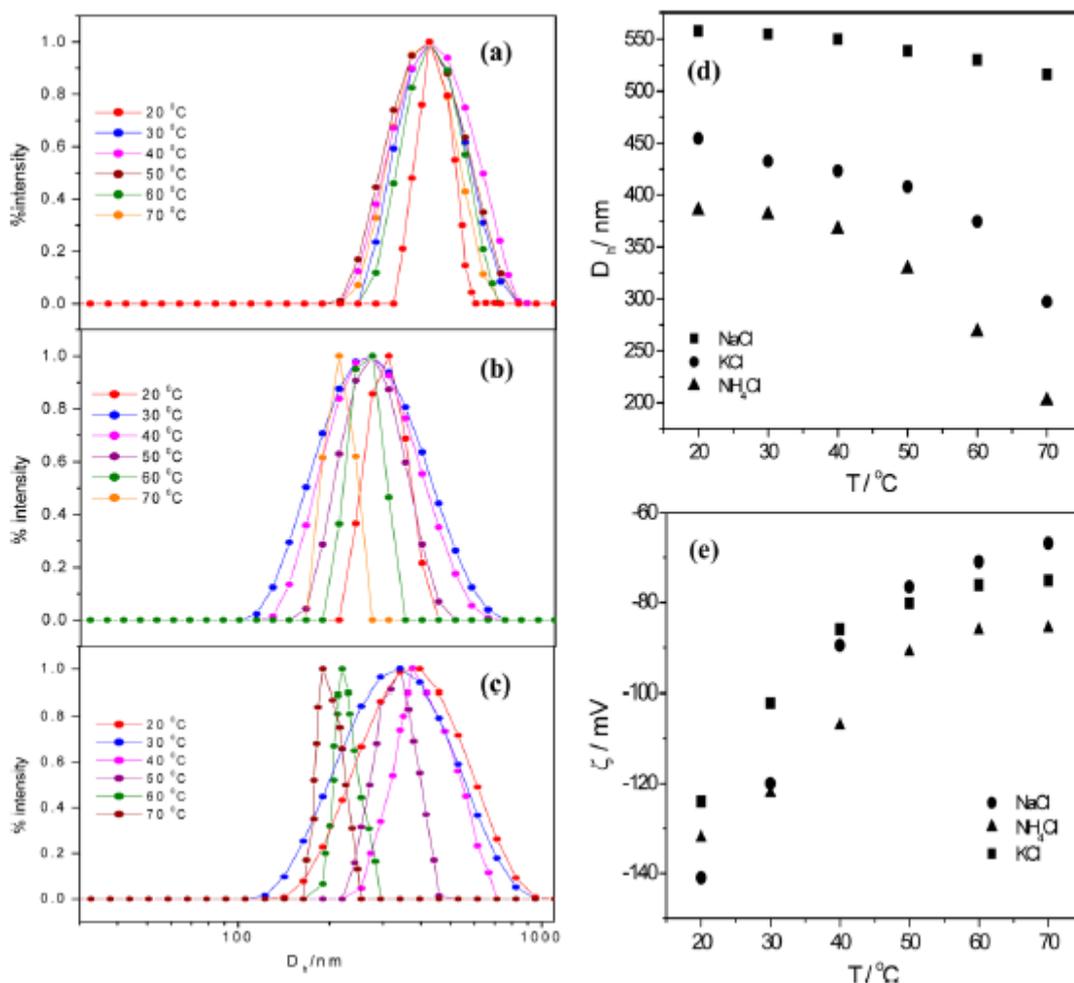
Размеры частиц и их концентрация в зависимости от температуры изменяются нелинейно с экстремумом при 40 °С. Увеличение размера частиц сопровождается уменьшением их концентрации и наоборот – уменьшение размера сопровождается увеличением их концентрации (рисунок 1.16).



**Рисунок 1.17.** Значения гидродинамического радиуса частиц в водном растворе альбумина в интервале температур 20-65 °С [92].

С использованием метода ДРС в работе [92] была исследована зависимость гидродинамического радиуса частиц в водном растворе альбумина от температуры. Обнаружено, что радиус увеличивается линейно примерно до 40 °С. Затем появляется "плато" в интервале  $\approx 40-45$  °С. Далее снова увеличение радиуса со следующим максимумом примерно 55 °С.

В работе [16] диапазон исследуемых температур увеличивается до 70 °С, помимо ДРС применяются методы ЯМР и ИК-спектроскопии. Обнаруженные кластеры в растворах NaCl, KCl, и NH<sub>4</sub>Cl оказались стабильны в интервале температур 25-70 °С.



**Рисунок 1.18.** Распределение гидродинамического диаметра в единицах интенсивности (%) нормированы на единицу при различных температурах (a) NaCl, (b) KCl, и (c) NH<sub>4</sub>Cl. Под пунктами d и e приведены графики распределения по размерам и дзета-потенциалу, соответственно, для различных солевых растворов при различных температурах [16].

Таким образом, в настоящее время всё чаще подчеркивается ключевая роль микро- и наногетерогенности водных систем, связанная с образованием так называемых стабильных водных кластеров [6, 7, 64, 65], супрамолекулярных доменов [73-76], супрамеров [4], структур, образованных «интерфейсной» EZ-водой [66-70], диссипативных структур [84], результатом чего является уникальная способность изменения структуры, свойств и реакционной способности водных растворов. Как отмечается в обзорах [64, 65], основные результаты изучения самоорганизации водных растворов органических и неорганических веществ, полученные разными исследовательскими группами, согласуются между собой [3, 4, 64, 65, 84, 66-70, 73-76] - размерный диапазон структур порядка сотен нанометров, отрицательный дзета-

потенциал, повышенная вязкость по сравнению с «объемной» водой, процедура приготовления растворов, временная составляющая. В самое последнее время для теоретического объяснения экспериментальных данных, свидетельствующих об образовании в водных растворах стабильных структур, размер которых лежит в интервале от десятков до тысяч нм, привлекается теория КЭД, позволяющая обосновать роль таких структур в возникновении необычных свойств растворов и функционировании живой материи [4, 21, 22, 64, 65, 84, 27, 28, 93].

### **1.5 Особенности биологического действия высокоразбавленных растворов химических веществ и слабых физических факторов**

Проблемы воздействия малых химических и физических факторов на биосистемы чрезвычайно актуальна, поскольку в наше время остро стоят вопросы, связанные с выживанием людей, животных и растений в экстремальных экологических ситуациях (химическая загрязненность, повышенная радиация, недостаток воды и т.д.). Интерес к этой проблеме обусловлен еще и тем, что накапливается все больше данных о существенном влиянии на биологические системы разного уровня организации, в том числе на здоровье человека, растворов соединений различной природы высоких разведений (пикомолярные, фемтомолярные и ниже концентрации) [94].

К таким факторам также относятся электромагнитное излучение на КВЧ- и ММ-частотах [44, 95, 96]. Установлено влияние на биосистемы космофизических, геофизических и радиационных факторов [33, 34]. Исследованию воздействия сверхслабых космофизических факторов на человека и среду его обитания посвящены работы известных российских ученых А.Л. Чижевского [97, 98], Б.В. Владимирского [99, 100], С.Э. Шноля [35, 101], В.В. Александрова [102], Э. Поляка [103], А.С. Горшкова [104] и В.В.Соколовского [105-107] и многих других.

Особое место в работах биологов занимает изучение влияния высокоразбавленных растворов химических веществ. В последние годы в мировой научной литературе все чаще появляются работы, свидетельствующие о поразительных эффектах воздействия сверхмалых концентраций биологически активных веществ на протекание процессов в биологических объектах на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях и на уровне всего организма [108].

Впервые сходство макроответа живой системы на действие сверхмалых доз химических веществ, радиоактивного излучения и космофизических факторов было осознано в результате исследований научного коллектива под руководством Е.Б. Бурлаковой, которые положили начало возникновению направления по исследованию нелинейных процессов в биофизике [109-116]. Биохимическое обоснование влияния сверхслабых факторов различной природы было предложено В.В. Соколовским [105-107]. В работах В.В. Соколовского и его группы была впервые экспериментально показана зависимость скорости окисления тиолов в тиолсодержащих биомолекулах живого организма от изменения широкого круга космофизических факторов и тем объективно доказан факт их воздействия непосредственно на живой организм [40].

Среди практически важных результатов работ в области сверхмалых концентраций (СМК) можно отметить следующие [117-119]:

1. Устранение побочных эффектов лекарств. Например, феназепам, который в СМД обладает анксиолитическим и противосудорожным действием и освобождается от седативного и миорелаксантного эффектов [110]. Освобождением от нежелательных побочных эффектов характеризуются и другие вновь созданные вещества [111, 117].
2. Если предельно-допустимые концентрации (ПДК) устанавливались без учёта их полимодальной зависимости эффекта от концентрации, то это может привести к ошибкам при оценке токсичности соединения. Например, карбофос при концентрации в 10 раз меньшей ПДК у работающих длительное время на производстве по получению этого пестицида приводит к интоксикации [118].
3. Изучение причин множественной химической чувствительности отдалённой нейротоксичности веществ и хронической усталости [119].
4. Особое внимание уделяется наркотическим анальгетикам в СМД с целью устранения пристрастия, привыкания. Показано, что морфин в концентрациях  $10^{-9}$ – $10^{-15}$  М в сочетании с налтрексоном также в СМД оказывает анальгетический эффект при снижении опиодной зависимости и других нежелательных эффектов морфина.

Ниже приведем краткий обзор работ на тему влияния высокоразбавленных растворов на биологические системы различного уровня организации, которые ранее не были освещены в наших работах.

В работе [120] изучено противоболевое действие аспирина, ацетилсалицилатов кобальта и цинка в сверхмалых дозах ( $40 \cdot 10^{-8}$ ,  $40 \cdot 10^{-10}$ ,  $40 \cdot 10^{-13}$  мг·кг<sup>-1</sup>) на болевую

чувствительность крыс. Все тестируемые соединения оказывали анальгетический эффект, наибольший – обнаружен при действии ацетилсалицилата цинка в дозе  $40 \cdot 10^{-8} \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ . Установлен анальгетический эффект ацетилсалицилата кобальта в сверхмалых дозах, не характерный для его терапевтической дозы ( $40 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ ). Оказалось, что ацетилсалицилаты кобальта и цинка в дозе  $40 \cdot 10^{-8} \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$  превосходили по противоболевой эффективности аспирин в терапевтической и сверхмалых дозах.

В работе [121] показано, что небольшие изменения естественного изотопного состава воды, могут приводить к неожиданно большим эффектам, часто противоположным действию концентрированной тяжёлой воды. Большое количество работ посвящено изучению влияния «утяжелённой воды» с содержанием дейтерия 0,06% на живые организмы. Тяжёлая вода в малых количествах может оказывать различное влияние, зависящее как от вида организма, так и от исследуемой функции. При этом может наблюдаться как активирование, так и ингибирование реакций исследуемой системы. Эти наблюдения убедительно подтверждают широкую вариабельность ответов различных организмов на небольшое изменение изотопного состава воды.

В работах д.б.н. Тушмаловой Н.А. и к.б.н. Лебедевой Н.Е. [112, 122-126] представлены экспериментальные результаты по выявлению биологического эффекта высокоразбавленных растворов ( $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-25}$  М) представителей различных классов биологически активных соединений. Среди них представлены биогенные амины - феромон тревоги рыб «цистин», феромон тревоги карповых рыб («циприн») ( $1 \cdot 10^{-15}$  М) [122]; пестициды, фосфорорганические вещества и пиретроиды - карбофос, дельтаметрин ( $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-13}$  М); холинолитики, мускариночувствительные – атропин ( $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-13}$  М); транквилизаторы – феназепам ( $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-13}$  М); дофаминолитики - SCH-23390; снотворные - гексенал ( $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-13}$  М); антиоксиданты - фенозан (до  $10^{-25}$  М) [125], синтетический наркотический анальгетик – фентанил; антагонист фентанила - налоксон [126]. Биологическая активность высокоразбавленных растворов упомянутых веществ была показана на биотестах различного уровня организации: бактерии колоний - *Escherichia coli* (рост и размножение – по показателю колоний образующая единица КОЕ) [123], простейшие - инфузории спиростомы (*Spirostomum ambiquum Ehrbg.*) (поведение – двигательная активность) [122-124], икра рыб (выживаемость и скорость развития) [123], а также далекие в

систематическом отношении семейства рыб - карп, толстолобик, осётр, тиляпия и форель (прижизненно – биохимический состав наружной слизи и метаболические критерии в тканях, клетках и органеллах) [124] и болевая чувствительность крыс [126].

Феромоны обладают видоспецифичностью, т.е. способностью влиять на поведение или физиологическое состояние особей только одного определенного вида. В работах [123, 125] показано, что спиростома воспринимает феромон тревоги рыб ( $1 \cdot 10^{-13}$  М). Кроме того, авторами была установлена стимуляция роста колоний *Escherichia coli* при обработке их растворами феромона с концентрациями до  $10^{-17}$  М, происходило увеличение роста на 37%. Найдено, что низкие концентрации феромона повышают выживаемость эмбрионов икры рыб больше, чем в два раза [123]. Для сравнительной оценки биологического эффекта высокоразбавленных растворов феромона (до  $10^{-8}$  М) у высокоорганизованных позвоночных эксперименты проводили на нескольких видах рыб (карп, толстолобик, осётр, тиляпия и форель). Предварительно рыбы были подвержены острому стрессу, вызванному перевозкой и низкой концентрацией кислорода в воде, где находились рыбы. Об изменениях физиологического статуса судили по сдвигам биохимического состава специфической жидкости – наружной слизи рыб. В ходе эксперимента [124] найдено, что воздействие растворов феромона в концентрации  $1 \cdot 10^{-8}$  М оказывает антистрессовое воздействие на нескольких изученных видах рыб. Добавление растворов препарата в воду к стрессированным рыбам практически нормализовало сдвиги от стресса по исследуемым биохимическим показателям слизи и крови. Делается практический вывод: для достижения максимального эффекта высокоразбавленных растворов необходимо подбирать время воздействия препарата и соотносить его со временем начала стресса.

Особенный интерес представляют работы по исследованию биологической активности высокоразбавленных растворов токсичных соединений [94, 124, 126-130, 131].

В работе [128] было исследовано влияние водного раствора гидратированного  $C_{60}$ -фуллерена (ГФ) на рост и «стационарное старение» трансформационных культивируемых клеток китайского хомячка. Конечная расчётная концентрация ГФ в ростовой среде составляла  $10^{-19}$  М. Эта концентрация была выбрана в связи с тем, что

ранее [129] уже была показана активность ГФ в этой концентрации на нескольких модельных системах. В результате эксперимента было показано, что растворы ГФ проявляют цитотоксичность в концентрации  $10^{-19}$  М и в более высоких концентрациях, ускоряя процесс «стационарного старения» и вызывая гибель части клеточной популяции. Авторы полагают, что обнаруженные особенности действия ГФ определяются особыми свойствами воды, окружающей молекулу фуллерена, а именно тем, что она является своеобразным донором и акцептором электронов, обеспечивая упорядочение окислительно-восстановительных процессов, протекающих в водных системах, и особенно тех, в которых принимает участие кислород [57, 130]. Авторы работ считают, что водные оболочки ГФ представляют собой разновидность EZ-воды [67], которая может выступать в роли донора электронов. Это свойство ГФ обеспечивает высокую биологическую активность ГФ в системах *in vivo* и *in vitro* за счёт своеобразного, квази-каталитического антиоксидантного действия.

Известно, что фосфорорганические соединения (ФОС) занимают особое место в ряду загрязняющих веществ. Важнейшими среди ФОС являются производные алкилфосфоновых кислот, широко используемые в промышленности, медицине, сельском хозяйстве. Продуктами деструкции фосфорорганических отравляющих веществ и некоторых пестицидов, а также их метаболитами в биологических средах, являются метилфосфоновая кислота (МФК), ее соли и эфиры. В силу особой устойчивости МФК принято считать одним из важнейших маркеров содержания продуктов распада ФОС в природной среде. В работе [131] изучены биохимические показатели крови, мышц и печени у лабораторных мышей через 72 часа после подкожного введения МФК в высокой и низкой дозах (2 и  $10^{-15}$  мг·кг<sup>-1</sup>). Показано, что МФК оказывает достоверное влияние на показатели белкового, липидного и энергетического обменов при воздействии как высокой, так и низкой доз, действуя на антиоксидантную систему и приводя, в основном, к окислительной модификации белков.

Работа [94] посвящена исследованию воздействия физиологически активных веществ (ФАВ) в сверхмалых дозах в диапазоне  $10^{-15}$ - $10^{-4}$  М на состояние мембран клеток форменных элементов крови человека (эритроцитов, тромбоцитов, лимфоцитов) с целью изучения влияния потенциально токсичных соединений на

здоровье человека. В результате инкубирования клеток с растворами ФАВ методами ЭПР и дифференциальной сканирующей калориметрии было показано, что повреждающее воздействие сверхмалых доз ФАВ в отношении форменных элементов крови проявляется в изменении структуры мембран клеток эритроцитов и тромбоцитов и сопровождается изменением их физико-химических свойств (микровязкости, жесткости, полярности), нарушением термоустойчивости мембранных белков, изменением фосфолипидного состава, нарушением проницаемости мембран. Результаты исследования могут составить основу методологического подхода к обнаружению повреждающего действия малых доз ФАВ на форменные элементы крови человека и, кроме того, быть использованы для скрининг-отбора и изучения механизма действия лекарственных препаратов.

Анализ результатов изучения физико-химических и биологических свойств высокоразбавленных ( $10^{-9}$ - $10^{-23}$  М) растворов низкомолекулярных эндогенных белков [132, 133] позволил выдвинуть гипотезу механизма биологического действия сверхмалых концентраций, основная идея которой состоит в уникальной способности БАВ, вызывающих биоэффекты в этой области концентраций, «влиять на воду, содержащуюся в биологических жидкостях, и переводить её в состояние, отвечающее стадии восприятия информационного сигнала» [120].

Таким образом, в настоящее время наличие эффектов действия растворов низких концентраций веществ различной природы, ММ- и КВЧ-излучения на самые разные биологические объекты может рассматриваться как экспериментальный факт. Основной пробел в информации по данному вопросу, не смотря на существующие предположения [132, 133], связан с недостаточным пониманием механизмов их действия на молекулярном и структурном уровнях [44].

Выявление влияния высокоразбавленных растворов на многие характеристики живого - рост, размножение, физиологический статус; на различные фазы жизненного цикла - развитие эмбрионального и взрослого организма; функции - поведение и движение, позволяют сделать вывод о важности высокоразбавленных растворов для живых организмов. Эти исследования на организменном и тканевом уровне подтверждают необходимость учёта эффекта при выборе минимальной допустимой концентрации и охране экосистем от антропогенного воздействия. А обнаруженная утрата видоспецифичности эффекта у биологически активного вещества представляет

с точки зрения авторов [122] особый интерес, поскольку может являться одним из проявлений универсальной роли высокоразбавленных растворов. Одной из гипотез, которая может это объяснить - это возможная общность молекулярных механизмов, определяющих ответные реакции на эти дозы [122].

Таким образом, влияние высокоразбавленных растворов химических веществ и сверхслабых воздействий другой природы на биосистемы являются сугубо нелинейными, их изучение в современной науке, основанной на линейных представлениях, принципиально ограничено. Исследования в этом направлении в настоящее время активно развиваются во всём мире главным образом в экспериментально-накопительном режиме, но появление нелинейных концепций, безусловно, позволит их широко развернуть в ближайшем будущем [40]. Такая концепция, дающая физико-химическое обоснование возникновению немонотонных зависимостей биоэффектов, появлению «зоны молчания» и смены знака биоэффекта, была предложена и разработана в ИОФХ им. А.Е. Арбузова научным коллективом под руководством академика Коновалова А.И.

## **1.6 Образование наноассоциатов – ключ к решению проблем высокоразбавленных водных растворов**

Несмотря на постоянно нарастающий фактический материал, до недавнего времени «аномальные» изменения свойств водных систем, их биологическое действие в области низких концентраций растворенных веществ не получали должного физико-химического обоснования [134-138]. В обзоре [109] делается заключение, что ни один из предложенных подходов не может объяснить главного - «возможности реакций для столь малого количества молекул со своими мишенями».

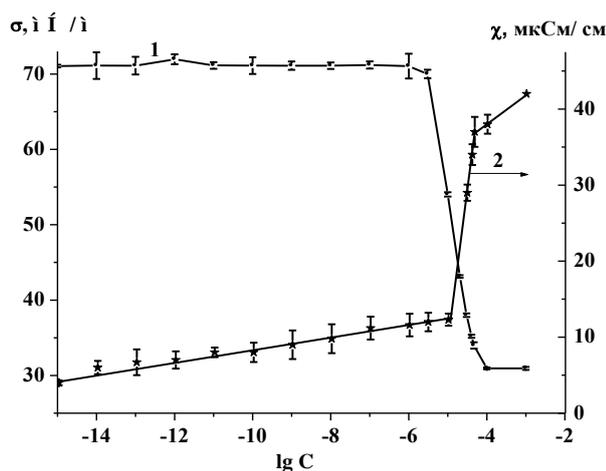
В 2008 г. на основании впервые полученных экспериментальных данных предложена гипотеза, согласно которой немонотонные концентрационные зависимости физико-химических свойств и биоэффектов разбавленных растворов БАВ обусловлены образованием и перестройкой наноразмерных молекулярных ансамблей – наноассоциатов, существующих в области высоких разбавлений [139], т.е. «в качестве действующего начала в биологических и физико-химических экспериментах выступают не отдельные молекулы БАВ, а пространственно организованные наноассоциаты, образованные с участием структур воды, благодаря

которым ультраразбавленные водные растворы характеризуются определенным набором физико-химических и биологических свойств, достоверно отличных от свойств используемой воды» [140]. Выполненное в последнее время масштабное, систематичное, комплексное исследование растворов веществ разной химической природы в широком интервале концентраций набором различных физико-химических методов в естественных условиях и в условиях пониженного уровня внешних электромагнитных полей (ЭМП) подтвердило это предположение [139-155].

Для объяснения аномальных изменений свойств и высокой физиологической активности разбавленных водных растворов совместно исследованы самоорганизация и физико-химические свойства растворов большого ряда соединений в широкой области расчетных концентраций от  $10^{-2}$  до  $10^{-20}$  М. Среди этих веществ есть антиоксиданты, регуляторы роста растений, нейромедиаторы, витамины, транквилизаторы, гормоны, другие лекарственные вещества, а также вещества, биологические свойства которых пока неизвестны.

С химической точки зрения в этом ряду представлены вещества различного строения: от простых молекул (например, глицин - простейшая аминокислота) до сложных макроциклических соединений типа каликсаренов. Растворы готовили методом последовательных десятичных разбавлений из исходного раствора с концентрацией вещества  $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-3}$  М, выдерживая растворы каждой концентрации после приготовления в течение 18-24 часов на лабораторном столе и в пермалловом контейнере. Применительно к высокоразбавленным растворам термин концентрация означает расчетную молярную концентрацию раствора [139-155]. В настоящее время стало очевидно, что соблюдение описанной процедуры приготовления растворов является одним из основных условий самоорганизации растворов. Этот экспериментальный факт подтверждается в работах [73-76, 79-81, 84, 140].

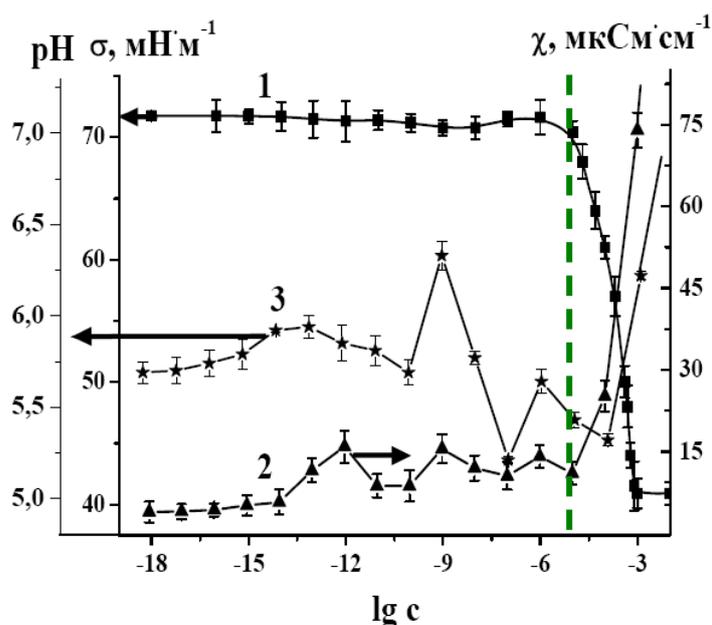
Одни из выводов состоит в том, что концепция бесконечно разбавленных растворов не универсальна. Все соединения по своему поведению в растворах низких концентраций разделились на две группы. Растворы одних соединений соответствуют этой концепции («классическое» поведение), а других — не соответствуют («неклассическое» поведение). Из числа изученных соединений к «классическим» относятся меньшинство (приблизительно 25%), а большинство ведут себя как «неклассические».



**Рисунок 1.19.** Концентрационная зависимость поверхностного натяжения (1) и удельной электропроводности (2) водных растворов триэтиламмониевой соли 2-гидрокси-4-додecil-2-оксо-6-хлорбензо[e]-1,2-оксафосфоринина, 25 °С [145].

«Классическое» поведение изученных растворов - это достижение раствором при определенной концентрации вещества свойств растворителя – воды. Дальнейшее последовательное разведение растворов с «классическим» поведением приводит к очень незначительным изменениям свойств растворов. Обычно достижение свойств воды (удельной электропроводности, рН, поверхностного натяжения и т.д.) происходит в интервале концентраций от  $10^{-5}$  до  $10^{-8}$  М. На рисунке 1.19 приведен пример «классического» поведения раствора триэтиламмониевой соли 2-гидрокси-4-додecil-2-оксо-6-хлорбензо[e]-1,2-оксафосфоринина [145].

Физико-химические свойства растворов большинства изученных соединений значительно изменяются при разбавлении.



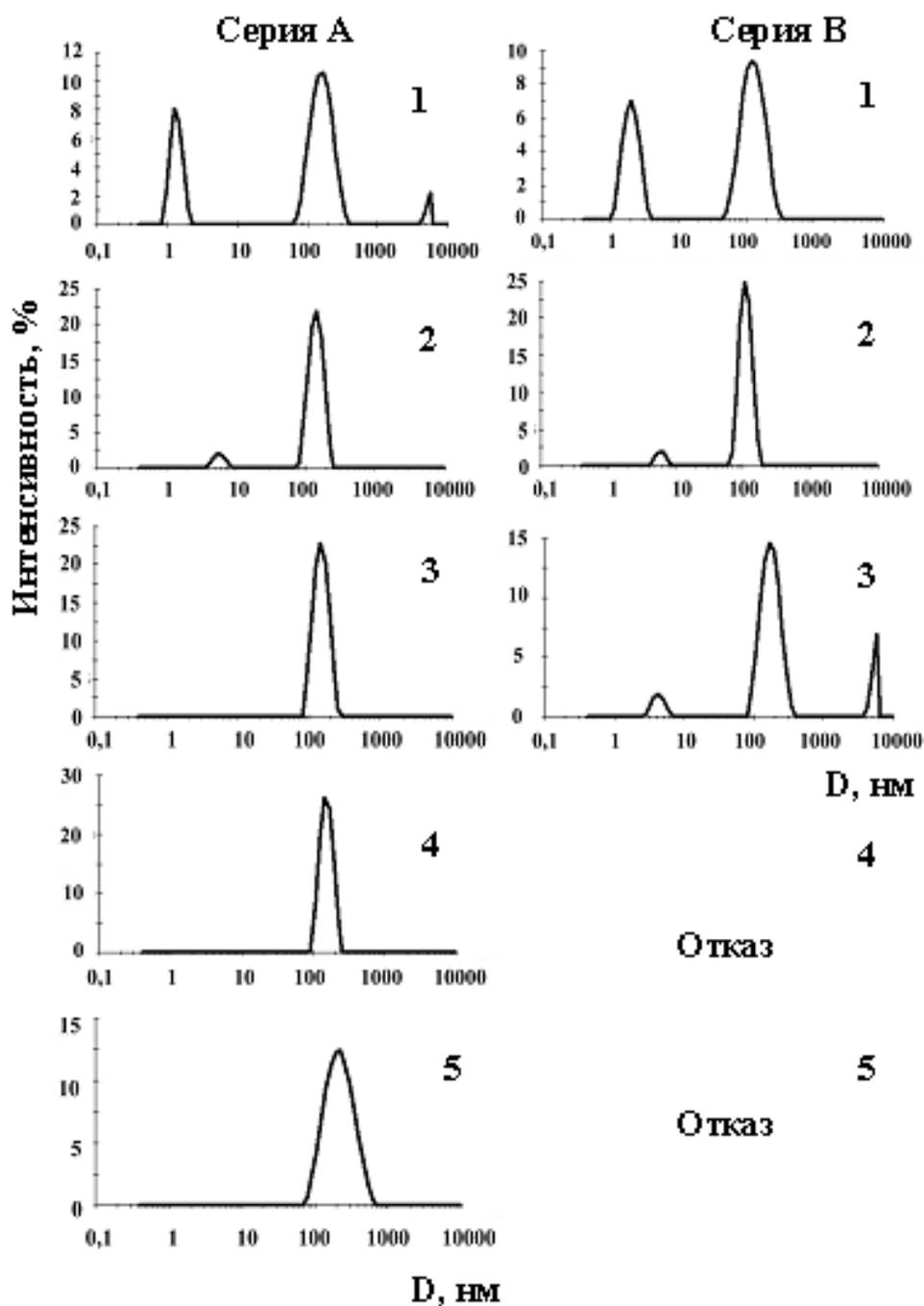
**Рисунок 1.20.** Зависимость поверхностного натяжения (1), удельной электропроводности (2) и pH (3) водных растворов БЦТА от концентрации, 25°C [140].

Основным общим признаком водных растворов соединений, демонстрирующих «неклассическое» поведение, является нелинейные концентрационные зависимости удельной электропроводности растворов в широкой области концентраций [139-155]. Нелинейные зависимости типичны и для другой характеристики водного раствора низких концентраций – pH. На рисунке 1.20 приведены концентрационные зависимости pH и удельной электропроводности раствора БЦТА, которые изменяются симбатно. Более подробно случай «неклассического» поведения высокоразбавленных растворов рассмотрим на примере растворов БЦТА ( $1 \cdot 10^{-20}$ - $1 \cdot 10^{-2}$  М).

Каковы же причины «неклассического» физико-химического поведения высокоразбавленных растворов? Ответ был получен в результате исследований растворов в широкой области концентраций большого ряда соединений методом динамического и электрофоретического рассеяния света (ДРС и ЭРС, анализатор Zeta-sizerNano-Z-S, MalvernInstr), который дает информацию о размерах и  $\zeta$ -потенциале частиц. Анализ данных ДРС позволил сделать вывод: в высокоразбавленных водных растворах с «неклассическим» поведением образуются наноразмерные молекулярные ансамбли, которые были названы «наноассоциатами» [141].

Известен ряд уникальных соединений – фенозан калия, ихфан С-10,  $\alpha$ -токоферол, растворы которых обладают «неклассическим» поведением. Их растворы характеризуются мономодальным распределением частиц по размерам во всем изученном интервале концентраций ( $1 \cdot 10^{-20}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ М). Существуют вещества, в водных растворах которых концентрационные интервалы, характеризующиеся мономодальным распределением частиц размером в сотни нм, чередуются интервалами с полимодальным распределением или «зоной молчания» [154]. Однако для большинства соединений «неклассического» поведения распределение по размерам в интервале обычных концентраций  $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-5}$  М бимодальное.

В растворах БЦТА по данным ДРС в интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-2}$  М растворы БЦТА характеризуются би- или мономодальным распределением частиц по размерам (рисунок 1.21). При концентрации  $1 \cdot 10^{-2}$  М в растворе образуется примерно одинаковое количество мицелл размером 4 нм и нанобъектов размером в сотни нм. С уменьшением концентрации содержание мицелл в растворе уменьшается, при  $1 \cdot 10^{-4}$  М они уже не регистрируются, так как критическая концентрация мицеллообразования БЦТА равна  $8 \cdot 10^{-4}$  М [35].



**Рисунок 1.21.** Распределение частиц по размерам в водных растворах БЦТА в концентрации  $1 \cdot 10^{-2}$  (1),  $1 \cdot 10^{-3}$  (2),  $1 \cdot 10^{-5}$  (3),  $1 \cdot 10^{-6}$  (4),  $1 \cdot 10^{-10}$  (5) М, выдержанных в естественных (А) и гипoeлектромагнитных (Б) условиях, 25 °С. После пороговой концентрации  $1 \cdot 10^{-5}$  М в растворах, выдержанных в пермаллоевом контейнере (В), частицы методом ДРС не обнаруживаются («Отказ») [140].

В области концентраций  $1 \cdot 10^{-14}$ – $1 \cdot 10^{-12}$  М распределение по размерам становится полимодальным, дальнейшее разбавление раствора до  $1 \cdot 10^{-20}$  М приводит к невозможности определения размера методом ДРС. Таким образом, по мере

уменьшения расчетной концентрации растворенного вещества содержание частиц небольшого размера закономерно снижается, в то время как содержание нанобъектов размером в сотни нм увеличивается. При определенной концентрации, которая зависит от природы вещества, частицы небольшого размера исчезают, в растворе присутствуют только нанобъекты размером в сотни нм.

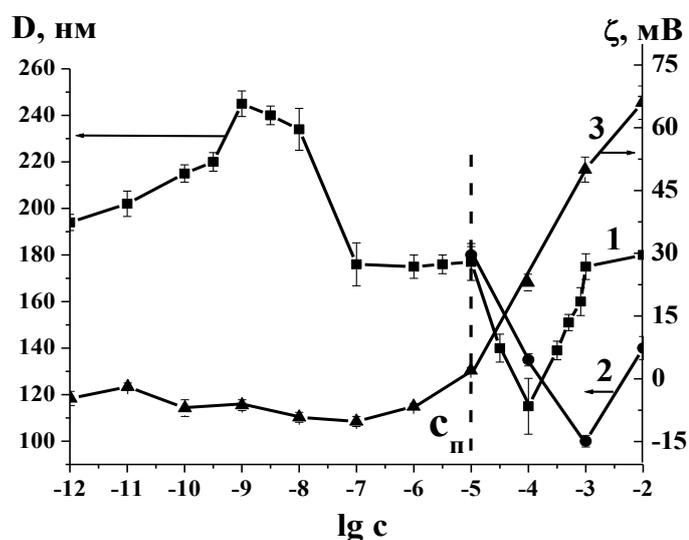
Отдельные характерные признаки – различный ход концентрационных зависимостей, наличие или отсутствие высокосвязанных корреляций между удельной электропроводностью растворов и параметрами частиц в интервалах обычных и низких концентраций – породило предположение о том, что природа нанобъектов размером в сотни нм, образующихся в диапазоне  $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-5}$  М, и частиц аналогичного размерного диапазона, образующихся при высоких разбавлениях растворов, различна [144-147].

Непосредственное доказательство основного различия таких частиц было найдено с помощью экранирующего пермаллового контейнера, который защищает содержимое от внешних ЭМП (рисунок 1.19 Серия В).

Применив новый подход исследования растворов, заключающийся в сравнительном изучении самоорганизации растворов в естественной и гипoeлектромагнитной среде, установлено основное различие нанобъектов размером в сотни нм, образующихся в интервалах обычных и низких расчетных концентраций: в интервалах концентраций  $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-5}$  М формирование нанобъектов практически не зависит от внешних ЭМП, они образуются как в естественной, так и в гипoeлектромагнитной среде, а в интервалах низких расчетных концентраций нанобъекты образуются только в естественной среде, т.е. только при воздействии внешних ЭМП. Найденный экспериментальный подход с обнаружением пороговой концентрации ( $c_n$ ) позволяет непосредственно определять интервалы концентраций, в которых образуются нанобъекты одинакового размерного диапазона – сотни нм, но различной природы.

С учетом вышесказанного нанобъекты размером в сотни нм, образующиеся в естественных условиях в растворе БЦТА ниже  $c_n$  ( $1 \cdot 10^{-12} - 1 \cdot 10^{-6}$  М), являются наноассоциатами, состоящими преимущественно из структур воды с особыми свойствами, для формирования которых требуется воздействие внешних ЭМП. Нанобъекты, образующиеся в интервале  $c_n - 1 \cdot 10^{-2}$  М, представляют собой,

вероятнее всего, супрамолекулярные домены, аналогичные описанным в работах [73-76]. В этом убеждает ряд общих признаков, описанных выше - размеры, стабильность во времени, кинетика образования, диапазон концентраций, метод обнаружения (ДРС). Из данных рисунок 1.19А и 1.19Б видно, что гипoeлектромагнитные условия влияют на размер супрамолекулярных доменов, образующихся в области концентраций БЦТА  $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-2}$  М, но не влияют на размер мицелл (рисунок 1.19 А и Б). Это свидетельствует о том, что в образовании доменов принимают участие также структуры воды, формирующие наноассоциаты.



**Рисунок 1.22.** Зависимости размеров частиц (1, 2) и  $\zeta$ -потенциала (3) в растворах БЦТА, выдержанных на лабораторном столе (1) и в пермаллоевом контейнере (2), от концентрации, 25 °С [140].

Изучение растворов БЦТА, выдержанных в гипoeлектромагнитных условиях, показало, что в области расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-12}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  М частицы в растворе не обнаруживаются, т.е. концентрация  $1 \cdot 10^{-5}$  М является пороговой (рисунок 1.22). Таким образом, в области концентраций  $1 \cdot 10^{-12}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  М в растворах БЦТА образуются наноассоциаты,  $\zeta$ -потенциал которых лежит в интервале от -2 до -10 мВ, а в области  $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-2}$  М – супрамолекулярные домены и мицеллы,  $\zeta$  -потенциал которых изменяется от 0 до +70 мВ (рисунок 1.22).

Изучение взаимосвязи между  $\zeta$ -потенциалом частиц и удельной электропроводностью растворов пиридин-пиррольного макроцикла [144,

гуанибифоса [146],  $\alpha$ -токоферола [147] методом корреляционного анализа выявило тесные зависимости между параметрами наноассоциатов и свойствами растворов в области низких концентраций. В таблице 1 приведены коэффициенты корреляции Пирсона ( $r$ ) и критические уровни значимости ( $p$ ) зависимости удельной электропроводности растворов антиоксидантов и  $\zeta$ -потенциала частиц, а также области концентраций, в которых эти зависимости найдены [152].

**Таблица 1.** Коэффициенты корреляции Пирсона ( $r$ ), критические уровни значимости ( $p$ ) зависимости удельной электропроводности растворов антиоксидантов и  $\zeta$ -потенциала частиц, а также области концентраций, в которых эти зависимости найдены [152].

<b>Антиоксидант</b>	<b>Область концентраций, М</b>	<b><math>r</math></b>	<b><math>p</math></b>
Фенозан калия	$10^{-20}$ - $10^{-3}$	0,843	0,000001
Ихфан С-10	$10^{-17}$ - $10^{-9}$	0,810	0,003
$\alpha$ -токоферол	$10^{-17}$ - $10^{-12}$	0,892	0,05

Обнаруженная взаимосвязь указывает на закономерный характер изменений физико-химических свойств при определяющей роли параметров наноассоциатов.

Таким образом, в растворах с «неклассическим» поведением образуются наноассоциаты, и именно образование наноассоциатов является причиной необычного поведения растворов низких концентраций, в том числе может быть причиной возникновения биоэффектов у таких растворов.

Следует отметить, что основные результаты изучения самоорганизации высокоразбавленных водных растворов, полученные в работах [139-155], как отмечается в обзорах [64, 65], хорошо согласуются данными, описанными нами выше (гл.1, п.1.3) и опубликованными разными исследовательскими группами [3, 4, 64, 65, 70, 73, 84] - размерный диапазон структур порядка сотен нанометров, отрицательный  $\zeta$ -потенциал, повышенная вязкость по сравнению с «объемной» водой, процедура приготовления растворов.

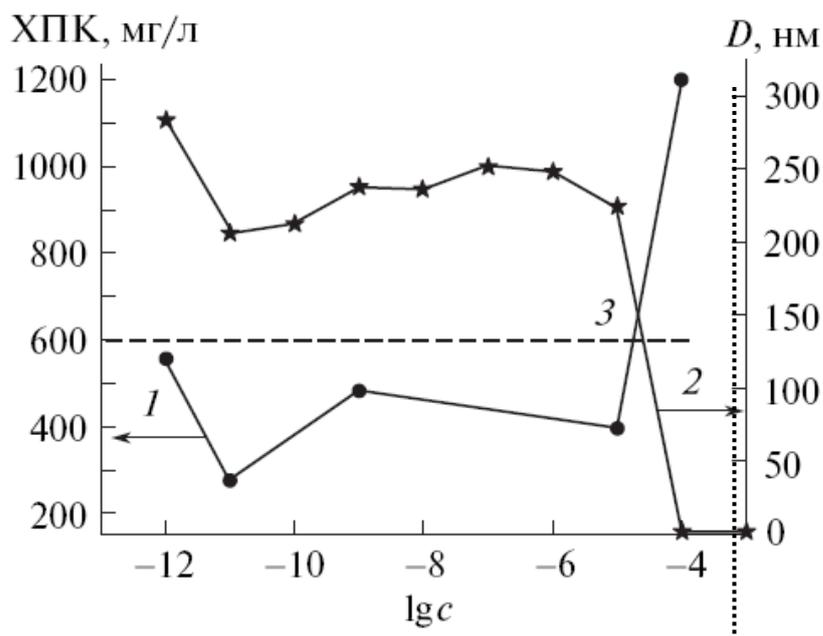
Как было отмечено выше, в последние годы в экспериментальных работах, посвященных изучению наногетерогенности, свойств воды и водных растворов,

наблюдаемые эффекты тракуются с привлечением КЭД [3, 22, 27,64, 84]. В работе [93] в рамках КЭД непротиворечиво объяснены многие наблюдаемые экспериментальные факты, касающиеся самоорганизации высокоразбавленных растворов [139-155]: необходимость присутствия низкочастотных ЭМП и растворенного вещества для образования и перестройки наноассоциатов, формирование наноассоциатов во времени, их размер, электрокинетический потенциал, возможность сосуществования в растворе агрегатов вещества, доменов и наноассоциатов, соблюдение процедуры разбавления растворов и т.д. Важно и то, что предсказанные КЭД немонотонные изменения физико-химических свойств растворов (удельная электропроводность, поверхностное натяжение, диэлектрическая проницаемость) установлены в работах [139-155] экспериментально.

Рассмотрим несколько примеров взаимосвязи самоорганизации высокоразбавленных растворов и появления биоэффектов. На рисунках 1.23 и 1.24 приведены концентрационные зависимости параметров частиц, образующихся в растворах  $\alpha$ -токоферола [147], гуанибифоса [146] и биоэффектов, наблюдающихся под действием растворов этих веществ. Как видно из данных этих рисунков, экстремальные проявления биоэффектов наблюдаются в тех же интервалах концентраций, в которых выявлены экстремальные параметры наноассоциатов и физико-химических свойств растворов. В работах [147, 153] выявлена взаимосвязь параметров наноассоциатов, удельной электропроводности растворов  $\alpha$ -токоферола и фенозана калия, а также физико-химических параметров липидного бислоя плазматических мембран (ПМ) клеток печени мышей, характеризующих изменения структурного состояния плазматических мембран под воздействием растворов этих веществ. Установлены тесные корреляции в интервале высоких разбавлений между параметром упорядоченности ( $S$ ) поверхностных областей липидов ПМ и размером наноассоциатов ( $D$ ), а также между микровязкостью глуболежащих областей ПМ и размером наноассоциатов. Аналогичные корреляции найдены между параметром  $S$  и удельной электропроводностью растворов, а также между микровязкостью липидов ПМ и электропроводностью растворов.



**Рисунок 1.23.** Зависимость степени ингибирования протеинкиназы С (1) и размера частиц (2) в растворах  $\alpha$ -токоферола от концентрации, 25°C [147].



**Рисунок 1.24.** Зависимость ХПК (1) сточной воды в присутствии растворов гуанибифоса и размеров частиц (2), образующихся в растворах гуанибифоса от концентрации, 3 – значение ХПК в контрольном образце, 25°C [146].

Полученные экспериментальные данные позволили разработать способ прогнозирования биоэффектов высокоразбавленных растворов БАВ на основе

наличия немонотонных концентрационных зависимостей параметров наноассоциатов и свойств растворов [155]. Основная идея прогноза биоэффектов в области низких концентраций базируется на впервые открытой закономерности: как правило, образование наноассоциатов и появление необычных физико-химических свойств растворов в области низких концентраций коррелирует с возникновением биоэффекта в этой области концентраций. Поэтому наличие нелинейных концентрационных зависимостей параметров наноассоциатов и физико-химических свойств растворов БАВ в области низких концентраций свидетельствует о возможности появления биоэффектов при воздействии растворов БАВ в этой области концентраций на какую-либо биосистему. Интервалы концентраций, в которых установлены экстремальные значения параметров частиц и свойств раствора, вероятнее всего, соответствуют интервалам концентраций, в которых биоэффект будет также максимальным.

Совокупность полученных экспериментальных данных позволяет считать, что открыто неизвестное ранее фундаментальное явление: образование в высоко разбавленных водных растворах под влиянием растворённого вещества и внешних электромагнитных полей молекулярных ансамблей — наноассоциатов. Именно образование наноассоциатов определяет свойства (и физико-химические, и биологические) высокоразбавленных водных растворов. Таким образом, образование наноассоциатов — ключ к пониманию поведения высоко разбавленных водных растворов.

В настоящее время на пути дальнейшего физико-химического обоснования действия высокоразбавленных растворов остается нерешенным ряд важных вопросов, например,

- образование наноассоциатов в диапазоне физиологически важных температур;
- влияние химического и пространственного строения растворенного БАВ на самоорганизацию высокоразбавленных растворов;
- взаимосвязь немонотонных зависимостей параметров наноассоциатов и физико-химических свойств растворов БАВ в области высоких разбавлений, позволяющая прогнозировать возникновение немонотонного профиля «концентрация-биоэффект» при воздействии растворов на биосистему, а также дающая возможность объяснения смены знака и «зоны молчания» на профиле биоэффекта и т.д.

В этой связи работа по изучению влияния температуры на самоорганизацию и свойства водных растворов БАВ различного химического и пространственного строения, а также накопление новых экспериментальных данных и их систематизация на основе более широкого круга объектов исследования, поиск ответов на поставленные вопросы, является весьма актуальной.

## ГЛАВА 2

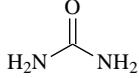
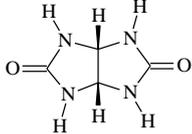
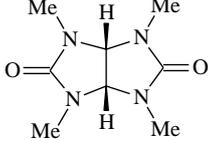
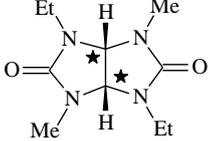
## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

## 2.1 Объекты исследования

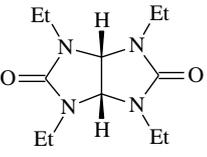
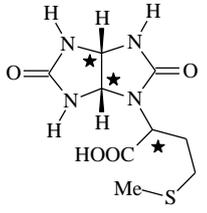
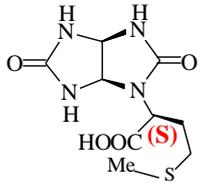
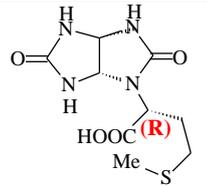
В качестве объектов исследования выбраны два ряда БАВ (**1-11**) и поверхностно-активное вещество БЦГА (**12**), обладающее бактериостатической активностью. К первому ряду относятся мочевины (**1**) как структурный фрагмент незамещенного гликольурилы (**2**), алкилированные аналоги гликольурилы (**3-5**) (соединение (**4**) в виде рацемата), среди которых 2,4,6,8-тетраметилгликольурил (**3** - транквилизатор мебикар), а также гликольурилы, содержащие фрагмент α-аминокислоты метионина - (*SR*)-Met (**6**), (*S*)-Met (**6a**) и (*R*)-Met (**6b**), представляющие собой рацемат **6** и энантимерно чистые диастереомеры **6a** и **6b**. Ко второму ряду относятся бензойная кислота (**7**) и ее производные (**8-11**), среди которых лекарственные препараты - салициловая (**8**, СК), *n*-аминобензойная (**9**, ПАБК), ацетилсалициловая (**10**, аспирин), *n*-аминосалициловая (**11**, ПАСК) кислоты.

## 2.1.1 Мочевина, гликольурил и его алкилированные производные

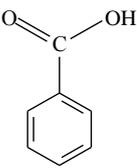
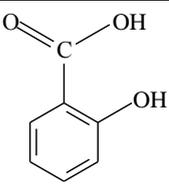
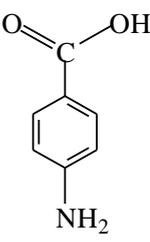
Образцы **2-6** предоставлены проф. А.Н. Кравченко (ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН). Соединения синтезированы с использованием методик [156, 157]. Данные ИК- и ЯМР<sup>1</sup>H-спектров соответствовали приведенным в работах [156, 157].

Название соединения 1	Формула 2
<b>1.</b> Мочевина (диамид угольной кислоты)	
<b>2.</b> 2,4,6,8-тетразабицикло[3.3.0]-октан-3,7-дион	
<b>3.</b> 2,4,6,8-тетраметил-2,4,6,8-тетразабицикло[3.3.0]-октан-3,7-дион (мебикар)	
<b>4.</b> 2,6-диметил-4,8-диэтил-2,4,6,8-тетразабицикло[3.3.0]-октан-3,7-дион	

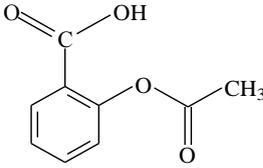
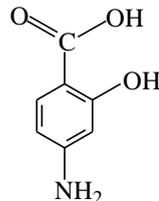
Продолжение таблицы

1	2
<b>5.</b> 2,4,6,8-тетраэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]-октан-3,7-дион	
<b>6.</b> (SR)-2-(3,7-диоксо-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]окт-2-ил)-4-метилтио-бутановая кислота (рацемат)	
<b>6а.</b> (+)-(S)-2-[(1R,5S)-(3,7-диоксо-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]окт-2-ил)-4-метилтио-бутановая кислота (энантимерно чистый диастереомер)	
<b>6б.</b> (-)-(R)-2-[(1S,5R)-(3,7-диоксо-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]окт-2-ил)-4-метилтио-бутановая кислота(энантимерно чистый диастереомер)	

### 2.1.2 Бензойная кислота и её производные

Название кислоты	Формула	Производитель	$pK_a$ [158]
1	2	3	4
<b>7.</b> Бензойная		марка “х.ч.”, 99% чистоты	4,19
<b>8.</b> 2-гидроксибензойная		«Acros», 99% чистоты	$pK_1=2,97$ (18 °С, вода) $pK_2=13,40$ (19 °С, вода)
<b>9.</b> 4-аминобензойная		«Lancaster», 99% чистоты	$pK_1 = 3$ (25 °С, вода) $pK_2 = 13,82$ (20 °С, вода)

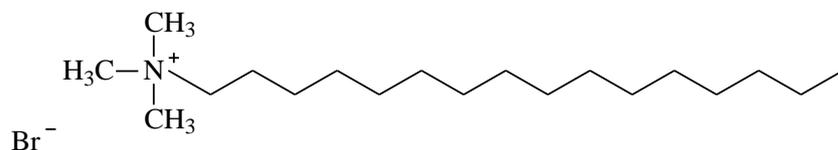
Продолжение таблицы

1	2	3	4
10. 2-ацетооксибензойная		марка "ч.д.а.", 99% чистоты	3,48
11. 4-амино-2-гидроксибензойная		«Acros», 99% чистоты	-

Молекулы приведенных соединений в одномолярном водном растворе присутствуют в форме анионов [158]. Образцы использовались без дополнительной очистки.

### 2.1.3 Бромид цетилтриметиламмония (БЦТА)

В работе исследовались растворы БЦТА (12) фирмы «Aldrich», 99% чистоты. Данное соединение использовалось без дополнительной очистки.



12

### 2.2 Приготовление растворов

Навеска вещества для приготовления исходного раствора рассчитывалась по формуле:

$$m = \frac{c \cdot V \cdot M}{1000} \quad (2.1)$$

где  $m$  – масса вещества в граммах;  $M$  – молекулярная масса вещества,  $c$  – концентрация вещества в исходном растворе, М;  $V$  – объем растворителя, мл.

Навеску вещества определяли на высокоточных весах НТ фирмы «Vibra», на базе датчика Tuning Fork. Предел допускаемой погрешности прибора  $\pm 0.5$  мг.

Исходный раствор получали растворением в воде рассчитанной навески вещества в мерной колбе.

Для приготовления растворов использовалась только свежеприготовленная бидистиллированная вода, в которой анализатором Zetasizer Nano ZS («Malvern Instruments», Великобритания) фиксировалось полное отсутствие каких-либо частиц. Удельная электропроводность такой воды не превышала  $1.5 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$ . Концентрации рабочих растворов достигались путем последовательных десятичных разбавлений исходного раствора вещества в концентрации  $1 \cdot 10^{-2}$  или  $1 \cdot 10^{-3}$  М. Так для приготовления раствора с концентрацией  $1 \cdot 10^{-4}$  М пипеткой отбирали аликвоту объемом 1 мл из приготовленного за сутки раствора с концентрацией  $1 \cdot 10^{-3}$  М. Отобранную аликвоту помещали в чистую колбу объемом 15 мл с крышкой и добавляли 9 мл свежеприготовленной бидистиллированной воды. Полученный раствор закрывали крышкой, перемешивали с помощью минишейкера «IKA lab dancer» в течение 2 минут и оставляли на лабораторном столе на 20 часов. Аналогичная процедура повторялась для приготовления растворов каждой последующей концентрации. На следующий день перед измерением рабочие растворы выдерживались в течение 1-2 часов в условиях термостатирования при  $25 \pm 0,1$  °С. В «холостых» опытах с бидистиллированной водой, имитирующих процедуру последовательного разбавления растворов, в условиях эксперимента достоверное образование частиц и изменения физико-химических свойств воды не наблюдалось.

Используемый в работе термин концентрация применительно к высокоразбавленным растворам ( $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-6}$  М) означает расчетную концентрацию. Растворы каждой концентрации готовились в пяти образцах, для каждого образца проводились как минимум 3-х кратные измерения. Результаты исследования самоорганизации и физико-химических свойств высокоразбавленных растворов мексикара, гликольурилы с фрагментами (SR)- и (S)-метионина, СК и ПАБК воспроизводились как минимум в 2-х независимых сериях в течение года.

Смешанные растворы БЦТА и ТЕМПО готовились таким образом, что концентрация ТЕМПО в них оставалась постоянной, а концентрация БЦТА изменялась. Для приготовления такого раствора нужной концентрации ТЕМПО и БЦТА в колбу приливали сначала аликвоту раствора БЦТА, затем аликвоту раствора

ТЕМПО и доводили раствор свежеприготовленной бидистиллированной водой до нужного объема, который обычно составлял 10 мл. Колбу закрывали крышкой, перемешивали и оставляли полученный смешанный раствор на лабораторном столе в течение 20 часов, как и индивидуальные растворы.

Изучение влияния температуры в интервале 30-45 °С на самоорганизацию и физико-химические свойства растворов проводили комплексом физико-химических методов после выдерживания рабочих растворов при заданной температуре в течение 5-7 часов перед измерением.

### **2.3 Изучение влияния пониженного уровня внешних низкочастотных электромагнитных полей**

Разработанная методика изучения высокоразбавленных растворов включает использование термообработанного трехслойного цилиндрического пермаллового контейнера, защищающего содержимое от внешних низкочастотных электромагнитных полей (ЭМП) (гипоэлектромагнитные условия) с коэффициентом экранирования около 1000.

Изучение влияния пониженного уровня ЭМП на водные растворы исследуемых веществ в широкой области расчетных концентраций проводилось сопоставлением данных по параметрам частиц и физико-химическим свойствам для двух параллельных серий одного и того же раствора при трехкратной повторяемости каждого опыта. В первой серии рабочие растворы прежде, чем быть исследованными, были выдержаны в течение 20 часов в пермалловом экранирующем контейнере, а во второй серии – в естественных условиях на лабораторном столе. Далее растворы первой и второй серии исследовались комплексом физико-химических методов.

Эта методика позволила впервые получить доказательства различной природы структур размером в сотни нм, образующихся в растворах в диапазоне  $1 \cdot 10^{-1} - 1 \cdot 10^{-7}$  М, и частиц аналогичного размерного диапазона, но существующих в областях более высоких разбавлений растворов. Найдено, что образование наноассоциатов происходит только при выдерживании высокоразбавленных ( $10^{-20} - 10^{-6}$  М) растворов некоторых биологически активных веществ в естественных условиях. В растворах, выдержанных в гипоэлектромагнитных условиях, расчетные концентрации которых ниже концентрации, названной пороговой ( $c_p$ ), наноассоциаты не образуются,

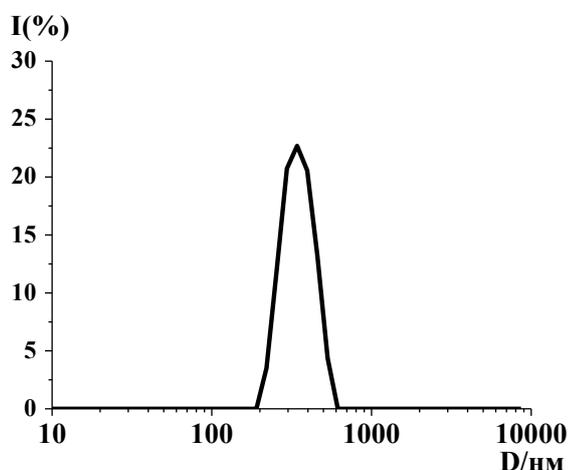
свойства растворов соответствуют свойствам растворителя - воды. Описание установления  $c_{п}$  представлено в разделе 3.1 (рисунки 3.2 и 3.19).

## 2.4 Методы исследования

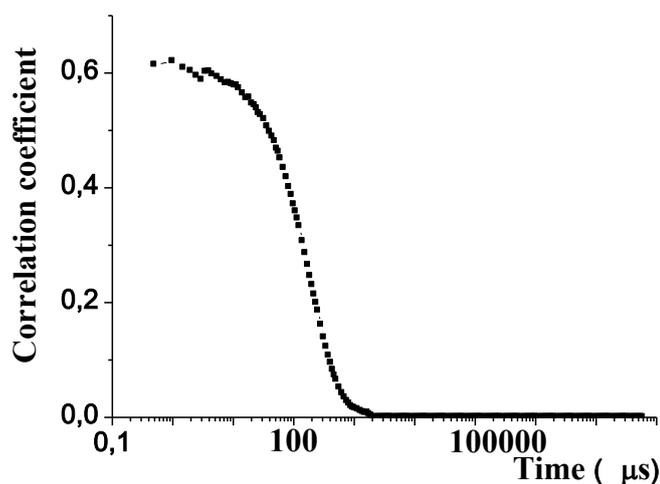
### 2.4.1 Динамическое рассеяние света

В основе метода динамического рассеяния света (ДРС; Dynamic light scattering - DLS) лежит анализ флуктуаций интенсивности света, рассеянного частицами, находящимися в состоянии хаотического Броуновского движения. В результате анализа флуктуаций определяется коэффициент диффузии и рассчитывается характерный размер частиц. Это абсолютный метод, поскольку не требует калибровки с использованием других методов, применим для частиц с размерами от 0,6 нм до 6 мкм [159, 160, 37].

Размер (эффективный гидродинамический диаметр кинетически подвижной частицы в максимуме кривой распределения,  $D$ ) частиц в водных растворах исследуемых веществ изучали на высокочувствительном анализаторе Zetasizer Nano ZS («Malvern Instruments», Великобритания). Источником монохроматического поляризованного света служил гелий-неоновый лазер с фиксированной длиной волны 632,8 нм, мощностью 10 мВт [159]. Процедура пробоподготовки образцов проводилась согласно руководству по эксплуатации анализатора «Malvern Zetasizer Nano ZS» [159, 160]. Для «обеспылевания» растворы пропускали через одноразовые фильтры (Iso-Disc N-25-4 Nylon, 0,45  $\mu\text{m}$  «Supelco», США).



**Рисунок 2.1.** Распределение частиц по размерам ( $D$ , нм), полученное при исследовании водного раствора **6a** в концентрации  $1 \cdot 10^{-10}$  М.



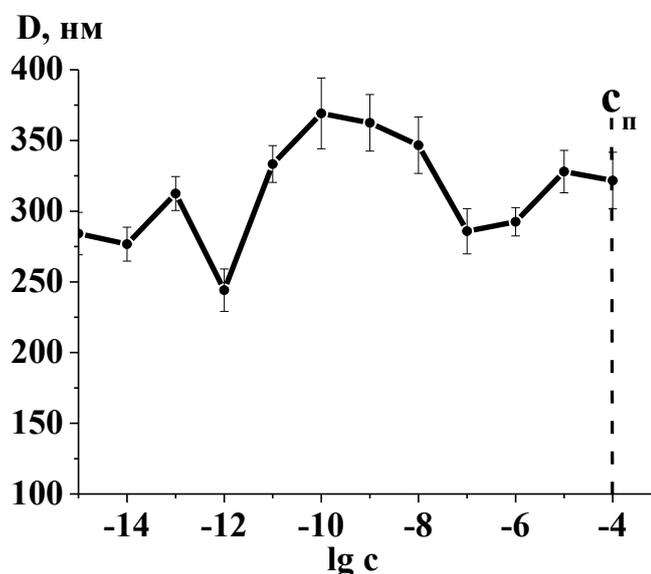
**Рисунок 2.2.** Автокорреляционная функция, полученная при исследовании водного раствора **ба** в концентрации  $1 \cdot 10^{-10}$  М.

В качестве примера на рисунке 2.1 приведено распределение частиц по размерам ( $D$ , нм), а на рисунке 2.2 - автокорреляционная функция, полученные при исследовании водного раствора **ба** в расчетной концентрации  $1 \cdot 10^{-10}$  М первой серии, выдержанной в естественных условиях.

В высокоразбавленных растворах мебикара, гликольурила с фрагментами ( $RS$ )- и ( $S$ )-метионина, СК, ПАБК, БЦТА, способных к самоорганизации, методом ДРС обнаружены частицы размером в сотни нм при интенсивности светорассеяния 100-80 % (ИПД 0,2-0,6) (см. раздел 3.2, например, рисунок 3.2 *b, f, j, n*), что свидетельствует о возможности описания совокупности размеров частиц в реальной системе с помощью усредненного диаметра ( $D$ ) и построения соответствующих зависимостей от разбавления (см. раздел 3.2, например, рисунок 3.6) и температуры (см. раздел 3.2, например, рисунок 3.26) раствора. Полученные для каждой концентрации или температуры средние значения параметров частиц легли в основу построения соответствующих зависимостей с указанием доверительного интервала.

Статистическая обработка результатов производилась методом параметрической статистики с помощью компьютерных программ Microsoft Excel при статистической надежности 95% [161]. С целью получения достоверных и воспроизводимых результатов изучение высокоразбавленных растворов мебикара, гликольурила с фрагментами ( $SR$ )- и ( $S$ )-метионина, СК и ПАБК проводилось как

минимум в 2-х независимых сериях в течение года. Ошибки измерения параметров частиц лежали в интервале от 2 до 20 % в зависимости от степени разбавления и природы вещества. Расчет ошибок измерения размера частиц ( $D$ ) представлен в приложении к диссертации.



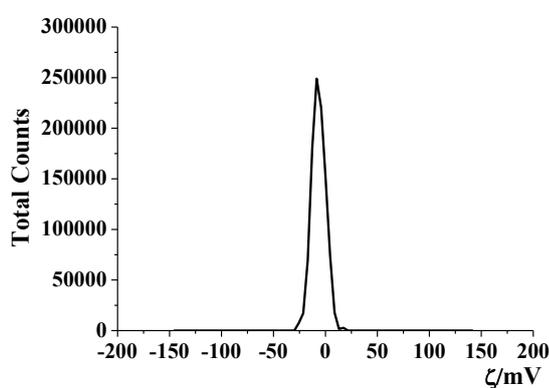
**Рисунок 2.3.** Зависимость размера частиц в водных растворах **ба** от концентрации, 25°C. Здесь и далее  $c_p$  – пороговая концентрация.

На рисунке 2.3 в качестве примера приведена зависимость размера частиц с указанием доверительного интервала в водных растворах **ба** первой серии, выдержанной в естественных условиях. Изучение растворов **ба**, выдержанной в пермалловом экранирующем контейнере, позволило найти пороговую концентрацию ( $c_p$ ), представленную на рис.2.3.

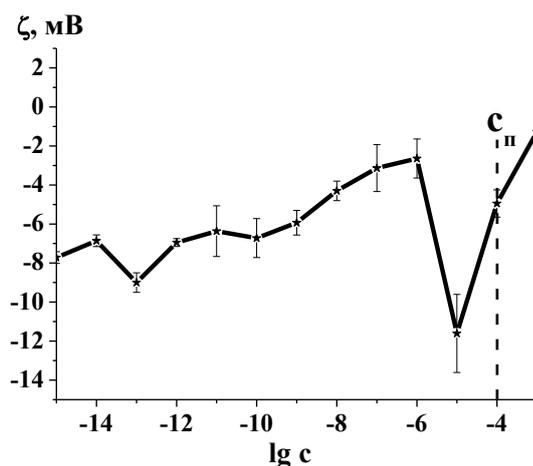
#### 2.4.2 Электрофоретическое рассеяние света

Электрокинетический потенциал ( $\zeta$ -потенциал – электрический потенциал кинетически подвижной частицы на границе скольжения в постоянном электрическом поле) [37] исследовался на высокочувствительном анализаторе Zetasizer Nano ZS («Malvern Instruments»), который позволяет просто и быстро осуществлять измерения  $\zeta$ -потенциала с высокой степенью воспроизводимости [159, 160].

Определение  $\zeta$ -потенциала основано на измерении электрофоретической подвижности частиц с использованием эффекта Доплера. Раствор помещают в электрическое поле, под воздействием которого частицы перемещаются со скоростью, зависящей от их  $\zeta$ -потенциала. Эту скорость измеряют с помощью запатентованной технологии M3-PALS (рассеяние света с фазовым анализом). Она позволяет рассчитать электрофоретическую подвижность, а из нее –  $\zeta$ -потенциал и распределение  $\zeta$ -потенциала [159, 160]. На рисунке 2.4. представлено распределение  $\zeta$ -потенциала частиц, полученное при исследовании водного раствора **ба** при концентрации  $1 \cdot 10^{-12}$  М.



**Рисунок 2.4.** Распределение  $\zeta$ -потенциала частиц в водном растворе **ба** при концентрации  $1 \cdot 10^{-12}$  М, 25°C.



**Рисунок 2.5.** Зависимость  $\zeta$ -потенциала частиц водного раствора **ба** от концентрации, 25°C.

На рисунке 2.5 приведена концентрационная зависимость  $\zeta$ -потенциала частиц с указанием доверительного интервала, образующихся в водных растворах **ба**,

выдержанных в естественных условиях. Относительная ошибка измерения  $\zeta$ -потенциала частиц лежит в интервале от 4 до 20 %. Расчет ошибок измерения  $\zeta$ -потенциала представлен в приложении к диссертации.

### 2.4.3 Метод анализа траектории наночастиц (АТН)

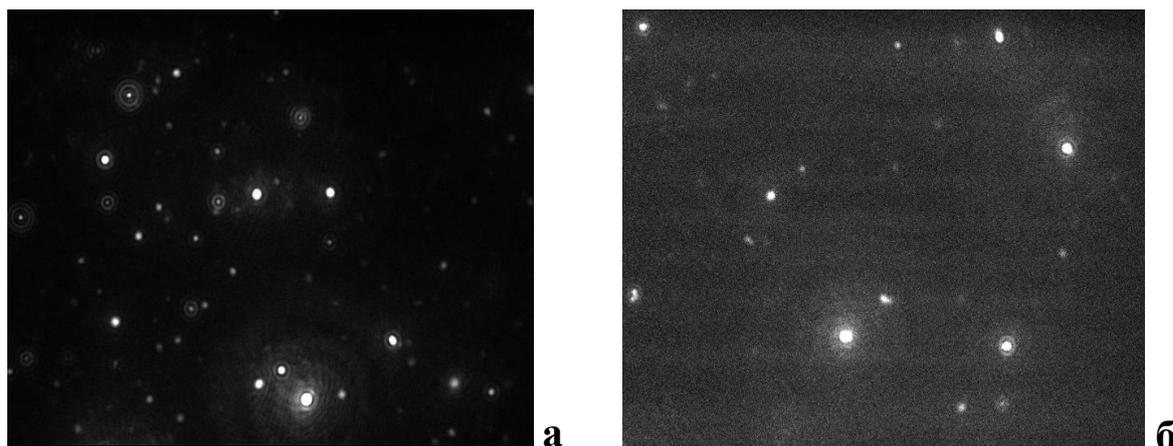
Образование частиц диаметром в сотни нм в высокоразбавленных растворах подтверждено методом анализа траектории наночастиц (АТН) на анализаторе «Nanosight LM 10» («NanoSight», Великобритания), в конфигурации HS-BF, позволяющим также найти число частиц в 1 мл раствора и визуализировать их.

В основе метода АТН лежит наблюдение за броуновским движением отдельных наночастиц путем освещения образца сфокусированным лазерным лучом. Наночастицы при этом ведут себя как точечные рассеиватели и выглядят как светлые пятна на темном фоне. Высокочувствительная камера записывает видео броуновского движения центров этих пятен. Видеозапись в реальном времени передается на персональный компьютер для обработки - выделения отдельных наночастиц на каждом кадре и отслеживания перемещений частиц между кадрами. Скорость броуновского движения, выраженная в виде среднеквадратичного смещения частицы за определенное время, связана с размером частицы уравнением Стокса-Эйнштейна. Вторым измеряемым параметром является концентрация каждой из фракций наночастиц. Метод АТН может применяться для частиц в диапазоне от 10 нм до 1 мкм, с концентрацией частиц от  $10^7$  до  $10^9$  в миллилитре раствора, является абсолютным и не требует калибровки. Использованный прибор «Nanosight LM10 HS-BF» оснащен лазерным источником с длиной волны 405 нм и мощностью 65 мВт, высокочувствительной камерой типа EMCCD Andor Luca. Измерения проводили в соответствии с рекомендациями стандарта ASTM E2834 – 12 [162]. Обработку видеозаписей броуновского движения производили с использованием программного обеспечения NTA 2.3 («Nanosight», Великобритания). Растворы фильтровали через фильтры (Iso-Disc N-25-4 Nylon, 25 мм × 0,45 мкм, Supelco, США).

Методом АТН были исследованы растворы БЦТА в концентрациях  $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-7}$  М. Показано, что в интервале концентраций БЦТА от  $1 \cdot 10^{-2}$  до  $1 \cdot 10^{-4}$  М в растворе визуализируются частицы, размер которых составляет десятки и сотни нанометров, а число этих структур превышает  $10^{10}$  частиц в 1 мл раствора. Хотя метод АТН при

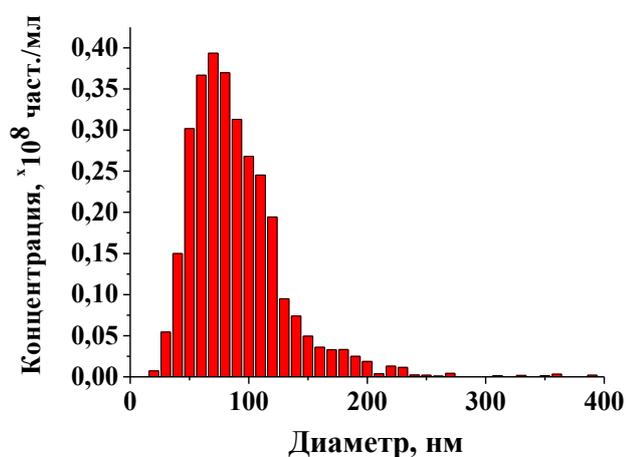
концентрации частиц, превышающей  $10^{10}$  частиц в 1 мл, и не позволяет точно определить размер и число образующихся структур, однако достоверно подтверждает формирование в этом интервале концентраций БЦТА частиц, средний размер которых оценивается в сотни нанометров.

В качестве примера на рисунке 2.6 *а*, *б* приведены изображения, полученные при исследовании раствора БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$  и  $1 \cdot 10^{-7}$  М.



**Рисунок 2.6.** Изображения частиц растворов БЦТА, полученные методом АТН, при концентрациях БЦТА, равных  $1 \cdot 10^{-3}$  М (*а*) (уровень камеры 12) и  $1 \cdot 10^{-7}$  М (*б*) (уровень камеры 16), 25°C.

На рисунке 2.7 представлена гистограмма распределения количества частиц по размерам, полученная для раствора БЦТА в концентрации  $1 \cdot 10^{-7}$  М.



**Рисунок 2.7** Гистограмма распределения количества частиц по размерам в растворе БЦТА при концентрации  $1 \cdot 10^{-7}$  М, полученные методом АТН.

В растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-5}$  и  $1 \cdot 10^{-7}$  М фиксируется одинаковое число частиц:  $3 \cdot 10^8$  в 1 мл раствора (рисунок 2.6 б). Размер частиц находится в интервале от 40 до 300 нм, средний гидродинамический диаметр составляет приблизительно 120 нм. Установленные значения числа и размеров частиц в растворах с концентрациями  $1 \cdot 10^{-5}$  М и  $1 \cdot 10^{-7}$  М являются оптимальными для анализа и достоверной статистики по числу и размеру наночастиц методом АТН.

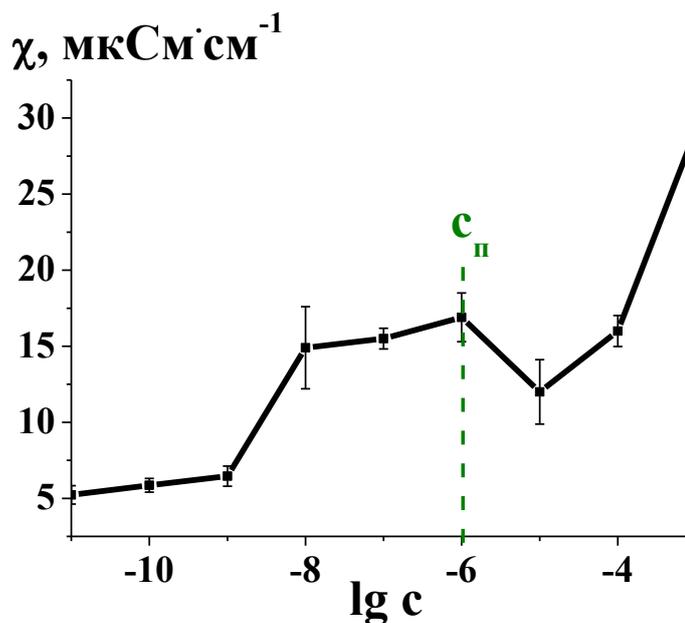
Результаты, полученные методом АТН, хорошо согласуются с данными ДРС, в соответствии с которым в растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-5}$  –  $1 \cdot 10^{-7}$  М фиксируются супрамолекулярные домены и наноассоциаты размером от 60 до 400 нм и средним диаметром около 170 нм, практически не меняющимися в этом интервале концентраций (см. раздел 3.2 рисунок 3.27 а, d, g, j). В свежеприготовленной бидистиллированной воде частиц не обнаружено.

Исследование растворов методом АТН было проделано совместно с ассистентом Е.Г. Евтушенко (Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова).

#### 2.4.4 Кондуктометрия

Удельную электропроводность растворов ( $\chi$ , мкСм·см<sup>-1</sup>) измеряли на кондуктометре inoLab Cond Level 1 фирмы «WTW» (относительная погрешность измерения прибора – 0.5 %). Измерительная ячейка 0,1 см<sup>-1</sup> позволяет определять электропроводность раствора от 0.0 до 200 мкСм·см<sup>-1</sup>. Константа ячейки составляет  $C = 0.472$  см<sup>-1</sup>. Растворы каждой концентрации готовились в пяти образцах, для каждого образца проводились как минимум 3-х кратные измерения. Исследование физико-химических свойств высокоразбавленных растворов мебикара, гликольурила с фрагментами (SR)- и (S)-метионина, СК и ПАБК проводили в 2-х независимых сериях в течение года.

На рисунке 2.8 в качестве примера приведена концентрационная зависимость удельной электропроводности с указанием доверительных интервалов для растворов ПАБК, выдержанных в естественных условиях. Методом кондуктометрии были также изучены растворы ПАБК, выдержанные в пермаллойевом экранирующем контейнере. В растворах второй серии с расчетной концентрацией ниже  $c_n$  значение удельной электропроводности близко к значению удельной электропроводности растворителя – воды (см. раздел 3.2, рисунок 3.24).



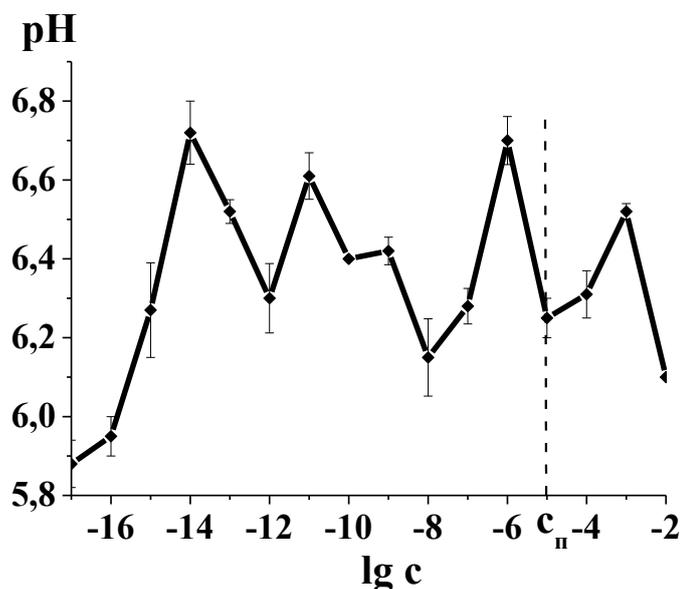
**Рисунок 2.8.** Зависимость удельной электропроводности водного раствора ПАБК от концентрации, 25°C.

Относительные ошибки измерения удельной электропроводности изученных растворов лежат в интервале 2-15%. Расчет ошибок измерения удельной электропроводности проводился согласно [161] и представлен в приложении к диссертации.

#### 2.4.5 pH-Метрия

Определение pH растворов осуществляли на ионметре InoLab pH 720 (WTW) (точность прибора – 0.005 ед. pH) в условиях термостатирования 25±0.1°C. Стекланный электрод ЭКС-10301 (WTW) (точность ±0.2 pH) калибровали по трем буферным растворам: pH=4.1±0.5, pH=7.0±0.5 и pH=10.01±0.5 (WTW). Растворы каждой концентрации готовились в пяти образцах, для каждого образца проводились как минимум 3-х кратные измерения. На рисунке 2.9 в качестве примера приведена концентрационная зависимость pH с указанием доверительных интервалов растворов 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы, выдержанной в естественных условиях, от концентрации. Методом pH-метрии также изучены растворы 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы, выдержанные в пермалловом экранирующем контейнере. Относительная ошибка измерения pH растворов составляет от 5 до 12 %. Расчет

ошибок измерения рН проводился согласно [161] представлен в приложении к диссертации.



**Рисунок 2.9.** Зависимость рН водного раствора 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы от концентрации, 25°C.

#### 2.4.6 Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спиновых меток

Спектры ЭПР записывали на спектрометре ЭПР X-диапазона Bruker Eleksys E500. Исследуемые растворы помещались в цилиндрическую ампулу с внутренним диаметром 1 мм. В работе использован классический спиновый зонд 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО) (Sigma) с постоянной рабочей концентрацией  $5 \cdot 10^{-4}$  М [163]. Режим измерения - Rapid-scan. Температура эксперимента 299-318 К с шагом в 1 градус. Проведено три параллельных опыта для определения времени корреляции вращательной диффузии ( $\tau_{кор}$ ) спиновой метки. Относительная ошибка эксперимента лежала в интервале 15-20%.

Вычисление коэффициента Пирсона для линеаризованных участков на зависимости время корреляции вращательной диффузии ( $\tau_{кор}$ ) от температуры проводилось с помощью компьютерной программы OriginLab 6.0.

Исследование растворов было проделано совместно с м.н.с. А.И. Литвиновым и д.х.н. М.К. Кадиловым (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН).

### 2.4.7 УФ-спектроскопия

УФ – спектры записывались на спектрометре «Lambda 35» (Perkin Elmer, США) в интервале длин волн 200-700 нм. Для исследования растворов в интервале от  $1 \cdot 10^{-5}$  до  $6 \cdot 10^{-5}$  М использовали кюветы толщиной 1 см. Молярный коэффициент поглощения ( $\epsilon$ ) в максимуме полос поглощения вычисляли из уравнения  $\epsilon = \lg(I_0/I) / c \cdot l$ , где  $\lg(I_0/I)$  – оптическая плотность в максимуме полосы,  $c$  – концентрация раствора (М),  $l$  – толщина кюветы (см) аналогично [164, 203].

Исследование было проделано совместно со с.н.с. А.В. Черновой (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН).

Полные УФ-спектры поглощения растворов салициловой кислоты приведены в Приложении к диссертации.

### 2.5 Биологические эксперименты

Исследование биологической активности водных растворов салициловой и *n*-аминобензойной кислот проводили по стандартной методике [165] на биоценозе активного ила, который используется для очистки сточных вод производства ОАО «Казаньоргсинтез». Сточная вода производства ОАО «Казаньоргсинтез», поступает на биологическую очистку в аэротенки после предварительной нейтрализации и характеризуется значениями, представленными в таблице 2.1.

Активный ил представляет собой мелкие хлопья темно-коричневого цвета. Концентрация (доза) ила по абсолютно сухому веществу (АСВ) составляла в среднем от 1 до 2 г/дм<sup>3</sup>, иловый индекс – 60-80 см<sup>3</sup>/г.

**Таблица 2.1.** Физико-химические показатели сточных вод ОАО «Казаньоргсинтез»

Показатели	Единицы измерения	Значение
ХПК	мгО <sub>2</sub> /л	500-900
Фенол	мг/л	2-4
Этиленгликоль	мг/л	40-90
неионогенные СПАВ	мг/л	2-6
рН	-	6,5-7,5

Индикатором очистки сточной воды служит параметр «химическое потребление кислорода» (ХПК, мг·л<sup>-1</sup>). ХПК отражает количество кислорода, необходимое для полного окисления содержащихся в воде органических и неорганических веществ, значения ХПК связаны прямо пропорциональной зависимостью с загрязнением сточной воды. После определения исходного показателя ХПК, все колбы (контрольные и с добавкой исследуемого раствора) устанавливали на шейкер-качалку с целью лучшего поступления кислорода воздуха в исследуемый раствор. Значения ХПК параллельно определяли через каждый час в течение 5 ч как в контрольных образцах, содержащих только сточную воду и активный ил, так и в образцах с добавлением растворов салициловой и *n*-аминобензойной кислот. Все значения ХПК переводили в относительные единицы, полученные нормированием значений ХПК в эксперименте относительно значения ХПК в контрольном опыте. При изучении скорости очистки сточных вод было показано, что наиболее информативными и значимыми являются показатели ХПК к 4-ому часу исследования, так как именно в этом временном интервале наблюдались наибольшие изменения. Степень очистки воды в системах к 4-ому часу составляла  $\geq 60\%$ , поэтому для анализа концентрационной зависимости ХПК использовали значения, полученные через 4 часа. Пример расчета ошибок определения ХПК проводился согласно [165] и представлен в приложении к диссертации.

Для изучения действия растворов БЦТА в интервале  $1 \cdot 10^{-12}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М на рост бактерий *in vitro* в качестве тест-объекта использовали культуру грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 6633, полученную из Всероссийской коллекции микроорганизмов (Москва). Для культивирования тест-культуры использовали жидкую питательную среду (бульон Хоттингера) [166]. Бактериальная нагрузка в опыте составляла  $1 \cdot 10^4$  микробных тел в 1 мл. Посевы инкубировали при 37 °С в течение 12–16 часов при постоянном перемешивании. После окончания инкубации проводили измерение оптической плотности суспензии клеток *Bacillus subtilis* 6633 в контрольных и опытных пробах при помощи цифрового фотоэлектроколориметра AP-101 (“ApeI”, Япония) в кюветах толщиной 10 мм при длине волны 540 нм. Стимулирующее действие определяли в процентах по сравнению с контролем (физиологический раствор) аналогично [167].

Данное исследование было проделано совместно с м.н.с. А.Д. Волошиной (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН).

Для подтверждения возможности прогнозирования биоэффектов высокоразбавленных растворов БАВ на основе наличия немонотонных концентрационных зависимостей параметров наноассоциатов и свойств растворов [155] изучено влияние высокоразбавленных растворов 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы на поведенческие реакции мышей. Влияние растворов 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы на двигательную и исследовательскую активность изучали в тесте «открытое поле» аналогично [168]. По количеству пересеченных мышью в течение 3 минут квадратов судили о влиянии на двигательную активность, по количеству обследованных за 3 минуты отверстий судили о влиянии на исследовательскую активность. Данные сравнивали с данными контрольной группы. Влияние растворов 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы на анксиолитическую активность исследовали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» аналогично [168]. О влиянии на тревогу судили по времени нахождения мыши в открытых рукавах лабиринта в течение 3 минут опыта. Данные сравнивали с данными контрольной группы. Статистическую обработку данных проводили по критерию Стьюдента. Эффект считали достоверным при  $\leq 0,05$ . Растворы 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы определенной расчетной концентрации готовили на физиологическом растворе (0,9 % NaCl) методом последовательных разведений. Контрольной группе мышей вводили физиологический раствор. В каждой группе было по 8-12 мышей. Все опыты проводили строго с 14.30 до 16.30, мышей контрольной и опытной группы вводили в эксперимент поочередно.

Данное исследование было проведено Л.В. Аникиной и Ю.Б. Вихаревой (Институт технической химии УрО РАН, Пермь).

### ГЛАВА 3. САМООРГАНИЗАЦИЯ И СВОЙСТВА ВЫСОКОРАЗБАВЛЕННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЛЬУРИЛА И БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ: ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И СТРОЕНИЯ ВЕЩЕСТВ

С целью изучения влияния пониженного уровня внешних низкочастотных ЭМП и физиологически важных температур (25-45 °С), а также различного химического и пространственного строения веществ в ряду структурных аналогов некоторых БАВ на самоорганизацию и свойства высокоразбавленных растворов (расчетные концентрации  $1 \cdot 10^{-20}$ - $1 \cdot 10^{-6}$  М), установления взаимосвязи между параметрами наноассоциатов, физико-химическими и биологическими свойствами растворов выбранных веществ комплексом физико-химических методов проведено сравнительное исследование растворов ряда производных гликольурила и бензойной кислоты, а также поверхностно-активного вещества бромида цетилтриметиламмония (БЦТА), выдержанных в естественных и гипoeлектромагнитных условиях. Результаты исследований опубликованы в работах [169-184].

#### 3.1 Изучение влияния гипoeлектромагнитных условий и строения растворенного вещества на самоорганизацию и физико-химические свойства высокоразбавленных водных растворов производных гликольурила и бензойной кислоты

К первому ряду исследованных веществ относятся мочеви́на (**1**) - структурный фрагмент незамещенного гликольури́ла (**2**), алкилированные аналоги гликольури́ла (**3-5**) (соединение (**4**) в виде рацемата), среди которых 2,4,6,8-тетраметилгликольурил (**3** - транквилизатор мебикар), а также гликольурилы, содержащие фрагмент  $\alpha$ -аминокислоты метионина – (*SR*)-Met (**6**), (*S*)-Met (**6a**) и (*R*)-Met (**6b**), представляющие собой рацемат **6** и энантимерно чистые диастереомеры **6a** и **6b**. Известно, что гликольурилы (производные 2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]октан-3,7-диона) принадлежат к классу психотропно активных соединений, круг которых в качестве потенциально фармакологически активных веществ постоянно расширяется [96, 185-190]. В этой связи в последнее время различными физико-химическими методами детально исследуются строение молекул гликольурилов и свойства их водных растворов в области обычных концентраций, т.е. не ниже  $5 \cdot 10^{-4}$  М. [95, 156, 191].

Коротко опишем имеющиеся в литературе данные о наиболее распространенных и подробно изученных соединениях мочевины, гликольурилы и тетраметилгликольурилы.

Родоначальником изученного ряда гликольурилов является мочевина (карбамид). Водные растворы мочевины важны в обеспечении жизнедеятельности человека и часто применяются в научно-исследовательской практике. Мочевина и родственные ей соединения являются одними из главных продуктов метаболизма живого организма. Значительную роль играет это соединение в конформационной стабильности глобулярных белков. Являясь конечным продуктом белкового обмена в живых организмах, мочевина активно участвует в регуляции их водного режима [186].

Согласно современным представлениям молекула мочевины имеет плоское (планарное) строение с умеренно сильным электрическим моментом диполя ( $\mu_z=4,6D$  или  $\sim 15,3 \cdot 10^{-30}$  Кл·м при 298 К), обусловленным асимметричным распределением плотностей некоторых  $n$ - и  $\pi$ -связывающих электронов [187]. Амидная группировка обладает высокой основностью (т.е. является сильным электронодонором). Одновременно водородные атомы  $\text{NH}_2$ -группы играют роль электроноакцепторных центров. Смешанная донорно-акцепторная функция молекулы мочевины является причиной заметно выраженной ассоциации исследуемого вещества уже в кристаллическом состоянии [189]. Наличие четырех амидных водородных атомов в молекуле мочевины способствует образованию такой структуры Н-связей, которая по энергетическим характеристикам является как бы промежуточным звеном между жидким и кристаллическим состоянием вещества, содержащего в своём составе группировку  $\text{N-H}\cdots\text{O}=\text{C}$ . Отмеченные различия во многом предопределяют уникальность структурных свойств мочевины как в твёрдом состоянии, так и в водном растворе.

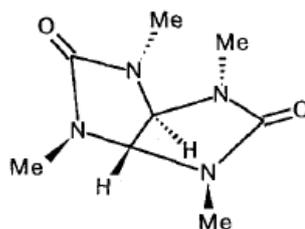
В настоящее время общепризнанной считается концепция, основанная на способности молекул мочевины образовывать с молекулами воды непрерывную (континуальную) Н-связанную структуру. В рамках этой концепции неоднородность гидратной оболочки её молекулы рассматривается как суперпозиция областей дестабилизации и структурирования водного окружения. Вместе с тем вопрос о

природе воздействия на водное окружение каждой из групп, составляющих (гидратированную) молекулу мочевины, остаётся открытым.

Известно, что в области ближней гидратации (гидратной оболочки с  $r=0.4$  нм) около молекулы мочевины – известного разрушителя воды – имеется восемь молекул воды, образующих с ней сильные водородные связи, при этом пять молекул воды из восьми сохраняют свою вращательную подвижность [96].

Несмотря на существенные различия в геометрических параметрах молекул мочевины и воды, энергия взаимодействия между ними мало отличается от таковой для молекул воды *in bulk*. Это приводит к возникновению компактных структур, подобных локальным тетраэдрическим образованиям из молекул воды, что вполне согласуется с представлениями о влиянии стереоэлектронных эффектов на процесс гидратации молекулы мочевины [188]. Молекула мочевины хорошо известна, как метаболит, а также денатурат и агент, повышающий водорастворимость неполярных веществ [96]. Биологические эффекты мочевины могут быть связаны не только с её воздействием на структуру воды, но с её свойствами как метаболита [96].

Второй по сложности строения является молекула гликольурила (*бис-мочевина*). Известно, что молекула гликольурила, взаимодействуя с молекулами ближнего водного окружения, образует «гидратный комплекс» с более плотно упакованной, чем в объёме растворителя, структурой. Усложнение молекулярного строения гликольурила при циклизации мочевины, приводящей к возникновению его выраженной конфигурационной природы, сопровождается существенной перестройкой структуры растворителя вокруг гидратируемой частицы и ограничением доступности её донорно-акцепторных центров для молекул воды. При растворении гликольурила в воде определяющую роль играют эффекты разрушения кристаллической решетки и встраивания молекул этого соединения в структурную матрицу воды, что является причиной очень низкой растворимости [190].



**Рисунок 3.1.** Пространственное строение молекулы 2,4,6,8-тетраметилгликольурила (мебикар) [191].

Следующее соединение в ряду производных мочевины - 2,4,6,8-тетраметил-2,4,6,8-тетраазбицикло[3.3.0]октандион-3,7; 2,4,6,8-тетраметилгликольурил (рисунок 3.1). 2,4,6,8-Тетраметилгликольурил является действующим началом лекарственного препарата мебикара, характеризующегося необычайно широким спектром фармакологической активности [185].

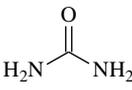
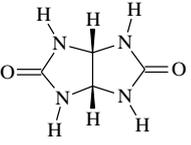
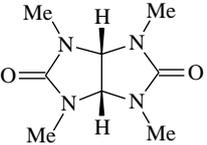
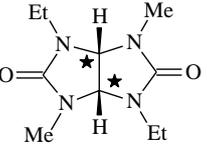
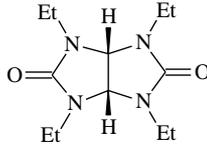
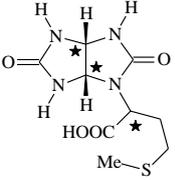
В отличие от гликольурила 2,4,6,8-тетраметилгликольурил очень хорошо растворим в средах различной полярности ( $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$ ): 530 ( $\text{H}_2\text{O}$ ), 225 ( $\text{MeOH}$ ), 155 ( $\text{DMCO}$ ), 250 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), 90 ( $\text{CHCl}_3$ ). Межмолекулярные взаимодействия и особенности сольватации в растворах мебикара ранее изучались в интервалах  $1.5\cdot 10^{-1}$ - $1.5$  М и  $5.0\cdot 10^{-4}$ - $5.0\cdot 10^{-3}$  М [95, 191]. Из литературных данных известно, что методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии обнаружена способность мебикара гидратироваться одновременно по различным механизмам. По результатам количественной оценки состава гидратной оболочки молекулы мебикара было показано, что молекулой связывается девять молекул воды со временем жизни в гидратной оболочке  $\tau \geq 10$  пикосекунд (пс). Как показывают измерения при низких частотах, по крайней мере, две молекулы воды в гидратной оболочке удерживаются с сохранением вращательной подвижности. До четырех молекул воды связывается по механизму полярной положительной гидратации за счёт образования Н-связей с карбонильными атомами О [191]. Методами миллиметровой спектроскопии и квантовой химии была установлена структурная детерминанта (доминирующее влияние) в структуре мебикара фрагмента мочевины, отвечающая за её способность генерировать мобильные молекулы воды - наличие двух сближённых и параллельных связей N-H.

Показано, что небольшие добавки мочевины и мебикара, не вызывающие денатурацию белка, влияют на скорость ферментативных и неферментативных реакций, протекающих с участием воды. Оба денатурата ускоряют также и модельную неферментативную реакцию щелочного гидролиза *n*-нитрофенилацетата [96]. Полученный эффект свидетельствует об активации воды как нуклеофильного реагента в присутствии мочевины и мебикара. Повышение химической активности воды, показанное методом миллиметровой спектроскопии, связано с разрушением структур воды, т.е. с увеличением доли молекул-ротаторов [96].

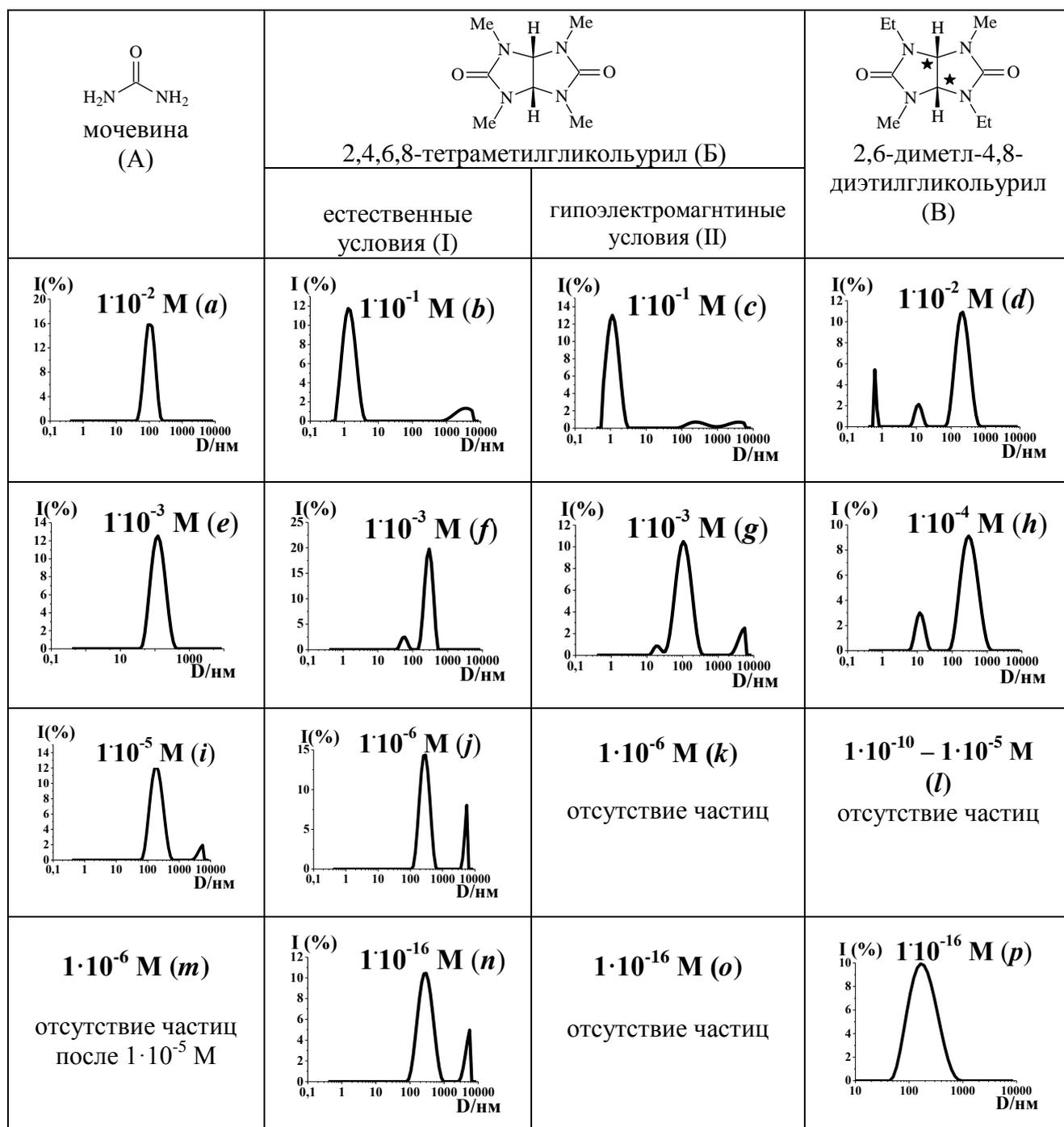
Рассматривая в совокупности данные по воздействию КВЧ-излучения на воду и свойства растворов мочевины и мебикара, авторы работ [95, 96, 191] обнаруживают общие черты воздействия КВЧ-излучения и денатурантов на структуру водной компоненты биологических систем. Это позволяет рассматривать мочевины и особенно мебикар как «КВЧ-подобные» физиологически активные вещества [95, 96, 191].

Приведенные факты об особенностях поведения водных растворов мочевины, гликольурилы и мебикара могут дать полезную информацию для понимания самоорганизации и свойств высокоразбавленных растворов, которые, как видно из представленного краткого описания, до наших работ изучены не были.

В ряду соединений мочевины (1), гликольурилы (2), 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы (3), 2,6-диметил-4,8-диэтилгликольурилы (4), 2,4,6,8-тетраэтилгликольурилы (5) мы изучили влияние гипoeлектромагнитных условий, а также числа и строения гидрофобных алкильных заместителей у атома азота гликольурилы на самоорганизацию и физико-химические свойства высокоразбавленных растворов.

		
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
		
<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>

Изучение водных растворов 1-5 методом ДРС показало, что картина распределения частиц по размерам индивидуальна для растворов каждого соединения (рисунок 3.2), а способность растворов 2-5 к самоорганизации в значительной степени зависит от строения и числа заместителей у атомов азота гликольурилы, изменяющих гидрофобность и стерические свойства молекул.



**Рисунок 3.2.** Распределение частиц по размерам в водных растворах мочевины (А), 2,4,6,8-тетраметилгликольурила (мебикара, Б), 2,6-диметил-4,8-диэтилгликольурила (альбикара, В), выдержанных на лабораторном столе (А, Б-I, В) и в пермалловом контейнере (Б-II) при концентрациях мочевины (А)  $1 \cdot 10^{-2}$  (a),  $1 \cdot 10^{-3}$  (e),  $1 \cdot 10^{-5}$  (i),  $1 \cdot 10^{-6}$  М (m); мебикара (Б-I и Б-II)  $1 \cdot 10^{-1}$  (b, c),  $1 \cdot 10^{-3}$  (f, g),  $1 \cdot 10^{-6}$  (j, k),  $1 \cdot 10^{-16}$  М (n, o); альбикара (В)  $1 \cdot 10^{-2}$  (d),  $1 \cdot 10^{-4}$  (h),  $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-10}$  (l),  $1 \cdot 10^{-16}$  М (p), 25°C. Здесь и далее распределение частиц по размерам приведено в координатах размера частиц (нм) и интенсивности (%).

В растворах мочевины в интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-1}$  М образуются стабильные во времени частицы, средний диаметр которых лежит в интервале 110-200 нм (рисунок 3.2, А *a-i*). Кроме того, в высокоразбавленных растворах мочевины с расчетными концентрациями  $1 \cdot 10^{-11}$ ,  $1 \cdot 10^{-15}$  М обнаружено образование структур размером в сотни нм. Впервые в интервале высоких концентраций (0,007-20 масс. %) формирование в растворе мочевины структур размером в сотни нм, обозначенных как гигантские кластеры или домены, показано в работе [73].

В растворах гликольурида, у которого отсутствуют алкильные заместители, а также 2,4,6,8-тетраэтилгликольурида, содержащего четыре этильных радикала, методом ДРС во всем изученном интервале расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-1}$  М достоверно определить наличие частиц не удалось.

Оптимальными с точки зрения самоорганизации оказались растворы мебикара (рисунок 3.2 Б-1) и в меньшей степени альбикара (рисунок 3.2 В). В растворах мебикара структуры размером в сотни нм образуются в области  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-3}$  М (рисунок 3.2 Б *f, j, n*), в то время как в растворах альбикара только в интервалах  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-11}$  и  $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-2}$  М (рисунок 3.2 В *d, h, p*). Интервал  $1 \cdot 10^{-10}$ - $1 \cdot 10^{-5}$  М, в котором частицы не образуются, по аналогии с биоэффектами можно назвать «зоной молчания» [109] (рисунок 3.2 В *l*).

Выяснить природу частиц, образующихся в разных интервалах разбавлений, и найти пороговую концентрацию ( $c_n$ ), выше которой образуются супрамолекулярные домены, ниже - наноассоциаты, позволило изучение растворов в условиях пониженного уровня внешних ЭМП (гипоэлектромагнитные условия). Эти условия были достигнуты с помощью выдерживания исследуемых растворов в течение 20 часов в трехслойном цилиндрическом термообработанном пермаллойевом контейнере, защищающем содержимое от воздействия внешних низкочастотных ЭМП. Рассмотрим процедуру определения  $c_n$  на примере растворов мебикара.

Рабочие растворы мебикара каждой концентрации выдерживали в течение 20 часов на лабораторном столе (естественные условия, серия I, рисунок 3.2 Б) и в экранирующем контейнере (гипоэлектромагнитные условия, серия II, рисунок 3.2 Б). Сопоставление параметров частиц и физико-химических свойств осуществляли для двух параллельных серий I и II одного и того же раствора при трехкратной повторяемости каждого опыта аналогично работе [140].

На рисунке 3.2 Б представлено распределение частиц по размерам в растворах мебикара серии I, выдержанных в естественных (Б-I) и гипoeлектромагнитных условиях (Б-II). При концентрации  $1 \cdot 10^{-1}$  М и  $1 \cdot 10^{-2}$  М в растворах обеих серий присутствуют частицы, размером около 1.5 нм, представляющие собой гидратированные молекулы или небольшие ассоциаты молекул мебикара (рисунок 3.2 Б *b, c*), что согласуется с данными работ [95, 191-193].

В интервале концентраций от  $1 \cdot 10^{-3}$  до  $1 \cdot 10^{-5}$  М в растворах обеих серий фиксируются нанообъекты размером несколько десятков и сотен нм (рисунок 3.2 Б *f, g*), которые можно отнести к супрамолекулярным доменам, описанным в работах [73-75] (см. глава 1, стр. 21-22). О принадлежности этих структур к супрамолекулярным доменам свидетельствует ряд общих с данными работ [73-75] фактов – один и тот же применяемый метод исследования (ДРС) и диапазон концентраций, в котором они были обнаружены, время образования (сутки) и примерное время жизни этих структур (недели), размерный диапазон в сотни нм.

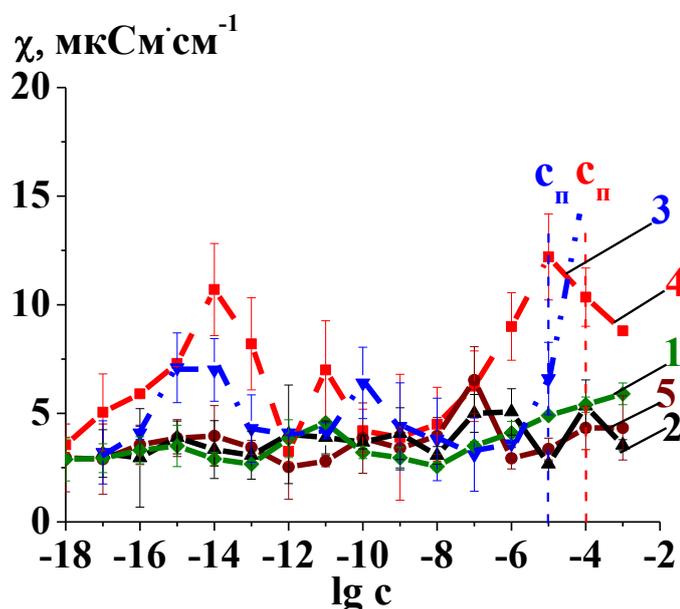
В области высоких разбавлений (от  $1 \cdot 10^{-6}$  до  $1 \cdot 10^{-16}$  М) растворы мебикара, выдержанные в естественных и гипoeлектромагнитных условиях, различаются драматическим образом. В растворах серии I, выдержанных в естественных условиях, образуются молекулярные ансамбли размером в сотни и тысячи нм (рисунок 3.2 Б-I *j, n*), а в растворах, выдержанных в гипoeлектромагнитных условиях, не образуются (рисунок 3.2 Б-II *k, o*). Таким образом, концентрация  $1 \cdot 10^{-5}$  М для растворов мебикара является пороговой ( $c_n$ ), выше которой в растворах, выдержанных в естественных условиях, образуются супрамолекулярные домены, ниже - наноассоциаты.

Как видно из данных рисунка 3.2 (Б-I *b, f*) и (Б-II, *c, g*), образование супрамолекулярных доменов в растворах мебикара в области от  $1 \cdot 10^{-3}$  до  $1 \cdot 10^{-5}$  М происходит и в естественных, и в гипoeлектромагнитных условиях независимо от присутствия внешних низкочастотных ЭМП, а образование наноассоциатов в высокоразбавленных растворах ( $1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-16}$  М) возможно только при наличии низкочастотных электромагнитных полей.

Таким образом, сравнительное изучение самоорганизации растворов мебикара, выдержанных в естественных и гипoeлектромагнитных условиях, показало, что по мере разбавления растворов в растворах мебикара образуются различающиеся по природе и размерам частицы: гидратированные молекулы (ассоциаты вещества)

размером 1.5 нм ( $1 \cdot 10^{-2}$ - $1 \cdot 10^{-1}$  М), супрамолекулярные домены размером 170-270 нм ( $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-3}$  М), наноассоциаты размером 200-400 нм ( $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-6}$  М).

Исследование методом ДРС по описанной методике высокоразбавленных растворов альбикара, выдержанных в естественных и гипoeлектромагнитных условиях, позволило установить, что в растворах альбикара наноассоциаты образуются в интервале  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-11}$  М, пороговая концентрация ( $c_{п}$ ) составляет  $1 \cdot 10^{-4}$  М. По аналогичной методике найдена пороговая концентрация для растворов мочевины, составляющая  $1 \cdot 10^{-5}$  М. Следовательно, структуры, обнаруженные при расчетных концентрациях  $1 \cdot 10^{-11}$  и  $1 \cdot 10^{-15}$  М, являются наноассоциатами.



**Рисунок 3.3.** Зависимость удельной электропроводности растворов мочевины (1), гликольурила (2), 2,4,6,8-тетраметилгликольурила (3), 2,6-диметил-4,8-диэтилгликольурила (4), 2,4,6,8-тетраэтилгликольурила (5), выдержанных на лабораторном столе, от концентрации, 25°C. Здесь и далее пунктирной линией обозначена пороговая концентрация ( $c_{п}$ ).

Сравнительное изучение удельной электропроводности растворов 1-5 (рисунок 3.3), показало, что для растворов мочевины и альбикара в интервале расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-10}$  М, в которых образуются наноассоциаты, наблюдаются четко выраженные немонокотонные концентрационные зависимости удельной электропроводности (рисунок 3.3, кривые 3, 4). Для растворов мочевины небольшое

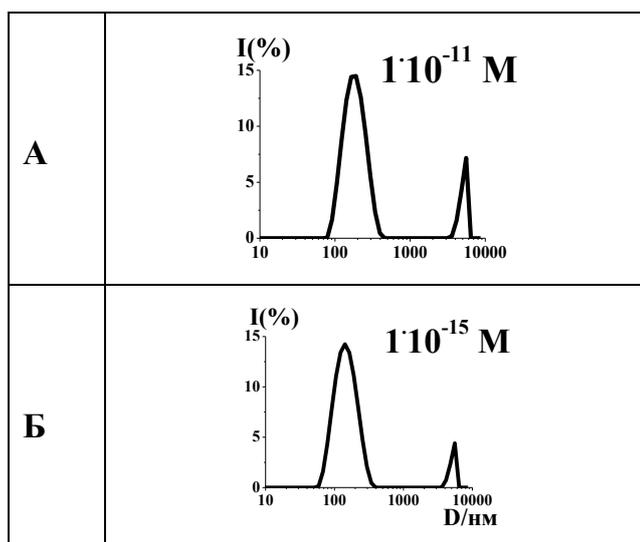
увеличение значения удельной электропроводности наблюдаются при концентрациях  $1 \cdot 10^{-11}$  и  $1 \cdot 10^{-15}$  М, что как правило, свидетельствует об определенном уровне самоорганизации высокоразбавленных растворов (рисунок 3.3, кривая 1).

В растворах гликольурилы и 2,4,6,8-тетраэтилгликольурилы в аналогичном интервале концентраций, в котором способность к образованию наноассоциатов отсутствует, значение удельной электропроводности (рисунок 3.3, кривые 2, 5) близко к значению растворителя – воды (около  $3 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$ ).

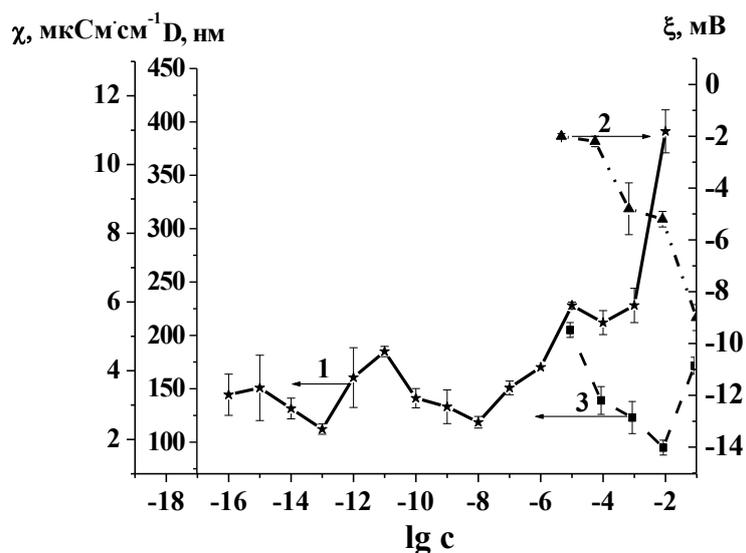
Полученные на примере растворов мочевины, гликольурилы и его алкилированных производных – 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы, 2,6-диметил-4,8-диэтилгликольурилы, 2,4,6,8-тетраэтилгликольурилы результаты (рисунки 3.2, 3.3) показали, что строение растворенного вещества, а именно число заместителей у атомов азота гликольурилы, изменяющих гидрофобность и стерические свойства молекул, существенным образом влияет на способность высокоразбавленных растворов к образованию наноассоциатов, обуславливая появление немонотонных зависимостей физико-химических свойств.

Для установления сходства и различий в поведении высокоразбавленных растворов мочевины - структурного фрагмента незамещенного гликольурилы - и гликольурилов проведено сравнительное изучение самоорганизации и свойств растворов соединений мочевины и мексикара.

На рисунках 3.4 и 3.5 представлены данные по самоорганизации и физико-химическим свойствам высокоразбавленных растворов мочевины, а на рисунках 3.6-3.8 результаты сравнительного изучения параметров (размера,  $\zeta$ -потенциала) наноассоциатов и удельной электропроводности высокоразбавленных растворов мочевины и мексикара.



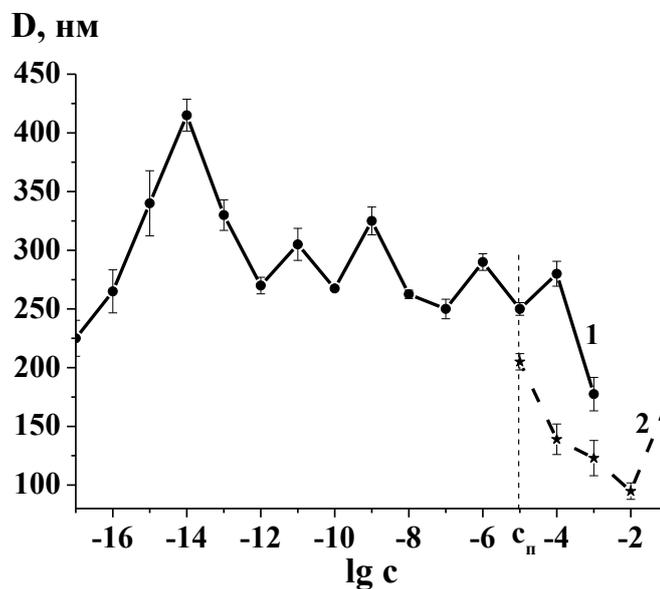
**Рисунок 3.4.** Распределение частиц по размерам в водных растворах мочевины при концентрациях мочевины  $1 \cdot 10^{-11}$  М (А) и  $1 \cdot 10^{-15}$  М (Б), 25°C.



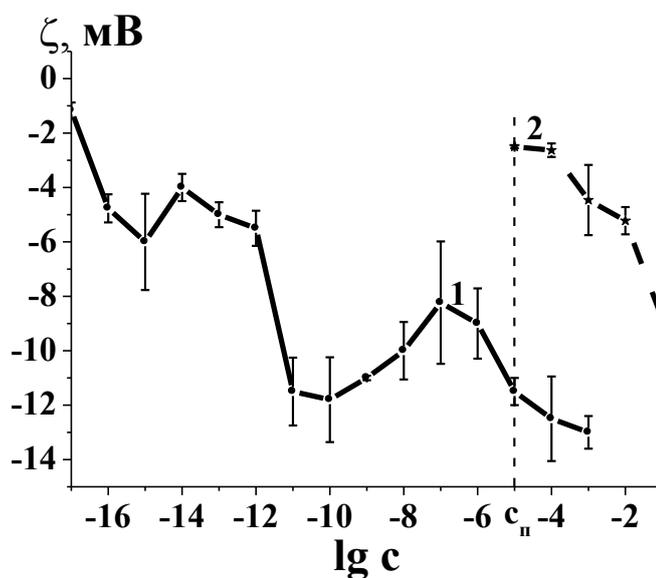
**Рисунок 3.5.** Зависимость удельной электропроводности (1),  $\zeta$ -потенциала (2) и размера (3) частиц в водных растворах мочевины от концентрации, 25 °С.

В отличие от растворов мексикара в интервале высоких разбавлений ( $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-16}$  М) в растворах мочевины наноассоциаты достоверно не определяются за исключением концентраций  $1 \cdot 10^{-11}$  и  $1 \cdot 10^{-15}$  М (рисунок 3.4). На рисунке 3.5 представлены немонотонные концентрационные зависимости параметров доменов, образующихся в растворах мочевины, а также удельной электропроводности растворов

в широкой области разбавлений. Как видно из данных рисунка 3.5 увеличение значения удельной электропроводности наблюдаются при концентрациях  $1 \cdot 10^{-11}$  и  $1 \cdot 10^{-15}$  М, при которых методом ДРС фиксируется образование наноассоциатов.



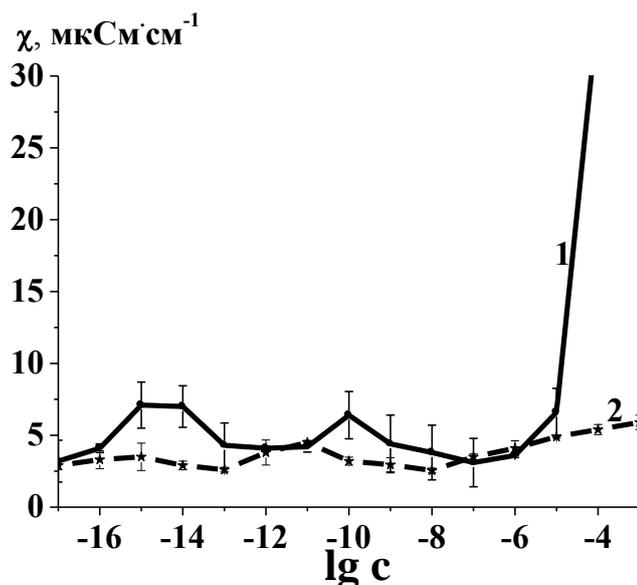
**Рисунок 3.6.** Зависимость размеров частиц в водных растворах 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы (1) и мочевины (2) от концентрации, 25 °С.



**Рисунок 3.7.** Зависимость  $\zeta$ -потенциала частиц в водных растворах 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы (1) и мочевины (2) от концентрации, 25 °С.

В растворах мочевины размер и  $\zeta$ -потенциал доменов значительно меньше (рисунки 3.6, 3.7), чем в растворах мебикара.

Концентрационная зависимость удельной электропроводности растворов мочевины, также как и мебикара, имеет немонотонный вид, однако значения удельной электропроводности в растворах мочевины существенно ниже, чем в растворе мебикара (рисунок 3.8).



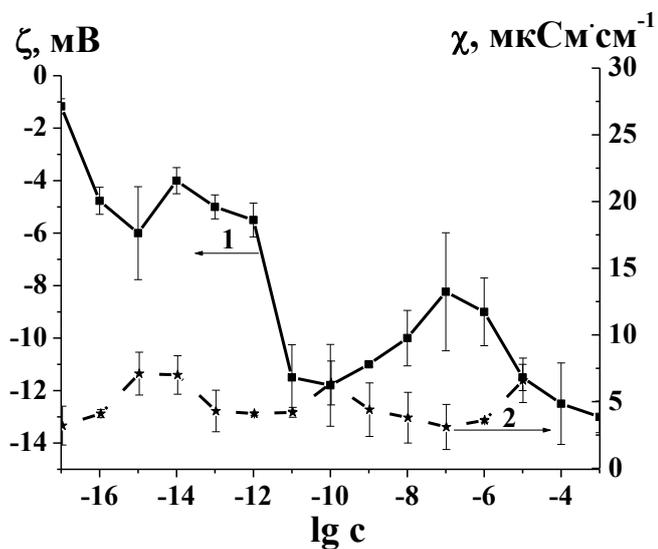
**Рисунок 3.8.** Зависимость удельной электропроводности водных растворов 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы (1) и мочевины (2) от концентрации, 25 °С.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в ряду биологически активных производных мочевины циклическое строение мебикара, а также наличие оптимального числа гидрофобных метильных и гидрофильных амидных групп положительно влияет на способность к образованию наноассоциатов в водных растворах низких концентраций.

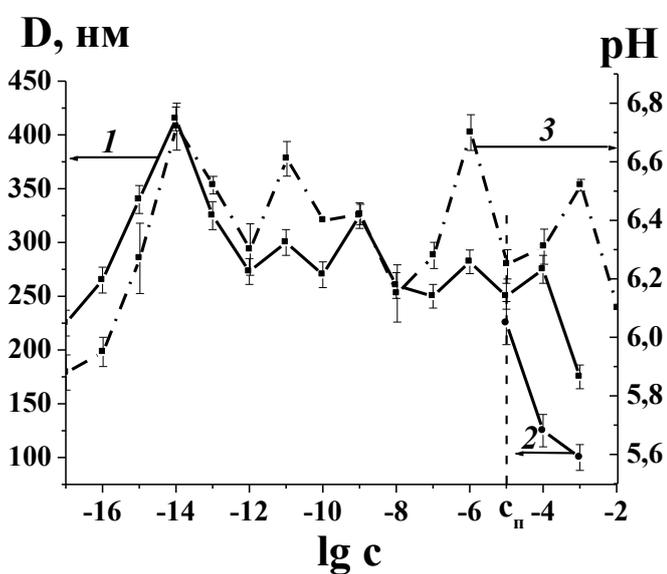
Проанализируем взаимосвязь самоорганизации и физико-химических свойств высокоразбавленных растворов мебикара, где наноассоциаты образуются в широкой области концентраций.

На рисунках 3.9 и 3.10 приведены совместные концентрационные зависимости параметров наноассоциатов - размера (D) и  $\zeta$ -потенциала, образующихся в растворах

мебикара, а также физико-химических свойств растворов мебикара - рН и удельной электропроводности.



**Рисунок 3.9.** Зависимость  $\zeta$ -потенциала (1) частиц и удельной электропроводности ( $\chi$ ) (2) растворов 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы от концентрации, 25°C.



**Рисунок 3.10.** Зависимость размера частиц (1, 2) и рН (3) в растворах 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы, выдержанных на лабораторном столе (1) и в пермалловом контейнере (2), от концентрации, 25°C.

При исследовании концентрационных зависимостей  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов в растворах мебикара и удельной электропроводности этих растворов найдено, что изменения этих параметров взаимосвязаны и носят немонотонный характер. Как видно из данных, представленных на рисунке 3.9, можно выделить три концентрации  $1 \cdot 10^{-15}$  -  $1 \cdot 10^{-14}$  М,  $1 \cdot 10^{-10}$  М и  $1 \cdot 10^{-7}$  М, в которых взаимосвязь этих параметров выражена наиболее ярко. Следовательно, появление максимальных значений удельной электропроводности (около  $7 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$ ) при концентрациях растворов мебикара  $1 \cdot 10^{-10}$  -  $1 \cdot 10^{-14}$  М и  $1 \cdot 10^{-15}$  М обусловлено главным образом формированием в этих интервалах наноассоциатов с максимально высокими отрицательными значениями  $\zeta$ -потенциала (-12 мВ и -6 мВ соответственно).

При изучении взаимосвязи между концентрационными зависимостями размера наноассоциатов и рН раствора мебикара (рисунок 3.10) обнаружена сходная картина. Как видно из данных, представленных на рисунке 3.10, концентрационные зависимости размера наноассоциатов и рН раствора взаимосвязаны в широком интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-4}$  М, ход концентрационных кривых практически идентичен. В интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-10}$  М взаимосвязь становится ещё более тесной - методом корреляционного анализа установлена зависимость ( $r=0.845$ ,  $p=0.04$ ) между размером наноассоциатов и рН среды, что свидетельствует о том, что перестройка наноассоциатов происходит с участием ионов гидроксония и гидроксидионов структур воды, образующих наноассоциаты, и молекул «объемной» воды.

Обращает на себя внимание, что размер супрамолекулярных доменов, образующихся в растворах, выдержанных в гипoeлектромагнитных условиях, отличается от размеров доменов, образующихся в растворах, выдержанных в естественных условиях. Влияние гипoeлектромагнитной среды на параметры частиц в растворах мебикара напрямую отражается на физико-химических свойствах.

В растворах мебикара серии II, выдержанных в экранирующем контейнере, ниже  $c_{II}$  ( $1 \cdot 10^{-5}$  М), структуры в растворе не образуются. Средние значения рН растворов не меняются, составляя приблизительно 6 ед. рН, удельная электропроводность приближается к значению воды, т.е. в отсутствие наноассоциатов многие физико-химические свойства растворов мебикара низких концентраций практически соответствуют свойствам дистиллированной воды.

Таким образом, в результате проведенного исследования водных растворов мебикара в широком диапазоне концентраций комплексом физико-химических методов впервые установлено, что немонотонные концентрационные зависимости размера и  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов и физико-химических свойств высокоразбавленных растворов мебикара в интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-6}$  М взаимосвязаны, при этом экстремальные изменения параметров наноассоциатов, физико-химических свойств растворов происходят практически при одинаковых концентрациях. В растворах мебикара, выдержанных в гипoeлектромагнитных условиях, наноассоциаты не образуются, свойства растворов соответствуют свойствам дистиллированной воды.

Чрезвычайно интересный вопрос о влиянии пространственного строения растворенных веществ на образование наноассоциатов и физико-химические и биологические свойства высокоразбавленных растворов в настоящее время остается открытым. Начало этим исследованиям было положено в работах [194-198] на примере растворов производных *n*-сульфонатокаликс[*n*]аренов ( $n=4-8$ ) и тетратиакаликс[4]арена, функционализированного гидразидными группами. Установлено, что различия в размерах макроциклической полости, приводящие к различным устойчивым конформациям, а также гидрофобность молекул *n*-сульфонатокаликс[*n*]аренов оказывают существенное влияние на процесс образования наноассоциатов, порговую концентрацию и физико-химические свойства высокоразбавленных растворов [194-196]. В растворах тетратиакаликс[4]арена в конформации «конус» наноассоциаты образуются в интервале концентраций  $2.5 \cdot 10^{-8}$ - $2.5 \cdot 10^{-6}$  М. Это приводит к существенным изменениям физико-химических (удельная электропроводность и поверхностное натяжение) и биологических свойств разбавленных растворов [197, 198]. В растворах тетратиакаликс[4]арена в конформации «1,3-альтернат» формирование наноассоциатов происходит гораздо менее эффективно, интервал существования сужается до 1 порядка, как следствие свойства растворов практически не отличаются от свойств растворителя во всей изученной области концентраций  $1 \cdot 10^{-8}$ - $3 \cdot 10^{-3}$  М [197].

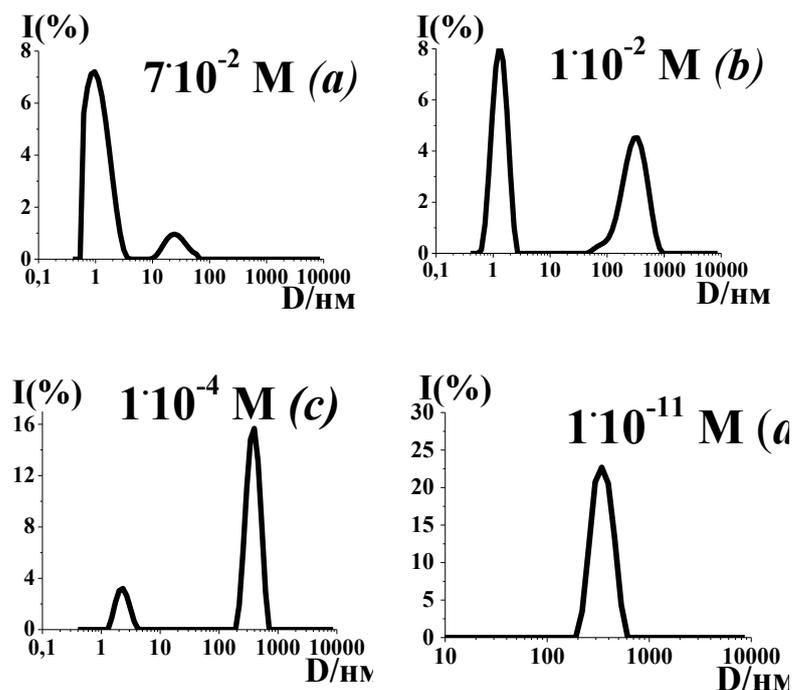
Полученные ранее результаты свидетельствуют о том, что самоорганизация высокоразбавленных растворов и их свойства во многом зависят от пространственного строения растворенного вещества.

Для выяснения влияния еще более тонких различий в пространственном строении растворенного вещества, в частности конфигурации энантиомеров, на самоорганизацию высокоразбавленных растворов изучены растворы нейротропно активных гликольурилов **6**, **6a**, **6b**, содержащих фрагмент  $\alpha$ -аминокислоты метионина - рацемата (*SR*)-Met и энантимерно чистых диастереомеров (*S*)-Met, (*R*)-Met соответственно.

Исследуемые гликольурилы относятся к классу соединений, характеризующихся широким спектром биологической активности, в том числе нейротропным действием [199-201]. Кроме фармакофорного гликольурильного фрагмента в молекулы выбранных для исследования соединений входят фрагменты  $\alpha$ -аминокислоты (*R*)-Met или (*S*)-Met. Хорошо известно, что (*S*)-Met обладает широким спектром биологической активности, участвует в рибосомальном синтезе белков, синтезе холина, активирует действие гормонов, витаминов, ферментов и т.д., тогда как (*R*)-Met эти функции не свойственны [36]. При исследовании фармакологической активности выбранных для исследования гликольурилов обнаружено нейротропное действие только для гликольурила **6a** с (*S*)-метиониновым фрагментом [201]. В связи с этим изучение самоорганизации и свойств разбавленных растворов гликольурилов **6**, **6a**, **6b** может дать ключ к пониманию важнейшего в живой природе явления хиральной специфичности энантиомеров аминокислот.

Изучение пространственного строения гликольурилов **6**, **6a**, **6b** методом рентгеноструктурного анализа показало, что конфигурация аминокислотного фрагмента в гликольурилах сохраняется [96]. Установлено, что рацемат **6** кристаллизуется в виде конгломерата и состоит из **6a** и **6b** [200].

Изучение растворов **6**, **6a**, **6b** методом ДРС и ЭРС в широкой области расчетных концентраций от  $7 \cdot 10^{-2}$  (2%) до  $1 \cdot 10^{-18}$  М показало, что можно выделить три группы гликольурилов. В первую входят **6a** с фрагментом (*S*)-Met, во вторую **6b** с фрагментом (*R*)-Met, в третью – рацемат **6** (**6a** + **6b**).



**Рисунок 3.11.** Распределение частиц по размерам в водных растворах **6a** при концентрациях  $7 \cdot 10^{-2}$  (a),  $1 \cdot 10^{-2}$  (b),  $1 \cdot 10^{-4}$  (c),  $1 \cdot 10^{-11}$  (d) М, выдержанных на лабораторном столе, 25 °С.

По мере разбавления в растворах этих соединений образуются различающиеся по природе и размерам частицы (рисунок 3.11). При концентрации  $7 \cdot 10^{-2}$  М в растворах всех изученных гликольурилов **6**, **6a**, **6б**, выдержанных в естественных условиях, присутствуют практически только частицы размером около 1 нм, представляющие собой, вероятно, гидратированные молекулы или небольшие ассоциаты вещества (рисунок 3.11, a), что согласуется с данными, полученными при изучении растворов гликольурила более простого строения - мебикара (рисунок 3.2, b) методом миллиметровой спектроскопии и ДРС [191, 169].

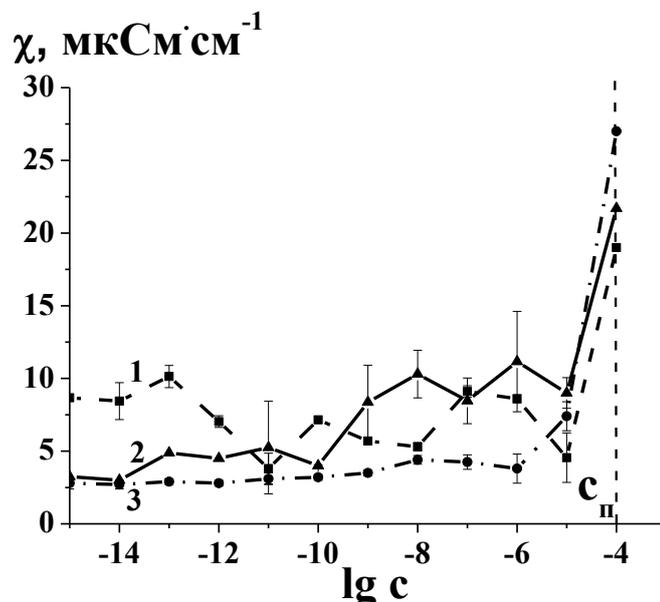
В интервале концентраций от  $1 \cdot 10^{-2}$  до  $1 \cdot 10^{-4}$  М в растворах **6**, **6a**, **6б** аналогично [169] появляются супрамолекулярные домены размером (200-300 нм) (рисунок 3.11 b, c), образование которых происходит независимо от наличия внешних низкочастотных ЭМП. Ниже  $c_n$ , которая для растворов этих соединений составляет  $1 \cdot 10^{-4}$  М, наблюдаются драматические различия в самоорганизации растворов рацемата **6** и энантиомеров **6a** и **6б**.

В растворах **6a** с (S)-метиониновым фрагментом, в области концентраций от  $1 \cdot 10^{-5}$  М до  $1 \cdot 10^{-15}$  М образуются наноассоциаты, размер которых в зависимости от

концентрации лежит в интервале 220-400 нм (рисунок 3.11, *d*). При разбавлении растворов **6a** до расчетной концентрации  $1 \cdot 10^{-16}$  М и ниже частицы не определяются. В растворе рацемата **6** образование наноассоциатов происходит только до  $1 \cdot 10^{-9}$  М. В растворах **6б** с фрагментом (*R*)-Met, начиная с концентрации  $1 \cdot 10^{-5}$  М и ниже, частицы методом ДРС не определяются.

В растворах **6**, **6a**, **6б**, выдержанных в экранирующем контейнере, частицы размером в сотни нм образуются только в области обычных концентраций от  $1 \cdot 10^{-4}$  до  $1 \cdot 10^{-1}$  М и не образуются в разбавленных растворах, начиная с концентрации  $1 \cdot 10^{-5}$  М и ниже. Отсюда следует, что  $1 \cdot 10^{-4}$  М является пороговой концентрацией для растворов **6**, **6a**, **6б**.

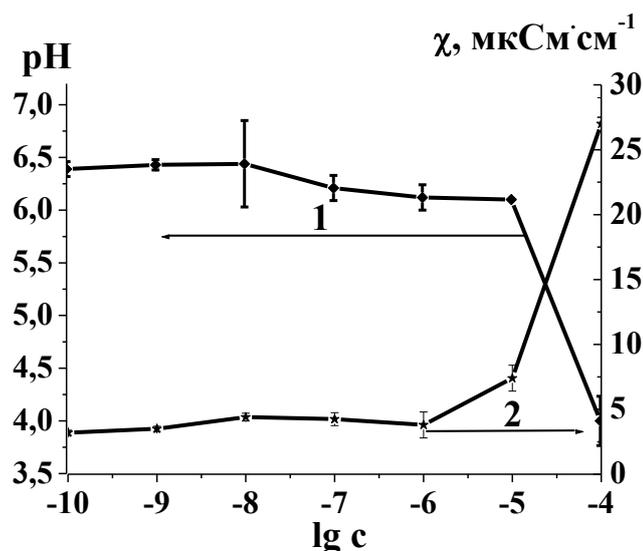
Итак, образование структур размером в сотни нм в интервале от  $1 \cdot 10^{-4}$  до  $1 \cdot 10^{-1}$  М происходит независимо от наличия внешних полей в растворах всех изученных гликольурилов **6**, **6a**, **6б**. Образование наноассоциатов возможно при условии воздействия внешних низкочастотных электромагнитных полей и происходит для растворов **6** в интервале расчетных концентраций от  $1 \cdot 10^{-5}$  до  $1 \cdot 10^{-9}$  М, для растворов **6a** в интервале от  $1 \cdot 10^{-5}$  до  $1 \cdot 10^{-15}$  М, и не происходит в растворах **6б**.



**Рисунок 3.12.** Зависимость удельной электропроводности водных растворов **6** (2), **6a** (1) **6б** (3) от концентрации, 25 °С.

Следовательно, по мере разбавления в растворах **6a** с фрагментом (*S*)-Met образуются различающиеся по природе и размерам частицы: гидратированные молекулы около 1 нм ( $7 \cdot 10^{-2}$  М), супрамолекулярные домены 200-300 нм ( $1 \cdot 10^{-4}$  -  $1 \cdot 10^{-2}$  М), наноассоциаты 220-370 нм ( $1 \cdot 10^{-15}$  -  $1 \cdot 10^{-5}$  М).

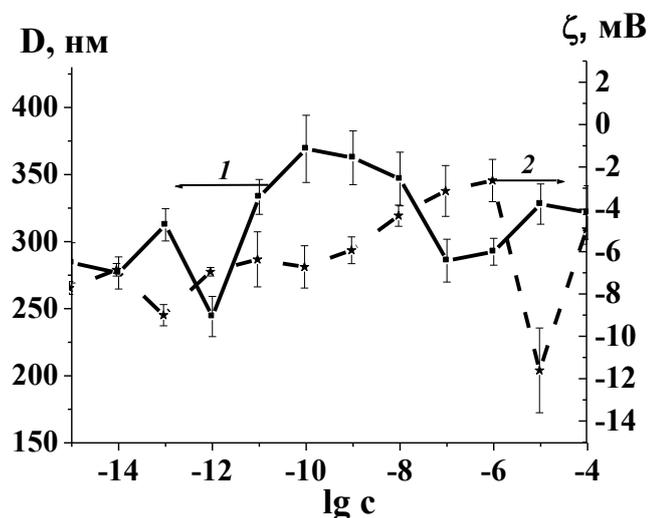
Анализ концентрационных зависимостей удельной электропроводности растворов **6**, **6a**, **6б** показал, что ход зависимостей для растворов **6a** и **6** ниже  $c_{п}$  носит выраженный немонотонный характер до  $1 \cdot 10^{-15}$  М и до  $1 \cdot 10^{-10}$  М соответственно (рисунок 3.12, кривые 1, 2), что объясняется способностью растворов этих соединений в указанных интервалах концентраций к образованию наноассоциатов. Отсутствие наноассоциатов в разбавленных растворах **6б** приводит к потере немонотонного характера зависимости, свойства растворов **6б** практически соответствуют свойствам воды.



**Рисунок 3.13.** Зависимость pH (1) и удельной электропроводности (2) в водных растворах **6б** от концентрации, 25°C.

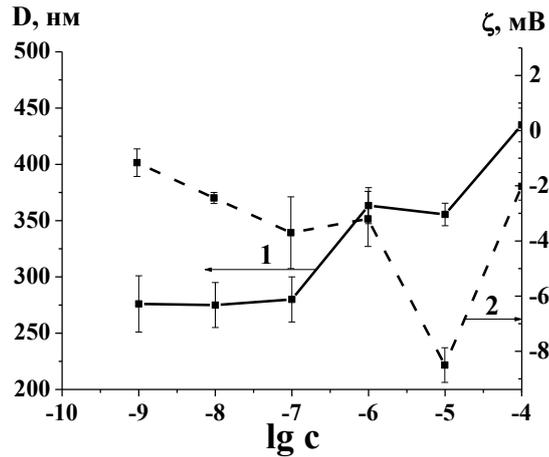
Ещё одним убедительным доказательством того, что возникновение немонотонных концентрационных зависимостей физико-химических свойств высокоразбавленных растворов обусловлено образованием и перестройкой наноассоциатов, является вид концентрационных зависимостей pH и удельной электропроводности растворов **6б** с фрагментом (*R*)-Met (рисунок 3.13), в которых наноассоциатов достоверно обнаружить не удалось. В отличие от растворов **6a**, в

которых, например, значения удельной электропроводности при  $1 \cdot 10^{-13}$ ,  $1 \cdot 10^{-10}$  и  $1 \cdot 10^{-7}$  М составляют 10; 7 и 6 мкСм·см<sup>-1</sup> (рисунок 3.12, кривая 1), в растворах **6б** в интервале концентраций ниже  $c_{II}$  значения рН и удельной электропроводности практически неотличимы от свойств дистиллированной воды (6 ед. рН и 3 мкСм·см<sup>-1</sup>).



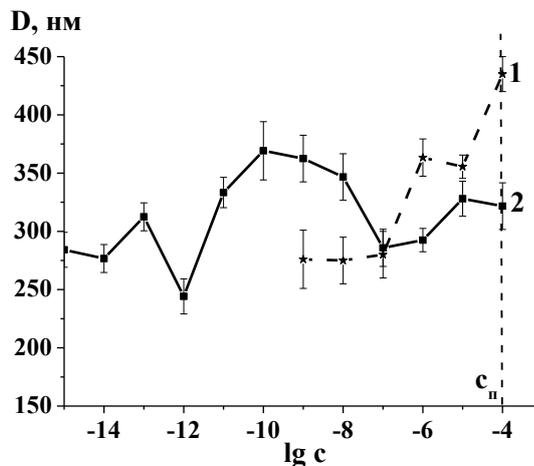
**Рисунок 3.14.** Зависимость размеров (1) и ζ-потенциала (2) частиц в водных растворах **6а** от концентрации, 25°C.

На рисунке 3.14 приведены зависимости параметров наноассоциатов, образующихся в растворе **6а**. Как видно обе немонотонные зависимости изменяются синхронно: увеличение размеров наноассоциатов при  $1 \cdot 10^{-5}$ ,  $1 \cdot 10^{-10}$ ,  $1 \cdot 10^{-13}$  М до 320-370 нм сопровождается увеличением ζ-потенциала до -12 мВ при  $1 \cdot 10^{-5}$ , до -7 мВ и -9 мВ при  $1 \cdot 10^{-10}$  и  $1 \cdot 10^{-13}$  М. Такое взаимосвязанное изменение параметров наноассоциатов свойственно высокоразбавленным растворам многих веществ [140].



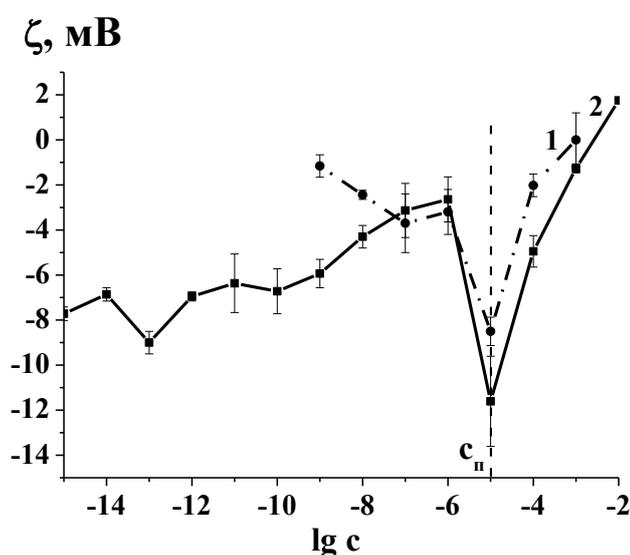
**Рисунок 3.15.** Зависимость размеров (1) и  $\zeta$ -потенциала (2) частиц в водных растворах **6** от концентрации, 25°C.

Анализ концентрационных зависимостей размеров и  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов, образующихся в растворах рацемата (рисунок 3.15), показывает, что до концентрации  $1 \cdot 10^{-7}$  М ход кривых имеет сходных характер. Уменьшение и увеличение размеров наноассоциатов в интервале от  $1 \cdot 10^{-4}$  М до  $1 \cdot 10^{-7}$  М с экстремумом при  $1 \cdot 10^{-5}$  М сопровождается противоположными изменениями  $\zeta$ -потенциала – увеличением и уменьшением при одних и тех же концентрациях. В интервале  $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-9}$  М размер не претерпевает нелинейных перестроек, а значение  $\zeta$ -потенциала уменьшается до нуля.



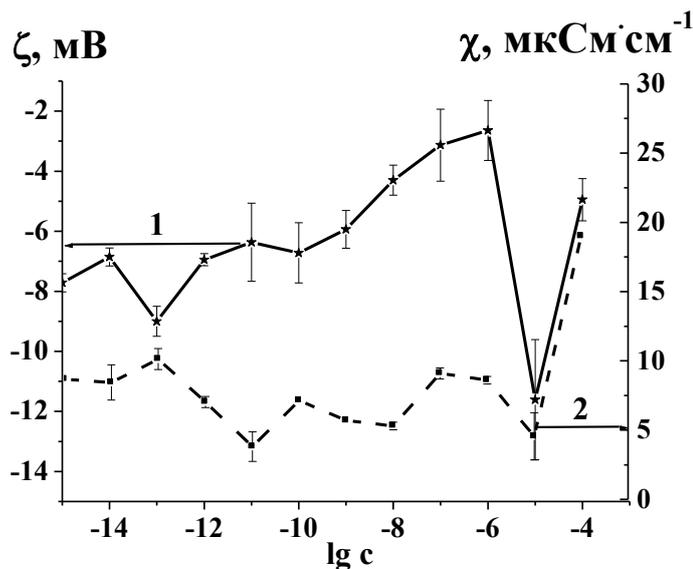
**Рисунок 3.16.** Зависимость размеров частиц ( $D$ ) в водных растворах **6** (1), **6а** (2) от концентрации, 25°C.

В результате совместного рассмотрения концентрационных зависимостей размерв nanoассоциатов в растворах **б** и **ба** (рисунок 3.16) выяснилось, что ход обеих зависимостей различен. В интервале  $1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$  М размеры nanoассоциатов в растворах **б** (450-350 нм) превышают размеры nanoассоциатов в растворах **ба** (325-290 нм), а в интервале  $1 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-8}$  М картина меняется на противоположную – размер nanoассоциатов в растворах **б** становится меньше и практически не изменяется (230 нм), в то время как размер nanoассоциатов в растворах **ба** растет (350-370 нм) и в интервале расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-9}$  -  $1 \cdot 10^{-15}$  М продолжает немонотонно изменяться.



**Рисунок 3.17.** Зависимость ζ-потенциала частиц в водных растворах **б** (1), **ба** (2) от концентрации, 25°C.

Интересно, что концентрационные зависимости ζ-потенциала nanoассоциатов в растворах **б** и **ба** идентичны до  $1 \cdot 10^{-7}$  М (рисунок 3.17), что, скорее всего, свидетельствует о том, основной вклад в формирование ζ-потенциала nanoассоциатов в растворах рацемата **б** вносит **ба**.



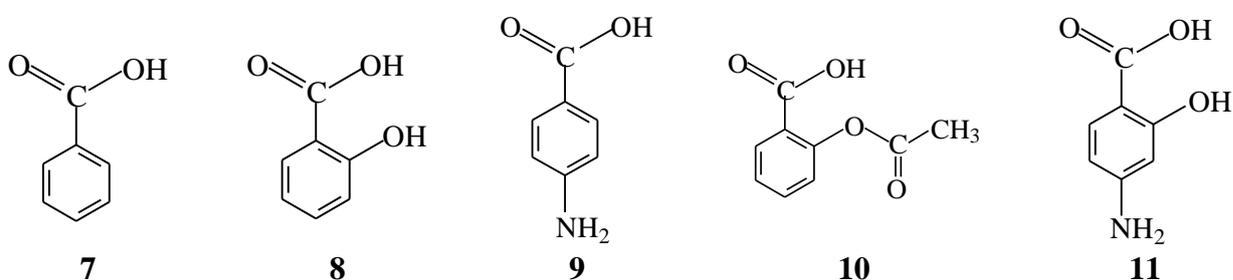
**Рисунок 3.18.** Зависимость  $\zeta$ -потенциала (1) и удельной электропроводности (2) в водных растворах **6a** от концентрации, 25°C.

Наличие взаимосвязи между параметрами наноассоциатов и физико-химическими свойствами высокоразбавленных растворов является характерным признаком, присущим растворам тех веществ, строение которых способствует образованию наноассоциатов [140]. Например, на рисунке 3.18 явно прослеживается взаимосвязь концентрационных зависимостей  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов, образующихся в растворах **6a**, и удельной электропроводности растворов в интервале  $1 \cdot 10^{-13}$ - $1 \cdot 10^{-7}$  М. Как правило, наиболее значительные изменения параметров наноассоциатов и физико-химических свойств растворов происходят в области низких концентраций, где образуются наноассоциаты. В частности, в растворе с концентрацией  $1 \cdot 10^{-13}$  М наблюдается увеличение  $\zeta$ -потенциала, которое сопровождается увеличением значения удельной электропроводности в растворе.

Таким образом, при изучении влияния пространственного строения гликольурилов, содержащих фрагменты (*S*)-метионина (энантиомерно чистого диастереомера) и (*R*)-метионина (энантиомерно чистого диастереомера), на самоорганизацию и физико-химические свойства высокоразбавленных ( $1 \cdot 10^{-15}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  М) водных растворов, выдержанных в естественных и гипoeлектромагнитных условиях, впервые показано, что способность к пространственно-временной

самоорганизации с образованием наноассоциатов и, как следствие, возникновением немонотонных зависимостей физико-химических свойств растворов, существенным образом зависит от конфигурации энантиомеров метионина. Высокорастворимые растворы гликольурилов с фрагментом (*S*)-Met представляют собой дисперсные системы, в которых в интервале  $1 \cdot 10^{-15}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  М формируются наноассоциаты, а в высокорастворимых растворах гликольурилов с фрагментом (*R*)-Met способность к самоорганизации отсутствует. Обнаруженное дифференцированное влияние (*S*)- и (*R*)-фрагментов метионина на самоорганизацию и свойства высокорастворимых растворов производных гликольурилов может быть полезным для анализа важнейших явлений в живой природе, которые связаны с функциональной специализацией энантиомеров аминокислот.

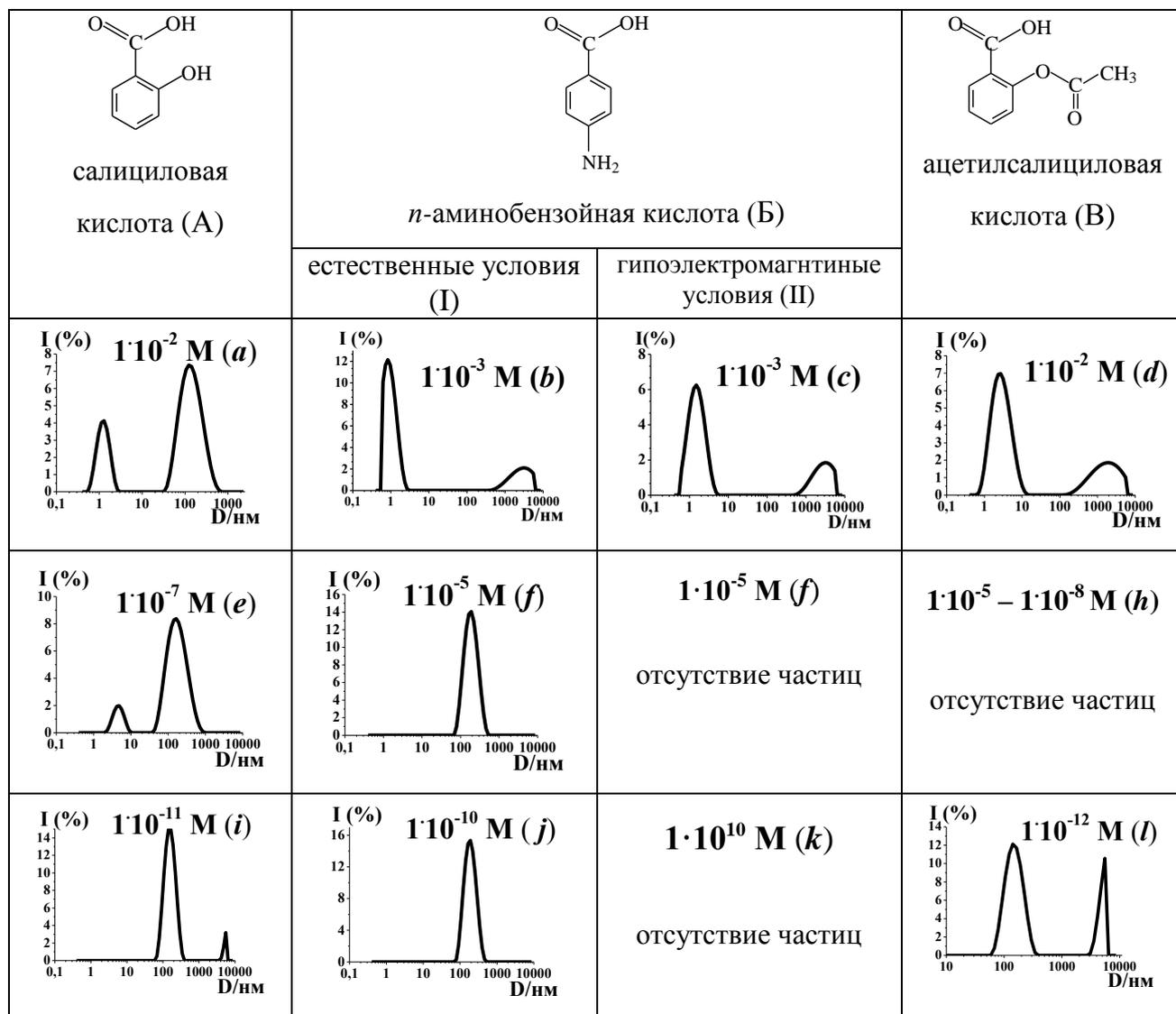
Ко второму ряду БАВ, выбранных для установления взаимосвязи самоорганизации и свойств высокорастворимых растворов относятся бензойная кислота (**7**, БК) и ее производные (**8-11**), среди которых лекарственные препараты салициловая (**8**, СК), *n*-аминобензойная (**9**, ПАБК), ацетилсалициловая (**10**, аспирин, АСК), *n*-аминосалициловая (**11**, ПАСК) кислоты [185].



Изучение высокорастворимых растворов бензойной кислоты и её производных **8-11** методом ДРС показало, что способность растворов **7-11** к самоорганизации существенно зависит от числа гидрофильных заместителей в гидрофобном ароматическом кольце, придающих в той или иной степени амфифильные свойства этим соединениям (рисунок 3.19).

Ранее [152] при изучении способности высокорастворимых растворов фенольных биоантиоксидантов к образованию наноассоциатов выявлено значительное влияние гидрофильного и гидрофобного фрагментов в молекуле антиоксиданта на интервалы образования наноассоциатов и их параметры. Как известно,

гидрофильность, гидрофобность и стерические свойства молекул играют важную роль в проявлении биологической активности веществ и используются для установления количественных соотношений структура-активность [202].



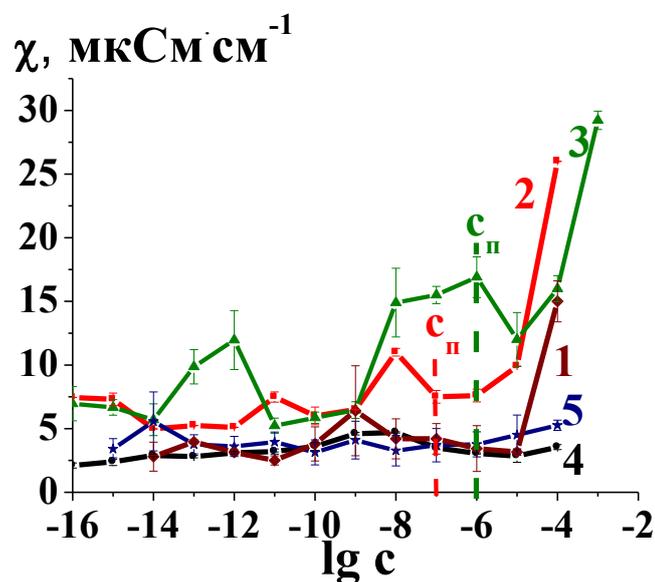
**Рисунок 3.19.** Распределение частиц по размерам в водных растворах салициловой (А), *n*-аминобензойной (Б-I, II), ацетилсалициловой (В) кислот, выдержанных на лабораторном столе (А, Б-I, В) и в пермалловом контейнере (Б-II), с концентрациями салициловой кислоты -  $1 \cdot 10^{-2}$  (а),  $1 \cdot 10^{-7}$  (е),  $1 \cdot 10^{-11}$  М (и); *n*-аминобензойной кислоты - (Б-I и Б-II)  $1 \cdot 10^{-3}$  (б, с),  $1 \cdot 10^{-5}$  (ф, г),  $1 \cdot 10^{-10}$  М (й, к), ацетилсалициловой кислоты (В) -  $1 \cdot 10^{-2}$  (д),  $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-8}$  (з),  $1 \cdot 10^{-9} - 1 \cdot 10^{-12}$  М (л), 25°C.

В растворах бензойной кислоты, а также в растворах её структурного аналога ПАСК, содержащей не только полярную карбоксильную группу, но и еще два

гидрофильных заместителя - гидроксильную и аминогруппу - методом ДРС во всем изученном интервале расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-17}$ - $1 \cdot 10^{-2}$  М определить наличие частиц не удалось. Оптимальными структурами с точки зрения самоорганизации растворов в случае производных бензойной кислоты оказались растворы СК и ПАБК (рисунок 3.19 А, Б- I), содержащих кроме карбоксильной группы по одному гидрофильному заместителю, и в гораздо меньшей степени растворы АСК с ацетильной группой, повышающей гидрофобность вещества (рисунок 3.19 В).

В растворах СК структуры размером в сотни нм образуются в области  $1 \cdot 10^{-12}$ - $1 \cdot 10^{-2}$  М (рисунок 3.19, А, *a-i*), в растворах ПАБК в области  $1 \cdot 10^{-10}$ - $1 \cdot 10^{-4}$  (рисунок 3.19, Б- I, *f, j*), в то время как в растворах АСК только в интервале  $1 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-12}$  М. В интервале  $1 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-5}$  М в растворах АСК частицы не определяются («зона молчания») (рисунок 3.19, *h*).

Таким образом, небольшие различия в амфифильности молекул **7-11** приводят к драматическим различиям в способности растворов этих соединений к образованию nanoассоциатов, в частности, к отсутствию nanoассоциатов в растворах БК и ПАСК.



**Рисунок 3.20.** Зависимость удельной электропроводности ( $\chi$ ) растворов бензойной (1), салициловой (2), *n*-аминобензойной (3), ацетилсалициловой (4), *n*-аминосалициловой (5) кислот, выдержанных на лабораторном столе, от концентрации, 25 °С.

Сравнительное изучение концентрационных зависимостей удельной электропроводности растворов **7-11** показало, что для растворов СК и ПАБК, в

которых наноассоциаты образуются, наблюдается ярко выраженная немонотонная концентрационная зависимость (рисунок 3.20, кривые 2 и 3). В растворах БК, ПАСК и АСК, где способность к образованию наноассоциатов отсутствует или выражена очень слабо (АСК) значение удельной электропроводности близко к значению растворителя – воды (рисунок 3.20, кривые 1, 5, 4).

Рассмотрим более подробно самоорганизацию и свойства высокоразбавленных растворов СК и ПАБК.

Изучение самоорганизации водных растворов СК методом ДРС в широкой области разбавлений показало, что распределение частиц по размерам во всем изученном интервале концентраций носит бимодальный характер. При концентрации  $1 \cdot 10^{-2}$  М в растворе фиксируются частицы 1,2 нм (25%) и 157 нм (75%) (рисунок 3.19 А а). Вероятно, частицы размером 1,2 нм представляют собой гидратированные ассоциаты СК [192, 193], а частицы 157 нм – супрамолекулярные домены [73-75].

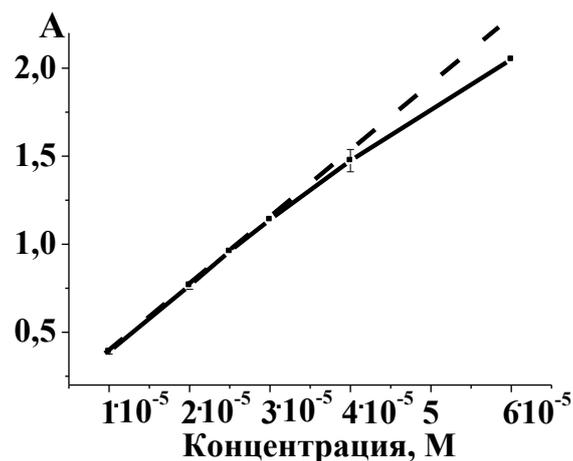
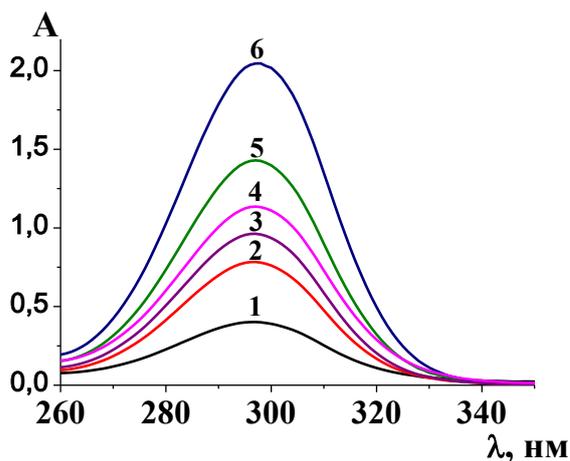
Исследование растворов СК, выдержанных в гипoeлектромагнитных условиях, выявило  $c_{\text{п}}$ , которая составляет  $1 \cdot 10^{-7}$  М.

В области разбавлений  $1 \cdot 10^{-12}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  М в растворе СК методом ДРС фиксируется незначительное количество частиц размером  $\sim 1$  нм (15 %), а доминируют по интенсивности светорассеяния частицы размером в сотни нанометров (85 %). На рисунке 3.19 (А i) представлены распределения частиц по размерам в водном растворе СК при концентрации  $1 \cdot 10^{-11}$  М. Частицы размером в сотни нанометров представляют собой наноассоциаты. После разбавления, соответствующего  $1 \cdot 10^{-12}$  М, достоверно обнаружить наноассоциаты методом ДРС в водном растворе СК не удалось.

Изучение физико-химических свойств водных растворов СК в широкой области разбавлений  $1 \cdot 10^{-12}$ – $1 \cdot 10^{-2}$  М показало, что зависимость удельной электропроводности от концентрации носит немонотонный характер (рисунок 3.20, кривая 2). Наличие чётко выраженных максимумов и минимумов на кривой  $\chi = f(C)$  для растворов СК наблюдается в области ниже  $1 \cdot 10^{-7}$  М, где значения удельной электропроводности растворов меняются от 2,5 до  $10,25 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$  с экстремальными значениями при  $1 \cdot 10^{-8}$ ,  $1 \cdot 10^{-11}$  М (рисунок 3.20, кривая 2).

Сравнение данных кондуктометрии и ДРС высокоразбавленных растворов СК в очередной раз свидетельствует о влиянии природы частиц, образующихся в

растворе, на характер изменения удельной электропроводности. Резкое изменение удельной электропроводности растворов СК в области концентраций  $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-2}$  М связано с уменьшением содержания СК и гидратированных ассоциатов СК, аналогично тому, как показано [140]. Начиная с концентрации  $1 \cdot 10^{-8}$  М и ниже, немонотонный характер зависимости удельной электропроводности обусловлен образованием и перестройкой наноассоциатов.



**Рисунок 3.21.** УФ-спектры поглощения растворов салициловой кислоты при плотности (А) концентрациях салициловой кислоты  $1 \cdot 10^{-5}$  (1),  $2 \cdot 10^{-5}$  (2),  $2 \cdot 10^{-5}$  (3),  $3 \cdot 10^{-5}$  (4),  $4 \cdot 10^{-5}$  (5),  $6 \cdot 10^{-5}$  (6) М, 25°C.

**Таблица. 3.1.** Концентрации водных растворов салициловой кислоты и молярный коэффициент поглощения ( $\epsilon$ ) в максимуме полос 290 нм

А	Концентрация, М	$\epsilon_{290}$
0,385	$1.0 \cdot 10^{-5}$	38500
0,76	$2.0 \cdot 10^{-5}$	38000
0,96	$2.5 \cdot 10^{-5}$	38400
1,14	$3.0 \cdot 10^{-5}$	38000
1,48	$4.0 \cdot 10^{-5}$	37000
2,05	$6.0 \cdot 10^{-5}$	34167

\* Полные УФ-спектры поглощения растворов СК приведены в Приложении к диссертации.

С целью получения дополнительной информации о возможных процессах самоорганизации в растворах СК в интервале концентраций  $6 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  М получены УФ-спектры поглощения в области длин волн 200–700 нм.

В УФ-спектрах растворов регистрируются две полосы поглощения с максимумом при 230 и 290 нм\*. В качестве аналитической выбрана полоса с максимумом поглощения при 290 нм, поскольку она самая интенсивная (рисунок 3.21). Анализ УФ-спектров серии разбавленных растворов СК, приготовленных методом последовательных разбавлений с суточным выдерживанием в естественных условиях, выявил наличие нелинейной зависимости между концентрацией и молярным коэффициентом поглощения ( $\epsilon$ ) в максимуме полосы при 290 нм водных растворов СК. Так, при уменьшении концентрации раствора СК в интервале от  $6 \cdot 10^{-5}$  до  $1 \cdot 10^{-5}$  М наблюдается увеличение коэффициента поглощения от 34167 до 38400, а затем уменьшение до 38000 при  $2 \cdot 10^{-5}$  М, которое сменяется увеличением коэффициентом поглощения до 38500 при концентрации раствора  $1 \cdot 10^{-5}$  М (таблица 3.1). Немонотонное изменение оптической плотности и как следствие немонотонное изменение молярного коэффициента поглощения при уменьшении концентрации вещества (рисунок 3.22), может быть следствием процесса самоорганизации в водных разбавленных растворах [203]. Концентрации  $6 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  М лежат в области образования доменов в растворах СК (рисунок 3.19 А е).

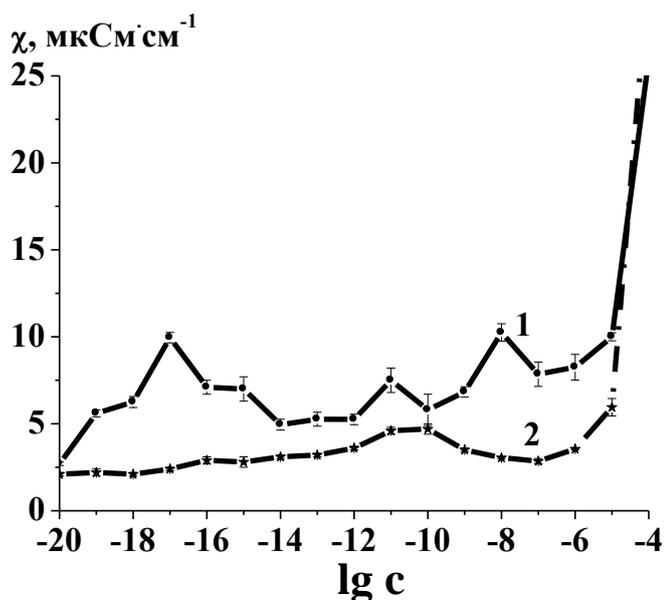
Такой же эффект был обнаружен и описан в работе [139]. Область, где была найдена немонотонная зависимость молярного коэффициента поглощения от разбавления, соответствует области, где методом ДРС было обнаружено образование супрамолекулярных доменов ( $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  М). Вероятно, супрамолекулярные домены и являются причиной нелинейного изменения  $\epsilon$ .

Для установления сходства и различий в поведении высокоразбавленных растворов СК и АСК проведено сравнительное изучение самоорганизации и свойств их растворов.

Изучение самоорганизации водных растворов СК и АСК (рисунок 3.19 А, В) методом ДРС показало, что в растворах обоих веществ распределение частиц по размерам во всем изученном интервале концентраций бимодальное, однако характер распределения частиц в растворах СК и АСК значительно отличается.

При концентрации  $1 \cdot 10^{-2}$  М в растворе СК и АСК фиксируются частицы размером около 1 нм, представляющие собой гидратированные молекулы или небольшие ассоциаты, и частицы размером в сотни и тысячи нм, являющиеся супрамолекулярными доменами. По интенсивности светорассеяния частицы первого типа в растворе СК и АСК составляют 25 % и 70%, в то время как домены - 75% и 30%, соответственно. Аналогичное соотношение частиц размером около 1 нм и сотни нм сохраняется при снижении концентрации раствора СК до  $1 \cdot 10^{-7}$  М, а раствора АСК до  $1 \cdot 10^{-4}$  М. Ниже этих концентраций в растворах СК образуются наноассоциаты, а в растворе АСК определение размера структур становится невозможным вследствие полимодальности распределения частиц. Однако, также как в случае высокоразбавленных растворов мочеины, наноассоциаты в растворе АСК неожиданно регистрируются в области  $1 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-12}$  М. Для растворов ацетилсалицилатов кобальта и цинка в области концентраций  $1 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-12}$  М, где в растворах АСК обнаружены структуры размером в сотни нм, в работе [120] показан анальгетический эффект, превосходящий по противоболевой эффективности аспирин в его терапевтических дозах.

Начиная с концентрации  $1 \cdot 10^{-12}$  М и ниже, достоверно обнаружить наноассоциаты методом ДРС в растворе АСК, также как в растворах СК, не удастся.



**Рисунок 3.23.** Зависимость удельной электропроводности водных растворов салициловой (1) и ацетилсалициловой кислоты (2) от концентрации, 25 °С.

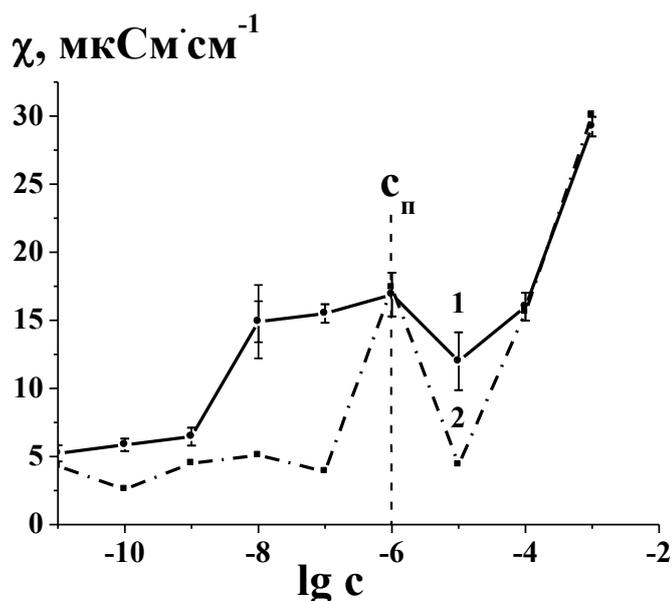
На рисунке 3.23 представлены концентрационные зависимости удельной электропроводности растворов СК и АСК, наглядно подтверждающие, что АСК относится к веществам, слабо способным к образованию наноассоциатов, в то время как в растворах СК они образуются в широком интервале разбавлений. Концентрационная зависимость удельной электропроводности растворов СК носит выраженный немонотонный характер до  $1 \cdot 10^{-18}$  М, а растворов АСК - только до  $1 \cdot 10^{-12}$  М, при этом значения удельной электропроводности растворов СК в 2-3 раза выше, чем АСК.

Итак, замена фенольного протона в молекуле СК на ацильную группу в молекуле АСК отрицательно влияет на способность растворов АСК к образованию доменов и наноассоциатов, что доказывает высказанное нами ранее предположение [152] о том, что фенольная гидроксильная группа играет важную положительную роль в образовании наноассоциатов.

ПАБК – соединине из ряда производных БК, высокоразбавленные растворы которого способны к образованию наноассоциатов. Изучение методом ДРС разбавленных растворов ПАБК, выдержанных в естественных условиях, в области концентраций  $1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М показало, что по характеру распределения частиц всю область концентраций можно разделить на два интервала (рисунок 3.19 Б-Г). В интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М распределение частиц по размерам носит бимодальный характер. При концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М в растворе фиксируются частицы размером  $\sim 1$  нм (78%) и  $\sim 2000$  нм (22%) (рисунок 3.19 Б-Г б), а при  $1 \cdot 10^{-4}$  М  $\sim 1$  нм (18%) и  $\sim 200$  нм (88%). В интервале низких концентраций  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  и  $1 \cdot 10^{-5}$  М (рисунок 3.19 Б-Г в, г) распределение частиц по размерам мономодальное. В области концентраций  $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  М и меньше  $1 \cdot 10^{-10}$  М достоверно зафиксировать частицы методом ДРС в водном растворе ПАБК не удалось.

Как видно из данных рисунка 3.19 Б-Г, при разбавлении растворов ПАБК процентное содержание в единицах интенсивности частиц диаметром  $\sim 1$  нм, представляющих собой гидратированные ассоциаты вещества [192, 193], падает, при этом значение удельной электропроводности линейно снижается (рисунок 3.24, кривая 1) от 28 до  $15 \text{ мкСм} \cdot \text{см}^{-1}$ . Сходное поведение было отмечено для растворов биорегуляторов роста и развития микроорганизмов гуанибифоса и мелафена [140].

При концентрациях  $1 \cdot 10^{-4}$  и  $1 \cdot 10^{-5}$  М в растворе ПАБК фиксируются частицы размером 240 и 200 нм (рисунок 3.19 Б-Г), соответственно, которые, как показано в работах [73-75], вероятнее всего являются супрамолекулярными доменами, состоящими, главным образом, из молекул растворенного вещества и воды, способными аналогично наноассоциатам обуславливать немонотонные изменения свойств растворов [140].



**Рисунок 3.24.** Зависимость удельной электропроводности ( $\chi$ ) растворов *n*-аминобензойной кислоты, выдержанных на лабораторном столе (1) и в пермалловом контейнере (2), от концентрации, 25 °С.

При дальнейшем разбавлении в интервале  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  М зависимость удельной электропроводности  $\chi=f(C)$  носит немонотонный характер, значения удельной электропроводности изменяются от 5 до 15 мкСм·см<sup>-1</sup> (рисунок 3.24, кривая 1). В растворе при концентрациях  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  М регистрируются частицы размером  $\sim 180 \pm 30$  нм, которые, как показано в обзоре [140], могут представлять собой наноассоциаты, обуславливающие немонотонные изменения физико-химических свойств.

Доказательство образования наноассоциатов было получено с помощью пермаллового контейнера [140], защищающего содержимое от геомагнитного и низкочастотного ЭМП. Изучение влияния пониженного уровня ЭМП проводилось по

разработанной ранее и описанной выше методике. При изучении самоорганизации водных растворов ПАБК, выдержанных в пермаллоевом контейнере, установлено, что в области концентраций  $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М экранирование от внешних низкочастотных полей несущественно влияет на водные растворы ПАБК (рисунок 3.19 Б *b, c*). При концентрации  $1 \cdot 10^{-5}$  М (рисунок 3.19 Б *f, g*) данные по ДРС становятся менее достоверными, а ниже  $1 \cdot 10^{-5}$  М - частицы не обнаруживаются. Однако ход концентрационной зависимости удельной электропроводности (рисунок 3.24, кривая 2) имеет немонотонный характер вплоть до  $1 \cdot 10^{-6}$  М. Так как немонотонное изменение физико-химических свойств свидетельствует о наличие структурных изменений в растворе, то, вероятно, образование наноассоциатов происходит до  $1 \cdot 10^{-6}$  М. Совокупность данных по ДРС и кондуктометрии свидетельствует о том, что  $c_{\text{п}}$  для водных растворов ПАБК является  $1 \cdot 10^{-6}$  М. В интервале  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-7}$  М значения удельной электропроводности растворов, выдержанных в пермаллоевом контейнере, практически соответствуют удельной электропроводности воды (рисунок 3.24, кривая 2).

Итак, исследование самоорганизации и физико-химических свойств водных растворов ПАБК ( $1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М), выдержанных в естественных условиях и в условиях пониженного уровня внешних низкочастотных ЭМП, свидетельствует о том, что по мере разбавления в растворе ПАБК исчезают небольшие гидратированные ассоциаты вещества ( $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М), а присутствующие в растворе ( $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-4}$  М) супрамолекулярные домены при дальнейшем разбавлении инициируют образование наноассоциатов ( $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  М), состоящих главным образом из структур воды. Для водных растворов ПАБК найдена пороговая концентрация  $1 \cdot 10^{-6}$  М, выше которой в растворе образуются супрамолекулярные домены, а ниже наноассоциаты.

Таким образом, изучение влияния гипoeлектромагнитных условий и строения растворенного вещества на самоорганизацию и физико-химические свойства высокоразбавленных водных растворов производных гликольурилы и бензойной кислоты позволило впервые показать, что гидрофобные и гидрофильные свойства заместителей, а также тонкие различия в пространственном строении веществ коренным образом влияют на способность высокоразбавленных растворов к самоорганизации с образованием наноассоциатов. Ниже  $c_{\text{п}}$ , лежащей в интервале  $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-4}$  М, в растворах 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы, 2,6-диметил-4,8-

диэтилгликольурила (рацемата), гликольурила с фрагментами (*S*)- метионина (энантиомерно чистый диастереомер) и (*SR*)-метионина (рацемат), 2-гидроксибензойной, 4-аминобензойной кислот, выдержанных в естественных условиях, образуются наноассоциаты, вследствие чего наблюдаются немонотонные зависимости физико-химических свойств растворов. В разбавленных растворах этих соединений, выдержанных в гипoeлектромагнитных условиях, а также в растворах незамещенного гликольурила, 2,4,6,8-тетраэтилгликольурила, гликольурила с фрагментами (*R*)-метионина (энантиомерно чистый диастереомер), бензойной, 4-амино-2-гидроксибензойной кислот, выдержанных в естественных условиях, способность к образованию наноассоциатов отсутствует, физико-химические свойства разбавленных растворов этих соединений практически соответствуют свойствам растворителя - дистиллированной воды.

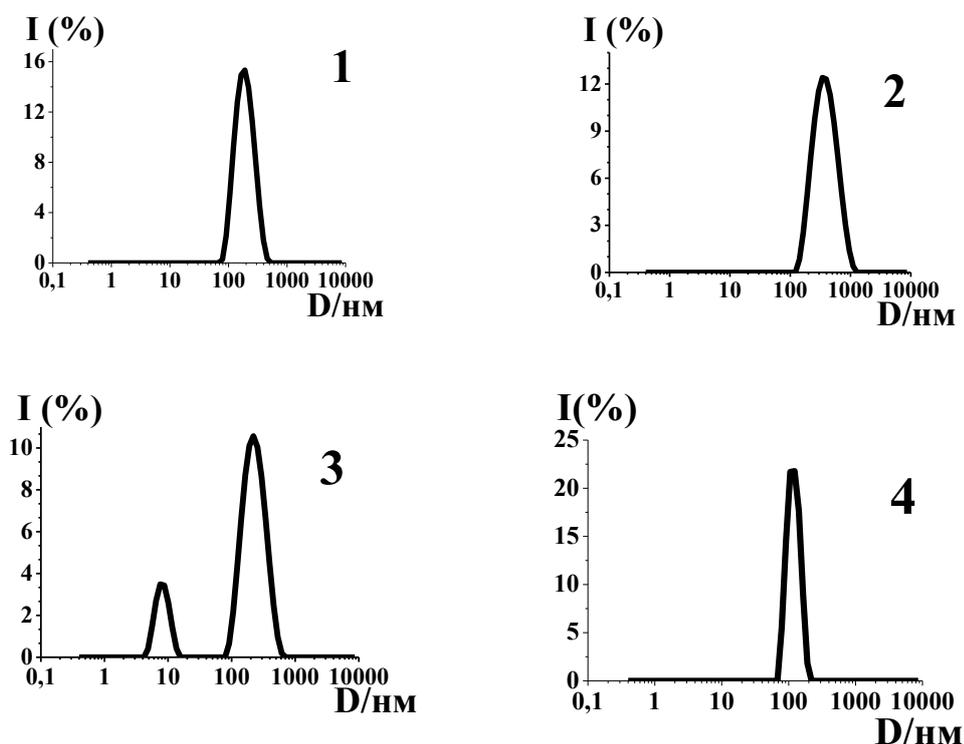
### **3.2 Изучение влияние температуры в интервале 25-45 °С на способность к самоорганизации высокоразбавленных растворов *l*-аминобензойной кислоты и бромида цетилтриметиламмония**

Одной из нерешенных проблем теории водных растворов являются аномальные зависимости их физико-химических свойств и спектральных характеристик от температуры [1-3, 204, 205]. В последнее время показано [16, 17], что немонотонные температурные и концентрационные зависимости физико-химических свойств растворов могут быть связаны с перестройками образующихся в растворах наноструктур размером в сотни нм, аналогичных супрамолекулярным доменам [73-76], найденным в водных растворах органических и неорганических веществ в интервале концентраций  $6-1 \cdot 10^{-6}$  М. Температурные зависимости параметров наноассоциатов и свойств высокоразбавленных растворов до настоящего времени не изучены.

Для изучения влияние физиологически важных температур на способность к самоорганизации высокоразбавленных растворов выбраны растворы веществ широкого спектра применения - природного биологически активного вещества (4-аминобензойная кислота, ПАБК, **9**) (см. раздел 3.3 и ссылки в нем) и синтетического поверхностно-активного вещества, обладающего бактериостатической активностью (бромид цетилтриметиламмония, БЦТА, **12**) [206-216]. Как было показано ранее,

высокоразбавленные растворы ПАБК и БЦТА способны к образованию наноассоциатов в интервале расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-10}$ - $1 \cdot 10^{-8}$  М и  $1 \cdot 10^{-12}$ - $1 \cdot 10^{-6}$  М соответственно.

С учетом широкого спектра применения ПАБК (см. раздел 3.3) изучение взаимосвязи самоорганизации, физико-химических свойств и биологической активности её высокоразбавленных ( $1 \cdot 10^{-11}$ - $1 \cdot 10^{-3}$  М) водных растворов в интервале физиологически важных температур 25-45 °С представляет не только значительный теоретический, но и практический интерес.



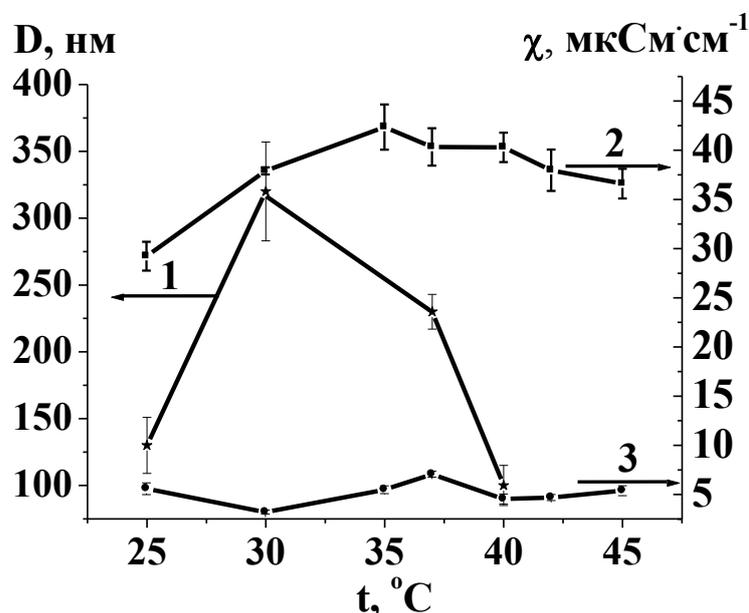
**Рисунок 3.25.** Распределение частиц по размерам в растворах *p*-аминобензойной кислоты ( $1 \cdot 10^{-10}$  М), выдержанных в естественных условиях при 25 (1), 30 (2), 37 (3) и 40 °С (4).

Влияние температуры на самоорганизацию водного раствора ПАБК изучено для растворов, в которых образуются агрегаты вещества ( $1 \cdot 10^{-3}$  М) и наноассоциаты ( $1 \cdot 10^{-10}$  М) (рисунок 3.19, Б *b, j*). Для раствора ПАБК с концентрацией  $1 \cdot 10^{-3}$  М установлено, что повышение температуры от 30 до 45 °С приводит к разрушению агрегатов, образующихся при 25 °С.

Для раствора с концентрацией  $1 \cdot 10^{-10}$  М удалось проанализировать зависимость размера наноассоциатов от температуры в интервале 25-45 °С. Распределение частиц по размерам носит мономодальный характер, однако при 37 °С (рисунок 3.25, 3)

распределение становится бимодальным. При 37 °С наряду с частицами размером в сотни нм обнаруживаются частицы с гидродинамическим диаметром  $\sim 8$  нм. При  $T \geq 42$  °С методом ДРС частиц в водном растворе ПАБК зафиксировать не удалось. Размер наноассоциатов при 25, 30, 37, 40 °С изменяется немонотонно, составляя 130, 320, 230 и 100 нм соответственно (рисунки 3.25 и 3.26). В работе [17] методом АТН показано, что в растворах  $\alpha$ -аминокислот в интервале температур от 20 до 50° С также наблюдается немонотонное изменение диаметра кластеров - рост и снижение от 200 до 100 нм, коррелирующее с уменьшением и увеличением их количества.

Повышение температуры сказывается и на физико-химических свойствах растворов ПАБК (рисунок 3.26, кривые 2, 3). При концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М увеличение температуры сопровождается ростом удельной электропроводности от 28 до 42 мкСм·см<sup>-1</sup>, что, вероятно, связано с разрушением агрегатов и увеличением количества частиц. Дальнейшее нагревание приводит к падению удельной электропроводности до 36 мкСм·см<sup>-1</sup>, максимум удельной электропроводности регистрируется при 35 °С (рисунок 3.26, кривая 2).



**Рисунок 3.26.** Зависимость размера наноассоциатов (1), образующихся в растворе *n*-аминобензойной кислоты при концентрации  $1 \cdot 10^{-10}$  М, и удельной электропроводности ( $\chi$ ) водных растворов *n*-аминобензойной кислоты при концентрациях  $1 \cdot 10^{-3}$  (2) и  $1 \cdot 10^{-10}$  М (3) от температуры.

При концентрации раствора  $1 \cdot 10^{-10}$  М удельная электропроводность немонотонно изменяется в небольшом интервале от 3 до 7 мкСм·см<sup>-1</sup> (рисунок 3.26, кривая 3) с экстремумами при 30, 37 и 40 °С. С учетом данных о взаимосвязи размера и количества кластеров в растворах  $\alpha$ -аминокислот [17] и результатов по изучению размера наноассоциатов, представленных на рисунках 3.25 и 3.26, немонотонную температурную зависимость удельной электропроводности растворов ПАБК (рисунок 3.26, кривая 3) можно объяснить следующим образом. Увеличение размера наноассоциатов от 130 до 320 нм с ростом температуры от 25 до 30 °С, по-видимому, аналогично [17], сопровождается снижением их количества, что и обуславливает уменьшение удельной электропроводности раствора от 5,5 до 3,2 мкСм·см<sup>-1</sup>.

Дальнейший рост температуры до 37 °С связан с уменьшением размера наноассоциатов до 230 нм, т.е. с ростом их числа, и появлением частиц небольшого размера (рисунок 3.25 3), что приводит к увеличению удельной электропроводности до 7 мкСм·см<sup>-1</sup>.

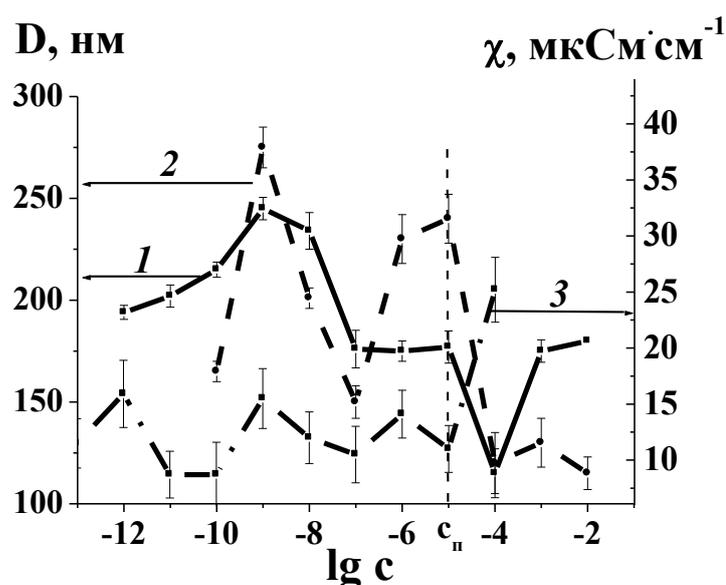
Ранее нами установлены тесные корреляции между изменениями удельной электропроводности растворов и параметрами наноассоциатов, происходящими в ходе их концентрационных перестроек [140]. Сравнение данных ДРС (рисунок 3.25) и кондуктометрии (рисунок 3.26) растворов ПАБК с концентрацией  $1 \cdot 10^{-10}$  М дает основание считать, что и температурные перестройки наноассоциатов обуславливают немонотонные изменения свойств растворов.

Для более детального доказательства этого положения изучено влияние температуры в интервале 25-45 °С на способность к самоорганизации высокоразбавленных растворов БЦТА. Растворы БЦТА давно и широко используются в фундаментальных исследованиях и промышленных технологиях в качестве детергента, антибактериального препарата, мицеллярного катализатора, модификатора водорастворимых полимеров синтетического и природного происхождения и т.д. [41, 206-214]. Однако до работ, освещенных в обзоре [140 а, б], свойства индивидуальных и смешанных растворов БЦТА изучались только в мицеллярных (выше критической концентрации мицеллообразования  $8 \cdot 10^{-4}$  М) или предмицеллярных ( $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$  М) концентрациях [215, 216].

Исследование растворов БЦТА по оригинальной методике, предусматривающей выдерживание растворов в естественных условиях и в условиях

пониженного уровня внешних физических полей показало [140], что в растворах БЦТА в широкой области концентраций ( $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-12}$  М) при температуре 25 °С образуются мицеллы (свыше  $8 \cdot 10^{-4}$  М), супрамолекулярные домены ( $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  М) и наноассоциаты ( $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-12}$  М). Концентрационные перестройки наноассоциатов и доменов, сопровождающиеся изменением их размера и  $\zeta$ -потенциала, обуславливают немонотонные зависимости удельной электропроводности, рН, диэлектрической проницаемости разбавленных растворов ( $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-12}$  М) [171].

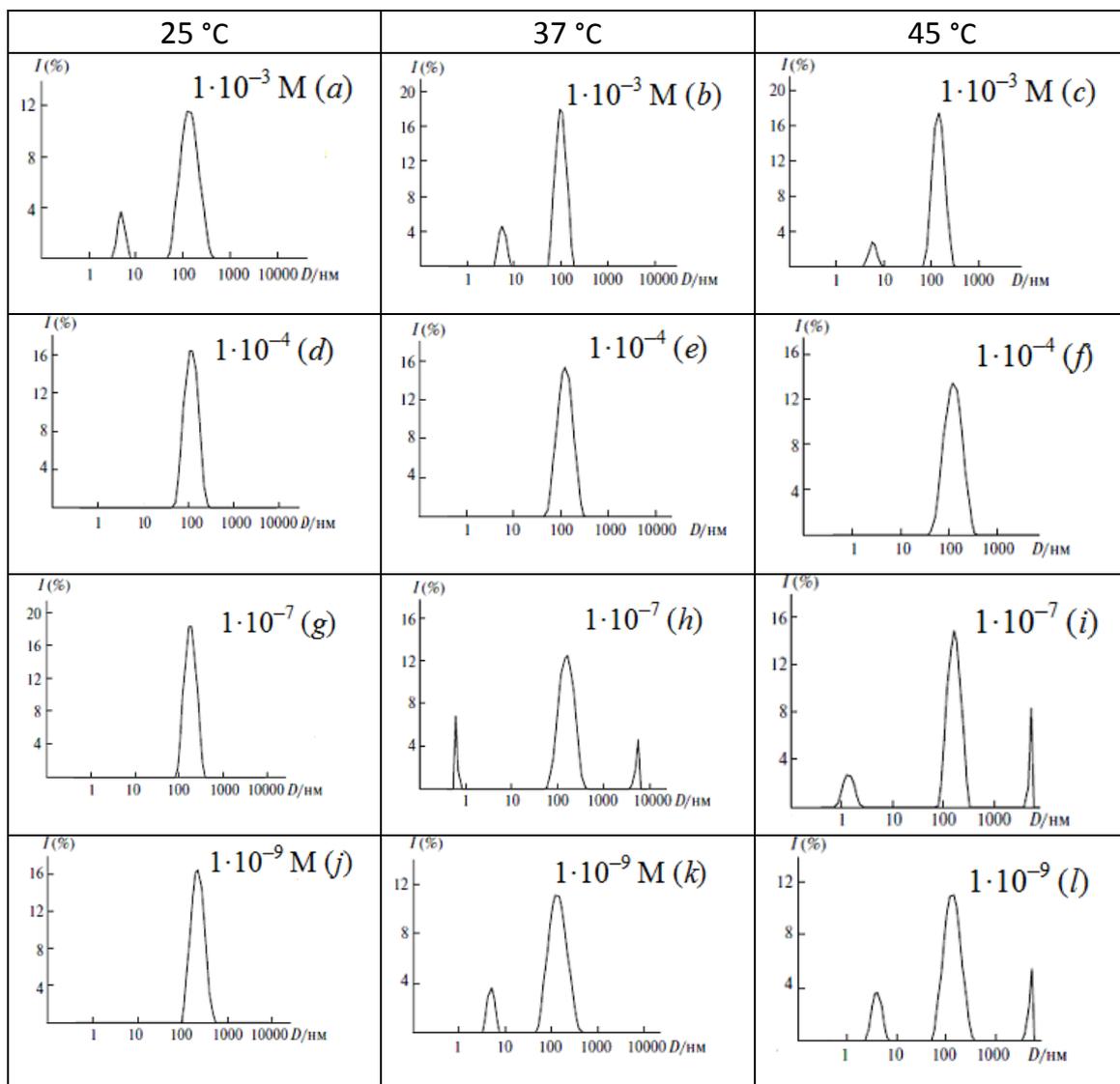
В растворах БЦТА с концентрацией  $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-12}$  М, выдержанных в пермалловом контейнере, частицы не были обнаружены, т.е. концентрация  $1 \cdot 10^{-5}$  М является пороговой [171]. Это означает, что структуры размером в сотни нанометров, образующиеся в выдержанных в естественных условиях растворах с концентрациями ниже пороговой  $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-12}$  М, представляют собой наноассоциаты, а в растворах с концентрациями  $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  М – домены (рисунок 3.28 *d, g, j*).



**Рисунок 3.27.** Зависимость размера ( $D$ ) (1, 2) частиц и удельной электропроводности ( $\chi$ ) (3) раствора БЦТА от концентрации при 25 (1, 3) и 40 °С (2).

Анализ концентрационных зависимостей размеров,  $\zeta$ -потенциала супрамолекулярных доменов и наноассоциатов, а также удельной электропроводности растворов БЦТА, найденных при 25 °С, показал, что экстремальные изменения параметров доменов и наноассоциатов и физико-

химических свойств растворов наблюдаются при концентрациях  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М (рисунок 3.27). Эти концентрации и были выбраны нами для изучения влияния температуры на параметры доменов и наноассоциатов и свойства растворов.



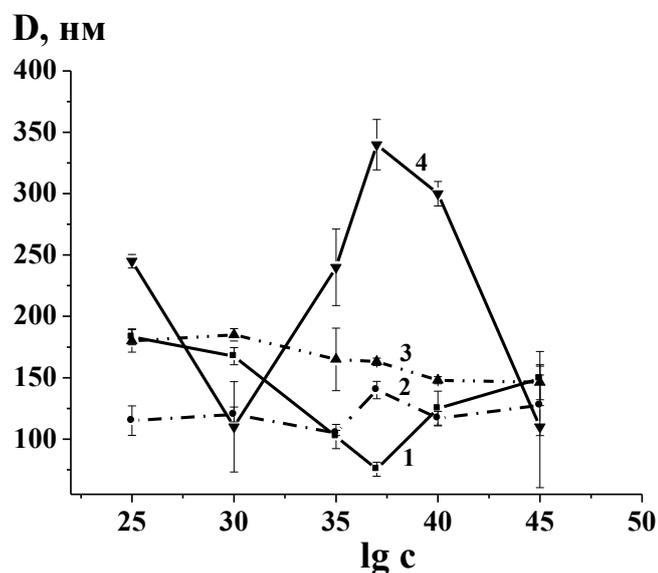
**Рисунок 3.28.** Распределение частиц по размерам в водных растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$  (a-c),  $1 \cdot 10^{-4}$  (d-f),  $1 \cdot 10^{-7}$  (g-i) и  $1 \cdot 10^{-9}$  М (j-l), которые выдерживали в условиях термостатирования при 25 (a, d, g, j), 37 (b, e, h, k) и 45 °C (c, g, i, l).

На рисунке 3.28 представлено распределение частиц по размерам при 25, 37 и 45 °C в растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М. Как видно из данных рисунка 3.28, a, при 25 °C в растворе с концентрацией, равной  $1 \cdot 10^{-3}$  М, образуются мицеллы размером около 4 нм и структуры размером сотни нм. В

интервале концентраций от  $1 \cdot 10^{-4}$  М до  $1 \cdot 10^{-9}$  М в растворе присутствуют только структуры размером в сотни нм (рисунок 3.28, *d, g, j*).

В растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$  и  $1 \cdot 10^{-4}$  М вид распределений частиц по размерам в интервале температур 25-45 °С не меняется (рисунок 3.28 *a-f*). В растворах с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$  М во всем изученном интервале температур (25-45 °С) наблюдается образование мицелл размером около 4 нм и супрамолекулярных доменов размером в сотни нанометров (рисунок 3.28 *a-c*), а при  $1 \cdot 10^{-4}$  М – только супрамолекулярных доменов (рисунок 3.28 *d-f*).

В растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М при температурах 30-45 °С в отличие от 25 °С нарушается модальное распределение частиц по размерам с появлением отдельных максимумов на кривых ДРС (рисунок 3.28 *h, k* (37° С) и *i, l* (45° С)), свидетельствующих, как показано в работах [192, 193], о сосуществовании в растворе частиц различного размера и природы. Однако структуры размером в сотни нанометров, представляющие собой наноассоциаты, по интенсивности светорассеяния доминируют, составляя 70 – 80 %.



**Рисунок 3.29.** Температурные зависимости ( $D$ ) частиц, образующихся в растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$  (1),  $1 \cdot 10^{-4}$  (2),  $1 \cdot 10^{-7}$  (3),  $1 \cdot 10^{-9}$  (4) М.

Температурные зависимости размеров структур, доминирующих по интенсивности, приведены на рисунке 3.29. Как видно, размеры доменов и наноассоциатов, образующихся в растворах с концентрациями БЦТА, равными  $1 \cdot 10^{-3}$ ,

$1 \cdot 10^{-4}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М (рисунок 3.29, кривые 1, 2, 4), изменяются в зависимости от температуры немонотонно и специфически для каждой концентрации с экстремальными значениями в области 30, 37 и 40 °С. В растворе БЦТА с концентрацией  $1 \cdot 10^{-7}$  М наблюдается незначительное плавное снижение размера nanoассоциатов с ростом температуры до 40 °С, выше которой размеры не изменяются (рисунок 3.29, кривая 3).

Ход зависимости размера доменов, образующихся в мицеллярной области концентраций ( $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-4}$  М), резко отличается от хода зависимости размера доменов и nanoассоциатов, образующихся при низких концентрациях ( $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-9}$  М).

В растворе БЦТА с концентрацией  $1 \cdot 10^{-3}$  М увеличение температуры от 30 до 37 °С сопровождается снижением размеров доменов в 2 раза от 170 до 80 нм, а затем в интервале 37-45 °С их размер снова растет и становится приблизительно равным значению, найденному при 30 °С (рисунок 3.29, кривая 1). Ход температурной зависимости размера доменов при концентрации БЦТА, равной  $1 \cdot 10^{-3}$  М, аналогичен ходу зависимости размера мицелл БЦТА от температуры [41]. Это объясняется, вероятно, тем, что при температуре выше точки Крафта (26 °С) увеличивается растворимость БЦТА, что приводит к сдвигу равновесия в сторону увеличения числа неагрегированных ионов и молекул и, соответственно, уменьшению размера мицелл и доменов, образующихся в области достаточно высоких концентраций БЦТА.

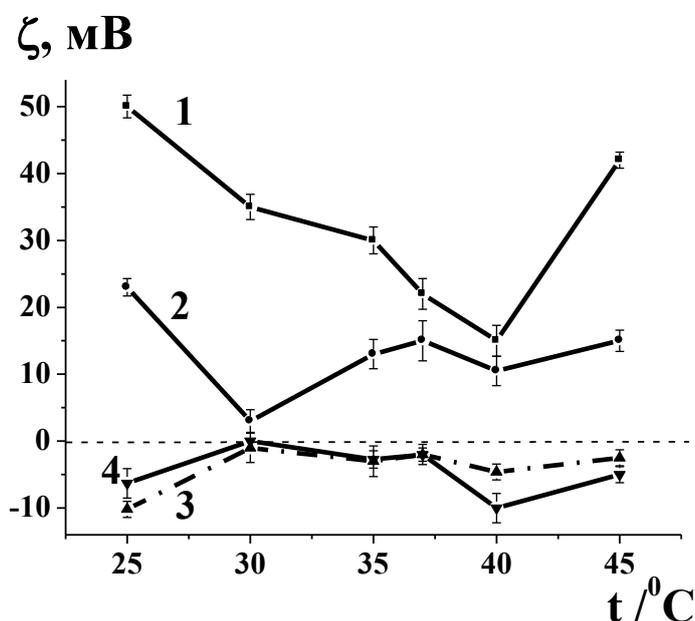
С уменьшением концентрации растворов до  $1 \cdot 10^{-4}$  М рост температуры мало влияет на размер доменов (рисунок 3.29, кривая 2). Только в диапазоне от 30 до 40 °С наблюдается сначала небольшое увеличение от 110 до 150 нм, а затем уменьшение размеров с экстремумом при 37 °С.

Более резко выраженный и сложный вид температурной зависимости размера nanoассоциатов с минимумом при 30 °С (100 нм) и максимумом при 37 °С (350 нм) получен для растворов в концентрации  $1 \cdot 10^{-9}$  М (рисунок 3.29, кривая 4). При 25 °С именно для этой концентрации наблюдаются экстремальные значения размера nanoассоциатов и физико-химических свойств раствора [173].

Таким образом, ход температурных зависимостей размеров доменов, образующихся при достаточно высокой концентрации БЦТА ( $1 \cdot 10^{-3}$  М) (рисунок 3.29, кривая 1), а также доменов и nanoассоциатов, формирующихся в областях низких

концентраций ( $1 \cdot 10^{-4}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М) (рисунок 3.29, кривые 2 и 4), носит противоположный характер с экстремумом при  $37$  °С. Вероятно, это можно объяснить различной природой доменов, образующихся в разных концентрационных областях - мицеллярной области концентраций и в разбавленных растворах. Разбавление раствора приводит к уменьшению количества катионов цетилтриметиламмония в составе доменов и наноассоциатов и увеличению доли структурированной воды, которая, вероятно, и обуславливает поведение доменов и наноассоциатов, что особенно справедливо для наноассоциатов.

На рисунке. 3.27 (кривые 1 и 2) приведены концентрационные зависимости размера доменов и наноассоциатов при  $25$  и  $40$  °С. Несмотря на то, что распределение частиц в растворах при  $25$  °С практически во всем интервале концентраций ( $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-9}$  М) мономодальное (рисунок 3.28 *d, g, j*), а в интервале температур  $30$ – $45$  °С мономодальность сохраняется только при концентрации  $1 \cdot 10^{-4}$  М (рисунок 3.28 *e, f*), ход концентрационных зависимостей частиц размером в сотни нм при обеих температурах имеет сходный вид с экстремумами при  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М.



**Рисунок 3.30.** Температурные зависимости  $\zeta$ -потенциала частиц, образующихся в растворах БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$  (1),  $1 \cdot 10^{-4}$  (2),  $1 \cdot 10^{-7}$  (3),  $1 \cdot 10^{-9}$  М (4).

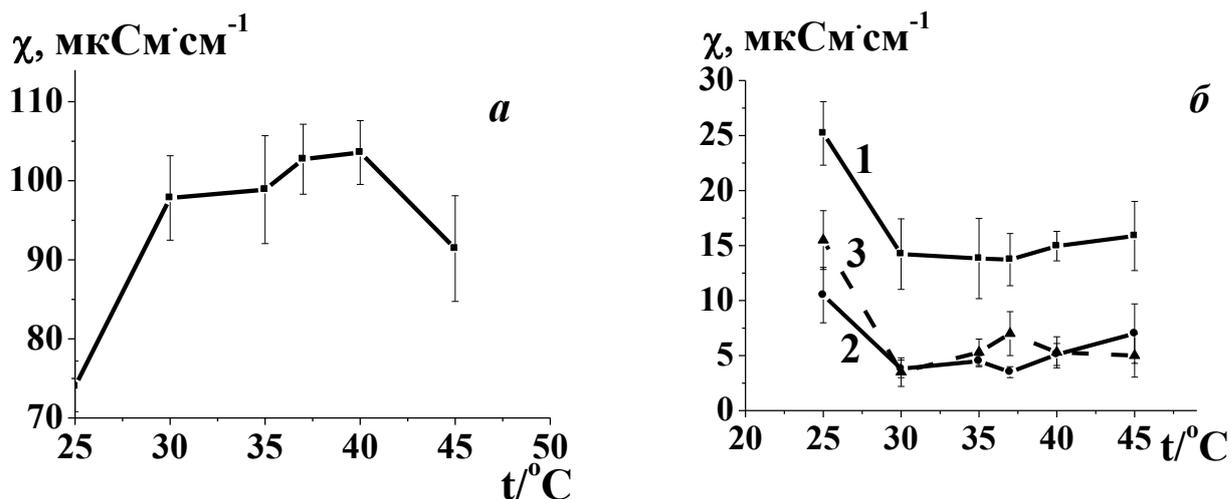
Температурные зависимости  $\zeta$ -потенциала доменов, образующихся при  $1 \cdot 10^{-4}$  М (рисунок 3.30 кривая 1) и наноассоциатов, формирующихся при  $1 \cdot 10^{-7}$  и

$1 \cdot 10^{-9}$  М (рисунок 3.30 кривые 2, 3), как и зависимости их размера (рисунок 3.29), изменяются немонотонно с экстремумами при 30, 37 и 40 °С.

При концентрации раствора БЦТА  $1 \cdot 10^{-3}$  М и размер и  $\zeta$ -потенциал доменов с ростом температуры уменьшаются, а затем растут, при этом экстремум на температурной зависимости  $\zeta$ -потенциала смещается по сравнению с температурной зависимостью размера частиц от 37 до 40 °С (рисунок 3.30, кривая 1).

Более сложная температурная зависимость  $\zeta$ -потенциала и размера с тремя экстремумами при 30, 37 и 40 °С наблюдается для раствора с концентрацией  $1 \cdot 10^{-4}$  М (рисунок 3.30, кривая 2). Практически идентичен ход зависимостей  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов, формирующихся при  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М, на которых наблюдаются экстремумы при 30 и 40 °С (рисунок 3.30, кривые 3, 4). Однако при 40 °С значения  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов, образующихся при  $1 \cdot 10^{-9}$  М, в два раза выше, чем  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов в растворах с концентрацией  $1 \cdot 10^{-7}$  М. Так же как в случае доменов, формирующихся в растворе БЦТА с концентрацией  $1 \cdot 10^{-3}$  М (рисунки 3.29 и 3.30, кривые 1), положение экстремума температурной зависимости  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов раствора с концентрацией  $1 \cdot 10^{-9}$  М смещается по сравнению с положением экстремума на температурной зависимости размера от 37 до 40 °С (рисунки 3.29, 3.30, кривые 4).

В растворах БЦТА с концентрацией, равной  $1 \cdot 10^{-4}$  М, т.е. на порядок выше пороговой  $1 \cdot 10^{-5}$  М,  $\zeta$ -потенциал доменов с ростом температуры изменяется от +25 до +2 мВ с минимумом (+2 мВ) при 30 °С (рисунок 3.30, кривая 2). При концентрациях  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М, что на несколько порядков ниже пороговой,  $\zeta$ -потенциал наноассоциатов с ростом температуры изменяется от -10 до -1 мВ с минимумом (-1 мВ) при 30 °С, а для  $1 \cdot 10^{-9}$  М еще и с максимумом (-10 мВ) при 40 °С (рисунок 3.30, кривые 3, 4). С учетом положительного знака  $\zeta$ -потенциала доменов и отрицательного наноассоциатов, ход зависимостей (рисунок 3.30, кривые 1-3) до 35 °С аналогичен с минимумом при 30 °С. Смена знака  $\zeta$ -потенциала доменов и наноассоциатов объясняется тем, что положительный заряд домена определяется катионами цетилтриметиламмония, входящими в состав домена, а отрицательный знак заряда наноассоциатов – структурами воды, формирующими наноассоциат [140].



**Рисунок 3.31.** *a* – Температурная зависимость удельной электропроводности ( $\chi$ ) раствора БЦТА с концентрацией  $1 \cdot 10^{-3}$  М (1). *б* – Температурные зависимости удельной электропроводности ( $\chi$ ) раствора БЦТА с концентрацией  $1 \cdot 10^{-4}$  (1),  $1 \cdot 10^{-7}$  (2) и  $1 \cdot 10^{-9}$  М (3).

Исследование влияния температуры (25–45 °С) на удельную электропроводность растворов БЦТА выявило, что ход температурных зависимостей удельной электропроводности растворов при концентрациях  $1 \cdot 10^{-3}$  (рисунок 3.31, *a*) и  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$ ,  $1 \cdot 10^{-9}$  М (рисунок 3.31, *б*) имеет противоположный характер. Температурные зависимости удельной электропроводности растворов при  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М практически симбатны.

Для раствора с концентрацией  $1 \cdot 10^{-3}$  М (рисунок 3.31, *a*) повышение температуры от 25 до 30 °С приводит к увеличению удельной электропроводности раствора на 30 %, что, вероятно, обусловлено увеличением растворимости БЦТА выше точки Крафта, приводящим к увеличению мономерных ионов цетилтриметиламмония, бромид-ионов, молекул БЦТА в растворе, т.е. увеличению общего числа зарядов в объеме раствора [41]. В интервале температур 30–45 °С удельная электропроводность раствора с концентрацией  $1 \cdot 10^{-3}$  М изменяется незначительно (рисунок 3.31, *a*). Наблюдающийся небольшой рост и падение удельной электропроводности с максимумом при 40 °С может быть связан с изменением числа и размера мицелл и доменов, аналогично показанному в работе [17]. То есть при концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М ход температурной зависимости удельной электропроводности раствора, вероятно, обусловлен изменением динамического

равновесия между ионами, молекулами, мицеллами и доменами и их перестройками, происходящими с изменением температуры раствора БЦТА.

Для раствора БЦТА концентрацией, равной  $1 \cdot 10^{-4}$  М, т.е. в области образования в растворе доменов, на температурной зависимости удельной электропроводности наблюдается обратная картина: удельная электропроводность раствора при температуре от 25 до 30 °С уменьшается, оставаясь далее практически неизменной вплоть до 45 °С (рисунок 3.31, б, кривая 1). Аналогичный ход температурной зависимости при меньших абсолютных значениях удельной электропроводности установлен для зависимостей, полученных для растворов  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М, т.е. в области образования наноассоциатов (рисунок 3.31, б, кривые 2, 3).

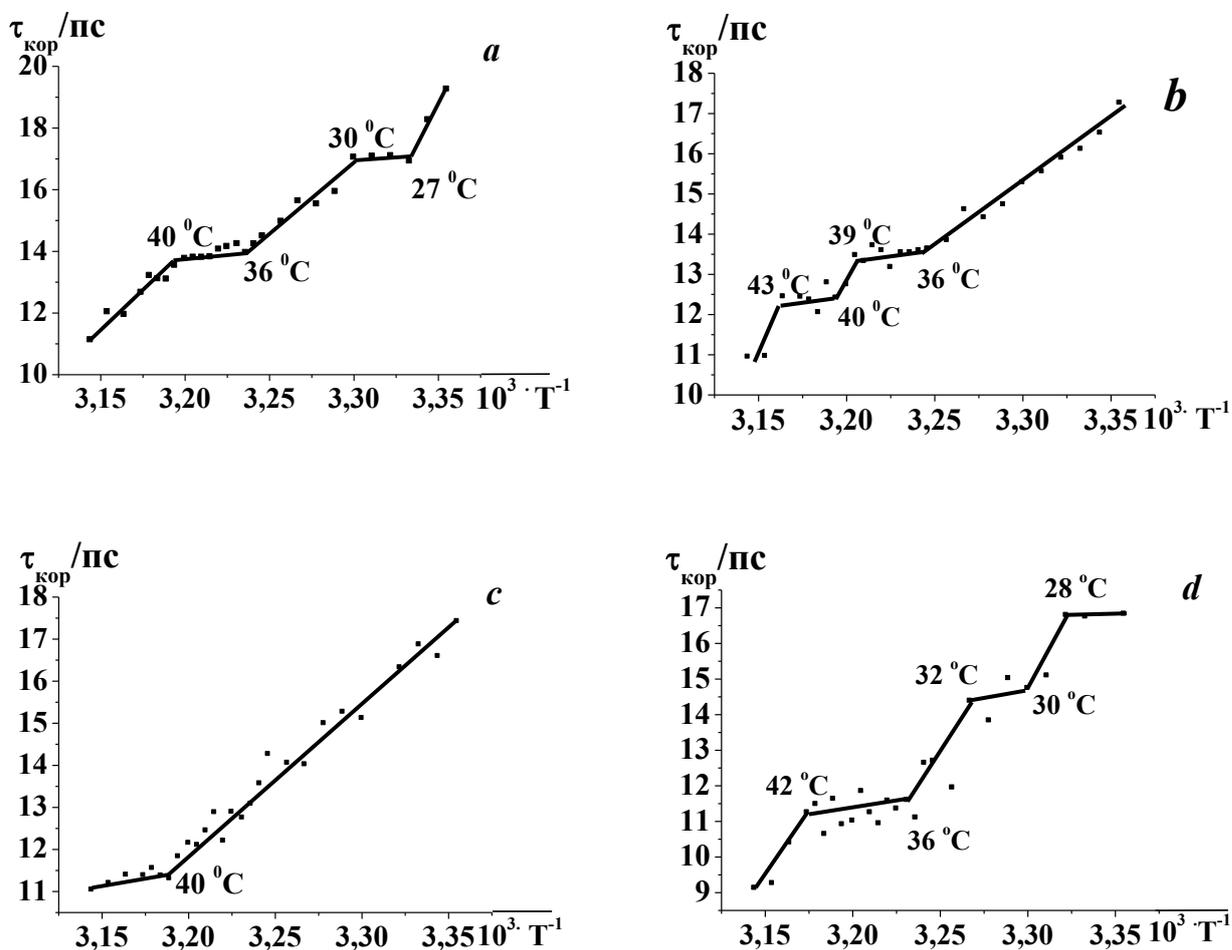
Небольшое увеличение удельной электропроводности при 37 °С в растворе  $1 \cdot 10^{-9}$  М (рисунок 3.31, б, кривая 3) согласуется с увеличением размера наноассоциатов (рисунок 3.29, кривая 4), и объясняется образованием сложных пространственно-временных фрактальных структур, ответственных за увеличение электропроводности раствора низких концентраций [217].

Ранее найдено, что изменение размера и  $\zeta$ -потенциала доменов и в еще большей степени наноассоциатов ответственно за немонотонный ход концентрационных зависимостей физико-химических свойств высокоразбавленных растворов [140], установлены тесные корреляции между изменениями удельной электропроводности растворов и  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов в ходе их концентрационных перестроек.

Температурные зависимости удельной электропроводности растворов БЦТА при  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М до 35 °С (рисунок 3.31, кривые 1-3), так же как и зависимости  $\zeta$ -потенциала (рисунок 3.30 кривые 1-3), практически симбатны с четко выраженным минимумом при 30 °С и небольшими экстремумами при 37 и 40 °С. Это свидетельствует о том, что температурные перестройки доменов и наноассоциатов в интервале 25–45 °С (рисунки 3.30 и 3.31), сопровождающиеся немонотонным изменением размера и  $\zeta$ -потенциала с экстремумами при 30, 37 и 40 °С, обуславливают изменения удельной электропроводности разбавленных растворов БЦТА с ростом температуры.

Известно, что метод ЭПР спиновых зондов является одним из информативных методов исследования наноразмерных агрегатов. При солубилизации зонда в

наноразмерных структурах изменение ЭПР-спектра позволяет оценить степень ограниченности движения нитроксильной метки зонда и микровязкость структуры в зоне локализации радикальной метки, в качестве которой часто используется 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО) [163, 218].



**Рисунок 3.32.** Температурная зависимость времени корреляции вращательной диффузии ( $\tau_{\text{кор}}$ ) зонда ТЕМПО в аррениусовых координатах при концентрациях БЦТА в растворах, равных  $1 \cdot 10^{-3}$  (a),  $1 \cdot 10^{-4}$  (b),  $1 \cdot 10^{-7}$  (c) и  $1 \cdot 10^{-9}$  М (d).

Ранее методом ЭПР спиновых зондов показано, что при  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  концентрационная зависимость времени корреляции вращательной диффузии ( $\tau_{\text{кор}}$ ) NO-группы зонда, связанного с образующимися в растворе БЦТА структурами, имеет нелинейный вид, симбатный изменению концентрационной зависимости размеров доменов и наноассоциатов в индивидуальном растворе БЦТА [140]. В продолжение этих исследований в настоящей работе методом ЭПР спиновых зондов изучено влияние температуры в интервале  $25\text{--}45 \text{ }^\circ\text{C}$  на  $\tau_{\text{кор}}$  в растворах БЦТА/ТЕМПО при

концентрации ТЕМПО  $5 \cdot 10^{-4}$  М и концентрациях БЦТА  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$ ,  $1 \cdot 10^{-9}$  М. (рисунок 3.32, *a-d*).

На рисунке 3.32 приведены температурные зависимости  $\tau_{\text{кор}}$  в Аррениусовых координатах растворов с концентрациями  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$  М, при которых образуются домены, и  $1 \cdot 10^{-7}$ ,  $1 \cdot 10^{-9}$  М, при которых образуются наноассоциаты. С увеличением температуры наблюдается закономерное уменьшение  $\tau_{\text{кор}}$  от 20 до 10 пс для всех исследуемых концентраций БЦТА. Однако уменьшение  $\tau_{\text{кор}}$  сопровождается появлением на зависимостях нескольких точек излома между линеаризованными участками, соответствующих температурам, при которых, вероятно, происходят термоиндуцированные изменения структуры доменов и наноассоциатов. Точками излома считали точки на пересечении линеаризованных участков с коэффициентом корреляции Пирсона ( $r$ ), лежащим в интервале 0,99-0,96, за исключением концентрации  $1 \cdot 10^{-9}$  М, где коэффициент корреляции изменялся от 0,96 до 0,60. В интервале температур 35-42 °С, включающем температуры 37 и 40 °С, для всех изученных концентраций наблюдается снижение значений коэффициента корреляции. Для  $1 \cdot 10^{-3}$  и  $1 \cdot 10^{-7}$  М коэффициент корреляции снижается до 0,85 и 0,75 соответственно. Наиболее заметное снижение происходит для  $1 \cdot 10^{-4}$  ( $r=0,66$ ) и  $1 \cdot 10^{-9}$  М ( $r=0,50$ ). Это может означать, что в указанном интервале физиологически важных температур 35-42 °С  $\tau_{\text{кор}}$ , характеризующее микровязкость доменов и наноассоциатов, в меньшей степени зависит от изменения температуры.

Для концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М, в которой образуются мицеллы и домены (рисунок 3.32, *a*), и в области образования наноассоциатов (концентрация  $1 \cdot 10^{-9}$  М) с экстремальными значениями параметров (рисунок 3.32, *d*), кроме упомянутого выше интервала 35-42 °С на температурной зависимости  $\tau_{\text{кор}}$  точки излома присутствуют в интервалах 27-32 °С, включающем температуру 30 °С.

По мере роста температуры растворов БЦТА наноструктуры, как было показано выше, претерпевают перестройки, приводящие к экстремальным изменениям их размера и  $\zeta$ -потенциала (рисунки 3.29 и 3.30). Сравнение температурных зависимостей  $\tau_{\text{кор}}$ , полученных методом ЭПР, а также зависимостей размера и  $\zeta$ -потенциала доменов и наноассоциатов, полученных методами ДРС и ЭРС, свидетельствует об аналогии температур, при которых наблюдаются изломы на

зависимости  $\tau_{\text{кор}}$  и экстремальные изменения параметров доменов и наноассоциатов в растворах БЦТА при 30, 37 и 40 °С.

Известно, что параметр  $\tau_{\text{кор}}$  отражает характеристики связанного с зондом нанообъекта, такие как микровязкость и текучесть, а также несет информацию о его структуре [163]. Следовательно, наблюдаемая с помощью метода ЭПР картина свидетельствует о структурных перестройках, которые происходят в доменах и наноассоциатах при увеличении температуры и, вероятно, сопровождающихся изменением ориентации диполей и подвижности молекул воды, образующих наноассоциаты и домены, что приводит к изменению их размера и  $\zeta$ -потенциала (рисунки 3.29 и 3.30), и, как следствие, физико-химических свойств раствора (рисунок 3.31 б).

Таким образом, с помощью комплекса физико-химических методов исследования показано, что разбавленные растворы ( $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  и  $1 \cdot 10^{-9}$  М) поверхностно-активного вещества бромида цетилтриметиламмония в интервале температур 25-45 °С представляют собой самоорганизованные дисперсные системы, претерпевающие с ростом температуры специфические для каждой изученной концентрации перестройки.

Эти перестройки отражаются на немонотонном характере зависимостей параметров доменов ( $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$  М) и наноассоциатов ( $1 \cdot 10^{-7}$ ,  $1 \cdot 10^{-9}$  М), а также на взаимосвязанных с ними зависимостях удельной электропроводности растворов от температуры с экстремумами при 30, 37 и 40 °С. В ЭПР-экспериментах на температурных зависимостях времени корреляции вращательной диффузии ( $\tau_{\text{кор}}$ ) зонда ТЕМПО с ростом температуры от 25 до 45 °С наблюдается немонотонное уменьшение  $\tau_{\text{кор}}$  при наличии нескольких точек излома, которые в интервале около 35-42 °С присутствует на температурных зависимостях всех изученных концентраций.

Таким образом, комплексом физико-химических методов показано, что разбавленные растворы БЦТА и ПАБК в интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-12}$  -  $1 \cdot 10^{-3}$  М и температур 25-45 °С представляют собой самоорганизованные наногетерогенные дисперсные системы, претерпевающие по мере увеличения температуры структурные перестройки в области 30, 37, 40 °С, что отражается на немонотонных температурных зависимостях параметров доменов ( $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$  М) и наноассоциатов ( $1 \cdot 10^{-10}$ ,  $1 \cdot 10^{-9}$ ,

$1 \cdot 10^{-7}$  М), удельной электропроводности растворов, а также обуславливает немонотонные температурные зависимости времени вращательной корреляции зонда ТЕМПО, характеризующего микровязкость доменов и наноассоциатов.

### **3.3 Взаимосвязь самоорганизации, физико-химических и биологических свойств высокоразбавленных растворов некоторых биологически активных веществ**

Ранее найдено, что формирование и концентрационные перестройки наноассоциатов могут обуславливать не только физико-химические, но и биологические свойства высокоразбавленных растворов некоторых БАВ. На основе обнаруженной корреляция между самоорганизацией и биологической активностью показана возможность прогнозирования биоэффектов высокоразбавленных растворов [140]. В представленной работе с целью установления взаимосвязи между самоорганизацией, физико-химическими свойствами и биоэффектами разбавленных растворов нами целенаправленно изучена биологическая активность растворов соединений ПАБК, СК, мебикара и БЦТА в интервалах расчетных концентраций, в которых обнаружены немонотонные изменения параметров наноассоциатов и свойств растворов.

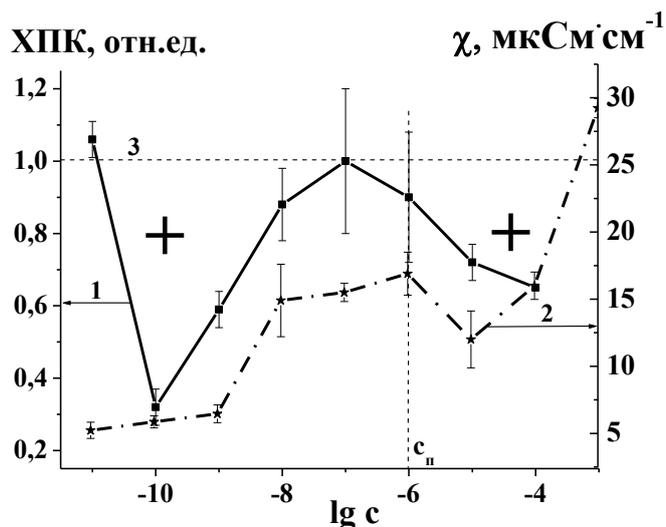
*n*-Аминобензойная кислота (ПАБК, **9**) по своим биологическим свойствам, синтетическим возможностям и широкому спектру применения представляет собой уникальное природное соединение [219-225]. Являясь витамином группы В, синтезируемым большинством микроорганизмов, ПАБК обладает модификационной активностью, активаторным, антимуtagenным, протекторным, антиоксидантным и другими свойствами [219-227]. ПАБК - «фактор роста» для многих видов бактерий, например, кишечной палочки, лакто- и бифидобактерий, участвует в синтезе фолиевой кислоты [185]. Одно из проявлений генетической активности ПАБК заключается в способности этой кислоты репарировать повреждения генетического материала, вызываемые радиацией, ультрафиолетовыми лучами и многими химическими соединениями [221]. В работе [227] ПАБК изучается как вещество, способное стабилизировать мутационный процесс. В опытах на растениях различного рода в присутствии растворов ПАБК в концентрациях 0,005-0,006%, что соответствует, как впервые показано нами, области образования в растворах ПАБК супрамолекулярных доменов ( $3 \cdot 10^{-4}$ – $4 \cdot 10^{-4}$  М), установлено увеличение лабораторной

и полевой всхожестей растений, выживаемости растений в период вегетации, сокращение времени прорастания пыльцевых зерен. В работе [220] была показана возможность деструкции сточных вод животноводческих комплексов активным илом, обработанным растворами ПАБК. Это навело нас на мысль изучить воздействие высокоразбавленных растворов ПАБК на процесс биологической очистки сточных вод химических предприятий.

Еще одно соединение широкого спектра действия, растворы которого выбраны нами для изучения воздействия высокоразбавленных растворов на процесс очистки сточных вод химических предприятий, - салициловая кислота [228-231]. Салициловая кислота - фитогормон, регулирующий различные процессы в растениях, радиопротектор [228, 229]. Салициловая кислота известна как сигнальная молекула, участвующая в формировании системной устойчивости растений [229]. Сегодня это вещество синтезируют в больших количествах, т.к. оно служит основой для производства многих лекарств [230]. Салициловая кислота также обладает слабой противовоспалительной активностью [185], а её более активное производное – ацетилсалициловая кислота является лекарственным препаратом широкого спектра действия [185, 213, 230].

Показано [228], что растворы салициловой кислоты в интервале  $1 \cdot 10^{-20}$ – $1 \cdot 10^{-2}$  М оказывают существенное влияние на рост и развитие растений, таких как горох и кукуруза. Водные растворы салициловой кислоты в концентрации  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-16}$  М способны ингибировать прорастание семян гороха, а в концентрациях  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  $1 \cdot 10^{-14}$  М – стимулировать [228]. Известно, что под действием растворов салициловой кислоты в клетке возрастает содержание активных форм кислорода [231].

Разбавленные растворы ПАБК и СК, изучены нами в качестве биорегуляторов (рисунки 3.33 и 3.34), стимулирующих микробиоценоз активного ила, используемого для очистки сточных вод химических предприятий. Исследование проведено по стандартной методике, используемой для оценки загрязнения промышленных сточный вод [166].



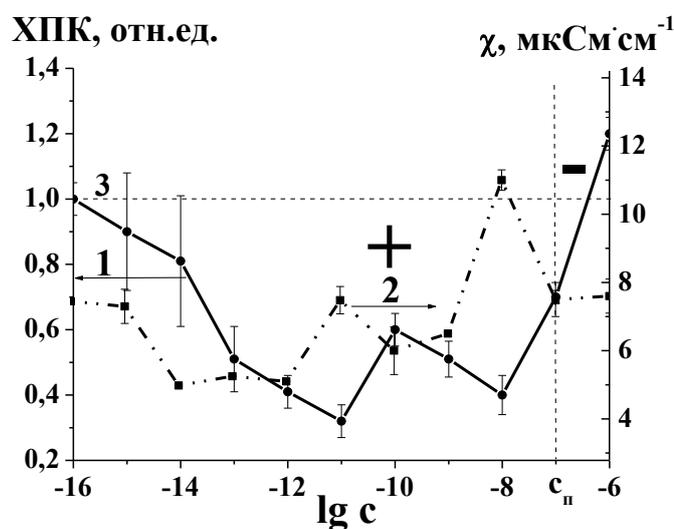
**Рисунок 3.33.** Зависимость ХПК (1) сточной воды в присутствии растворов *p*-аминобензойной кислоты к 4 часу исследования и удельной электропроводности (2) водных растворов *p*-аминобензойной кислоты от концентрации, 3 – значение ХПК в контрольном образце, 25 °С.

Индикатором очистки сточной воды служит параметр «химическое потребление кислорода» (ХПК). ХПК отражает количество кислорода, необходимое для полного окисления содержащихся в воде органических и неорганических веществ биоценозом активного ила. Значения ХПК связаны прямо пропорциональной зависимостью с загрязнением сточной воды.

Воздействие растворов ПАБК на процесс очистки сточной воды в изученном интервале концентраций носит немонотонный характер (рисунок 3.33, кривая 1). На зависимости можно выделить три области:  $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$  М,  $1 \cdot 10^{-8} - 1 \cdot 10^{-6}$  М,  $1 \cdot 10^{-11} - 1 \cdot 10^{-8}$  М. При добавлении раствора ПАБК с концентрацией  $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$  М наблюдается интенсификация очистки сточной воды, обозначенная на рисунке 3.33 знаком «+». Это связано с тем, что ПАБК является «фактором роста» для многих видов бактерий [219-227], а активный ил представляет собой биоценоз зоогенных скоплений бактерий и простейших организмов, которые участвуют в очистке сточной воды. С уменьшением концентрации ПАБК наблюдается закономерное ухудшение процесса очистки. При пороговой концентрации  $1 \cdot 10^{-6}$  М зависимость ХПК

практически выходит на контроль. При концентрациях  $1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  М снова наблюдается интенсификация очистки сточной воды с максимумом при  $1 \cdot 10^{-10}$  М.

Как показано в разделе 3.1. (рисунок 3.19), в растворах ПАБК в области концентраций  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  М образуются наноассоциаты. Сопоставление концентрационных зависимостей ХПК и удельной электропроводности (рисунок 3.33) водных растворов ПАБК указывает на их взаимосвязь: изменения удельной электропроводности и ХПК происходят симбатно с экстремумами в одних и тех же областях концентраций  $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-4}$  М,  $1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  М,  $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-9}$  М.



**Рисунок 3.34.** Зависимость ХПК (1) сточной воды в присутствии растворов салициловой кислоты к 4 часу исследования и удельной электропроводности (2) водных растворов салициловой кислоты от концентрации, 3 – значение ХПК в контрольном образце, 25 °С.

Воздействие растворов салициловой кислоты на процесс биологической очистки сточных вод также носит немонотонный характер (рисунок 3.34). Максимальная интенсификация скорости очистки сточных вод во всем изученном временном интервале наблюдается при  $1 \cdot 10^{-11}$ ,  $1 \cdot 10^{-8}$  М. Ниже  $c_n$ , равной  $1 \cdot 10^{-7}$  М, происходит перемена знака биоэффекта, ингибирование (знак «-» на рисунке 3.34) процесса очистки сточных вод сменяется интенсификацией. Сопоставление зависимостей ХПК и удельной электропроводности растворов (рисунок 3.34) показало, что в области образования наноассоциатов, в области ниже  $c_n$ , существенные изменения значений удельной электропроводности и ХПК происходят

в одних и тех же интервалах концентраций. Максимальные значения удельной электропроводности растворов с концентрациями  $1 \cdot 10^{-11}$  и  $1 \cdot 10^{-8}$  М сопровождаются интенсификацией очистки СВ, минимальные значения удельной электропроводности при  $1 \cdot 10^{-13}$ ,  $1 \cdot 10^{-10}$  М соответствуют ухудшению очистки.

В работе [146] было сделано предположение о том, что в основе механизма гормезиса лежит различный способ самоорганизации растворов БАВ в разных концентрационных областях. Появление зоны наибольшего отклика биосистемы в интервале низких концентраций связано с образованием в растворе наиболее структурированных наноассоциатов с экстремальными значениями размера и  $\zeta$ -потенциала. По аналогии с работой [146] причиной, обуславливающей интенсификацию процесса очистки сточной воды при добавлении высокоразбавленных растворов СК и ПАБК, является образование и перестройка наноассоциатов, положительно воздействующих на рост и энергообмен активного ила.

Таким образом, при изучении растворов СК и ПАБК в качестве биорегуляторов, стимулирующих микробиоценоз активного ила, используемого для очистки СВ, впервые обнаружена взаимосвязь между самоорганизацией и свойствами растворов этих соединений: образование наноассоциатов в интервале расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  М сопровождается появлением немонотонных изменений  $\chi$  и биоэффекта с экстремумами в аналогичных интервалах концентраций.

Еще одним интересным соединением, для растворов которого нами изучены самоорганизация и физико-химические свойства, стал 2,4,6,8-тетраметилгликольурил, являющийся основой лекарственного препарата мебикар. Мибикар - эффективное терапевтическое средство, отличающиеся отсутствием включения в метаболизм и побочных эффектов, а также отсутствием специфических рецепторов [96, 185]. По своему первоначальному предназначению он является превосходным дневным транквилизатором, свободным от периферических и побочных проявлений, кроме того он обладает противострессовой, ноотропной, противогипоксической, противоболевой, противоалкогольной, противошоковой и другими видами активности. Мибикар положительно влияет на функционирование сердечно-сосудистой системы, а именно на кровоснабжение сердца, сократительную функцию миокарда, поглощение кислорода [96]. Приведенный неполный перечень

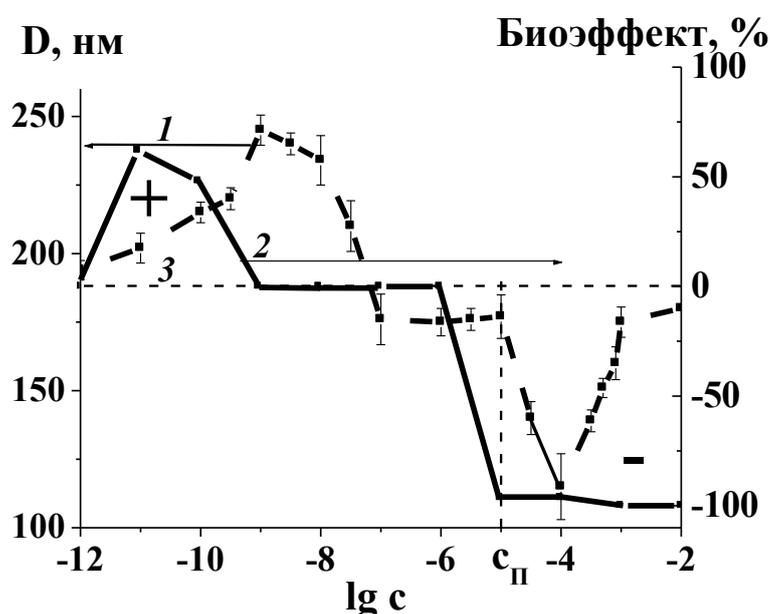
фармакологических свойств мебикара показывает весьма широкий спектр действия этого препарата, не ограничивающегося какой-либо одной системой в организме [96].

Наличие немонотонных концентрационных зависимостей параметров наноассоциатов и свойств растворов мебикара (рисунки 3.9, 3.10) позволила нам сделать предположение о том, что его растворы могут проявлять биоэффект в интервале низких концентраций. В результате изучения поведенческих реакций мышей в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» установлено, что в концентрации  $1 \cdot 10^{-3}$  М раствор мебикара оказывает успокаивающее действие на мышей, сочетающееся со снижением исследовательской активности, но сохранением двигательной активности. Ниже  $c_n$  при  $1 \cdot 10^{-7}$  М растворы мебикара оказывают психостимулирующее действие, увеличивая двигательную активность мышей в 3 раза, исследовательскую в 1,5. При концентрациях  $1 \cdot 10^{-10}$  М и  $1 \cdot 10^{-14}$  М психостимулирующий эффект снижается, не достигая достоверных значений. Однако при  $1 \cdot 10^{-14}$  М одна из составляющих компонент психостимулирующего эффекта - двигательная активность снова увеличивается.

Таким образом, впервые установлена взаимосвязь между параметрами наноассоциатов, образующихся в водных растворах транквилизатора мебикара, физико-химическими свойствами и биоэффектами растворов. Концентрационные зависимости физико-химических свойств растворов в области расчетных концентраций  $1 \cdot 10^{-16}$ - $1 \cdot 10^{-6}$  М носят немонотонный характер, симбатный концентрационным зависимостям размера и  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов. Растворы мебикара с расчетными концентрациями  $1 \cdot 10^{-14}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  М, в которых образуются наноассоциаты с экстремальными параметрами, оказывают воздействие на поведенческие реакции мышей, сопровождающееся сменой знака фармакологического профиля.

Взаимосвязь самоорганизации, физико-химических свойств и биологической активности высокоразбавленных водных растворов наглядно можно проследить при изучении растворов БЦГА, для которых ниже  $c_n$  ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) в интервале концентраций  $1 \cdot 10^{-12}$ - $1 \cdot 10^{-6}$  М установлено образование наноассоциатов (рисунки 3.27, 3.28), на основании чего сделано предположение о возможной биологической активности высокоразбавленных растворов этого соединения.

Выбор БЦТА, принадлежащего к ряду четвертичных аммониевых солей, связан с его способностью повреждать цитоплазматические мембраны бактерий, которая используется для создания антибактериальных средств [206, 208, 213]. Считается, что при концентрациях выше ККМ, механизм действия подобных соединений связан с образованием больших пор в мембранах, через которые из клеток выходят крупные молекулы, в результате чего клетки перестают функционировать [208]. В этой связи в качестве тест-объекта нами выбраны грамположительные бактерии *Bacillus subtilis* 6633.



**Рисунок 3.35.** Зависимость размера частиц (1) и величины биозффекта (2) в растворах БЦТА от концентрации, 3 — контроль.

Культура грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 6633 получена из Всероссийской коллекции микроорганизмов (г. Москва). Для культивирования тест-культуры использовали жидкую питательную среду (бульон Хоттингера) [167]. Бактериальная нагрузка в опыте составляла  $1 \cdot 10^4$  микробных тел в 1 мл. Посевы инкубировали при  $37^\circ\text{C}$  в течение 12-16 часов при постоянном перемешивании. После окончания инкубации проводили измерение оптической плотности суспензии клеток *Bacillus subtilis* 6633 в контрольных и опытных пробах при помощи цифрового фотоэлектродетектора AP-101 (ApeI, Япония) в кюветах толщиной 10 мм при длине волны 540 нм. Стимулирующее действие определяли в процентах по

сравнению с контролем, в который вместо раствора БЦТА вносили физиологический раствор.

При изучении бактериостатической активности растворов БЦТА в отношении грамположительных бактерий *Bacillus subtilis 6633* впервые обнаружено свойство его высокоразбавленных растворов изменять профиль зависимости «концентрация–биоэффект» на противоположный (рисунок 3.35).

Установлено, что раствор БЦТА с концентрациями  $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М, в которых образуются мицеллы и домены, оказывает ингибирующее действие на рост бактерий *Bacillus subtilis 6633*, а при  $1 \cdot 10^{-10}$  и  $1 \cdot 10^{-11}$  М, в которых образуются наноассоциаты, - достоверное стимулирующее действие на 48 и 62 % по сравнению с контролем.

Таким образом, нами впервые установлены и объяснены с позиций самоорганизации биоэффекты высокоразбавленных растворов ПАБК, СК и БЦТА, а также разнонаправленное действие по сравнению с контролем растворов БЦТА и СК, наблюдаемое выше и ниже  $c_p$ , на рост бактерий *Bacillus subtilis 6633* и скорость биохимического окисления загрязнителей микробиоценозом активного ила.

## Основные результаты и выводы

1. Впервые показано, что способность высокоразбавленных растворов производных гликольурила к образованию наноассоциатов существенным образом зависит от гидрофобных свойств заместителей у атома азота, а также от конфигурации гликольурила с фрагментом (*S*)-Met и (*R*)-Met. Ниже пороговой концентрации ( $c_n$ ), лежащей в интервале  $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-4}$  М, в растворах 2,4,6,8-тетраметилгликольурила, 2,6-диметил-4,8-диэтилгликольурила (рацемат), гликольурила с фрагментами (*S*)-метионина (энантиомерно чистый диастереомер) и (*SR*)-метионина (рацемат), выдержанных в естественных условиях, образуются наноассоциаты, следствием чего являются немонотонные концентрационные зависимости физико-химических свойств высокоразбавленных растворов этих соединений.

2. Установлена взаимосвязь между немонотонными концентрационными зависимостями размера и  $\zeta$ -потенциала наноассоциатов, образующихся в растворах 2,4,6,8-тетраметилгликольурила (транквилизатор мебикар) в области  $1 \cdot 10^{-15}$ – $1 \cdot 10^{-6}$  М, и физико-химическими свойствами (рН и удельная электропроводность) растворов аналогичной области концентраций, обусловленная образованием и перестройкой наноассоциатов.

3. Впервые установлено, что высокоразбавленные растворы 4-аминобензойной, 2-гидроксibenзойной кислот в интервале  $1 \cdot 10^{-12}$ – $1 \cdot 10^{-8}$  М характеризуются немонотонными зависимостями удельной электропроводности от концентрации, обусловленные образованием и перестройкой наноассоциатов.

4. Комплексом физико-химических методов (ДРС, АТН, спектроскопия ЭПР спиновых зондов, кондуктометрия) показано, что разбавленные растворы ( $1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М) бромиды цетилтриметиламмония и 4-аминобензойной кислоты ( $1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-3}$  М) в интервале температур 25–45 °С и 25–40 °С, соответственно, представляют собой дисперсные системы, претерпевающие с ростом температуры структурные перестройки в области 30, 37 и 40 °С, что отражается на параметрах доменов ( $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$  М) и наноассоциатов ( $1 \cdot 10^{-10}$ ,  $1 \cdot 10^{-9}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  М) и обуславливает немонотонные температурные зависимости удельной электропроводности растворов и времени вращательной корреляции зонда ТЕМПО, характеризующего микровязкость доменов и наноассоциатов.

**5.** Впервые найдено, что высокоразбавленные растворы 4-аминобензойной и 2-гидроксibenзойной кислот являются биорегуляторами процесса очистки сточной воды, проявляющими наибольшую стимулирующую активность в интервале образования наноассоциатов и экстремальных изменений физико-химических свойств  $1 \cdot 10^{-11}$ - $1 \cdot 10^{-8}$  М.

**6.** Показано, что разбавленные растворы бромиды цетилтриметиламмония в интервале концентраций образования мицелл и доменов ( $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-2}$  М) оказывают ингибирующее действие на рост грамположительных бактерий *Bacillus subtilis* 6633, а в интервале концентраций ниже пороговой концентрации ( $1 \cdot 10^{-11}$ - $1 \cdot 10^{-9}$  М), в котором образуются наноассоциаты, – стимулирующее. Смена знака профиля зависимости «концентрация–биоэффект» (ингибирование-стимуляция) может быть объяснена образованием в растворе структур различной природы.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Зацепина, Г.Н. Физические свойства и структура воды. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1998. – 184 с.
- [2] Лобышев, В.И. Вода как сенсор слабых воздействий физической и химической природы [Текст] / В.И. Лобышев // Российский химический журнал – 2007. – Т. LI. - №1. – С. 107-113.
- [3] Roy, R. The Structure of Liquid Water; Novel Insights From Materials Research; Potential Relevance To Homeopathy [Text] / R. Roy, W.A. Tiller, I. Bell, M.R. Hoover // Materials Research Innovations Online. – 9-4: 1433-075X. – P. 577-608.
- [4] Kononov, L.O. Chemical reactivity and solution structure: on the way to a paradigm shift [Text] / L.O. Kononov // RSC Advances. – 2015. - №5. – P. 46718.
- [5] Сыроешкин, А.В. Вода как гетерогенная структура [Текст] / А.В. Сыроешкин, А.Н. Смирнов, В.В. Гончарук и др. // Исследовано в России. - 2006. - №88. -С. 843 - 854.
- [6] Ло, Ш. Наноструктуры в очень разбавленных водных растворах [Текст] / Ш. Ло, В. Ли // Российский химический журнал. – 1999. – Т. 43. – № 5. – С. 40-48.
- [7] Lo, S.Y. Evidence for the existence of stable-water-clusters at room temperature and normal pressure [Text] / S.Y. Lo, X. Geng, D. Gann // Physics Letters A. – 2009. – V. 373. – P. 3872-3876.
- [8] Avdeev, M.V. Structural features of molecular-colloidal solutions of C<sub>60</sub> fullerenes in water by small-angle neutron scattering [Text] / M.V. Avdeev, A.A. Khokhoryakov, T.V. Tropinet. al. // Langmuir. – 2004. – V. 20. – P. 4363-4368.
- [9] Вода в дисперсных системах / Б.В. Дерягин, Н.В. Чураев, Ф.Д. Овчаренко и др. – М.: Химия, 1989. – 288 с.
- [10] Смирнов, А.Н. Супранадмолекулярные комплексы воды [Текст] / А.Н. Смирнов, А.В. Сыроешкин // Российский химический журнал. – 2004. - Т. 48. - №2. - С. 125-135.
- [11] Кузнецов, Д.М. Акустическая эмиссия при фазовых превращениях в водной среде [Текст] / Д.М. Кузнецов, А.Н. Смирнов, А.В. Сыроешкин// Российский химический журнал. - 2008. - Т. 52. - №1. – С. 114-121.
- [12] Бяков, В.М. Выявление наногетерогенной структуры водных растворов n-пропанола [Текст] / В.М. Бяков, Л.В. Ланшина, О.П. Степанова, С.В. Степанов // Журнал физической химии. – 2009. – Т. 83. - № 2. – С. 280-285.

- [13] Калинина, Н.А. Исследование особенностей структурообразования в смешанных растворителях методом рассеяния поляризованного света [Текст] / Н.А. Калинина, И.Г. Силинская, А.П. Филиппов и др. // Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 2007. – Т. 49. – № 3. – С. 473.
- [14] Subramanian, D. Mesoscale inhomogeneities in aqueous solutions of 3-methylpyridine and tertiary butyl alcohol [Text] / D.Subramanian, D.A. Ivanov, I.K. Yudin, M.A. Anisimov et al. // J. Chem. Eng. Data. – 2011. – No. 56(4). – P. 1238-1248.
- [15] Subramanian, D. Resolving the Mystery of Aqueous Solutions of Tertiary Butyl Alcohol [Text] / D. Subramanian, M. Anisimov // J. Phys. Chem. B. - 2011. - No. 115. - P. 9179-9183.
- [16] Bharmoria, P. Temperature Invariance of NaCl Solubility in Water: Inferences from Salt-Water Cluster Behavior of NaCl, KCl, and NH<sub>4</sub>Cl [Text] / P. Bharmoria, H. Gupta, V.P. Mohandas et al. // J. Phys. Chem. - 2012. - No. 116. - 11712-11719.
- [17] Hagemeyer, D. Direct experimental observation of the aggregation of  $\alpha$ -amino acids into 100–200 nm clusters in aqueous solution [Text] / D. Hagemeyer, J. Ruesing, T. Fenske et al. // RSC Adv. - 2012. - No. 2. - 4690-4696.
- [18] Montagnier, L. Electromagnetic signals are produced by aqueous nanostructures derived from bacterial DNA sequences [Text] / L. Montagnier, J. Aissa, S. Ferris, J.-L. Montagnier, C. Lavallee // Interdiscip. Sci. Comput. Life Sci. – 2009. – No. 1. – P. 81-90.
- [19] Montagnier, L. Electromagnetic Detection of HIV DNA in the Blood of AIDS Patients Treated by Antiretroviral Therapy [Text] / L. Montagnier, J. Aissa, C. Lavallee, M. Mbamy, J. Varon, H. Chenal // Interdiscip. Sci. Comput. LifeSci. – 2009. – No. 1. – P. 245-253.
- [20] Montagnier, L. Transduction of DNA information through water and electromagnetic Biology and Medicine [Text] / L. Montagnier, E. Del Giudice, J. Aissa et al. // Electromagnetic Biology and Medicine. – 2015. – V.34(2). – P. 106-112.
- [21] Marchettini, N. Water: A medium where dissipative structures are produced by a coherent dynamics [Text] / N. Marchettini, E. Del Giudice, V. Voeikov, E. Tiezzi // J. Theoret. Biol. – 2010. – 265. – №4. - 511-516.
- [22] Del Giudice, E. The origin and the special role of coherent water in living systems. [Text] / E. Del Giudice, V. Voeikov, A. Tedeschi, G. Vitiello. // Fields of the Cell, Eds. D. Fels, M. Cifra, F. Scholkmann. – 2014. - P. 95-111.

- [23] Del Giudice, E. Influence of Gravity on the Collective Molecular Dynamics of Liquid Water: The Case of the Floating Water Bridge [Text] / E. Del Giudice, G. Vitiello // *Water*. – 2011. – P. 133-141.
- [24] Бульенков, Н.А. Роль модульного дизайна в изучении процессов системной самоорганизации [Текст] / Н.А. Бульенков // *Биофизика*. - 2005. - Т. 50. - № 5. - С. 620–664.
- [25] Бульенков, Н.А. О возможной роли гидратации как ведущего интеграционного фактора в организации биосистем на различных уровнях иерархии // *Биофизика*. - 1991. - Т. 36. - № 2. - С. 181–243.
- [26] Бульенков, Н.А. Обоснование понятия «кристаллический модуль» // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Физика твердого тела*. - 1998. - вып. 1. - С. 19–30.
- [27] Yinnon, T.A. Domains of Solvated Ions in Aqueous Solution, Their Characteristics and Impact on Electric Conductivity: Theory and Experimental Evidence [Text] / T.A. Yinnon, S.A. Yinnon // *Mod. Phys. Lett. B*. – 2012. – No. 26. – P. 1150006-1150020.
- [28] Yinnon, T. Dynamics in Perturbed Very Dilute Aqueous Solutions: Theory and Experimental Evidence [Text] / T. Yinnon, V. Elia // *Int. J. Modern Phys. B*. – 2013. – No. 27. – P. 1350005.
- [29] Маленков, Г.Г. Коллективные эффекты в движении молекул в жидкостях [Текст] / Г.Г. Маленков, Ю.И. Наберухин, В.П. Волошин // *Журнал физической химии*. – 2012. – Т. 86. - № 9. – С. 1485-1492.
- [30] Маленков, Г.Г. Согласованное движение молекул в водных средах. Извлечение корреляции из шума [Текст] / Г.Г. Маленков, Ю.И. Наберухин, В.П. Волошин // *Российский химический журнал*. – 2009. – Т. 53. - № 6. – С. 25-32.
- [31] Маленков, Г.Г. Структура и динамика жидкой воды [Текст] / Г.Г. Маленков // *Журнал структурной химии*. – 2006. –Т. 47. - С. 5-35.
- [32] Волошин, В.П. Корреляции движения молекул в воде и водных растворах [Текст] / В.П. Волошин, Ю.И. Наберухин // XII Всероссийская конференция с международным участием «Проблемы Сольватации и комплексообразования в растворах. От эффектов в растворах к новым материалам». Тезисы докладов. – Иваново. - 2015. — С.117-118.

- [33] Цетлин, В.В. О влиянии космофизических, геофизических и радиационных факторов на электрофизические и биологические свойства воды [Текст] / Цетлин В.В., Файнштейн Г.С. // VI Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Тезисы докладов. – Санкт-Петербург. – 2012. – С. 36.
- [34] Цетлин, В.В. Окислительно-восстановительные реакции разбавленных водных растворов на воздействие излучений окружающей среды [Текст] / В.В. Цетлин // IX Всероссийская конференция «Высокорреакционные интермедиаты химических и биохимических реакций». Тезисы докладов. – Московская область. – 2014. – С. 67.
- [35] Шноль, С.Э. Фрактальность, «береговая линия вселенной», движение Земли и макроскопические флуктуации [Текст] / С.Э. Шноль // Биофизика. – 2013. – Т. 58. - вып. 2. - С. 357–376.
- [36] Твердислов А.В., Сидорова А.Е., Яковенко Л.В. Биофизическая экология. – М.: КРАСАНД, 2012. – 544 с.
- [37] Сумм, Б.Д. Основы коллоидной химии / Б.Д. Сумм // М.: Издательский центр «Академия». - 2006.- 240 с.
- [38] Рамбиди Н.Г., Березкин А.В. Физические и химические основы нанотехнологий. – М.: Физматлит, 2009. – 456 с.
- [39] Хакен Г. Тайны природы. Синергетика: учение о взаимодействии. – Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2003. – 320 с.
- [40] Галль Л.Н. Физические принципы функционирования живого организма. – СПб.: Издательство Политехн. ун-та, 2014. – 400 с.
- [41] Холмберг К., Йенссон Б., Кронберг Б., Линдман Б. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах. / Пер. с англ. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 528 с.
- [42] Медоуз, Д.Х. Азбука системного мышления. - Пер. с англ. - М.: БИНОМ, 2011. – 343 с.
- [43] Вода: структура, состояние, сольватация. Достижения последних лет. Отв. ред. А.М. Кутепов. – М.: Наука, 2003. – 404 с.
- [44] Лященко, А.К. Структура воды, миллиметровые волны и их первичная мишень [Текст] / А.К. Лященко // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2007. – С. 62-76.

- [45] Белоусов, В.П. Панов М.Ю. Термодинамика водных растворов неэлектролитов. - Л.: Химия.- 1983. – 264 с.
- [46] Самойлов, О.Я. Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов. – М.: Изд-во АН СССР. - 1957. – 182 с.
- [47] Айзенберг Д., Кауцман В. Структура и свойства воды. – М.: Гидрометеиздат, 1975.- 279 с.
- [48] Родникова, М.Н. О пространственной сетке водородных связей в жидкостях и растворах [Текст] / М.Н. Родникова, Н.А. Чумаевский // Журнал структурной химии. - 2006. - Т. 47. - С. 154-161.
- [49] Родникова, М.Н. Об упругости пространственной сетки водородных связей в жидкостях и растворах [Текст]. в кн. Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз / Отв. ред. А.Ю. Цивадзе // - М.: Издательство ЛКИ. – 2008. – С. 151-192.
- [50] Дуняшев, В.С. Моделирование структуры воды методом Монте-Карло (потенциал 3 D) [Текст] / В.С. Дуняшев, Ю.Г. Бушуев, А.К. Лященко // Журнал физической химии. – 1996. – Т. 70. - №3. – С. 422-428.
- [51] Лященко, А.К. Комплементарная организация структуры воды [Текст] / А.К. Лященко, В.С. Дуняшев // Журнал структурной химии. – 2003. – Т. 44. - №5. – С. 906-915.
- [52] Лященко, А.К. Пространственная структура воды во всей области ближнего порядка [Текст] / А.К. Лященко, В.С. Дуняшев // Журнал структурной химии. – 2006. – Т. 47. - №7. – С. 36-53.
- [53] Лященко, А.К., Новскова Т.А. Структурная динамика и спектры ориентационной поляризации воды и других жидкостей [Текст]. в кн. Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз / Отв. ред. А.Ю. Цивадзе // - М.: Издательство ЛКИ. – 2008. – С. 417-497.
- [54] Chaplin, M.F. A proposal for the structuring of water [Text] / M.F. Chaplin // Biophys. Chem. – 2000. – 83. – 3. – P. 211-221.
- [55] <http://www1.lsbu.ac.uk/water/>
- [56] Mchedlov-Petrosyan, N.O. Colloidal dispersions of fullerene C60 in water: some properties and regularities of coagulation by electrolytes [Text] / N.O. Mchedlov-

Petrossyan, V.K. Klochkov, G.V. Andrievsky // J. Chem. Soc., Faraday Trans. – 1997. - № 93(24). – P. 4343-4346.

[57] Andrievsky, G.V. Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C<sub>60</sub> fullerene nanostructures in vitro and in vivo [Text] / G.V. Andrievsky, V.I. Bruscov, A.A. Tykhomyrov, S.V. Gudkov // Free radical biology and medicine. – 2009. – V. 47. – P. 786-793.

[58] Бернал Дж. Возникновение жизни. - М.: Мир, 1969. - 356 с.

[59] Конюхов, В.К. Спин-селективная адсорбция молекул воды на поверхности корундовой керамики [Текст] / В.К. Конюхов, В.И. Тихонов, Т.Л. Тихонова // Краткие сообщения по физике ФИАН. – 1988. – 9. - С.12.

[60] Tikhonov, V.I. Separation of Water into Its Ortho and Para Isomers [Text] / V.I. Tikhonov, A.A.Volkov // Science. – 2002. - V. 296. - P. 2363.

[61] Хамзин, А.А. Термодинамические и магнитные свойства линейных спиновых комплексов орто-молекул воды [Текст] / А.А. Хамзин, Р.Р. Нигматуллин // Доклады Академии наук. – 2013. – Т.452. - №5. – С. 534-538.

[62] Першин, С.М. Новая концепция действия ЭМП на воду/водные растворы с учётом квантовых отличий орто-пара спиновых изомеров H<sub>2</sub>O [Текст] / С.М. Першин // VI Международная конференция «Человек и электромагнитные поля» Тезисы докладов. – Саров. – 2013.

[63] Першин, С.М. Эффект Коновалова в водных растворах низких концентраций: роль спиновых орто-пара-изомеров H<sub>2</sub>O [Текст] / С.М. Першин // Доклады Академии наук. – 2014. – Т. 455. - №1. – С. 44-476.

[64] Ho, M.-W. Large Supramolecular Water Clusters Caught on Camera [Text] / M.-W. Ho // Water. –2014. –No. 6.-P. 1-12.

[65] Ho, M.-W. Illuminating Water and Life [Text] / M.-W. Ho // Entropy. – 2014. - V.16. – P. 4874-4891.

[66] Pollack, G.H. Is the cell a gel – and why does it matter? [Text]/ G.H. Pollack // Japanese Journal of Physiology. - 2001. – V. 51. - P. 649-660.

[67] Zheng, Jian-ming. Long-range forces extending from polymer-gel surfaces [Text] / Jian-ming Zheng, Gerald H. Pollack // Physical review E. - 2003. – V. 68. - P. 1-7.

- [68] Bing-hua, Chai. Spectroscopic Studies of Solutes in Aqueous Solution [Text] / Bing-hua Chai, Jian-ming Zheng, Qing Zhao, Gerald H. Pollack // *J. Phys. Chem. A.* - 2008. – V. 112. - P. 2242-2247.
- [69] Nagornyak, E. Mechanism of attraction between like-charged particles in aqueous solution [Text]/ E. Nagornyak, H. Yoo, G.H. Pollack // *Soft Matter.* –2009. –No. 5. - P. 3850–3857.
- [70] Pollack G.H. *The fourth phase of water: Beyond Solid, Liquid, and Vapor.*: Ebner& Sons Publisher. - SEATTLE WA, USA. - 2013. – 357 p.
- [71] Воейков, В.Л. Ключевая роль устойчиво неравновесного состояния водных систем в биоэнергетике [Текст] /В.Л. Воейков // *Российский химический журнал.* – 2009. – Т.53. - №6. – С.41-49.
- [72] Samal, S. Unexpected solute aggregation in water on dilution [Text] / S. Samal, K. E. Geckeler // *Chem. Commun.* – 2001. – P. 2224-2225.
- [73] Sedla'k, M. Large-Scale Supramolecular Structure in Solutions of Low Molar Mass Compounds and Mixtures of Liquids: I. Light Scattering Characterization [Text] /M. Sedla'k // *J. Phys. Chem. B.* –2006. – No. 110. – P. 4329-4338.
- [74] Sedla'k, M. Large-Scale Supramolecular Structure in Solutions of Low Molar Mass Compounds and Mixtures of Liquids: II. Kinetics of the Formation and Long-Time Stability [Text] / M. Sedla'k // *J. Phys. Chem. B.* –2006. – No.110. – P.4339-4345.
- [75] Sedla'k, M. Large-Scale Supramolecular Structure in Solutions of Low Molar Mass Compounds and Mixtures of Liquids. III. Correlation with Molecular Properties and Interactions [Text] / M. Sedla'k // *J. Phys. Chem. B.* –2006. – No.110. – P. 13976-13984.
- [76] Sedla'k, M. Large-Scale Inhomogeneities in Solutions of Low Molar Mass Compounds and Mixtures of Liquids: Supramolecular Structures or Nanobubbles? [Text] / M. Sedla'k // *J. Phys. Chem. B.* –2013. – No.117. – P. 2495-2504.
- [77] Гончарук, В.В. Влияние температуры на кластеры воды [Текст] / В.В. Гончарук, Е.А. Орехова, В.В. Маляренко // *Физическая химия процессов обработки воды.* – 2008. – Т. 30. - №2. – С. 150-158.
- [78] Гончарук, В.В. Кластеры и гигантские гетерофазные кластеры воды [Текст] / В.В. Гончарук, В.Н. Смирнов, А.В. Сыроешкин и др. // *Химия и технология воды.* – 2007. - Т. 29. - №1. - С. 3-17.

- [79] Zubov, A.V. Механизм растворения соли в воде и процессы старения раствора [Текст] / А.В. Zubov, К.В. Zubov, В.А. Zubov // Химическая промышленность. - 2007.- Т. 84. - №1. - С. 40-48.
- [80] Zubova, K.V. Кластерная структура жидких спиртов, воды и н-гексана [Текст] / К.В. Zubova, А.В. Zubov, В.А. Zubov // Журнал прикладной спектроскопии.- 2005.- Т.72. - №3.-С. 305-312.
- [81] Zubow, K. Water clusters in plants. Fast channel plant communications. Planet influence [Text] / K. Zubow, A.V. Zubow, V.A. Zubow// J. Biophysical Chemistry.-2010.- V.1. - No.1. - P. 1-11.
- [82] Манелис, Г.Б. Влияние надмолекулярной структуры жидкой реакционной среды на кинетику окисления ацетона водными растворами азотной кислоты [Текст] / Г.Б. Манелис, Г.В. Лагодзинская, А.И. Казаков и др. // Известия Академии наук. Серия химическая.- 2013. - №4. – С. 994-1002.
- [83] Uchinashi, Y. Reinvestigation of the C5-acetamide sialic acid donor for  $\alpha$ -selective sialylation: practical procedure under microfluidic conditions [Text] / Y. Uchinashi, M. Nagasaki, J. Zhou et al // Org. Biomol. Chem. – 2011. – No. 9. – P. 7243-7248.
- [84] Elia, V. Permanent Dissipative Structures in Water: The Matrix of Life? Experimental Evidence and their Quantum origin [Text] / V. Elia, R. Germano, E. Napoli // Current Topics in Medicinal Chemistry.-2015 .– No. 15.- P. 559-571.
- [85] Шершавина А.А. Физическая и коллоидная химия. Методы физико-химического анализа. – М.: Новое знание, 2005. – 800 с.
- [86] Пеньков, Н.В. Об особенностях температурных зависимостей спектров воды в терагерцовой области [Текст] / Н.В. Пеньков, В.А. Яшин, Н.Э. Швирст и др. // Биофизика. – 2014. – Т. 59. – вып. 2. – С. 271-273.
- [87] Лаптев, Б.И. Влияние нагревания и концентрации растворов на процессы структурообразования в воде и в водных растворах [Текст] / Б.И. Лаптев, Г.Н. Сидоренко, Н.П. Горленко и др. // Вода и экология. – 2012. - №4. – С. 43-50.
- [88] Успенская Е.В. Изучение структуры воды на супрамолекулярном уровне для разработки новых методов стандартизации и контроля качества минеральных вод и жидких лекарственных форм // Автореферат диссертации кандидата химических наук. – М. - 2007. - 27 с.
- [89] Френкель Я.И. Кинетическая теория жидкостей. - Л.: Наука, 1975. - 592 с.

- [90] Булавин, Л.А. Динамический фазовый переход в воде как важнейший фактор провоцирования денатурации белков в теплокровных организмах [Текст] / Л.А. Булавин, Н.П. Маломуж // Физика живого. – 2010. - №2. – С. 16-22.
- [91] Fisenko, A.I. Role of the H-bond network in the creation of life-giving properties of water [Text] / A. I. Fisenko, N. P. Malomuzh // Chem. Phys. - 2008. - V. 345. - P. 164-172.
- [92] Bardik, V. Light scattering study of human serum albumin in pre-denaturation: Relation to dynamic transition in water at 42 °C [Text] / V. Bardik, V. Gotsulskii, E. Pavlov et al. // Journal of Molecular Liquids. – 2012. - 176 – P. 60–64.
- [93] Konovalov, A.I. Molecular assemblies mediated by electromagnetic fields in dilute solutions: accordance of experimental and predicted by electro-dynamic theories data // VII International Symposium «Design and Synthesis of Supramolecular Architectures», XXVI Международная Чугаевская конференция по координационной химии: тезисы докладов. – Казань: Изд-во Казанского университета. – 2014. - С. 125.
- [94] Курочкин, В.К. Особенности воздействия некоторых химически опасных веществ в сверхмалых дозах на клетки крови человека [Текст] / В.К. Курочкин, К.А. Аникиенко, А.С. Полезина и др. // Химия в интересах устойчивого развития. –2000. - № 4. - Т. 8. - С.34-46.
- [95] Хургин, Ю.И. О роли активации воды в лекарственной и КВЧ-терапии [Текст] / Ю.И. Хургин, О.В. Лебедев, Е.Ю. Максарева // Миллиметровые волны в биологической медицине. – 1994. - №4. – С. 1-5.
- [96] Максарева, Е.Ю. КВЧ-подобное действие мочевины и мебекара [Текст] / Е.Ю. Максарева, В.А. Кудряшова, В.А. Завизион // X Российский симпозиум с международным участием «Миллиметровые волны в медицине и биологии». – 1995. – С. 218-219.
- [97] Чижевский А.Л. Земное эхо солнечных бурь. М.: Мысль, 1976. 230 с.
- [98] Чижевский А.Л. Космический пульс жизни. М.: Мысль, 1995. 786 с.
- [99] Владимирский Б., Темурьянц Н. Влияние солнечной активности на биосферу — ноосферу (Гелиобиология от Чижевского до наших дней). М.: МНЭПУ, 2000. 374 с.
- [100] Владимирский Б., Темурьянц Н., Мартынюк В. Космическая погода и наша жизнь. Фрязино: ВЕК2, 2004. 224 с.
- [101] Шноль С.Э. Космофизические факторы в случайных процессах. Sveden: Fisikarkivet, 2009. 312 с

- [102] Комиссаров Г.Г. Фотосинтез. Физико-химический подход. М.: УРСС, 2011. 252 с.
- [103] Поляк Э.А. О реальности влияния гелиофизических факторов на структурные особенности жидкой воды // Биофизика. 1991. Т. 36, № 4. С. 565–568.
- [104] Горшков Э.С., Шаповалов С.Н., Соколовский В.В., Трошичев О.А. О гравитационной обусловленности флуктуаций скорости реакции окисления унитиола нитратным ионом // Биофизика. 2000. - Т. 45, № 4. С. 631–635.
- [105] Соколовский В.В. О биохимическом механизме реакций живых организмов на изменение солнечной активности // Проблемы космической биологии. 1982. - Т. 43. С. 180–183.
- [106] Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции на экстремальные воздействия // Вопросы медицинской химии. 1988. - Т. 34, № 6. С. 2–11.
- [107] Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. - СПб.: Наука, 2008. 121 с.
- [108] Блюменфельд, Л.А. Понятие конструкции в биологической физике. К вопросу о механизме действия сверхмалых доз [Текст] / Российский химический журнал. – 1999. – Т. 43. - №5. – С. 15-20.
- [109] Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности // Российский химический журнал. 1999. Т. XLIII, № 5. С. 3–11.
- [110] Патент РФ № 2102986, 01.1998. Бурлакова, Е.Б., Воронина Т.А., Чернявская Л.И. и др. Способ лечения неврозоподобных и пограничных расстройств // Патент России, январь. - 1998.
- [111] Патент № 2071319 Российская Федерация, МПК A61K31/16; A61K31/34. Способ улучшения процессов памяти [Текст] / Е.Б. Бурлакова, К.З. Гумаргалиева, А.Н. Иноземцев, О.В. Карпухина, А.Г. Соловьев, Л.Л. Прагина, Н.А. Тушмалова; Патентодержатель Акционерное общество закрытого типа «Химбио», Биологический факультет МГУ; 10.01.1997. – 10 с.
- [112] Тушмалова, Н.А. Поведение донервных организмов – индикатор эффекта сверхмалых доз [Текст] / Н.А. Тушмалова, Е.Б. Бурлакова, Н.Е. Лебедева и др. // Вестник МГУ. – 1998. - №4. - С. 24.

- [113] Бурлакова, Е.Б. О некоторых объективных показателях действия потенцированных растворов [Текст] / Е.Б. Бурлакова, А.Н. Голощапов, С.В. Зенин и др. // Московская международная конференция «Нерешённые проблемы гомеопатии и метода Фоля. - М. - 1997. - С.11.
- [114] Молочкина, Е.М. Действие фенозана и ацетилхолина в широком диапазоне концентраций на активность АХЭ и систему липидной пероксидации в мембранах головного мозга [Текст] / Е.М. Молочкина, И.Б. Озерова, Е.Б. Бурлакова // Российский химический журнал. – 1999. – Т. 43. - №5. – С. 63-71.
- [115] Бурлакова, Е.Б. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов [Текст] / Е.Б. Бурлакова, А.А. Конрадов, Е.Л. Мальцева // Химическая физика.- 2003.-Т.22. - №2.-С. 21-40.
- [116] Бурлакова, Е.Б. Биоантиоксиданты [Текст] / Е.Б. Бурлакова // Российский химический журнал. – 2007. – Т. LI. - № 1. – С. 3-11.
- [117] Патент № 2136695 Российская Федерация, МПК C07K4/12; A61K38/14. Сывороточный гликопротеин, обладающий биологической активностью в сверхмалых дозах [Текст] / И.А. Ямской, В.П. Ямская, А.В. Рыков; Патентодержатель ЗАОПП «Эндо-Фарм-А»; 10.09.1999. – 8 с.
- [118] Коган Ю.С. Токсикология фосфорорганических пестицидов. – М.: Медицина, 1977. – 296 с.
- [119] Новик, А.А. Информационные источники изучения проблемы хронической усталости [Текст] / А.А. Новик, В.Н. Цыган, Н.Х. Дулатова и др. // Проблемы реабилитации. – 2000. - №2. – С. 137-138.
- [120] Катюшина, О.В. Влияние сверхмалых доз аспирина, ацетилсалицилатов кобальта и цинка на болевую чувствительность крыс [Текст] / О.В. Катюшина, Т.В. Яковчук, И.И. Коренюк и др. // Успехи современного естествознания. – 2012. - №9. – С. 28-31.
- [121] Лобышев, В.И. Влияние вариаций изотопного состава воды на её биологическую активность [Текст] / В.И. Лобышев, А.А. Кирикина //VI Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». – 2012. – С. 1-16.
- [122] Лебедева, Н.Е. Нанодозы биогенных веществ для водных организмов [Текст] / Н.Е. Лебедева, Н.А. Тушмалова // Делфис. – 2012. -

<http://www.delphis.ru/journal/article/nanodozy-biogennykh-veshchestv-dlya-vodnykh-organizmov>

- [123] Тушмалова, Н.А. Поведение как индикатор межвидового взаимодействия гидробионтов (на примере экзометаболической сигнализации) [Текст] / Н.А. Тушмалова, Н.Е. Лебедева, Т.В. Головкина // Доклады РАН. - 1994. - Т. 337. - №1. - С. 131-133.
- [124] Lebedeva, N.E. Skin and superficial mucus at fish – biochemical structure and functional role. Ichthyology. New Delhi. Calcutta. Ed. D.N. Saksena. 1999. P.177.
- [125] Лебедева, Н.Е. Метод скрининга веществ, действующих в сверхмалых концентрациях [Текст] / Н.Е. Лебедева, Е.Н. Горбатова, Т.В. Головкина // Радиационная биология. – 2003. – Т. 43. – С. 282-286.
- [126] Лебедева, Н.Е. Эффекты фентанила в сверхмалых дозах [Текст] / Н.Е. Лебедева, Т.В. Головкина, Е.Н. Горбатова и др. // Химическая и биологическая безопасность. - 2003.- № 9-10. - С. 7-8.
- [127] Hormesis: a revolution in biology, toxicology and medicine. Editors:Mattson, Mark P., Calabrese, Edward J. - New York: Springer, 2009. – 208 p.
- [128] Яблонская, О.И. Парадоксальное влияние гидратированного C<sub>60</sub>-фуллерена в сверхнизкой концентрации на жизнеспособность и старение культивируемых клеток китайского хомячка [Текст] / О.И. Яблонская, Т.С. Рындина, В.Л. Воейков и др. // Вестник Московского университета. Сер. 16. Биология – 2013. - №1. – С. 14-20.
- [129] Yablonskaya, O.I. Effects of hydrated fullerenes on the luminescence of bacterial luciferase, of whole blood and of bicarbonate water solutions [Text] / O.I. Yablonskaya, V.L. Voeikov, N.D. Vilenskaya et al. // Luminescence. – 2012. – V.27. - №2. – P. 175-175.
- [130] Shirinkin, S.V. Prospects for the use of fullerenes as antioxidants in patogenetic therapy of bronchial asthma [Text] / S.V. Shirinkin, M.I. Churnosov, G.V. Andrievsky et al. // Clinical Medicine. – 2009. - №5. – P. 56-58.
- [131] Плотникова, О.М. Особенности влияния различных доз метилфосфоновой кислоты на основные биохимические показатели метаболизма лабораторных мышей [Текст] / О.М. Плотникова, И.В. Савинова, Н.Н. Матвеев и др. // Вестник ЧГПУ. – 2011. – С. 304-313.
- [132] Ямсков, И.А. Экспериментальные доказательства роли физико-химических факторов в механизме биологического действия сверхмалых доз [Текст]/ И.А.

Ямсков, В.П. Ямскова, А.Н. Даниленко, З.С. Клеменкова, Б.Г. Антипов, Ф.Р. Черников, М.М. Гусынина, Е.Ю. Рыбакова // Российский химический журнал. – 1999. – Т. 43. - № 5. – С. 34-39.

[133] Ямскова, В.П. Механизм биологического действия физико-химических факторов в сверхмалых дозах [Текст] / В.П. Ямскова, И.А. Ямсков // Российский химический журнал. – 1999. – Т. 43. - № 2. – С. 74-79.

[134] Скрипникова, В.С. Биологически активный в сверхмалых дозах низкомолекулярный белок склеры [Текст] / В.С. Скрипникова, М.С. Краснов, Б.Б. Березин, Т.А. Бабушкина, А.В. Борисенко, Б.А. Измайлов, В.П. Ямскова, И.А. Ямсков // Доклады Академии наук. – 2007. – Т. 417. - № 5. – С. 697-699.

[135] Бинги В.Н. Принципы электромагнитной биофизики. - М.: ФИЗМАТЛИТ, 2011. -592 с.

[136] Ашмарин, И.П. К вопросу о развитии проблемы эффективности сверхмалых доз биологически активных соединений [Текст] / И.П. Ашмарин, Е.П. Каразеева, Т.В. Лелекова // Российский химический журнал.- 1999. - Т.43. - № 5.- С. 21-28.

[137] Пальмина, Н.П. Модификация активности протеинкиназы С лигандами в сверхмалых концентрациях. Роль протеинкиназы С и её эффектов в процессах перекисного окисления [Текст] /Н.П. Пальмина, Е.Л. Мальцева, Е.И. Пынзрь, Е.Б. Бурлакова // Российский химический журнал. – 1999. - Т. 43. - № 5.- С. 55-63.

[138] Шимановский Н.Л., Епинетов М.А., Мельников М.Я. Молекулярная и нанофармакология.- М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010. -624 с.

[139] Коновалов, А.И. Супрамолекулярные системы на основе дигидрата меламиновой соли бис(оксиметил)фосфиновой кислоты (мелафена) и поверхностно-активных веществ [Текст] / А.И. Коновалов, И.С. Рыжкина, Л.И. Муртазина и др. // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2008. - № 6.-С. 1207-1214.

[140] а) Коновалов А.И., Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Киселева Ю.В., Мишина О.А. Высокореакционные интермедиаты / Под ред. М.П. Егорова и М.Я. Мельникова. – М.: КРАСАНД, 2014. – 416 с. – С. 13-42.

б) Коновалов, А.И. Образование наноассоциатов – ключ к пониманию физико-химических и биологических свойств высокоразбавленных водных растворов [Текст] / А.И. Коновалов, И.С. Рыжкина // Известия Академии наук – 2014. - №1. – С. 1-14.

- [141] Рыжкина, И.С. Свойства супрамолекулярных наноассоциатов, образующихся в водных растворах низких и сверхнизких концентраций биологически активных веществ [Текст] / И.С. Рыжкина, Л.И. Муртазина, Ю.В. Киселева и др./ Доклады Академии наук.- 2009.- Т. 428.- № 4.- С. 487–491.
- [142] Рыжкина, И.С. Супрамолекулярные системы на основе амфифильных производных биологически активных фенолов: самоорганизация и реакционная способность в широкой области концентраций [Текст] / И.С. Рыжкина, Л.И. Муртазина, Ю.В. Киселева и др.// Доклады Академии наук. - 2009.- Т. 428.- № 5.- С. 628–632.
- [143] Рыжкина, И.С. Самоорганизация и физико-химические свойства водных растворов биологически активных производных гемина [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, Г.А. Желтухина и др. // Доклады Академии наук. - 2011. - Т. 440. - №1. - С. 59-63.
- [144] Рыжкина, И.С. Водные растворы макроциклического пиридин-пиррольного соединения низких концентраций: взаимосвязь параметров супрамолекулярных наноразмерных ассоциатов, физико-химических свойств и физиологической активности [Текст] / И.С. Рыжкина, Л.И. Муртазина, Е.Д. Шерман и др. // Доклады Академии наук. -2010. - Т. 433.- № 5. -С. 647-651.
- [145] Ryzhkina, I.S. Self-association of a phosphate receptor along and with a lipidomimetic in water: Effect of receptor low concentrations on the catalytic activity of mixed systems [Text] / I.S. Ryzhkina, L.I. Murtazina, A.V. Nemtarev et al.// Chemical Physics Letters. - 2011. - V. 11. - P. 247-250.
- [146] Рыжкина, И.С. Физико-химическое обоснование горметического отклика биосистемы очистки сточных вод на действие растворов N,N-дифенилгуанидиновой соли дигидроксиметилфосфиновой кислоты [Текст] / И.С. Рыжкина, Л.И. Муртазина, Е.Д. Шерман и др. // Доклады Академии наук. - 2011. - Т. 438. - № 2. - С. 207–211.
- [147] Рыжкина, И.С. Влияние концентраций  $\alpha$ -токоферола на самоорганизацию, физико-химические свойства растворов и структуру биологических мембран [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, Л.И. Муртазина и др. // Доклады Академии наук.- 2011.- Т. 438.- № 5.- С. 635–639.
- [148] Рыжкина, И.С. Действие внешнего электромагнитного поля – условие образования наноассоциатов в высокоразбавленных водных растворах [Текст] / И.С.

Рыжкина, Л.И. Муртазина, А.И. Коновалов // Доклады Академии наук. - 2011. - Т. 440. - №6. - С.778-781.

[149] Ryzhkina, I.S. Supramolecular water systems based on the new amphiphilic phosphocoumarins: synthesis, self-organisations, reactivity [Text] / I.S. Ryzhkina, L.I. Murtazina, A.V. Nemtarev et al // Mendeleev Commun. – 2010. – No.20. – P. 148-150.

[150] Рыжкина, И.С. Эффект ультранизких концентраций и электромагнитных полей [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, Л.И. Муртазина и др. // Доклады Академии наук. - 2012. - Т. 446.- № 3.- С. 303–307.

[151] Рыжкина, И.С. Водные растворы амфифильного производного каликс[4]резорцинарина низких концентраций: самоорганизация, физико-химические свойства и биологическая активность в нормальных и гипoeлектромагнитных условиях [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В.Киселева, А.П. Тимошева и др. // Доклады Академии наук. – 2012. – Т. 447. - №1.- С. 56-62.

[152] Рыжкина, И.С. Сравнительное изучение самоорганизации и физико-химических свойств высокоразбавленных водных растворов фенольных биоантиоксидантов [Текст] / И.С.Рыжкина, Ю.В.Киселева, Л.И. Муртазина и др.// Доклады Академии наук. - 2012. - Т. 447. - № 2. - С. 179–182.

[153] Пальмина, Н.П. Водные растворы фенозана калия: влияние на структуру биологических мембран и электропроводность [Текст] / Н.П. Пальмина, Т.Е. Часовская, И.С. Рыжкина и др. // Доклады Академии наук.- 2009. – Т. 429. - № 1. - С. 128-131.

[154] Рыжкина, И.С. Самоорганизация растворов хлористого натрия в отсутствие и в присутствии биологически активного вещества низкой концентрации в нормальных и гипoeлектромагнитных условиях [Текст] /И.С. Рыжкина, Л.И. Муртазина, Э.М. Масагутова др. // Доклады Академии наук. - 2012. - Т. 446. - №6. – С. 646-652.

[155] Коновалов А.И. Способ прогнозирования биоэффектов растворов низких и сверхнизких концентраций [Текст] / А.И. Коновалов, И.С. Рыжкина. Л.И. Муртазина // БИ.-2010. - №24.

[156] Кравченко, А.Н. Нейропротекторная активность (+)-(S)-2-[(1S,5R)-(3,7-диоксо-2,4,6,8-тетраазобицикло[3.3.0]oct-2-ил)]-4-метилитиобутановой кислоты [Текст] / А.Н. Кравченко, В.В. Баранов, Л.В. Аникина и др. Биоорганическая химия. – 2012. – 38. – С. 621.

- [157] Кравченко, А.Н. Синтез новых хиральных моно-, ди-, три- и тетраалкилгликольбурилов [Текст] / А.Н. Кравченко, А.С. Сигачёв, Е.Ю. Максарева и др. Известия Академии наук. Серия химическая. – 2005. - №3, С. 680-392.
- [158] Альберт А., Сергент Е. Константы ионизации кислот и оснований. – М.-Л.: Химия, 1964. – 181 с.
- [159] Справочное руководство пользователя. Система для характеристики наночастиц Malvern Zetasizernano, 2007. – 50 с.
- [160] ISO 22412:2008. Particle Size Analysis\_Dynamic Light Scattering (DLS). Geneva: Intern. Organization for Standardization, 2008.
- [161] Систематические и случайные погрешности химического анализа. Под. ред. М.С. Черновьянц. – М.: «Академкнига», 2004. – 157 с.
- [162] ASTM Standard E2834, 2012, Standard Guide for Measurement of Particle Size Distribution of Nanomaterials in Suspension by Nanoparticle Tracking Analysis (NTA), ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012, DOI: 10.1520/E2834-12.
- [163] Кузнецов А.Н. Метод спинового зонда. – М.: Наука, 1976.
- [164] Теоретические и экспериментальные методы химии растворов (Проблемы химии растворов). Отв. ред. А.Ю. Цивадзе. – М.: Проспект, 2011. – 688 с.
- [165] Лурье Ю. Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М.: Химия, 1984. - 448с.
- [166] National Committee for Clinical Laboratory Standards, Methods for dilution antimicrobial susceptibility. Tests for bacteria that grow aerobically-sixth edition: approved standard / M7-A5, NCCLS, Wayne, Pa., USA. – 2000.
- [167] Semenov, V.E. Antibacterial and antifungal activity of acyclic and macrocyclic uracil derivatives with quaternized nitrogen atoms in spacers [Text] / V.E. Semenov, A.D. Voloshina, E.M. Toroptzova et al. // Europ. J.Med. Chem. - 2006. - № 41. - P. 1093–1101.
- [168] Воронина, Т.А. Экспериментальный анализ транквилизирующего действия сверхмалых доз феназепама [Текст] / Т.А. Воронина, Г.М. Молодавкина // Российский химический журнал. – 1999. – Т. 43. - №5. – С. 89-96.
- [169] Ryzhkina, I.S. Correlations between the self-organisation, physicochemical properties and biological activity of Mebicar in dilute aqueous solutions [Text] / I.S. Ryzhkina, Yu.V. Kiseleva, O.A. Mishina, A.P. Timosheva, S.Yu. Sergeeva, A.N. Kravchenko and A.I. Konovalov. // Mendeleev Commun. – 2013. – no.23. P. 262-264.

- [170] Муртазина, Л.И. Физико-химическое обоснование использования растворов салициловой кислоты низких концентраций для интенсификации процесса биоочистки сточных вод [Текст] / Л.И. Муртазина, И.С. Рыжкина, О.А. Мишина, Ю.В. Киселева, Т.П. Павлова, С.В. Фридланд // Вестник КГТУ. – 2013. – Т. 16. - №1. – С. 175-178.
- [171] Рыжкина, И.С. Высокорастворимые растворы бромиды цетилтриметиламмония: взаимосвязь самоорганизации, физико-химических свойств и биологической активности [Текст] / И.С. Рыжкина, О.А. Мишина, А.П. Тимошева, Ю.В. Киселева, А.Д. Волошина, А.И. Кулик, А.И. Коновалов // Доклады Академии наук. – 2014. – Т. 459. - №1. – С. 51-57.
- [172] Ryzhkina, I.S. Highly dilution solutions of glycoluriles enantiomers with fragments of (R) - and (S)-methionine: selective ability to self-organization and a change of the nature of a chirality [Text] / I.S. Ryzhkina, Yu.V. Kiseleva, L.I. Murtazina, O.A. Mishina, A.P. Timosheva, S.Yu. Sergeeva, V.V. Baranov, A.N. Kravchenko and A.I. Konovalov. // Mendeleev Commun. – 2015.– no.25 - 72-74.
- [173] Рыжкина, И.С. Самоорганизация и свойства разбавленных водных растворов бромиды цетилтриметиламмония в интервале физиологически важных температур [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, О.А. Мишина, Л.И. Муртазина, А.И. Литвинов, М.К. Кадиров, А.И. Коновалов // Известия Академии наук. Серия химическая.– 2015. - №3. – С. 579-589.
- [174] Мишина, О.А. Взаимосвязь самоорганизации, физико-химических свойств и биологической активности растворов *n*-аминобензойной кислоты низких концентраций [Текст] / О.А. Мишина, Л.И. Муртазина\*, И.С. Рыжкина, А.И. Коновалов. // Известия Академии наук. Серия химическая.– 2015. - №3. – С. 590-596.
- [175] Кравченко, А.Н. Самоорганизация, физико-химические свойства и биологическая активность водных растворов мексикарина низких концентраций в естественной и гипогеомагнитной среде [Текст] / Кравченко А.Н., Рыжкина И.С., Киселева Ю.В., Муртазина Л.И., Мишина О.А., Шерман Е.Д., Аникина Л.В., Вихрев Ю.Б., Коновалов А.И. // VI Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Тезисы докладов. - Санкт-Петербург. – 2012. - С.78.
- [176] Рыжкина, И.С. Сравнительное изучение самоорганизации и физико-химических свойств водных растворов антиоксидантов в нормальных и гипогеомагнитных

условиях [Текст] / Рыжкина И.С., Киселева Ю.В., Муртазина Л.И., Мишина О.А., Коновалов А.И. // VI Международный конгресс «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Тезисы докладов. - Санкт-Петербург. - 2012. - С. 89.

[177] Муртазина, Л.И. Изучение самоорганизации и физико-химических свойств питательной среды RPMI-1640 и растворов её основных компонентов [Текст] / Л.И. Муртазина, О.А. Мишина, Э.М. Масагутова, И.С. Рыжкина, А.И. Коновалов // Международная конференция «Структура воды: физические и биологические аспекты». Тезисы докладов. - Санкт-Петербург. – 2013. - С. 37-38.

[178] Рыжкина, И.С. Энантиомерный контроль образования наноассоциатов в высокоразбавленных растворах метиониновых производных гликольурилов [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, Л.И. Муртазина, А.П. Тимошева, О.А. Мишина, С.Ю. Сергеева, А.Н. Кравченко, А.И. Коновалов // Международная конференция «Структура воды: физические и биологические аспекты». Тезисы докладов. - Санкт-Петербург. – 2013. - С. 54-55.

[179] Мишина, О.А. Влияние растворов низких концентраций биорегулятора активности микроорганизмов на самоорганизацию и физико-химические свойства питательной среды RPMI-1640 [Текст] / О.А. Мишина, Л.И. Муртазина, Э.М. Масагутова, И.С. Рыжкина, Т.П. Павлова, С.В. Фридланд, А.И. Коновалов // «Современная химическая физика» XXV Симпозиум. Сборник аннотаций. - Туапсе. - 2013. - С.80.

[180] Мишина, О.А. Физико-химическое обоснование влияния высокоразбавленных водных растворов *n*-аминобензойной кислоты на биоценоз активного ила [Текст] / О.А. Мишина, Л.И. Муртазина, И.С. Рыжкина, Т.П. Павлова // XXI Всероссийская конференция «Структура и динамика молекулярных систем». Тезисов докладов. – Уфа. - 2014. – С.109.

[181] Murtazina, L.I. Supramolekular systems based on electrolytes solutions as a model for studying the effects of biological active compounds on biosystems [Text] / L.I. Murtazina, I.S. Ryzhkina, E.M. Masagutova, O.A. Mishina, A.I. Konovalov // XXVI Международная Чугаевская конференция по координационной химии. Тезисы докладов. – Казань. – 2014. – С. 595.

- [182] Mishina, O.A. Effect of structure of glycoluril derivatives on selforganisation and properties of highly dilute aqueous solutions [Text] / O.A. Mishina, E.M. Masagutova, Yu.V. Kiseleva, L.I. Murtazina, A.P. Timosheva, I.S. Ryzhkina, A.N. Kravchenko, A.I. Konovalov // XXVI Международная Чугаевская конференция по координационной химии. Тезисы докладов. – Казань. – 2014. – С. 703.
- [183] Киселева, Ю.В. Влияние температуры на параметры нанообъектов и свойства растворов бромиды цетилтриметиламмония [Текст] / Ю.В. Киселева, О.А. Мишина, А.И. Литвинов, М.К. Кадиров, И.С. Рыжкина, А.И. Коновалов // IX Всероссийская конференция «Высокореакционные интермедиаты химических и биохимических реакций». Тезисы докладов. – Московская область. - 2014. – С. 25.
- [184] Мишина, О.А. Влияние внешних факторов (температура и физические поля) на самоорганизацию и физико-химические свойства высокоразбавленных растворов некоторых биологически активных веществ [Текст] / О.А. Мишина, И.С. Рыжкина, А.И. Коновалов // XII Всероссийская конференция с международным участием «Проблемы сольватации и комплексообразования в растворах. От эффектов в растворах к новым материалам». Тезисы докладов. – Иваново. – 2015. – С.115.
- [185] Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух частях. Ч. 1. – М.: Медицина, 1998. – 1424 с.
- [186] Химическая энциклопедия. Под ред. И.Л. Кнунянца. - М.: Большая рос. энциклопедия, 1992. - Т. 3. - 639 с.
- [187] Краткая химическая энциклопедия. Под ред. И.Л. Кнунянца. М.: Сов. Энциклопедия, 1964. Т. 3. 1112 с.
- [188] Биологически активные вещества в растворах: структура, термодинамика, реакционная способность. В.К. Абросимов, А.В. Агафонов, Р.В Чумаков и др. – М.: Наука, 2001. – 403 с.
- [189] Арнетт Э.М. Современные проблемы физической органической химии. – М.: Мир, 1967. – 195-341 с.
- [190] Иванов, Е.В. Объёмные свойства водных растворов бис-мочевинны [Текст] / Е.В. Иванов, В.К. Абросимов, Е.Ю. Лебедева, Н.Г. Иванова // Физическая химия растворов. Научная сессия МИФИ. – 2007. – Т. 9. – С. 134-135.

- [191] Хургин, Ю.И. Межмолекулярные взаимодействия в водных растворах мексикара [Текст] / Ю.И. Хургин, О.В. Лебедев, Е.Ю. Максарева и др. // Известия Академии наук. Серия химическая. – 1995. - №6. – С. 1178-1179.
- [192] Стовбун, С.В. Струны, анизометрические гели и растворы в химических и биологических системах [Текст] / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин // ВМУ. – 2012. - №4. – С.3-15.
- [193] Зленко, Д.В. Структура и внутренняя динамика нанокнопель в низкоконцентрированных растворах хиральных гелаторов [Текст] / Д.В. Зленко, С.В. Стовбун // Химическая Физика. – 2015. – Т.34. - №7. – С. 79-92.
- [194] Рыжкина, И.С. Супрамолекулярные системы на основе алкилированных *n*-сульфонатокаликс[*n*]аренов: агрегация, каталитическая и биологическая активность [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, С.Е. Соловьева, Л.М. Пилишкина, Ю.Н. Валитова, А.И. Коновалов // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2009. – № 12. – С. 2424-2429.
- [195] Рыжкина, И.С. Наноразмерные смешанные агрегаты алкилированных *n*-сульфонатокаликс[*n*]аренов и цетилтриметиламмоний бромида: самоорганизация и каталитическая активность [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, Л.И. Муртазина, Ю.Н. Валитова, С.Е. Соловьева, Л.М. Пилишкина, А.И. Коновалов // Известия Академии наук. Серия химическая.– 2010. – № 7. – С. 1297-1305.
- [196] Киселева, Ю.В. Самоорганизация и физико-химические свойства водных растворов амфифильных производных фенолов и бромида цетилтриметиламмония в области низких концентраций в естественных и гипoeлектромагнитных условиях: дис. ...канд. хим. наук / Ю.В. Киселева. - Казань.: 2013. - 178 с.
- [197] Рыжкина, И.С. Влияние пространственной изомерии тетраиакаликс[4]арена, функционализированного гидразидными группами, на самоорганизацию и физико-химические свойства водно-диметилсульфоксидных растворов низких концентраций [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, О.А Мишина, Л.И. Муртазина, С.Н. Судакова, С.Н. Подъячев, А.И. Коновалов // Доклады Академии наук. – 2013. – Т. 453. - №1. – С. 65-71.
- [198] Рыжкина, И.С. Взаимосвязь самоорганизации и биологической активности высокоразбавленных растворов тетрагидразидного производного тетраиакаликс[4]арена [Текст] / И.С. Рыжкина, Ю.В. Киселева, О.А Мишина, А.Д.

Волошина, С.Н. Судакова и др. // Доклады Академии наук. – 2015. – Т. 464. - №1. – С. 700-704.

[199] Kravchenko, A.N. Neuroprotective Activity of (+)-(S)-2-[(1S,5R)-3,7-Dioxo-2,4,6,8-Tetraazabicyclo[3.3.0]oct-2-yl]-4-Methylthiobutanoic Acid [Text] / A.N. Kravchenko, V.V. Baranov, L.V. Anikina, Yu.B. Vikharev, I.S. Bushmarinov, Yu.V. Nelyubina. Rus. J. Bioorg. Chem. – 2012. – 38. – P. 550.

[200] Gazieva, G.A. Target synthesis of bioactive thioglycolurils, based on QSAR predictions [Text] / G.A. Gazieva, Y. B. Vikharev, L.V. Anikina, T.B. Karpova, A.N. Kravchenko, E.A. Permyakov, I.V. Svitanko // Mendeleev Commun. – 2013. – 23. – P. 202–203.

[201] Chikunov, I. E. Synthesis of 1*S*,5*R*- and 1*R*,5*S*-glycolurils by diastereospecific  $\alpha$ -ureidoalkylation of (*S*)/(*R*)-*N*-carbamoyl- $\alpha$ -amino acids with 4,5-dihydroxyimidazolidin-2-one [Text] / I. E. Chikunov, A. N. Kravchenko, P. A. Belyakov, K. A. Lyssenko, V. V. Baranov, O. V. Lebedev and N. N. Makhova // Mendeleev Commun. – 2004. – P. 253-255.

[202] Хэнч, К. Об использовании количественных соотношений структура-активность (КССА) при конструировании лекарств [Текст] / К. Хэнч // Хим.-фарм. Ж.. – 1980. - №10. – С.15-30.

[203] Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Лекции по медицинской биофизике: Учебное пособие. – М.: Изд-во МГУ; ИКЦ «Академкнига», 2007. – 432 с.

[204] Рассадкин, Ю.П. Вода обыкновенная и необыкновенная / Ю.П. Рассадкин // М.:«Галерея СТО». - 2008.- 840 с.

[205] Bardik, V. Light scattering study of human serum albumin in pre-denaturation: Relation to dynamic transition in water at 42 °C [Text] / V. Bardik, V. Gotsulskii, E. Pavlov, N. Malomuzh, D. Nerukh, I. Yanchuk, S. Lavoryk // Journal of Molecular Liquids. – 2012. – 176. – 60-64.

[206] Шкарин В. В., Шафеев М. Ш. Дезинфектология: Руководство для студентов медицинских вузов и врачей. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2003. - 368 с.

[207] Чалмерс Л. Химические средства в быту и промышленности. Ленинград: Химия, 1969. - 528 с.

[208] Гэйл Э., Кандлифф Э., Рейнолдс П., Ричмонд М., Уоринг М. Молекулярные основы действия антибиотиков. Под. ред. Г.Ф. Гаузе. – М.: Мир, 1975. – 504 с.

- [209] Русанов А.И. Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ. - Санкт-Петербург: Химия, 1992. - 280 с.
- [210] Рыжкина, И.С. Мицеллообразование в системах аминометилированных каликс[4]резорцинарен-цетилтриметиламмоний бромид-ДМФА-вода [Текст] / И. С. Рыжкина, Т. Н. Паширова, Я. А. Филиппова и др. // Жидкие кристаллы и их практическое использование. – 2003. – 1. – С. 76.
- [211] Рыжкина, И.С. Агрегационное поведение и каталитическая активность систем на основе производных каликс[4]резорцинарена и поверхностно-активных веществ. Сообщение 1. Образование смешанных мицелл аминометилированных каликс[4]резорцинаренов и цетилтриметиламмоний бромида в среде водного ДМФА [Текст] / И.С. Рыжкина, Т.Н. Паширова, Я.А. Филиппова и др. // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2004. – №7. – С. 1462-1469.
- [212] Тишкова, Е.П. Реакции эфиров кислот тетракоординированного фосфора с нуклеофильными реагентами в высокоорганизованных средах [Текст] / Е.П. Тишкова, Л.А. Кудрявцева // Известия Академии наук. Серия химическая.– 1996. – № 2. – С. 298-311.
- [213] Граник, В.Г. Химические аспекты воздействия лекарственных средств на функции организма [Текст] / В.Г. Граник // Известия Академии наук. Серия химическая.– 2001. – № 8. – С. 1291-1313.
- [214] Dasgupta, A. Effect of Head group on DNA – Cationic Surfactant Interactions [Text] / A. Dasgupta, P.K. Das, et. al. //J. Phys. Chem. B. – 2007. – No. 111. – P. 8502-8508.
- [215] Дерягин Б. В., Чураев Н. В., Овчаренко Ф.Д., Вода в дисперсных системах. М.: Химия, 1989. - 288 с.
- [216] Melnikov, S.M. Transition of Double-Stranded DNA Chains between Random Coil and Compact Globule States Induced by Cooperative Binding of Cationic Surfactant [Text] / S.M. Melnikov, V.G. Sergeyev, K. Yoshikawa // J. Am. Chem. Soc. – 1995. – No. 117. – P. 9951-9956.
- [217] Лунев, И.В. Изучение водных растворов производного каликс[4]резорцинарена низких концентраций методом диэлектрической спектроскопии [Текст] / И. В. Лунев, А. А. Хамзин, И. И. Попов, М. Н. Овчинников, И. С. Рыжкина, О. М. Мишина, Ю. В. Киселева, А. И. Коновалов // Доклады Академии наук. – 2014. – 455. – С. 656-661.

- [218] Литвинов, А.И. Особенности применения метода ЭПР при изучении мицеллярной и домицеллярной агрегации амфифильных соединений / А.И. Литвинов, В.И. Морозов, М.К. Кадиров // Вестник КГТУ. – 2012.– №11. – С.28-31.
- [219] Белецкий Ю. Д. Пара-аминобензойная кислота – новое биологически активное соединение. - Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского ун-та, 1993. – 59 с.
- [220] Силантьева Н.С. Химический мутагенез в создании сортов с новыми свойствами. М.: Наука, 1986. – 262 с.
- [221] Васильева, С. В. Взаимодействие пара-аминобензойной кислоты с ДНК in vitro [Текст] / С.В. Васильева, Г. П. Жижина, И.А. Рапопорт // Доклады Академии наук. – 1980. – 252, С. 755-757.
- [222] Шангин-Березовский Г.Н., Молоскин С. А, Рыхлецкая О. С. Химический мутагенез в создании сортов с новыми свойствами. – М.: Наука, 1986. - 243 с.
- [223] Jager M. A Novel in Vitro Percutaneous Penetration Model: Evaluation of Barrier Properties with P-Aminobenzoic Acid and Two of Its Derivatives [Text] / M. de Jager, W. Groenink, R.B. Guivernau, E. Andersson, N. Angelova, M. Ponec, J. Bouwstra // Pharmaceutical Research. – 2006. – 23. – 5. - P. 951-960.
- [224] Zhang, Yu. A sensitive DNA biosensor fabricated with gold nanoparticles/poly (p-aminobenzoic acid)/carbon nanotubes modified electrode [Text] / Yu. Zhang, J. Wang, M. Xu // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2010. – 75. – С. 179-185.
- [225] S. Gracin, S. Influence of ultrasound on the nucleation of polymorphs of p-aminobenzoic acid [Text] / S. Gracin, M. Uusi-Penttila, E.C. Rasmuson // Cryst. Growth Des. - 2005. – 5. – P. 1787–1794.
- [226] Бреженер С. М. Витамины и их клиническое применение. – М.: Медицина, 1966. – 417с.
- [227] Боме, Н.А. Биологическая активность пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) на растениях [Текст] / Н.А. Боме // IX Международная конференция «Биоантиоксидант». – Тезисы докладов. – Москва. – 2015. – С. 19.
- [228] Спицын, А.А. Влияние водного раствора салициловой кислоты различной концентрации на морфофизиологические показатели растений гороха в условиях затопления и холодового стресса [Текст] / А.А. Спицын, О.И. Пыхалов // II Международный симпозиум «Сигнальные системы клеток растений: роль в адаптации и иммунитете». Тезисы докладов. - Казань. - 2006. – С. 209–210.

[229] Поплавская, Р.С. Предполагаемый механизм действия салициловой кислоты на клеточном уровне и в системе целого растения [Текст] / Р.С. Поплавская // II Международный симпозиум «Сигнальные системы клеток растений: роль в адаптации и иммунитете». Тезисы докладов. – Казань. – 2006. - С. 104-105.

[230] Кубиньи, Г. В поисках новых соединений-лидеров для создания лекарств [Текст] / Г. Кубиньи // Российский химический журнал. – 2006. – т. L. - №2. – 5-17.

[231] Дмитриева, С.А. Функциональная активность клеток корней пшеницы при действии салициловой кислоты [Текст] / С.А. Дмитриева, А.А. Пономарева, Ф. В. Минибаева, Л.Х. Гордон, Д.Ф. Рахматуллина // II Международный симпозиум «Сигнальные системы клеток растений: роль в адаптации и иммунитете». Тезисы докладов. – Казань. - 2006. – С. 170-171.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

### 4.1 Расчет ошибок измерения размеров частиц

Каждое представленное в таблице 4.1 значение  $D$  представляет собой среднее значение, полученное по пяти показаниям анализатора для одного образца [159]. Значения  $D_1, D_2, D_3, D_4$  и  $D_5$  соответствуют значениям  $D$ , полученным в параллельных опытах для пяти различных образцов растворов с одинаковой концентрацией.

**Таблица 4.1.** Результаты измерения размеров частиц водных растворов **ба**, 25°C

№	lgC	D, нм				
		d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>3</sub>	d <sub>4</sub>	d <sub>5</sub>
1	2	3	4	5	6	7
1	-15	284	270	298	285	290
2	-14	290	265	259	275	258
3	-13	320	298	312	306	327
4	-12	255	245	250	232	238
5	-11	332	325	357	321	328
6	-10	335	385	392	378	356
7	-9	390	345	367	338	369
8	-8	374	350	320	349	340
9	-7	284	289	311	270	275
10	-6	289	281	289	298	306
11	-5	315	338	336	343	310
12	-4	335	329	289	314	341

В качестве примера приведен расчет ошибок измерения размеров частиц в растворах **ба** концентрации  $1 \cdot 10^{-15}$  М. Данные для расчета приведены в таблице 4.2.

**Таблица 4.2.** Данные для расчета ошибок измерения размеров частиц в растворах **ба** концентрации  $1 \cdot 10^{-15}$  М, 25°C

i	$\sigma_i$	$\sigma_{cp} - \sigma_i$	$(\sigma_{cp} - \sigma_i)^2$	$\Sigma(\sigma_{cp} - \sigma_i)^2$
1	284	1,4	1,96	419,2
2	270	15,4	237,16	
3	298	-12,6	158,76	
4	285	0,4	0,16	
5	290	-4,6	21,16	

где:  $\bar{\sigma}_{cp}$  – среднеарифметическое значение  $\sigma$  параллельных опытов.

1. Стандартное отклонение  $\sigma$  отдельного измерения:

$$\sigma = \sqrt{\sum (\bar{\sigma}_{cp} - \sigma_i)^2 / (n - 1)} = \sqrt{419,2 / 4} = 10,24 \quad (4.1)$$

2. Стандартное отклонение среднеарифметического  $\sigma_o$ :

$$\sigma_o = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{10,24}{\sqrt{5}} = 4,58 \quad (4.2)$$

3. Вероятная погрешность:

$$\pm \frac{\sigma_\tau \cdot \sigma}{\sqrt{n}} = \frac{2,776 \cdot 10,24}{\sqrt{5}} = \pm 12,71, \quad (4.3)$$

где:  $\sigma_\tau$  – критерий Стьюдента для доверительной вероятности  $P=95\%$  и  $f=4$  степенях свободы  $\sigma_\tau=2,776$ .

Доверительный интервал среднего будет находиться в пределах  $285,4 \pm 12,71$ .

4. Относительная ошибка:

$$\Delta_{отн.} = \frac{\sigma_o \cdot \sigma_\tau \cdot 100}{\bar{\sigma}_{cp} \cdot \sqrt{n}} = \frac{4,58 \cdot 2,776 \cdot 100}{285,4 \cdot \sqrt{5}} = 1,99 \% \quad (4.4)$$

#### 4.2 Расчет ошибок измерения $\zeta$ -потенциала частиц

Каждое представленное в таблице 4.3 значение  $\zeta$ -потенциала представляет собой среднее значение, полученное по пяти показаниям анализатора для одного образца [159]. Значения  $\zeta_1, \zeta_2, \zeta_3, \zeta_4$  и  $\zeta_5$  соответствуют значениям  $\zeta$ , полученным в

параллельных опытах для пяти различных образцов растворов с одинаковой концентрацией.

**Таблица 4.3.** Результаты измерения  $\zeta$ -потенциала частиц в водных растворах **ба**, 25°C

№	lg C	$\zeta$ , мВ				
		$\zeta_1$	$\zeta_2$	$\zeta_3$	$\zeta_4$	$\zeta_5$
1	2	3	4	5	6	7
3	-15	-7,97	-7,44	-7,48	-7,83	-7,88
4	-14	-7,15	-6,69	-7,02	-6,57	-6,87
5	-13	-9,4	-9,35	-8,5	-8,6	-9,3
6	-12	-6,98	-6,91	-6,8	-6,9	-7,15
7	-11	-7,6	-5,54	-5,13	-7,59	-7,57
8	-10	-7,72	-5,85	-5,87	-6,48	-7,68
9	-9	-6,59	-5,3	-5,93	-5,35	-6,5
10	-8	-4,93	-4,35	-3,85	-3,65	-4,36
11	-7	-5,3	-1,98	-2,85	-2,65	-2,69
12	-6	-1,63	-1,74	-3,89	-3,12	-2,84
13	-5	-12,85	-11,69	-10,86	-13,73	-8,94
14	-4	-5,49	-4,56	-5,89	-4,63	-4,16

В качестве примера приведен расчет ошибок измерения  $\zeta$ -потенциала частиц в водном растворе **ба** концентрации  $1 \cdot 10^{-6}$  М. Данные для расчета приведены в таблице 4.4.

**Таблица 4.4.** Данные для расчета ошибок измерения  $\zeta$ -потенциала частиц в водном растворе ба концентрации  $1 \cdot 10^{-6} \text{M}$ ,  $25^\circ \text{C}$

i	$\sigma_i$ , мВ	$\sigma_{\text{cp.}} - \sigma_i$	$(\sigma_{\text{cp.}} - \sigma_i)^2$	$\Sigma(\sigma_{\text{cp.}} - \sigma_i)^2$
1	-1,63	1,01	1,02	3,658
2	-1,74	0,9	0,81	
3	-3,89	1,25	1,56	
4	-3,12	0,48	0,23	
5	-2,84	0,196	0,038	

где:  $\bar{\sigma}_{\text{cp}}$  – среднеарифметическое значение  $\sigma$  параллельных опытов.

1. Стандартное отклонение отдельного измерения:

$$\sigma = \sqrt{\sum (\bar{\sigma}_{\text{cp}} - \sigma_i)^2 / (n - 1)} = \sqrt{3,6584 / 4} = 0,96 \quad (4.5)$$

2. Стандартное отклонение среднеарифметического  $\sigma_o$ :

$$\sigma_o = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{0,96}{\sqrt{5}} = 0,428 \quad (4.6)$$

3. Вероятная погрешность:

$$\pm \frac{\sigma_\tau \cdot \sigma}{\sqrt{n}} = \frac{2,776 \cdot 0,96}{\sqrt{5}} = \pm 1,19, \quad (4.7)$$

где:  $\sigma_\tau$  – критерий Стьюдента для доверительной вероятности  $P=95\%$  и  $f=4$  степенях свободы  $\sigma_\tau=2,776$ .

Доверительный интервал среднего будет находиться в пределах  $2,64 \pm 1,19$ .

4. Относительная ошибка:

$$\Delta_{\text{отн.}} = \frac{\sigma_o \cdot \sigma_\tau \cdot 100}{\bar{\sigma}_{\text{cp}} \cdot \sqrt{n}} = \frac{0,428 \cdot 2,776 \cdot 100}{2,644 \cdot \sqrt{5}} = 19,13 \% \quad (4.8)$$

#### 4.3 Расчет ошибок измерения удельной электропроводности

Каждое представленное в таблице 4.5 значение  $\chi$  получено как минимум по трем показаниям прибора для одного образца. Значения  $\chi_1$ ,  $\chi_2$ ,  $\chi_3$ ,  $\chi_4$  и  $\chi_5$

соответствуют значениям  $\chi$ , полученным в параллельных опытах для пяти различных образцов растворов с одинаковой концентрацией.

**Таблица 4.5.** Результаты измерения удельной электропроводности растворов *n*-аминобензойной кислоты, 25°C

№	lg C	$\chi$ , мкСм·см <sup>-1</sup>				
		$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	$\chi_5$
1	2	3	4	5	6	7
1	-11	5,20	5,15	5,25	5,28	5,32
2	-10	5,85	5,86	5,76	5,82	5,85
3	-9	6,40	6,58	6,35	6,48	6,52
4	-8	12,95	13,21	15,80	15,50	16,80
5	-7	15,80	16,10	15,52	15,30	15,10
6	-6	16,94	17,60	17,85	16,32	15,65
7	-5	12,60	13,30	11,50	10,20	12,59
8	-4	15,10	16,30	16,50	15,90	16,10
9	-3	28,60	28,90	29,36	29,10	29,60

В качестве примера приведен расчет ошибок по измерениям удельной электропроводности раствора *n*-аминобензойной кислоты (9) в концентрации  $1 \cdot 10^{-5}$  М.

**Таблица 4.6.** Данные для расчета ошибок измерения удельной электропроводности растворов *n*-аминобензойной кислоты при  $C=1 \cdot 10^{-5}$  М, 25°C

i	$\sigma_i$ , мкСм·см <sup>-1</sup>	$\sigma_{\text{ср.}} - \sigma_i$	$(\sigma_{\text{ср.}} - \sigma_i)^2$	$\Sigma(\sigma_{\text{ср.}} - \sigma_i)^2$
1	12,60	-0,56	0,04	2,93
2	13,30	-1,26	1,59	
3	11,50	0,54	0,29	
4	11,20	0,84	0,71	
5	12,59	-0,55	0,30	

где:  $\bar{\sigma}_{cp}$  – среднеарифметическое значение  $\sigma$  параллельных опытов.

1. Стандартное отклонение  $\sigma$  отдельного измерения:

$$\sigma = \sqrt{\sum (\bar{\sigma}_{cp} - \sigma_i)^2 / (n - 1)} = \sqrt{2,93 / 4} = 0,86 \quad (4.9)$$

2. Стандартное отклонение среднеарифметического  $\sigma_o$ :

$$\sigma_o = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{0,86}{\sqrt{5}} = 0,38 \quad (4.10)$$

3. Вероятная погрешность:

$$\pm \frac{\sigma_\tau \cdot \sigma}{\sqrt{n}} = \frac{2,776 \cdot 0,86}{\sqrt{5}} = \pm 1,0677, \quad (4.11)$$

где:  $\sigma_\tau$  – критерий Стьюдента для доверительной вероятности  $P=95\%$  и  $f=4$  степенях свободы  $\sigma_\tau=2,776$ .

Доверительный интервал среднего будет находиться в пределах  $12,04 \pm 1,0677$ .

4. Относительная ошибка:

$$\Delta_{отн.} = \frac{\sigma_o \cdot \sigma_\tau \cdot 100}{\bar{\sigma}_{cp} \cdot \sqrt{n}} = \frac{0,38 \cdot 2,776 \cdot 100}{12,04 \cdot \sqrt{5}} = 3,92\%. \quad (4.12)$$

#### 4.4 Расчет ошибок измерения pH

Каждое представленное в таблице 4.7 значение pH получено по трем показаниям прибора для одного образца. Значения pH<sub>1</sub>, pH<sub>2</sub>, pH<sub>3</sub>, pH<sub>4</sub> и pH<sub>5</sub> соответствуют значениям pH, полученным в параллельных опытах для пяти различных образцов растворов с одинаковой концентрацией.

**Таблица 4.7.** Результаты измерения рН водных растворов 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы, 25°C

№	lgC	рН				
		рН <sub>1</sub>	рН <sub>2</sub>	рН <sub>3</sub>	рН <sub>4</sub>	рН <sub>5</sub>
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
1	-17	5,9	5,88	5,83	5,85	5,94
2	-16	5,92	5,94	5,93	5,97	5,99
3	-15	6,26	6,33	6,38	6,18	6,22
4	-14	6,65	6,8	6,78	6,68	6,63
5	-13	6,48	6,54	6,55	6,49	6,52
6	-12	6,36	6,38	6,2	6,23	6,26
7	-11	6,53	6,59	6,66	6,67	6,65
8	-10	6,04	6,02	6,03	6,01	6,01
9	-9	6,47	6,4	6,41	6,43	6,39
10	-8	6,00	6,2	6,23	6,16	6,16
11	-7	6,34	6,26	6,22	6,26	6,3
12	-6	6,72	6,65	6,55	6,68	6,68
13	-5	6,2	6,3	6,24	6,3	6,2
14	-4	6,39	6,28	6,25	6,33	6,34
15	-3	6,50	6,55	6,53	6,48	6,51
16	-2	6,10	6,15	6,09	5,06	6,00

В качестве примера приведен расчет ошибок измерения рН раствора 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы (3) концентрации  $1 \cdot 10^{-12}$  М. Данные для расчета приведены в таблице 4.8.

**Таблица 4.8.** Данные для расчета ошибок измерения рН водного раствора 2,4,6,8-тетраметилгликольурилы при концентрации  $1 \cdot 10^{-12}$  М, 25°C

i	$\sigma_i$	$\sigma_{cp.} - \sigma_i$	$(\sigma_{cp.} - \sigma_i)^2$	$\Sigma(\sigma_{cp.} - \sigma_i)^2$
1	6,36	-0,074	0,0055	0,0255
2	6,38	-0,094	0,0088	
3	6,20	0,086	0,0074	
4	6,23	0,056	0,0031	
5	6,26	0,026	0,0007	

где:  $\bar{\sigma}_{cp}$  – среднеарифметическое значение  $\sigma$  параллельных опытов.

1. Стандартное отклонение  $\sigma$  отдельного измерения:

$$\sigma = \sqrt{\sum (\bar{\sigma}_{cp} - \sigma_i)^2 / (n - 1)} = \sqrt{0,0255 / 4} = 0,08 \quad (4.13)$$

2. Стандартное отклонение среднеарифметического  $\sigma_o$ :

$$\sigma_o = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{0,08}{\sqrt{5}} = 0,036 \quad (4.14)$$

3. Вероятная погрешность:

$$\pm \frac{\sigma_\tau \cdot \sigma}{\sqrt{n}} = \frac{2,776 \cdot 0,08}{\sqrt{5}} = \pm 0,1, \quad (4.15)$$

где:  $\sigma_\tau$  – критерий Стьюдента для доверительной вероятности  $P=95\%$  и  $f=4$  степенях свободы  $\sigma_\tau=2,776$ .

Доверительный интервал среднего будет находиться в пределах  $6,29 \pm 0,1$ .

4. Относительная ошибка:

$$\Delta_{отн.} = \frac{\sigma_o \cdot \sigma_\tau \cdot 100}{\bar{\sigma}_{cp} \cdot \sqrt{n}} = \frac{0,036 \cdot 2,776 \cdot 100}{6,29 \cdot \sqrt{5}} = 0,71\% \quad (4.16)$$

#### 4.5 Расчет ошибок измерения объема титранта для анализа сточной воды

**Таблица 4.9.** Результаты для определения погрешности измерения объема титранта, пошедшего на анализ сточной воды с содержанием раствора салициловой кислоты (8) в концентрации  $1 \cdot 10^{-9}$  М.

i	$\sigma_i$	$\sigma_{cp.} - \sigma_i$	$(\sigma_{cp.} - \sigma_i)^2$	$\Sigma(\sigma_{cp.} - \sigma_i)^2$
1	2,36	0,03	0,0009	0,0014
2	2,4	0,01	0,0001	
3	2,41	0,02	0,0004	
4	2,38	0	0	
5	2,38	0	0	

где:  $\bar{\sigma}_{cp}$  – среднеарифметическое значение  $\sigma$  параллельных опытов.

1. Стандартное отклонение  $\sigma$  отдельного измерения:

$$\sigma = \sqrt{\sum (\bar{\sigma}_{cp} - \sigma_i)^2 / (n - 1)} = \sqrt{0,0014 / 4} = 0,02 \quad (4.17)$$

2. Стандартное отклонение среднеарифметического  $\sigma_o$ :

$$\sigma_o = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \frac{0,02}{\sqrt{5}} = 0,009 \quad (4.18)$$

3. Вероятная погрешность:

$$\pm \frac{\sigma_{\tau} \cdot \sigma}{\sqrt{n}} = \frac{2,776 \cdot 0,02}{\sqrt{5}} = \pm 0,02 \quad (4.19)$$

где:  $\sigma_{\tau}$  – критерий Стьюдента для доверительной вероятности  $P=95\%$  и  $f=4$  степенях свободы  $\sigma_{\tau}=2,776$ .

Доверительный интервал среднего будет находиться в пределах  $2,4 \pm 0,02$

4. Относительная ошибка:

$$\Delta_{отн.} = \frac{\sigma_o \cdot \sigma_{\tau} \cdot 100}{\bar{\sigma}_{cp} \sqrt{n}} = \frac{0,009 \cdot 2,776 \cdot 100}{2,4 \cdot \sqrt{5}} = 0,47 \% \quad (4.20)$$

Обработка результатов косвенных измерений ХПК определяется по формуле:

$$\text{ХПК} = ((x - T) \cdot F \cdot 8 \cdot 1000) / V, \quad (4.21)$$

где  $x$  - объем титра пошедшего на холостую пробу, мл;

$x=2,708$  мл

$T$  - объем титра пошедшего на анализ СВ, мл;

$T=2,38$  мл;

$F$ - коэффициент поправки;

$F=0,95$ ;

$V$ -объем пробы, мл;

$V=1$  мл

Относительная погрешность результатов:

$$\delta_x = (\Delta/A) \cdot 100\% = (0,024/2,708) \cdot 100\% = 0,88\%$$

$$\delta_T = (\Delta/A) \cdot 100\% = (0,012/2,38) \cdot 100\% = 0,50\%$$

Граница погрешности косвенного измерения находится по формуле:

$$\delta_{\text{ХПК}} = \alpha \sqrt{\delta_x^2 + \delta_T^2} \%, \quad (4.22)$$

где  $\alpha = 1,1$  при  $P=0,95$

$$\delta_{\text{ХПК}} = 1,1 \sqrt{0,88^2 + 0,50^2} \%$$

ХПК равно:

$$\text{ХПК} = ((2,708 - 2,38) \cdot 0,95 \cdot 8 \cdot 1000) / 1 = 2493 \text{ мг О}_2/\text{л}$$

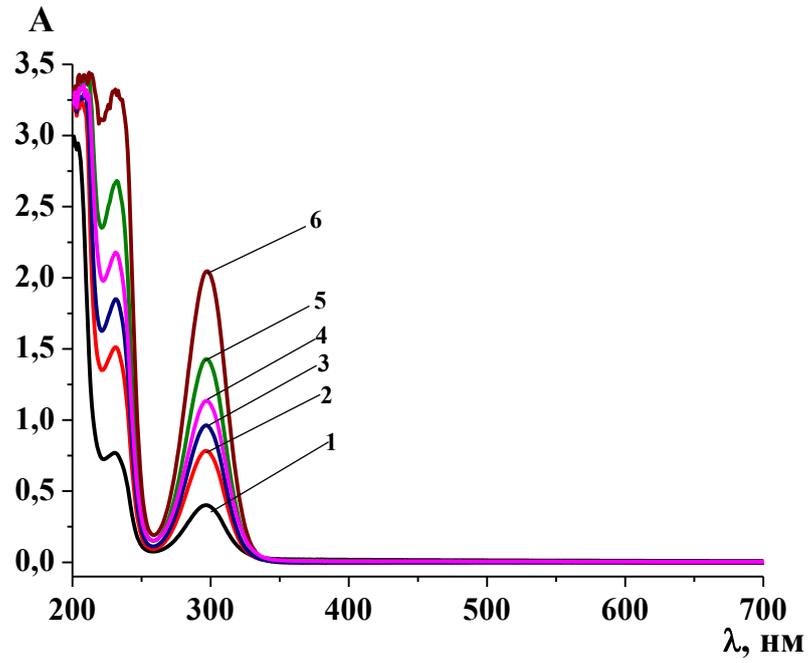
Абсолютная погрешность косвенного измерения:

$$\Delta \text{ХПК} = (\text{ХПК} \cdot \delta_{\text{ХПК}}) / 100 \text{ мг О}_2/\text{л} \quad (4.23)$$

$$\Delta \text{ХПК} = (2493 \cdot 1,1131) / 100 = 27,75 \text{ мг О}_2/\text{л}$$

Результат измерения:

$$\text{ХПК} = (2493 \pm 27,75) \text{ мг О}_2/\text{л}.$$



**Рисунок 4.1.** УФ-спектры поглощения растворов салициловой кислоты при концентрациях  $1 \cdot 10^{-5}$  (1),  $2 \cdot 10^{-5}$  (2),  $3 \cdot 10^{-5}$  (3),  $4 \cdot 10^{-5}$  (4),  $5 \cdot 10^{-5}$  (5),  $6 \cdot 10^{-5}$  (6) М, 25°C.