

Ф. Ф. Ниязи, Н. В. Кувардин, Г. Е. Заиков,
Е. А. Фатьянова

СОПОСТАВЛЕНИЕ БЕСКОНЕЧНОГО РАЗБАВЛЕНИЯ РАСТВОРА КОФЕИНА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Ключевые слова: сверхмалые дозы, кофеин, высота мениска в капилляре, УФ-спектроскопия.

Статья касается проблемы сверх малых доз. Исследуются растворы кофеина в широком концентрационном интервале, включающем сверхмалые концентрации. Выясняется возможность проявления эффектов сверхмалых доз для раствора кофеина, исследуются указанные растворы методом УФ-спектроскопии, приготовленные как на воде, так и на спиртовом растворителе, сравниваются результаты.

Keywords: ultra-low doses, caffeine, height of the meniscus in the capillary tube, UV-spectroscopy.

The article concerns the problem of small doses. We study the solutions of caffeine in a wide concentration range, including ultra-small concentrations. It turns out the possibility of manifestation of the effects of ultra-low doses for a solution to-caffeine, these solutions are investigated by ultraviolet spectroscopy, prepared as a water and alcohol in the solvent, the results are compared.

Введение

В последние десятилетия наука и технический прогресс активно идут вперед, опираясь на смелые решения и инновации. Благодаря этому “сегодня” в жизнь приходят проекты, которые еще “вчера” казались неосуществимы. Такое развитие наблюдается не только в инженерных науках, отраслях промышленности и электроники, но и в медицине, биологии, химии. Так, в последние годы все больше возникает интерес ученых к проблеме сверхмалых доз (СМД). Из литературных источников известно, что биологические вещества в сверхмалых концентрациях могут обладать высокой эффективностью при воздействии на организм [1,2].

Два десятилетия такое явление без интереса воспринималось учеными, однако многочисленные факты, накопленные за это время, показали актуальность изучения этой проблемы. Область исследования становится интересной для фармакологов, биологов, химиков. Изучение эффектов сверхмалых концентраций актуально и возможно, позволит создать новый класс лекарственных препаратов, которые будут иметь достаточно большой фармакологический эффект и не будут иметь побочных эффектов.

Основным способом выявления возможности проявления веществом эффекта СМД является использование биообъекта.

Необходимо отметить, что растворы, проявляющие эффекты сверхмалых доз имеют некоторые физико-химические отличия, как от концентрированных растворов, так и от чистого растворителя. Такое явление интересно с точки зрения химии. Изучения физико-химических свойств растворов содержащих сверхмалые концентрации активных веществ позволит внести информационный вклад в изучение проблемы сверхмалых доз.

В проблеме “сверхмалых доз” важным вопросом остается роль растворителя, используемого для приготовления растворов. Известно, что растворы могут быть приготовлены на основе воды, спиртового растворителя, а так же на основе неко-

торых неполярных растворителей. Однако проявление эффекта сверхмалых доз возможно не для каждого растворителя [3, 4].

Экспериментальная часть и обработка результатов

Нами были изучены некоторые физико-химические свойства высокоразбавленных растворов кофеина, приготовленные на водной и спиртовой основах. Целью работы стало выявление особенностей изменения высоты мениска и электронных спектров, происходящих при разбавлении растворов, замене растворителя, а также определения возможных концентрационных интервалов действия эффекта СМД.

Приготовлены две серии растворов кофеина следующих концентраций (моль/л): 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} , 10^{-9} , 10^{-11} , 10^{-13} , 10^{-15} , 10^{-17} , 10^{-19} , 10^{-21} , 10^{-23} . Растворы первой серии готовились на воде. Вода очищенная обратным осмосом, фасованная в стеклянные склянки по 0,4 л, закрытые герметично. Для второй серии растворов в качестве растворителя был использован 95%-ный раствор этилового спирта.

Растворы изготавливались последовательным разведением в 100 раз с использованием классической методики приготовления сотенных разведений [3, 5]. Исходным служил 0,1 М раствор кофеина. Перед отбором порции раствора для следующего разведения проба подвергалась потенцированию.

Подготовленные растворы были изучены катетометрическим методом скрининга веществ, действующих в сверхмалых концентрациях, а также методом электронной спектроскопии.

Катетометрический метод скрининга веществ основан на изучении изменения высоты мениска раствора в капилляре при помощи катетометра В-630 [6]. Результаты скрининга спиртовых и водных растворов кофеина представлены на рис. 1,2.

При анализе графической зависимости, прослеживается закономерность, которая заключается в небольшом увеличении высоты мениска в капилляре для растворов кофеина в широком кон-

центрационном интервале, относительно высоты мениска в капилляре для растворителя – этилового спирта. Так, при концентрации раствора кофеина 10^{-1} моль/л и 10^{-9} моль/л происходит увеличение высоты мениска в капилляре на 8,42%, а при концентрации 10^{-3} моль/л - на 15,7%. Для концентраций раствора кофеина 10^{-5} и 10^{-15} моль/л происходит одинаковое увеличение высоты мениска в капилляре – на 7,36%. Увеличение мениска для концентрации раствора кофеина 10^{-7} составило – 6,3%. Для концентраций раствора кофеина 10^{-11} , 10^{-17} и 10^{-19} происходит увеличение высоты мениска на 5,26%. Однако, можно отметить концентрационные интервалы, в которых наоборот высота мениска в капилляре не меняется или уменьшается. Это растворы кофеина с концентрацией 10^{-13} моль/л и 10^{-21} моль/л, где в первом случае высота мениска не изменилась, а во втором уменьшилась на 1,05%. Далее при концентрации 10^{-23} высота мениска снова увеличивается на 4,73%.

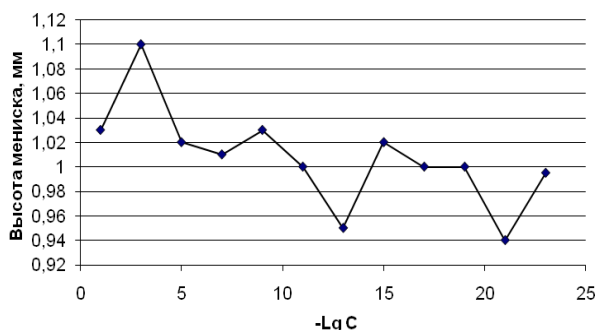


Рис. 1 – Высота мениска в капилляре спиртовых растворов кофеина

Полученные результаты катетометрического исследования спиртовых растворов кофеина отличаются от результатов катетометрического исследования водных растворов кофеина.

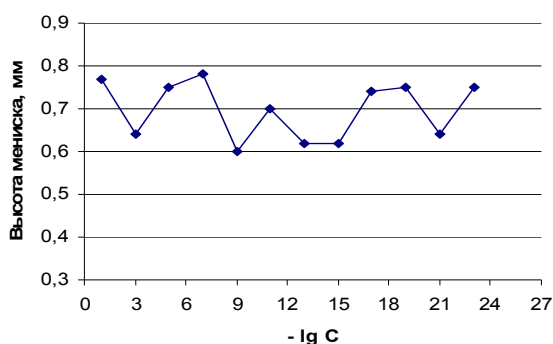


Рис. 2 - Высота мениска в капилляре водных растворов кофеина

Так, при исследовании водных растворов кофеина на всем протяжении концентрационного интервала, наблюдалось снижение высоты мениска, когда в спиртовых растворах наоборот мы отмечаем его увеличение. В водных растворах существенное уменьшение обнаруживается для раствора с концентрацией 10^{-9} моль/л, на 24%, относительно мениска воды в капилляре, для концентрации кофеина 10^{-13}

– 10^{-15} в среднем на 21%, так же интересны растворы с концентрацией кофеина 10^{-5} и 10^{-21} , где снижение высоты мениска происходит на 18% и 19,8% соответственно.

В спиртовых растворах этот интервал приходится на концентрации 10^{-13} моль/л и 10^{-21} моль/л. Отмечается частичное совпадение концентрационных интервалов для водных и спиртовых растворов кофеина.

УФ-спектры снимались на спектрофотометре Cary 100, UV-Visible Spectrophotometer в интервале 200 – 350 нм. Максимумы поглощения водных и спиртовых растворов кофеина представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Максимумы поглощения растворов кофеина в УФ области

Концентрация, моль/л	Растворитель			
	Вода		этанол (95%)	
	Длина волны, нм	A	Длина волны, нм	A
10^{-1}	266	4,029	209	3,474
	262	4,099	222	3,995
	258	4,12	227	4,116
	255	4,155	234	4,285
	252	4,158	238	4,259
	248	4,184	240	4,260
	241	4,229	245	4,223
	236	4,294	249	4,205
	233	4,301	252	4,174
	229	4,279	268	3,956
	227	4,283	271	3,918
	223	4,25	284	3,632
	218	4,224		
	212	4,145		
	206	4,018		
10^{-3}	260	3,835	223	3,844
	222	4,072	225	3,853
	219	4,067	227	3,890
	213	4,018	230	3,889
			259	3,809
10^{-5}	273	0,158	204	0,238
	205	0,468	273	0,092
10^{-7}	207	0,038	-	-
10^{-9}	207	0,026	-	-
10^{-11}	208	0,014	-	-
10^{-13}	208	0,006	-	-
10^{-15}	207	0,057	-	-
10^{-17}	207	0,057	-	-
10^{-19}	207	0,024	-	-
10^{-21}	207	0,01	-	-
10^{-23}	207	0,021	-	-

Спектр 10^{-1} моль/л водного раствора кофеина характеризуется широкой полосой поглощения, лежащей в более коротковолновой части изучаемой области облучения – 200 – 310 нм (ширина 110 нм). В этой области спектра выражено 15 максимумов поглощения, значения оптической плотности которых колеблются незначительно от 4,018 до 4,301. Наибольшее поглощение происходит на длинах 218

– 255 нм. Раствор кофеина не поглощает лучи длиной более 315 нм.

На спектре первого разведения (растворитель – вода, концентрация кофеина 10^{-3} моль/л) в области поглощения (до 300 нм) выделены две широкие полосы поглощения. Первый лежит в области 200 – 240 нм с максимумом поглощения 4,072, второй – 260 – 290 нм с максимумом 3,835. С уменьшением концентрации кофеина наблюдается сужение области поглощения в среднем на 20 нм. Количество максимумов поглощения уменьшается до четырёх с величиной оптической плотности равной 4. Оптическая плотность в области наибольшего поглощения 10^{-3} М раствора кофеина уменьшается по сравнению с исходным раствором только на 5,68%.

На спектре поглощения раствора кофеина с концентрацией 10^{-5} моль/л (растворитель – вода) определяются только два максимума на длинах 205 нм ($A = 0,468$) и 273 нм ($A = 0,158$) (рис. 3). При сравнении интенсивности поглощения с предыдущими образцами наблюдается её существенное снижение: по сравнению с раствором с концентрацией кофеина 10^{-1} М на 89,11%, с 10^{-3} М раствором – на 85,5%.

На спектрах образцов с концентрацией кофеина 10^{-7} – 10^{-23} моль/л (растворитель – вода) выражен только один небольшой максимум на длине 207(208) нм (рис. 4).

При уменьшении концентрации растворов кофеина (растворитель – вода) в каждые 100 раз значение оптической плотности на максимуме поглощения изменяется неоднозначно. Обращают внимание образцы с концентрациями кофеина 10^{-9} , 10^{-15} , 10^{-17} , 10^{-23} моль/л: оптическая плотность 10^{-9} моль/л раствора уменьшается только на 31,58%, а поглощение образцов 8, 9, 12 – увеличивается по сравнению с более концентрированными растворами. Интенсивность поглощения растворов с концентрацией кофеина 10^{-15} , 10^{-17} моль/л на длине 207 нм превышает поглощение более концентрированных растворов (10^{-7} – 10^{-13} моль/л). При разбавлении раствора 10^{-13} моль/л в 100 и 10000 раз поглощение возрастает на 850%.

Ещё одной особенностью, выделенной на УФ-спектрах разведений кофеина в концентрационном интервале 10^{-1} – 10^{-23} моль/л, является сохранение характеристического пика поглощения в очень разбавленных растворах. Так, в 1 л 10^{-23} моль/л раствора находятся только 6 молекул кофеина.

Кофеина относится к алкалоидам пуринового ряда. Наличие двойных связей в молекулах пуриновых алкалоидов создает значительную возможность резонанса, в связи с чем эти вещества поглощают УФ-излучение. Пурины дают одну интенсивную полосу ниже 220 нм и другую при 272 нм. В разбавленных растворах кофеина вместо широкой полосы 212 – 270 нм сохраняется только максимум в области ниже 220 нм. При этом он сдвигается с 212 нм на 207 нм.

Спектр 10^{-1} моль/л спиртового раствора кофеина характеризуется широкой полосой поглощения, лежащей в коротковолновой части изучаемой области облучения – 200 – 310 нм (ширина 110 нм).

В этой области спектра выражено 12 пиков поглощения, значения оптической плотности которых колеблются незначительно от 3,474 до 4,285. Наибольшее поглощение происходит на длинах 227 – 252 нм. Раствор кофеина не поглощает лучи длиной 315 нм и более. Наибольшее поглощение происходит на длине 234 нм ($A = 4,285$).

На спектре первого разведения (концентрация кофеина 10^{-3} моль/л, растворитель – этанол) в области поглощения выделены две широкие полосы поглощения. Первый лежит в области 200 – 240 нм с максимумом поглощения 3,890, второй – 260 – 290 нм с максимумом 3,809. С уменьшением концентрации кофеина наблюдается сужение области поглощения в среднем на 20 нм. Количество максимумов поглощения уменьшается до пяти с величиной оптической плотности равной 4. Поглощение 10^{-3} М раствора кофеина уменьшается по сравнению с исходным раствором (область наибольшего поглощения) на 9,2%.

На спектре поглощения раствора кофеина с концентрацией 10^{-5} моль/л определяются только два максимума на длинах 204 нм ($A = 0,238$) и 273 нм ($A = 0,092$) (рис. 3). Причём наибольшее поглощение характерно для пика, лежащего в коротковолновой области. Наблюдается существенное снижение оптической плотности по сравнению с предыдущими образцами, поглощение снижается более чем на 90%.

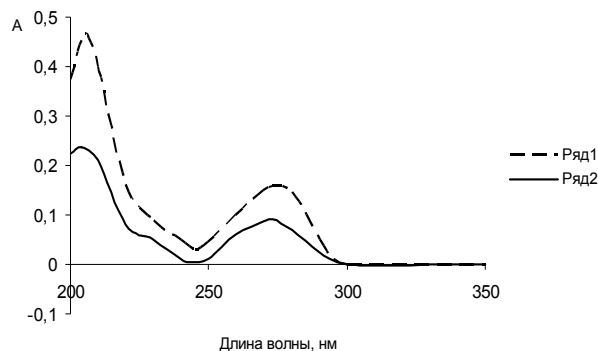


Рис. 3 – Спектры поглощения 10^{-5} моль/л растворов кофеина: ряд 1 – водный раствор; ряд 2 – растворитель этиловый спирт

Остальные разведения, с концентрациями кофеина 10^{-7} – 10^{-23} моль/л (растворитель – этанол) не поглощают в рассматриваемом диапазоне длин волн. Спиртовые растворы кофеина или не проявляют эффект сверхмалых доз, или метод электронной спектроскопии не позволяет выявить его наличие.

Замена растворителя – воды на этанол (95%) существенно не сказывается на форме спектра и интенсивности поглощения наиболее концентрированных растворов кофеина (концентрации 10^{-1} и 10^{-3} моль/л). Уменьшается значение оптической плотности на длине 200 нм у спиртового раствора её значение меньше в 1,6 раз, чем у водного.

По мере уменьшения концентрации кофеина разница в интенсивности поглощения спиртового и водного растворов увеличивается. Так, оптическая

плотность водного раствора с содержанием кофеина 10^{-3} моль/л только в 1,05 раз больше, чем у спиртового, а у 10^{-5} М водного раствора оптическая плотность на максимуме превышает в 2 раза поглощение спиртового раствора.

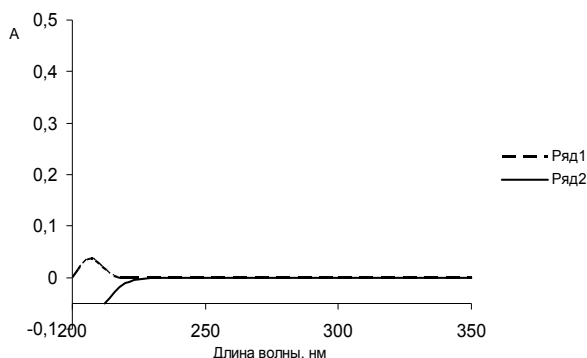


Рис. 4 – Спектры поглощения 10^{-7} моль/л растворов кофеина: ряд 1 – водный раствор; ряд 2 – растворитель этиловый спирт

В спектрах спиртовых растворов с концентрацией кофеина 10^{-7} – 10^{-23} моль/л отсутствуют максимумы, поглощение крайне мало.

Отсутствие максимумов поглощения в спиртовых растворах со сверхмалыми концентрациями кофеина, а также случаев повышения оптической плотности при разбавлении растворов, позволяет предполагать, что у спиртовых растворов кофеина эффект сверхмалых доз проявляться не будет.

Заключение

При исследовании водных растворов кофеина на всем протяжении концентрационного интервала, наблюдалось снижение высоты мениска, когда в спиртовых растворах наоборот отмечено его увеличение. В водных растворах существенное уменьшение обнаруживается для раствора с концентрацией 10^{-9} моль/л, на 24%, относительно мениска воды в капилляре, для концентрации кофеина 10^{-13} – 10^{-15} в среднем на 21%, так же интересны растворы с концентрацией кофеина 10^{-5} и 10^{-21} , где снижение высоты мениска происходит на 18% и 19,8 % соответственно. В спиртовых растворах это интервал 10^{-13} моль/л и 10^{-21} моль, где в первом случае высота мениска не изменилась, а во втором уменьшилась на 1,05%. Как видно, концентрационные интервалы для данного вещества совпадают, но не все и так выражены как для водных растворов.

При изучении электронных спектров растворов кофеина были выявлены следующие особенности.

На спектрах водных растворов с содержанием кофеина 10^{-9} , 10^{-15} , 10^{-17} , 10^{-23} моль/л наблюдается увеличение оптической плотности на длине 207 нм по сравнению с более концентрированными растворами.

Замена растворителя воды на этанол не отражается на форме спектров и максимумах поглощения наиболее концентрированных растворов кофеина (10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} моль/л). Спиртовые растворы остальных образцов с концентрациями 10^{-7} – 10^{-23} моль/л кофеина в отличие водных растворов кофеина тех же концентраций в изучаемом интервале длин волн (200 – 350 нм) не поглощают, что позволяет предполагать отсутствие у спиртовых растворов кофеина эффекта сверхмалых доз.

Таким образом, наличие у растворов эффекта сверхмалых доз определяется не только природой соединения, взятого в сверхмалых концентрациях, но и природой используемого растворителя. Проявление эффекта сверхмалых доз связано с наличием у воды определённых структурных и энергетических возможностей.

Статья выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 г.г.

Литература

1. Бурлакова, Е.Б., Конрадов А.А., Е.Л. Мальцева Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности [Текст] / Е.Б. Бурлакова // Российский химический журнал. - 1999. - Т. XLIII, №5. - с. 3-11.
2. Коновалов А.И. Физико – химическая загадка сверхмалых доз [Текст]// Химия и жизнь. 2009. Т. 2. С 5-9.
3. Эпштейн, О.И. Сверхмалые дозы – история одного исследования. М.: Изд-во РАМН, 2008. 336с.
4. Белов, В.В. Роль полярности растворителя в механизме действия биологически активных веществ в сверхмалых дозах [Текст] / В.В. Белов, Е.Л. Мальцева, Н.П. Пальмина, Е.Б. Бурлакова // Доклады Академии Наук. 2004. Т.399. N4. С. 548-550.
5. Эпштейн, О.И. Сверхмалые дозы антител: закономерности действия in vitro при бипатическом введении на модели длительной посттетанической потенции [Текст] / О.И. Эпштейн, Н.А. Береговой, Т.М. Панкова [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2003. – с. 20-24.
6. Ниязи Ф.Ф., Кувардин Н.В. Способ определения способности биологически активных веществ к проявлению эффекта “сверхмалых доз”. Патент №2346260, от 10.02.2009 г.

© **Ф. Ф. Ниязи** - д-р хим. наук, проф. каф. химии ЮЗГУ; **Н. В. Кувардин** – канд. хим. наук, доц. той же кафедры; **Г. Е. Запков** - д-р хим. наук, проф. каф. ТПМ КНИТУ, ov_stoyanov@mail.ru; **Е. А. Фатьянова** – канд. хим. наук, доц. каф. химии ЮЗГУ.