

О ПРОБЛЕМЕ ВЛИЯНИЯ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Лобышев В.И.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1/2, г. Москва, 119991, РФ; e.mail: lobyshev@yandex.ru
Поступила в редакцию: 17.07.2020

Аннотация. В работе представлена краткая история и дан анализ этой проблемы, которая долго неоднозначно принимается научным сообществом и в которую внесли значительный вклад отечественные исследователи. Несомненно, это направление связано с исследованиями в области малых доз ионизирующих излучений и слабых неионизирующих электромагнитных полей, а также с результатами гомеопатической практики в медицине, насчитывающей более 200 лет и не имеющей по настоящее время теоретических обоснований. С конца 1970-х годов на различных биологических моделях разными авторами было показано, что при уменьшении от обычно используемой концентрации действующего вещества, биологический эффект вновь появляется. При этом, он может быть более интенсивным или даже иметь другой знак ответа. Таким образом, зависимость биологического ответа на уменьшающуюся концентрацию активного вещества имеет немонотонный характер и может характеризоваться несколькими экстремумами. Исследования физико-химических характеристик концентрационных зависимостей в области малых и сверхмалых концентраций, проведенные в нашей стране и за рубежом, убедительно показывают появление аналогичных закономерностей. Наряду с этим, нами впервые была показана высокая корреляция между физическими характеристиками сильно разбавленных растворов и биологическим откликом одноклеточных, что было подтверждено другими исследователями. Установлено, что неклассическое поведение разбавленных водных растворов связано с образованием мезочастиц размером порядка сотни нанометров. Во многих случаях образование мезочастиц не наблюдается при выдерживании образцов водных растворов в условиях ослабленного магнитного поля Земли. Наблюдаемые эффекты выходят за рамки классических представлений о растворах. В работе формулируются вопросы, требующие экспериментального и теоретического решения.

Ключевые слова: разбавленные водные растворы, микрогетерогенность, самоорганизация, мезочастицы.

Стимулирующее влияние слабых воздействий на биологические системы разнообразных химических и физических факторов, ингибирующих эти системы при больших концентрациях или дозах, было обнаружено очень давно. Первые эксперименты, показывающие в малых дозах стимулирующее влияние различных химических соединений на развитие разнообразных биологических объектов, были опубликованы еще в конце XIX века. Этот феномен был назван гормезисом [1]. Позднее стимулирующее воздействие аналогичного характера было обнаружено и для ионизирующего излучения и было названо радиационным гормезисом [2, 3]. При исследовании действия слабых неионизирующих электромагнитных полей также были обнаружены немонотонные эффекты, зависящие от интенсивности и частоты электромагнитных полей естественного происхождения [4]. Со второй половины 1970-х годов появляется нарастающий поток работ, в которых исследуется широкий диапазон концентраций действующих биологически активных веществ на различные функции биологических и модельных систем [5-11]. На рисунке 1 приведен характерный пример бифазного ответа степени ингибирования протеинкиназы С на концентрацию антиоксиданта α -токоферола [11].

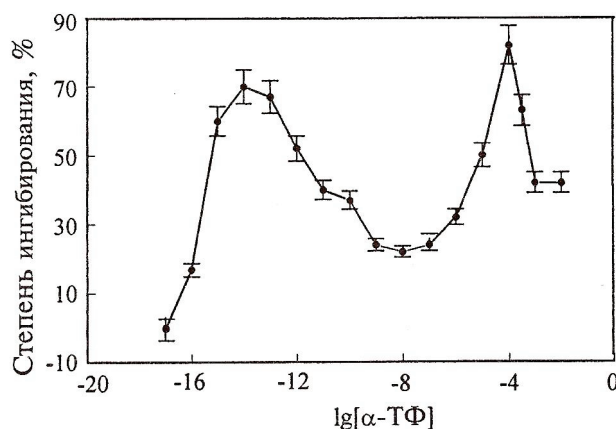


Рисунок 1. Зависимость степени ингибирования протеинкиназы С от концентрации α -токоферола

Необычность этой зависимости состоит в наличии максимума при наличии малых (их называют также сверхмалыми) концентраций действующего вещества и «мертвой зоны», лежащей обычно в области $10^{-8} - 10^{-11}$ М. При повышении концентрации до общепринятых может наблюдаться как активация (в данном примере), так и ингибирование.

Еще одна возможная особенность высокоразбавленных растворов состоит в том, что их значительное действие может проявляться на фоне большей эндогенной концентрации того же вещества в изучаемой модели. Например, опиоиды модулируют иммунную активность различных клеток в концентрациях $10^{-18} - 10^{-14}$ М, хотя те же опиоидные пептиды присутствуют в клетках в значительно большей естественной концентрации $10^{-10} - 10^{-12}$ М [12,13].

Во многих случаях малые концентрации биологически активных веществ достигаются путем однотипного последовательного разбавления (в 10 или 100 раз, или иным способом) с активным механическим встряхиванием после каждого разбавления. Такой метод приготовления образцов соответствует принятой в гомеопатии технологией приготовления препаратов. В этом случае, так называемые, потенцированные образцы со сверхвысокой степенью «разбавления», когда понятие концентрации теряет смысл и уместно говорить только о количестве повторов указанных операций, удивительным образом могут проявлять биологическую активность, зависящую немонотонно от степени «разбавлений». Все эти экспериментальные факты не укладываются в рамки традиционных представлений. Не рассматривая разнообразные предлагаемые механизмы наблюдаемых эффектов, отметим, что во всех случаях мы работаем с водными растворами и возникает вопрос, как ведут себя физико-химические характеристики разбавленных растворов и применимо ли к ним понятие бесконечно разбавленных растворов, под которыми в классической физической химии понимаются растворы с концентрацией менее $10^{-3} - 10^{-5}$ М. Часто утверждают, что наблюдаемые сложные эффекты связаны со структурой воды, не приводя при этом достаточных аргументов. Сначала рассмотрим, что такое реальная вода, поскольку это не только ансамбль молекул H_2O . Она содержит:

- вследствие диссоциации ионы H^+ и OH^- в концентрации 10^{-7} М;
- основные стабильные изотопные формы $H_2^{16}O$, $H_2^{17}O$ и $DH^{16}O$ с концентрациями (если изотопы считать элементами) $^{18}O - 0,20\%$ ($\sim 0,1$ М), $^{17}O - 0,04\%$ ($\sim 0,02$ М), $D = ^2H - 0,015\%$ (~ 15 мМ);
- орто $\uparrow NOH\uparrow$ и пара $\uparrow NOH\downarrow$ молекулы (естественное статистическое распределение форм 3:1);
- растворенные газы, нанопузырьки;
- растворенные органические и неорганические примеси из атмосферы и материала сосуда;
- активные формы кислорода и азота;
- переменный окислительно-восстановительный потенциал;
- громадный полиморфизм кристаллографических структур (Лед XVIII получен в 2018 г из льда VII);
- возможность образования не кристаллографических, параметрических структур.

Все приведенные выше факты убедительно свидетельствуют о том, что реальная вода гетерогенна по своему составу. Рассмотрим более подробно некоторые из перечисленных выше характеристик. В атмосферном воздухе всегда присутствует углекислый газ, обладающий хорошей растворимостью в воде. На рисунке 2 представлены распределения гидрокарбонатов в зависимости от величины рН, варьируемой с помощью добавок HCl и $NaOH$ [14].

Как видно из рисунка 2, в области нейтральных значений рН концентрация аниона бикарбоната составляет около 10^{-5} М. По этой причине дистиллированная вода в открытом сосуде без дополнительных примесей имеет значение рН 5,5 меньше, чем ожидаемое значение рН 7. В воде присутствуют также растворенный кислород и азот, об их роли и о нанопузырьках речь пойдет ниже.

Вода активно растворяет все примеси неорганического и органического происхождения, находящиеся в воздухе и материале сосуда в котором находится вода. Уместно напомнить, что в воздухе для больничных палат

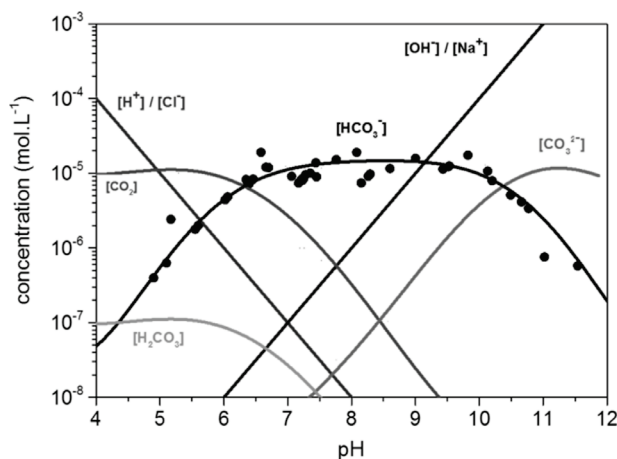


Рисунок 2. Равновесные концентрации карбонатов в воде при стандартных условиях

нормируемое (ГОСТ 2007 – идентичен международному стандарту ISO) количество только лишь колониеобразующих частиц составляет 500 шт/м³, максимальное число «пылевых» частиц размером равным и более 0,5 мкм в операционных помещениях не должно превышать 3 520 000 штук в м³, а их количество в палатах даже не нормируется. Показательным примером могут служить результаты исследования «аномальной» сверхплотной конденсированной воды в кварцевых капиллярах, полученной впервые Н.Н. Федакиным и активно исследуемой в то время Б.В. Дерягиным, в нескольких тысячах экспериментов, выполненных за два года в разных частях земного шара после публикации Липпинкотта о том, что эта вода возможно является полимерной структурой [15]. Оказалось, что кроме растворенного кремния в конденсированной в капиллярах воде обнаруживаются и другие вещества, но только имеющиеся в лаборатории. Наш давний опыт показал, что в стеклянном бидистилляте электропроводность бидистиллята оказывается выше, чем в дистилляте за счет растворения ионов Na из стекла, что было установлено спектральным анализом. При этом содержание Ca и Mg в бидистилляте действительно уменьшалось. Хочется напомнить также, что такое вещество как AgCl, считающееся нерастворимым, дает насыщенный водный раствор с концентрацией $1,34 \cdot 10^{-5}$ М.

В настоящее время в основной массе работ можно увидеть фразу: «использовалась вода класса 1 с удельным сопротивлением 18,2 Мом•см». На рисунке 3 представлены результаты измерения электропроводности такой воды во времени при ее нахождении в стеклянном цилиндрическом сосуде диаметром 2,5 см, высотой 11 см. Измерения проводили на кондуктометре CDM 2e, Radiometer (Копенгаген) с калиброванной ячейкой CDC 104, имеющей три кольцевых электрода на внутренней поверхности стеклянной трубки диаметром 1,5 см, высотой 10 см, помещенной в стеклянный цилиндр с исследуемой водой. Погрешность измерений составляла не более 5%.

Как видно из приведенных данных, электропроводность даже в начальной точке значительно выше ожидаемой (из-за переливаний, промывки электрода и т.д.) и быстро возрастает. Медленное увеличение электропроводности долго не прекращается и через неделю достигает 5,1 мкС•см⁻¹.

В состав воды входят два стабильных изотопа водорода и три изотопа кислорода. Хотя основная часть воды представлена молекулами H₂¹⁶O, количество изотопных форм молекул воды, выраженное в молях, как указано выше, характеризуется достаточно большими величинами, сравнимыми с количеством основных ионов Na, K, Ca, Mg в живой клетке [16]. Наряду с понятными изотопными эффектами обогащенной тяжелой воды, наблюдаются неожиданно большие эффекты при небольшой вариации изотопного состава относительно его

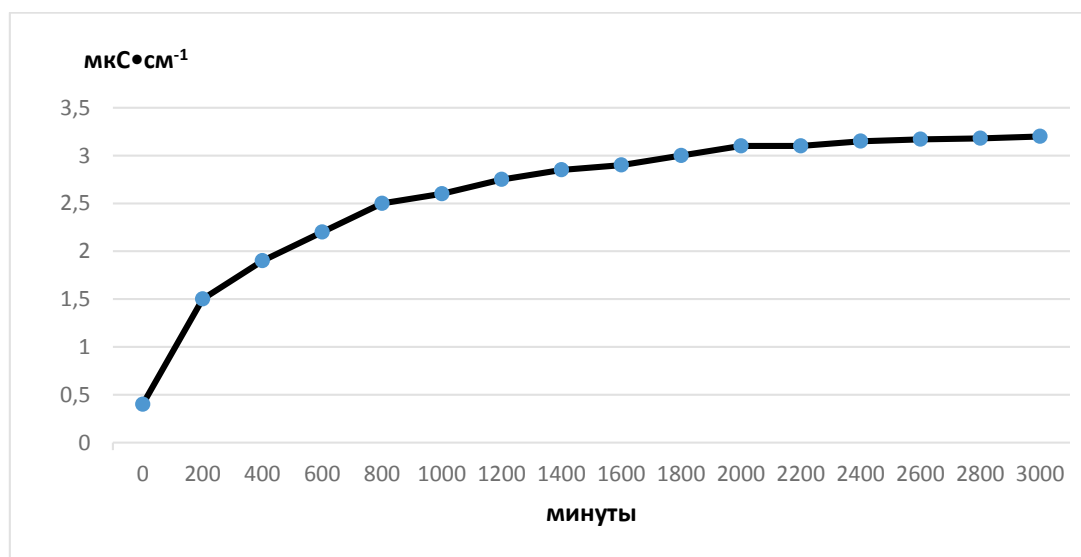
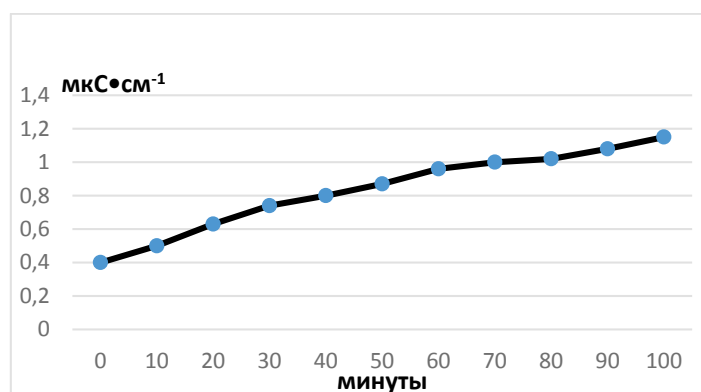


Рисунок 3. Зависимость удельной электропроводности воды MQ от времени

природного состава не нашедшие до сих пор адекватного объяснения [17]. В воде существуют также орто и пара молекулы, различающиеся ориентацией спинов атомов водорода в молекуле и обладающие различающимися энергетическими спектрами вращательных степеней свободы [18, 19]. Их роль в биологических системах еще предстоит прояснить.

Концентрации всех вышеперечисленных компонент зависят от множества внешних условий, включающих предысторию воды, температуру и давление. Самая чистая коммерческая вода для хроматографии “Fisher Scientific” гарантирует отсутствие лишь избранных ионов Al, Cd, Cr, Cu, K на уровне 10 ppb, т.е. на уровне 10^{-8} . Таким образом, условно чистая вода, даже в лабораторных условиях, является раствором, практически всегда неравновесна и нарушает многие устойчивые представления об идеальной жидкости и растворе. **Чистую воду, состоящую только из молекул H_2O , можно наблюдать лишь на листе бумаги или на экране монитора компьютера.**

Вода весьма чувствительна к внешним физическим воздействиям. Уже более 50-ти лет известно, что ультразвуковая кавитация в воде приводит к появлению гидроксил-радикала OH^\bullet , нитрит NO_2 и, в меньшей степени, нитрат NO_3 ионов. С разработкой технологии одиночного пульсирующего пузырька удалось на один цикл схлопывания пузырька количественно измерить выход OH^\bullet , NO_x , а также фотонов, чей спектр не был характерен и простирался от 800 нм до 200 нм с увеличением интенсивности в коротковолновой части спектра [20]. Спектр такого вида в рамках модели черного тела говорит о температуре внутри пузырька, достигающей 20 000 К, что говорит о возможности ионизации внутреннего содержимого пузырька и последующих ион – электронных рекомбинационных процессов. Появление активных форм кислорода и азота неизбежно влечет за собой каскад сопряженных цепных электрон-радикальных реакций и изменений окислительно-восстановительного потенциала среды весьма важного для функционирования живых систем.

Наряду с этим было обнаружено, что даже при выдерживании воды при температуре 40°C в течение часа в ней появляются активные формы кислорода и молекулы перекиси водорода H_2O_2 [21], а при выдерживании при температуре 70°C даже окислы азота [22]. Аналогичные удивительные эффекты наблюдаются и при освещении воды видимым светом, а также квазимонохроматическим светом небольшой интенсивности в полосах поглощения молекулярного кислорода в видимом и ИК диапазоне спектра [22]. Образование активных форм кислорода под влиянием внешних слабых воздействий приводит к появлению длительных химических преобразований, в том числе, циклического характера [23, 24]. Полной ясности в механизмах описанных наблюдений нет. Известно около 40 реакций в которых участвуют реагенты и продукты кислородно-водородных молекул [25]. Среди них есть как очень быстрые, так и очень медленные реакции, что приводит к длительной эволюции системы [26, 27]. В воде, насыщенной атмосферным углекислым газом, донорами электронов могут выступить анионы гидрокарбонатов и воздействовать на протекание сопряженных цепных электрон-радикальных реакций [28]. В свете всего вышесказанного воду следует рассматривать как сложную неравновесную систему, склонную к самоорганизации.

К появлению активных форм кислорода в воде приводят также такие механические воздействия как ультразвук докавитационной интенсивности, продавливание воды через капилляры и мембраны [29-31]. Наиболее интересен результат, полученный при вибрации сосуда с водой. Такая процедура приводит к появлению не только активных форм кислорода, но и регистрируемого объема выделяющихся газов кислорода и водорода, причем частоты вибраций около 1 Гц оказываются наиболее эффективными [32, 33]. Недавно вышла статья повторяющая появление перекиси водорода при выдавливании микрокапель воды из капилляра [34]. Авторы этой работы не цитируют наших авторов и отмечают, что, хотя вода и является привычной жидкостью, она обладает многими непонятными свойствами. Адекватного понимания механизмов образования активных форм кислорода и, тем более азота, в воде на сегодняшний день не существует. По аналогии с кавитацией можно рассматривать спонтанно образующиеся нанопузырьки [35-37] в качестве кандидатов для объяснения наблюдаемых эффектов, однако эта гипотеза требует экспериментального подтверждения.

Очень часто при анализе сложных эффектов говорят об изменении структуры воды. Это, в принципе неправильное высказывание. По определению, структура есть совокупность устойчивых связей объекта. Поэтому жидкая вода, обладающая трансляционной подвижностью, структуры не имеет. Можно говорить лишь о ближнем порядке. Вода состоит из самых маленьких трехатомных молекул, единственная из своих гомологов обладает возможностью образования четырех водородных связей в тетраэдрической конфигурации. Это дает возможность самоорганизации пространственной сетки водородных связей и приводит к громадному полиморфизму возможных структур. К настоящему времени известны 18 кристаллических полиморфных структур льда [38]. Молекулярный дизайн некристаллических параметрических структур из тетраэдрических элементов дает возможность построения практически неограниченного множества структур из молекул воды, включая хиральные и фрактальные [39, 40]. В недавнем обзоре исследований, выполненных современными рентгеновскими методами, показано, что жидкая вода является локально неоднородной жидкостью [41]. В ней существуют области тетраэдрически упорядоченной воды низкой плотности (LDL) и менее упорядоченной воды высокой плотности (HDL) между которыми существуют флуктуационные переходы. Авторы обзора отмечают, что ближайшей задачей является определение степени неоднородности в воде и резкости границ раздела между флуктуирующими областями (“*a burning question is to determine the degree of heterogeneity in water and the sharpness of the boundaries between fluctuating regions*”). При этом авторы перестали пользоваться понятиями льдообразных кластеров, употреблявшихся ими в более ранних работах.

Как уже говорилось ранее, проблема малых концентраций берет начало из биологических исследований где был зарегистрирован в модельных системах немонотонный ответ на последовательно уменьшающиеся концентрации добавляемых биологически активных препаратов. Но, что же происходит с физическими характеристиками воды при значительном разбавлении? Наши исследования флюоресценции воды и разбавленных растворов пептидов показали наличие флюоресценции у дистиллированной воды, не связанное с возможным наличием примесей гуминовых кислот, резкое возгорание интенсивности люминесценции при уменьшении концентрации люминофора глицилтриптофана до 10^{-7} М и появление пика люминесценции у не люминесцирующего дипептида – глициласпарагина в этом же диапазоне концентраций, а также длительное время эволюции спектров излучения [42-44]. Спектры возбуждения и соответствующие спектры излучения изученных растворов различны, что характерно для кристаллофосфоров. В рамках этого представления область возбуждения была оценена в 100 нм. Структурные неоднородности в бинарных системах, в том числе вода – спирты или другие неэлектролиты известны давно [45]. Было установлено наличие двух максимумов интенсивности рассеянного света. Основной – при мольной доле спирта $X = 0,2-0,5$ и другой, более узкий, при $X = 0,01-0,05$. Основной максимум обусловлен флуктуациями концентрации, а природа максимума при меньшей концентрации окончательно не ясна. Установлено, что равновесие в этих растворах устанавливается в течение длительного времени, вплоть до нескольких дней после смешивания жидкостей [46]. Длительность эволюции этих систем очень похожа на полученные нами в экспериментах с другими водными растворами при значительно меньшей концентрации примесей в воде. Нами были также выполнены эксперименты по изучению флюоресценции ряда последовательно разбавленных растворов NaCl, которые подвергались интенсивному перемешиванию (потенцированию) после каждого десятикратного разбавления [47]. Результаты представлены на рисунке 4.

Было установлено наличие резкого увеличения интенсивности люминесценции в области 10^{-12} М, сохранявшегося в течение длительного времени. Аналогичный паттерн был получен нами позднее в другой лаборатории. Было впервые обнаружено, что многократное потенцирование дистиллированной воды также приводит к увеличению флюоресценции, которая, в отличие от потенцированного раствора хлористого натрия, заметно уменьшается уже в течение недели. Впервые нами была установлена высокая корреляция (коэффициент корреляции $\rho = -0,93$) между интенсивностью флюоресценции раствора хлористого натрия и спонтанной активностью пресноводных одноклеточных организмов, т.е. **между физическими характеристиками и биологической активностью растворов** [48]. Позднее методом NTA (nanoparticle tracking analysis) мы обнаружили в этой области концентраций наличие наночастиц размером 96-115 нм в количестве $3 \pm 2 \cdot 10^8$ частиц/мл. Немонотонное изменение различных физических характеристик и появление наночастиц обнаруживали разными методами в сильно разбавленных растворах, в том числе в потенцированных растворах в которых расчетная концентрация меньше 10^{-20} М [49-54].

Значительная роль в изучении физико-химических характеристик разбавленных растворов принадлежит группе А.И. Коновалова, которая исследовала более 60 химических веществ и установила, что подавляющее большинство из них образуют наночастицы при больших степенях разбавлении. При этом установлено, что для

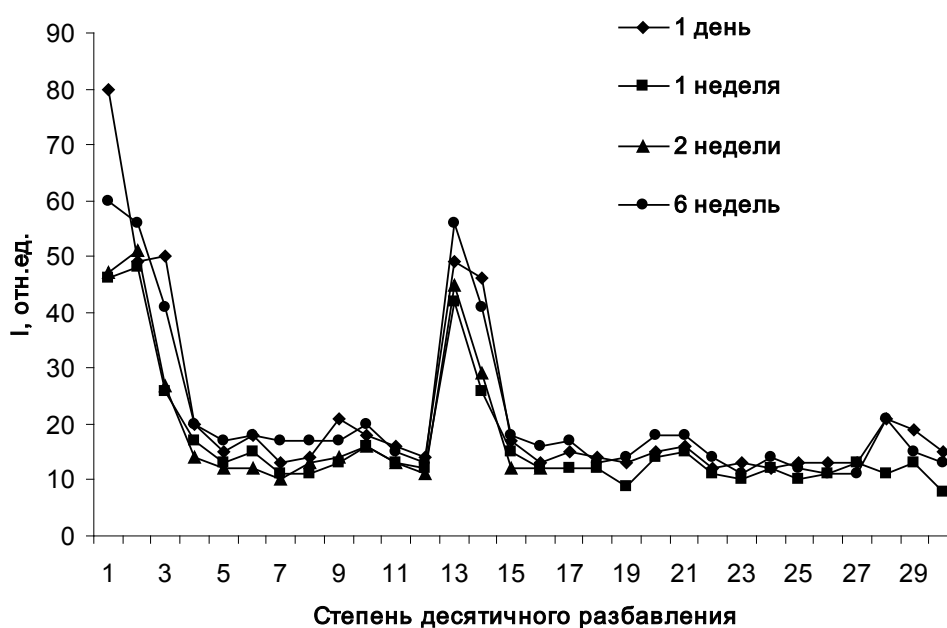


Рисунок 4. Зависимость интенсивности флюоресценции от степени десятичного разбавления хлористого натрия. Образец 13-го десятичного разбавления соответствует концентрации $2 \cdot 10^{-12}$ М. Длина волны возбуждения 300 нм, излучения – 385 нм. Среднеквадратичная погрешность измерения соответствует размеру точки

их самоорганизации, как правило, необходимо наличие естественного электромагнитного фона. При выдерживании растворов в условиях гипомангнитного поля, создаваемым пермаллоевым экраном, наночастицы в регистрируемом количестве не образуются [55-58]. Этот вывод подтверждается экспериментом с получением наночастиц при выдерживании образцов в поле частотой 7,85 Гц, амплитудой 48 А/м, создаваемом в катушке соленоида, размещенного в пермаллоевом экране [58].

Существуют, основанные на представлениях квантовой электродинамики, теоретические предпосылки образования в растворах частиц, называемых когерентные домены, размер которых лежит в области сотни нанометров [59-62]. Существуют также работы, в которых предсказывается появление когерентных доменов с большими дипольными моментами и сегнетоэлектрическими свойствами [63], что можно проверить методами диэлектрической спектроскопии. Проведенное нами исследование диэлектрических характеристик разбавленных растворов диклофенака в диапазоне 20 Гц – 10 МГц с помощью прецизионного анализатора импеданса Wayne Kert 65120 BD1 с высокой точностью показало, что релаксационные процессы, а также инкремент диэлектрической проницаемости и в этих растворах не наблюдаются, что говорит об отсутствии доменов с большими дипольными моментами [54].

На сегодняшний день можно считать твердо установленным, что многократное последовательное разбавление растворов традиционным способом, или сопровождающееся интенсивным встряхиванием, приводит к самоорганизации в растворе, проявляющейся в немонотонном изменении физико-химических свойств и появлении мезочастиц. Неясен механизм этого феномена, молекулярный состав этих мезочастиц размером в сотни нанометров, а также роль в их образовании слабых электромагнитных полей. В том числе, необходимо выяснить, входят ли нанопузырьки в состав этих частиц.

Список литературы / References:

1. Southam C.M., Ehrlich J. Effects of extracts of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. *Phytopathology*, 1943, vol. 33, pp. 517-524.
2. Кузин А.М. *Стимулирующее действие ионизирующего излучения на биологические процессы*. М.: Атомиздат, 1977, 133 с. [Kuzin A.M. *Stimulating effect of ionizing radiation on biological processes*. М.: Atomizdat, 1977, 133 p. (In Russ.)]
3. Эйдус Л.Х. *Мембранный механизм биологического действия малых доз*. М.: ИТЭФ РАН, 2001, 81 с. [Aidus L.H. *The membrane mechanism of biological action of small doses*. М.: ИТЭФ РАН, 2001, 81 p. (In Russ.)]
4. Чижевский А.Л. *Земное эхо солнечных бурь*. Изд. 2-е. М.: «Мысль», 1976, 367 с. [Chizhevsky A.L., *Earth's echo of solar storms*. 2-d ed., М.: Mysl', 1976, 367 p. (In Russ.)]
5. Перчихин Ю.А., Шангин-Березовский Г.Н., Раппопорт И.А. Изменение активности аминотрансфераз при воздействии N-нитрозо N-диэтилмочевинной на сыворотку крови. *Химический мутагенез и создание сортов интенсивного типа*. М.: Наука, 1977, с. 263. [Perchikhin Yu.A., Shangin-Berezovsky G.N., Rappoport I.A. Change of aminotransferase activity under N-nitroso N-diethyl urea influence on blood serum. *Chemical mutagenesis and creation of intensive type varieties*. М.: Nauka, 1977, p. 263. (In Russ.)]
6. Шангин-Березовский Г.Н., Перчихин Ю.А., Колбасин А.А. Влияние малых доз N-нитрозо N-диэтилмочевинной на толерантность перепелов к токсичному действию некоторых мутагенов. *Эффективность химических мутагенов в селекции*. Ин-т химфизики АН СССР, 1980. [Shangin-Berezovsky G.N., Perchikhin Yu.A., Kolbasin A.A. Influence of small doses of N-nitroso N-diethyl urea on quail tolerance to toxic action of some mutagens. *Efficiency of chemical mutagens in selection*. Inst. of Chem. Phys., USSR Acad. Sci., 1980. (In Russ.)]
7. Шангин-Березовский Г.Н., Адамов В.Я., Рыхлецкая О.С., Молоскин С.А. Системный характер стимулирующего действия ультрамалых доз супермутагенов. *Улучшение культурных растений и мутагенез*. Ин-т химфизики АН СССР, 1982. [Shangin-Berezovsky G.N., Adamov V.Ya., Rykhletskaia O.S., Moloskin S.A. Systemic character of stimulating action of ultralow doses of supermutagens. *Improvement of cultivated plants and mutagenesis*. Inst. of Chem. Phys., USSR Acad. Sci., 1982. (In Russ.)]
8. Ямскова В.П., Модянова Е.А., Резникова М.М., Маленков А.Г. Высокоактивные тканевоспецифические адгезивные факторы печени и легкого. *Мол. Биол.*, 1977, т. 11, № 5. [Yamskova V.P., Modyanova E.A., Reznikova M.M., Malenkov A.G. Highly active tissue specific adhesive factors of liver and lung. *Mol. Biol.*, 1977, vol. 11, no. 5. (In Russ.)]
9. Ямскова В.П., Модянова Е.А., Левенталь В.И., Ланковская Т. П., Бочарова О.К., Маленков А.Г. Тканевоспецифические макромолекулярные факторы из печени и легкого: очистка и действие на механическую прочность ткани и клеток. *Биофизика*, 1977, т. 22. [Yamskova V.P., Modyanova E.A., Leventhal V.I., Lankovskaya T. P., Bocharova O.K., Malenkov A.G. Tissue-specific macromolecular factors from the liver and lung: cleaning and action on mechanical strength of tissue and cells. *Biophysics*, 1977, vol. 22. (In Russ.)]
10. Эффекты сверхмалых доз биологически активных веществ. *Росс. Хим. Журн.*, 1999, т. XLIII, № 5. [Effects of ultra-low doses of biologically active substances. *Russ. Chem. Zhurn.*, 1999, vol. XLIII, no. 5. (In Russ.)]
11. Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности. *Росс. Хим. Журн.*, 1999, т. XLIII, №5, с. 3-11. [Burlakova E.B. Features of action of ultra-low doses of biologically active substances and physical factors of low intensity. *Russ. Chemistry. Zhurn.*, 1999, vol. XLIII, no.5, p. 3-11. (In Russ.)]
12. Brown S.L., Van Epps D.E. Suppression of T lymphocyte chemotactic factor production by the opioid peptides beta-endorphin and met-enkephalin. *J. Immunol.*, 1985, vol. 134, no. 5, p. 3384-3390.

13. Zaitsev S.V., Sazanov L.A., Koshkin A.A., Sud'ina G.F., Varfolomeev S.D. Respiratory birst inhibition in human neutrophils by ultra-low doses of [D-Ala²] methionine. *FEBS Letters*, 1991, vol. 291, p. 84-86. DOI: 10.1016/0014-5793(91)81109-L.
14. Xibo Yan, Delgado M., Aubry J., Gribelin O., Stocco A., Da Cruz F.B., Bernard J., Ganachaud F. Central Role of Bicarbonate Anions in Charging Water/Hydrophobic Interfaces. *J. Phys. Chem. Lett.*, 2018, vol. 9, pp. 96-103. DOI: 10.1021/acs.jpclett.7b02993.
15. Lippincott et al. Polywater. *Science*, 1969, vol. 164, pp. 1482-1487. DOI: 10.1126/science.164.3887.1482.
16. Лобышев В.И., Калинин Л.П. *Изотопные эффекты D₂O в биологических системах*. М.: Наука, 1978, 215 с. [Lobyshev V.I., Kalinichenko L.P. *Isotopic Effects of D₂O in Biological Systems*. М.: Nauka, 1978, 215 p. (In Russian)]
17. Лобышев В.И. О чем говорят изотопные эффекты тяжелой воды в биологических и модельных системах. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2018, т. 3, № 3, с. 511-519. [Lobyshev V.I. Talking about the isotopic effects of heavy water in biological and model systems. *Russian journal of biological physics and chemistry*, 2018, vol. 3, no. 3, pp. 511-519. (In Russ.)]
18. Tikhonov V.I., Volkov A.A. Separation of water into its ortho and para isomers. *Science*, 2002, vol. 216, p. 2363.
19. Pershin S.M. Coincidence of Rotational Energy of H₂O Ortho – Para Molecules and Translational Energy near Specific Temperatures in Water and Ice. *Phys. Wave Phenom.*, 2008, vol. 16, no. 1, pp. 15-25.
20. Didenko Y.T., Suslick K.S. The energy efficiency of formation of photons, radicals and ions during single-bubble cavitation. *Letters to Nature*, 2002, vol. 418, pp. 394-397. DOI: 10.1038/nature00895.
21. Chernikov A.V., Bruskov V.I., Heat-induced Generation of Hydroxyl Radicals and other Redox-active Species in Seawater. *Biophysics*, 2002, vol. 47, no. 5, pp. 773-781.
22. Chernikov A.V., Bruskov V.I., Fixation of atmospheric nitrogen in the water by heat or light with the formation of nitrogen oxides. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2005, vol. 400, no. 1-6, p. 40-43.
23. Gudkov S.V., Bruskov V.I., Astashev M.E., Chernikov A.V., Yaguzhinsky L.S., Zakharov S.D. Oxygen-dependent Auto-oscillations of Water Luminescence Triggered by the 1264 nm Radiation. *J. Phys. Chem. B*, 2011, vol. 115, p. 7693-7698.
24. Gudkov S.V., Karp O.E., Garmash S.A., Ivanov V.E., Chernikov A.V., Bruskov V.I., Monokhin A.A., Astashev M.E., Yaguzhinsky L.S. Generation of reactive oxygen species in water under exposure to visible or infrared irradiation at absorption bands of molecular oxygen. *Biophysics*, 2012, vol. 57, no. 1, pp. 1-8.
25. Ignatiev A.N., Pryakhin A.N., Lunin V.V. Numerical simulation of the kinetics of ozone decomposition in an aqueous solution. *Russian Chem. Bull.*, 2008, vol. 57, no. 6, pp. 1172-1178.
26. Binhi V.N., Sarimov R.M., Relaxation of liquid water states with altered stoichiometry. *Biophysics*, 2014, vol. 59, no. 4, pp. 515-519.
27. Belovolova L.V., Glushkov M.V., Vinogradov E.A., Influence of dissolved gases on highly diluted aqueous media. *Biophysics*, 2014, vol. 59, no. 4, pp. 524-530.
28. Воейков В.Л., Виленская Н.Д., Ха До Минь, Малышенко С.И., Буравлева Е.В., Яблонская О.И., Тимофеев К.Н. Устойчивое неравновесное состояние бикарбонатных водных систем. *ЖФХ*, 2012, т. 86, № 9, с. 1518-1527. [Voeikov V.L., Vilenskaya N.D., Ha Do Min, Malysenko S.I., Buravleva E.V., Yablonskaya O.I., Timofeev K.N. The stable non-equilibrium state of bicarbonate water systems. *J. Phys. Chem.*, 2012, vol. 86, no. 9, pp.1518-1527. (In Russ.)]
29. Домрачев Г.А., Родыгин Ю.Л., Селивановский Д.А. Механохимически активированное разложение воды в жидкой фазе. *ДАН*, 1993, т. 329, № 2, с.186-188. [Domrachev G.A., Rodygin Yu.L., Selivanovsky D.A. Mechanically activated decomposition of water in liquid phase. *Doklady Acad. Sci. USSR*, 1993, vol. 329, no. 2, pp.186-188. (In Russ.)]
30. Домрачев Г.А., Родыгин Ю.Л., Селивановский Д.А., Стунжас П.А. Об одном из механизмов генерации пероксида водорода в океане. В кн. *Химия морей и океанов*. М.: Наука, 1995, с.169-177. [Domrachev G.A., Rodygin Yu.L., Selivanovsky D.A., Stunzhas P.A. About one of the mechanisms of the hydrogen peroxide generation in the ocean. In: *Chemistry of the Seas and Oceans*. Moscow: Science, 1995, pp. 169-177. (In Russ.)]
31. Веселов Ю.С. Эффект накопления перекиси водорода при обратно-осмотическом опреснении морской воды. *Химия и технология воды*, 1991, т. 13, № 8, с. 741-745. [Veselov Yu.S. Effect of hydrogen peroxide accumulation during reverse osmotic sea water desalination. *Water chemistry and technology*, 1991, vol. 13, no 8, pp. 741-745. (In Russ.)]
32. Styrkas A.D., N.G. Nikishina N.G. Chemical processes in moving water. *Russian Journal of Inorg. Chem.*, 2009, vol. 54, no. 6, pp. 961-968.
33. Styrkas A.D. Composition of gaseous products produced upon oscillations of water. *Russian Journal of Inorg. Chem.*, 2011, vol. 56, no. 7, p. 1029-1031.
34. Lee J.K., Walker K.L., Han H.S., Kang J., Prinz F.B., Waymouth R.M., Nam H.G., Zare R.N. Spontaneous generation of hydrogen peroxide from aqueous microdroplets. *PNAS*, 2019, vol. 116, no. 39, pp. 19294-19298. DOI: 10.1073/pnas.1911883116.
35. Бункин Н.Ф., Индукаев К.В., Игнатьев П.С. Спонтанная самоорганизация газовых микропузырьков в жидкостях. *ЖЭТФ*, 2007, т. 131, № 3, с. 539-555. [Bunkin N.F., Indukaev K.V., Ignatyev P.S. Spontaneous self-organization of gas microbubbles in liquids. *JETF*, 2007, vol. 131, no. 3, pp. 539-555. (In Russ.)]
36. Бункин Н.Ф., Суязов Н.В., Шкиркин А.В., Игнатьев П.С., Индукаев К.В. Кластерная структура стабильных нанопузырей растворенного газа в глубоко очищенной воде. *ЖЭТФ*, 2009, т. 135, № 5, с. 917-937.

- [Bunkin N.F., Suiazov N.V., Shkirkin A.V., Ignatiev P.S., Indukaev K.V. Cluster Structure of Stable Nanobubbles of Dissolved Gas in Deeply Purified Water. *JETF*, 2009, vol. 135, no. 5, pp. 917-937. (In Russ.)]
37. Bunkin N.F., Shkirin A.V., Babenko V.A., Sychev A.A., Lomkova A.K., Kulikov E.S. Laser Diagnostics of the Bubston Phase in the Bulk of Aqueous Salt Solutions. *Physics of Wave Phenomena*, 2015, vol. 23, no. 3, pp. 161-175.
 38. Chaplin M. *Water structure and science*. www.lsbu.ac.uk/water
 39. Lobyshev V.I., A.B. Solovey A.B., Bulienkov N.A. Computer Modular Design of Parametric Structures of Water. *Biophysics*, 2003, vol. 48, no. 6, pp. 1011-1021.
 40. Lobyshev V.I., Solovey A.B., Bulienkov N.A. Computer construction of modular structures of water. *J. Mol. Liquids*, 2003, vol. 106, no. 2-3, pp. 277-297.
 41. Nilsson A., Petterson L.G.M., The structural origin of anomalous properties of liquid water. *Nature Communication*, 2015, pp. 1-11. DOI: 10.1038/ncomms9998.
 42. Lobyshev V.I., Ryzhikov B.D., Shikhlin'skaya R.E., Mazurova T.N. Intrinsic Luminescence of Water and Heavily Diluted Solutions of Dipeptides. *Biophysics*, 1994, vol. 39, no. 4, pp. 557-563.
 43. Lobyshev V.I., Shikhlin'skaya R.E., Ryzhikov B.D. Experimental evidence for intrinsic luminescence of water, *J.Mol. Liquids*, 1999, vol. 82, no. 1-2, pp.73-81.
 44. Lobyshev V.I., Long scale evolution of luminescent properties of water and glycytryptophan solutions, influence of UV irradiation, In: Optical Diagnostics of Biological Fluids IV, Ed.: A.V.Priezzhev, Toshimitsu Asakura. *Proc. of SPIE*, 1999, vol. 3599, pp. 52-57.
 45. Вукс М.Ф. *Рассеяние света в газах, жидкостях и растворах*. Изд. ЛГУ, 1977, 320 с. [Vuks M.F. *Light Scattering in Gases, Liquids and Solutions*. Leningrad Univ. Press, Leningrad, 1977, p. 320. (In Russ.)]
 46. Bulavin L.A., Gotsul'skii V.Y., Malomuzh N.P., Chechko V.E., Relaxation and Equilibrium Properties of Dilute Aqueous Solutions of Alcohols. *Russ. Chem. Bull.*, 2016, vol. 65, no. 4, pp. 851-876.
 47. Lobyshev V.I., Tomkevitch M.S., Luminescence Study of Homeopathic Remedies, In: Optical Diagnostics and Sensing of Biological Fluids and Glucose and Cholesterol Monitoring, Ed: A.V. Priezzhev, G.L. Cote. *Proc. of SPIE*, 2001, vol. 4263, pp. 59-64.
 48. Lobyshev V.I., Tomkevich M.S., Petrushanko I.Yu., Experimental Study of Potentiated Aqueous Solutions. *Biophysics*, vol. 50, no. 3, pp. 416-420.
 49. Pershin S.M., Bunkin A.F., Grishin M.Ya., Davydov M.A., Lednev V.N., Palmina N.P., A.N. Fedorov A.N. Correlation of Optical Activity and Light Scattering in Ultra-Low-Concentrated Phenosan-Potassium Aqueous Solutions. *Dokl. Phys.*, 2015, vol. 60, pp. 114-117.
 50. Pershin S.M., Bunkin A.F., Grishin M.Ya., Lednev V.N., Fedorov A.N., Palmina N.P. Bimodal Dependence of Light Scattering/Fluctuations on the Concentration of Aqueous Solutions. *Phys. Wave Phenom.*, 2016, vol. 24, no. 1, pp. 41-47.
 51. Elia V., Niccoli M., New Physico-Chemical Properties of Extremely Diluted Aqueous Solutions. *J. of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2004, vol. 75, pp. 815-836.
 52. Elia V., Ausanio G., Gentile F., Germano R., Napoli E., Niccoli M. Experimental Evidence of Stable water Nanostructures in Extremely Dilute Solutions at Standard Pressure and Temperature. *Homeopathy*, 2014, vol. 103, no. 1, pp. 44-50.
 53. Rey L., Thermoluminescence of Ultra-high Dilutions of Lithium Chloride and Sodium Chloride. *Physica A*, 2003, vol. 323, pp. 67-74.
 54. Lobyshev V.I. Dielectric Characteristics of Highly Diluted Aqueous Diclofenac Solutions in the Frequency Range of 20Hz to 10MHz. *Physics of Wave Phenomena*, 2019, vol. 27, no. 2, pp. 119-127.
 55. Ryzhkina I.S., Murtazina L.I., Kiseleva Y.V., Konovalov A.I., Properties of Supramolecular Nanoassociates Formed in Aqueous Solutions of Biologically Active Compounds in Low or Ultra-low Concentrations. *Doklady Phys. Chem.*, 2009. vol. 428, no. 2, pp. 196-200.
 56. Konovalov A.I., Ryzhkina I.S., Murtazina L.I., Kiseleva Y.V., Forming the Nanosized Molecular Assemblies (Nanoassociates) is a Key to Understand the Properties of Highly Diluted Aqueous Solutions. *Biophysics*, 2014, vol. 59, no. 3, pp. 341-346.
 57. Ryzhkina I.S., Murtazina L.I., Kiseleva Y.V., Konovalov A.I., Self-organization and Physicochemical Properties of Aqueous Solutions of the Antibodies to Interferon Gamma at Ultrahigh Dilution. *Doklady Phys. Chem.*, 2015, vol. 462, no. 1, pp. 110-114.
 58. Konovalov A., Ryzhkina I., Maltzeva E., Murtazina L., Kiseleva Yu., Kasparov V., Palmina N. Nanoassociate Formation in Highly Diluted Water Solutions of Potassium Phenosan with and without Permalloy Shielding. *Electromagn. Biol. Med.*, 2015, vol. 34, no 2, pp. 141-146.
 59. Preparata G. *QED Coherence in Matter*. World Scientific, Singapore, New Jersey, London, Hong Kong, 1995.
 60. Arani R., Bono I., Del-Guidice E., Preparata G. QED Coherence and the Thermodynamics of Water. *Int. J. Mod. Phys. B*, 1995, vol. 9, pp. 1813.
 61. Del-Guidice E., Vitiello G. Role of the Electromagnetic Field in the Formation of Domains in the Process of Symmetry-Breaking Phase Transition. *Phys. Rev. A*, 2006, vol. 74, p. 022105.
 62. Vitiello G, On the Isomorphism between Dissipative Systems, Fractal Self-Similarity and Electrodynamics. Toward an Integrated Vision of Nature Systems. *Systems*, 2014, vol. 2, p. 203. DOI: 10.3390/systems, 2020203.
 63. Yinnon T., Liu Z.Q. Domains Formation Mediated by Electromagnetic Fields in Very Dilute Aqueous Solutions: 1. Quantum Electrodynamics Aspects. *Water*, 2015, vol. 7, p. 33. DOI: 10.14294/WATER.2015.4.

ON THE PROBLEM OF LOW CONCENTRATIONS ON BIOLOGICAL ACTIVITY

Lobyshev V.I.

Lomonosov Moscow State University

Leninskie Gory 1/2, Moscow 119991, Russia; e-mail: lobyshev@yandex.ru

Abstract. The paper presents a brief history and analysis of this problem, which has long been ambiguously accepted by the scientific community and to which Russian researchers have made a significant contribution. Undoubtedly, this theme is associated with research in the field of low doses of ionizing radiation and weak non-ionizing electromagnetic fields, as well as with the results of homeopathic practice in medicine, which has more than 200 years and does not have any theoretical grounds up to now. Since the late 1970s, various authors have shown on different biological models that the biological effect reappears when the concentration of the active substance decreases from the commonly used concentration. However, it may be more intense or even have an opposite sign of response. Thus, the dependence of the biological response to a decreasing concentration of the active substance is non-monotonous and can be characterized by several extremes. Studies of physical and chemical characteristics of concentration dependences in the field of low and ultralow concentrations carried out in our country and abroad, convincingly show occurrence of similar patterns. We have shown for the first time a high correlation between the physical characteristics of highly diluted solutions and the biological response of single-cell organisms, which was confirmed by other researchers. It has been established that the non-classical behavior of diluted aqueous solutions is associated with the formation of mesoparticles about one hundred nanometers in size. In many cases, the formation of mesoparticles is not observed when holding samples of aqueous solutions in the conditions of a weakened magnetic field of the Earth. The observed effects go beyond the classical concepts of solutions. The paper formulates questions that require experimental and theoretical solutions.

Key words: *diluted aqueous solutions, microheterogeneity, self-organization, mesoparticles*