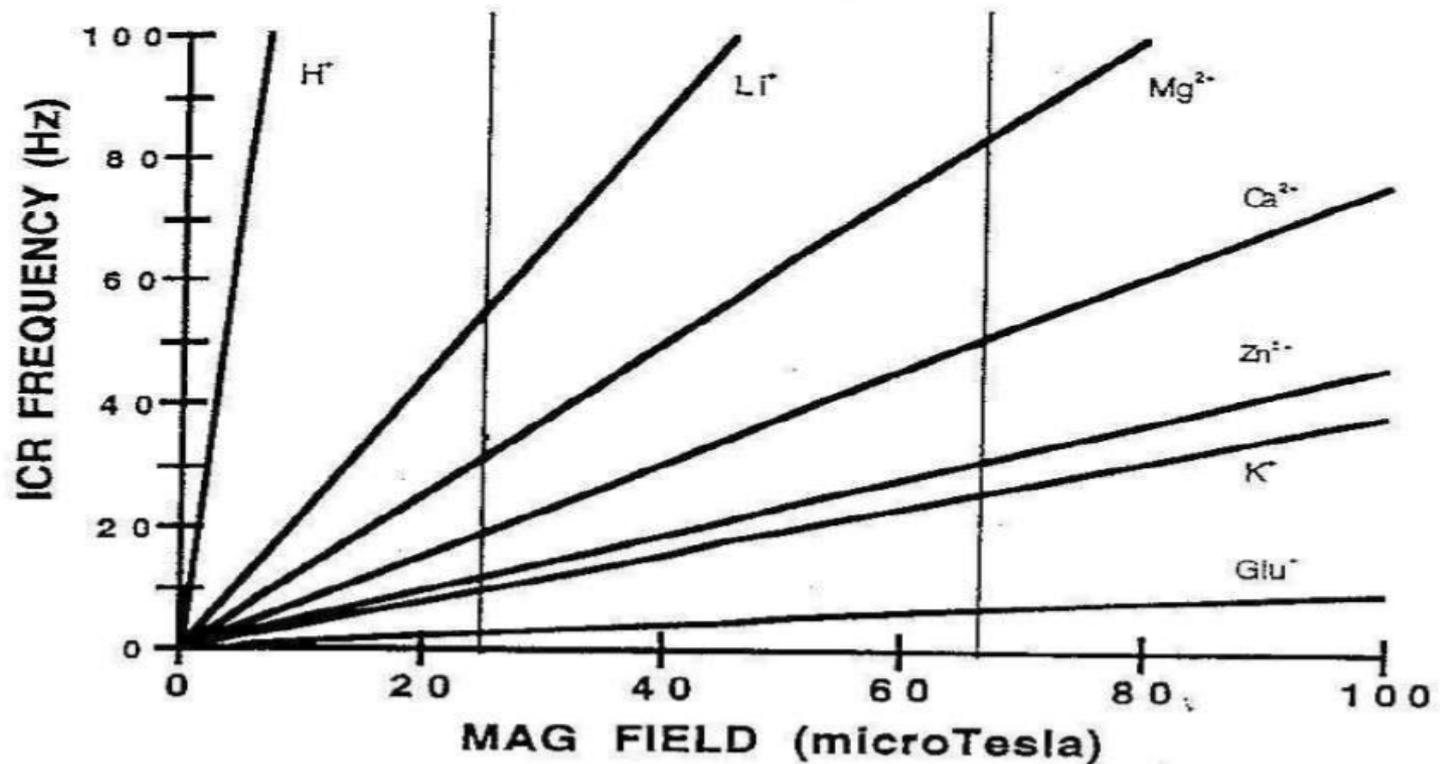


**Резонансное поведение электропроводности  
водного раствора аминокислот в слабых  
коллинеарных постоянном и переменном  
магнитных полях**

**В.В. Новиков**

*Учреждение Российской академии наук  
Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино*

Частоты ионов, соответствующие условию  
циклотронного резонанса (ICR, A. Liboff)



$$\nu_{CF} = \frac{qB_s}{2\pi m}$$

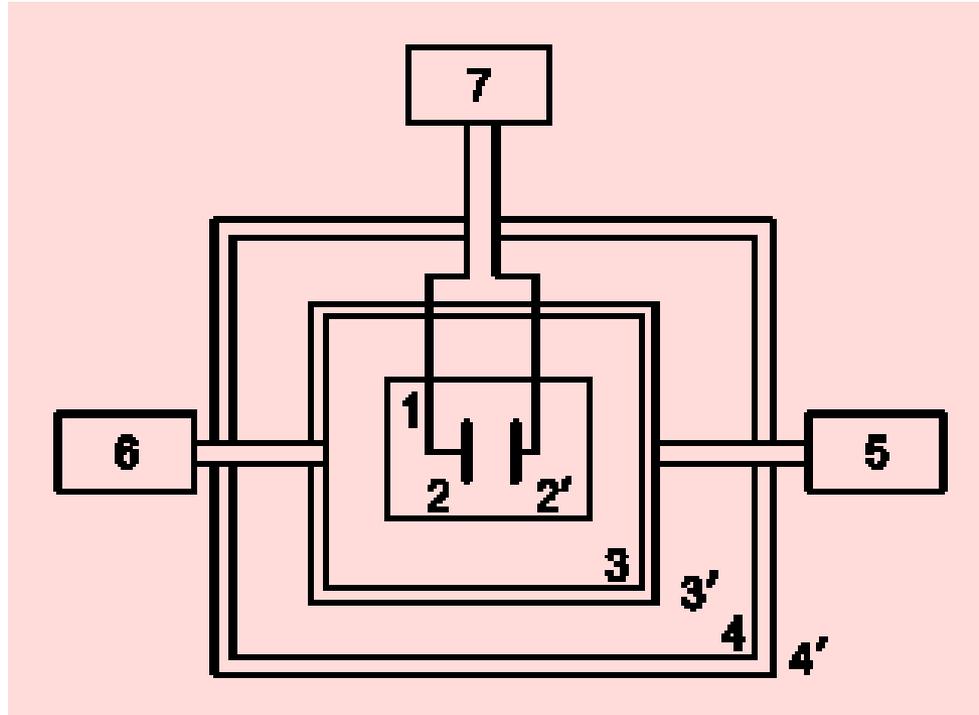
# Общая характеристика исследований

**Цель работы.** Основной целью настоящей работы явилось обнаружение и детальное исследование эффектов действия слабых магнитных полей (МП) на физико-химические системы, определение наиболее активных параметров этих полей, их пороговых значений, частотно-амплитудных диапазонов активности, а также поиск и исследование мишеней действия слабых МП и механизмов изменения этих мишеней.

## **Задачи исследования.**

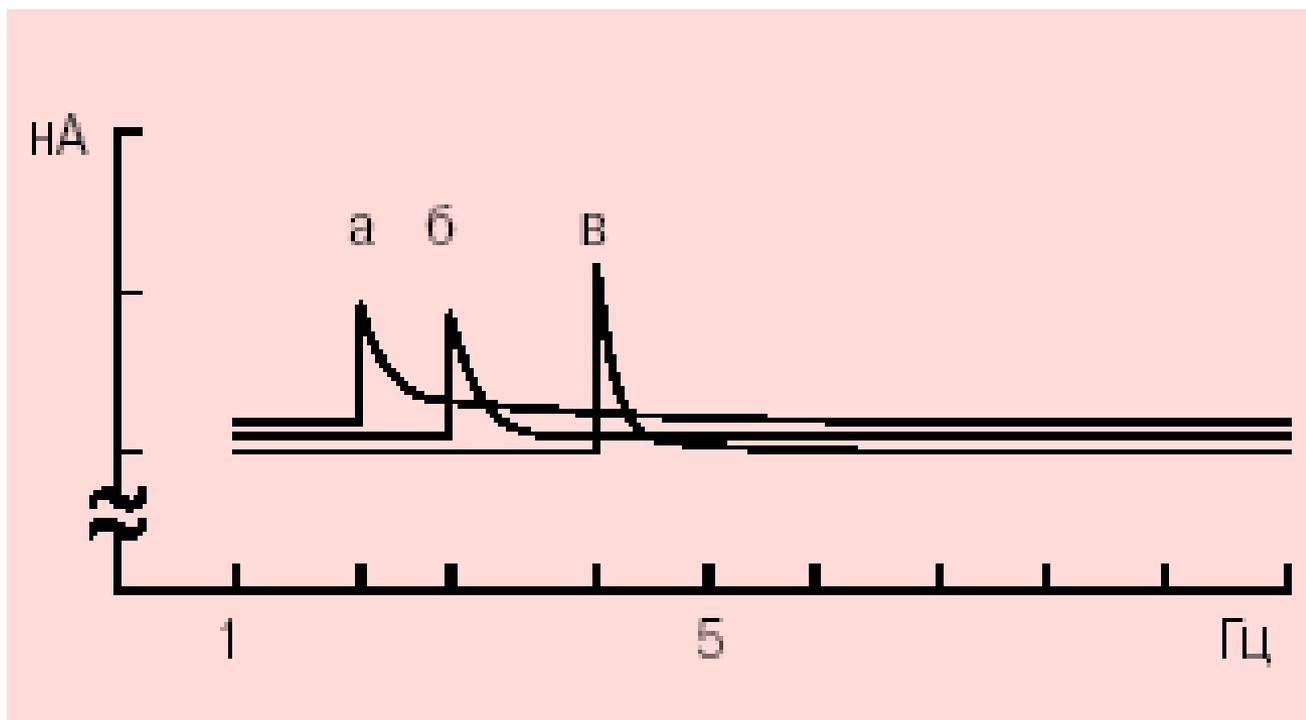
1. Провести выбор объектов и моделей исследования, чувствительных к действию слабых МП.
2. Найти параметры слабых комбинированных постоянного и переменного МП, обладающие активностью.
3. Развить подход к анализу механизмов действия слабых МП, ориентированный на исследование свойств водных растворов различных биологически активных молекул, например, аминокислот, белков и пептидов при воздействии на них очень слабых МП с переменной низкочастотной компонентой порядка десятков нТл и постоянного МП, сравнимого по величине с геомагнитным полем.

# Схема экспериментальной установки



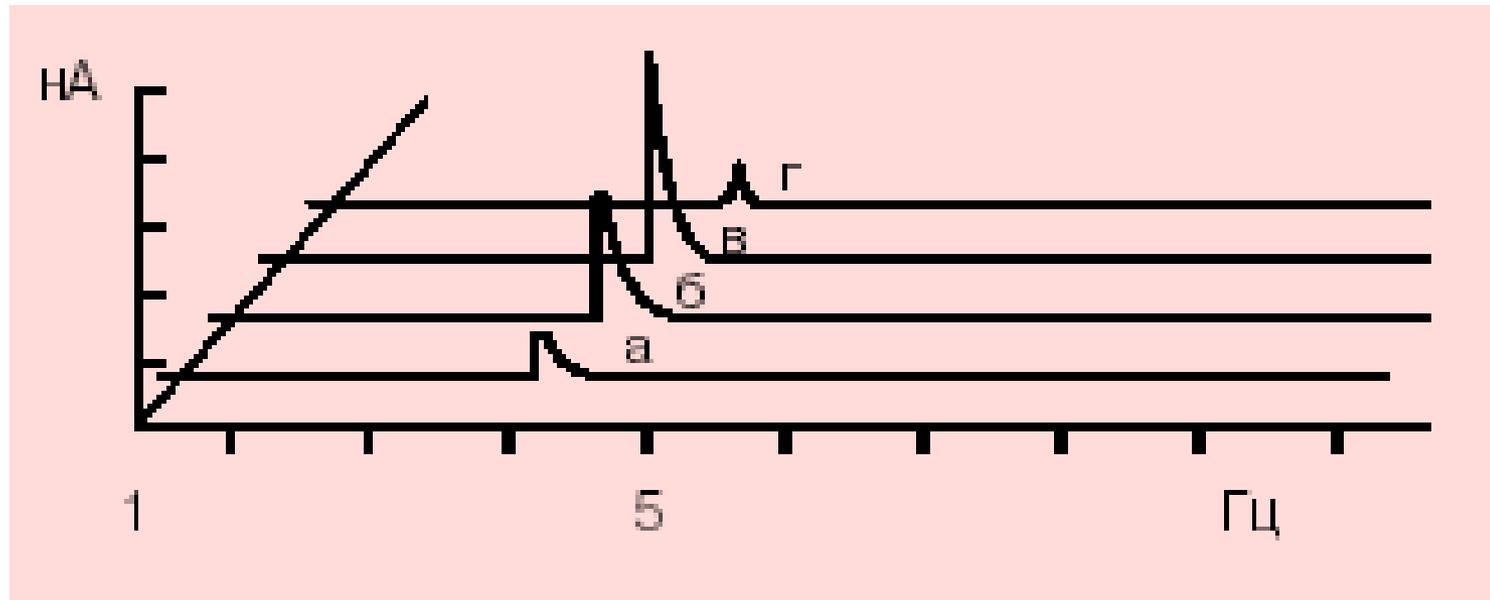
1 – кювета с раствором, 2 – электроды, 3 – катушка, 4 – магнитный экран из пермаллоя, 5 – источник напряжения, 6 – генератор синусных волн, 7 – измерительный блок: стабилизатор напряжения, измеритель, записывающее устройство

Ток ионов в растворе глутаминовой кислоты как функция частоты переменного магнитного поля для различных значений постоянного магнитного поля



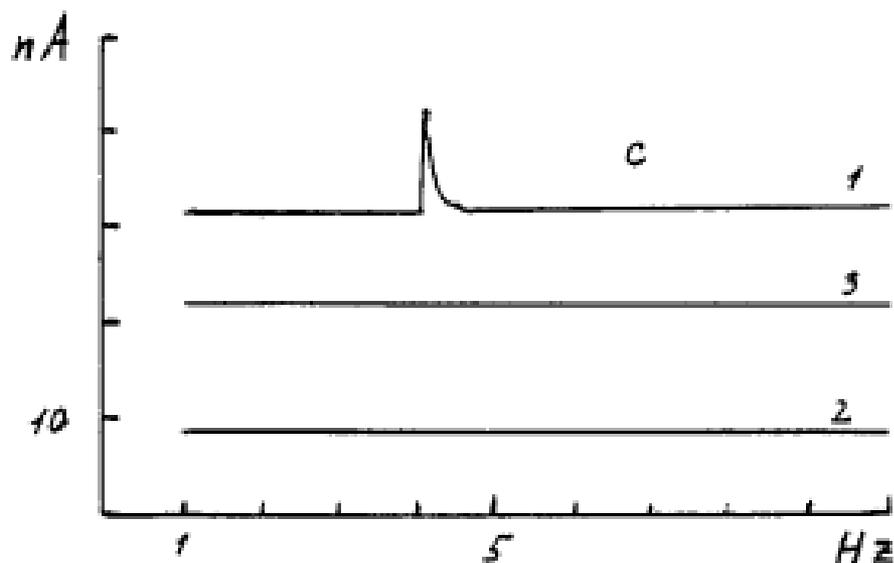
По оси  $x$  – частота переменного магнитного поля (Гц), по оси  $y$  – поток ионов (нА). Амплитуда переменного магнитного поля равна 0,025 мкТл; постоянное магнитное поле  
а:  $B_0 = 20$  мкТл; б:  $B_0 = 30$  мкТл; в:  $B_0 = 40$  мкТл

Ток ионов в растворе глутаминовой кислоты как функция частоты переменного магнитного поля для различных значений амплитуды переменного магнитного поля



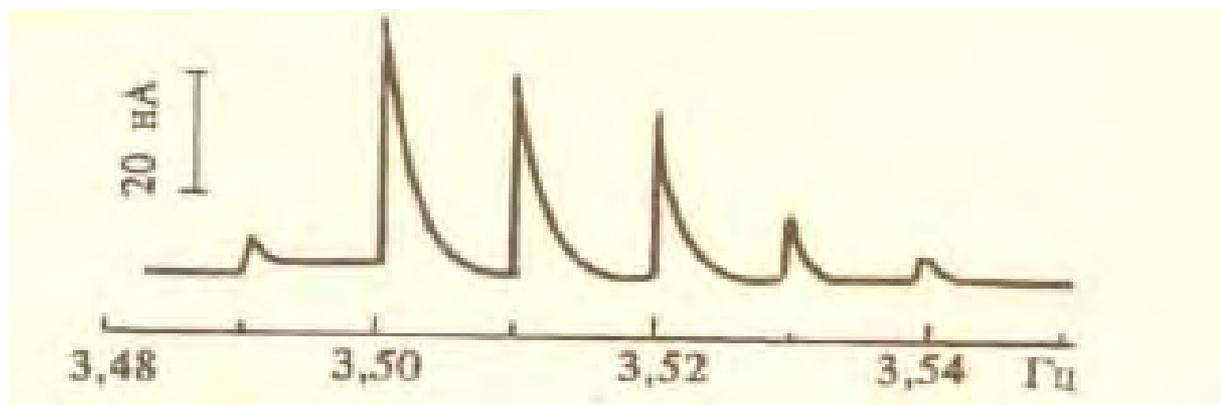
По оси  $x$  – частота переменного магнитного поля (Гц), по оси  $y$  – поток ионов (нА). Постоянное магнитное поле  $B_0 = 40$  мкТл; амплитуда переменного магнитного поля а: 0,01 мкТл; б: 0,02 мкТл; в: 0,04 мкТл; г: 0,08 мкТл

# Зависимость тока ионов в растворе глутаминовой кислоты от частоты переменного поля и pH



Амплитуда переменного поля ( $B_1$ ) 0,025 мкТл. Постоянное магнитное поле ( $B_0$ ) 40 мкТл;  
1: Glu раствор pH 2.85; 2: Glu раствор pH 3.2; 3: вода pH 2.85.

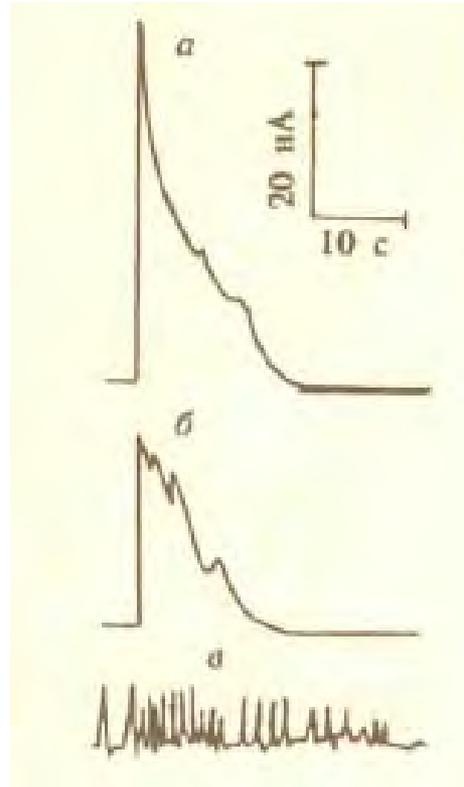
# Зависимость тока ионов в растворе аспарагина от частоты переменного поля



Пошаговое сканирование (0,01 Гц в минуту).  $V_0 = 30,3$  мкТл;

$V_1 = 0,04$  мкТл

# Зависимость реакции ионного тока через раствор аспарагина в условиях ICR от температуры



Условия ICR:  $V_0 = 30,3$  мкТл;  $V_1 = 0,04$  мкТл ( $f$  3,5 Гц)

а:  $18^\circ\text{C}$ ; б:  $27^\circ\text{C}$ ; в:  $36^\circ\text{C}$

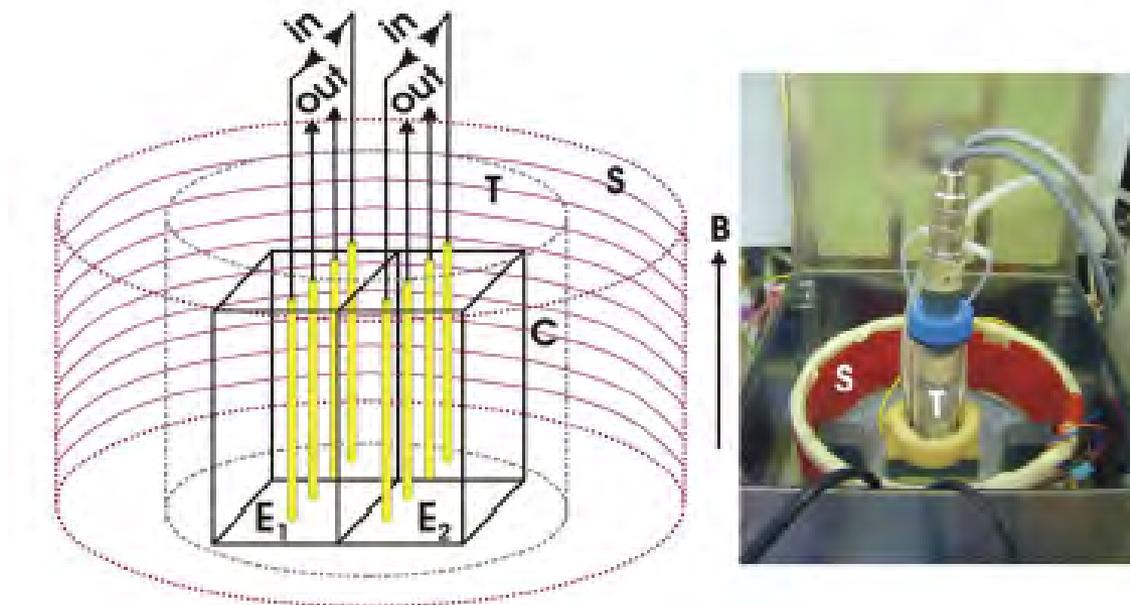
# Представление результатов:

- 1. В.В. Новиков, М.Н. Жадин. Комбинированное действие слабых постоянного и переменного низкочастотного магнитных полей на ионные токи в водных растворах аминокислот // Биофизика. 1994. Т.39, В.1. С.45-49.
- 2. В.В. Новиков. Кооперативный эффект резонансного усиления ионного тока в водных растворах аминокислот при действии слабых электромагнитных полей. Подходы к экспериментально-теоретическому анализу // Биофизика. 1996. Т.41, В.5. С.973-978.
- 3. V.V. Novikov, A.V. Karnaukhov. Mechanism of action of weak electromagnetic field on ionic currents in aqueous solutions of amino acids // Bioelectromagnetics. 1997. V.18. P.25-27.
- 4. M.N. Zhadin, V.V. Novikov, F.S. Barnes, N.F. Pergola. Combined action of static and alternating magnetic fields on ionic current in aqueous glutamic acid solution // Bioelectromagnetics. 1998. V.19. P.41-45.

## **Повторение и дальнейшее развитие исследований:**

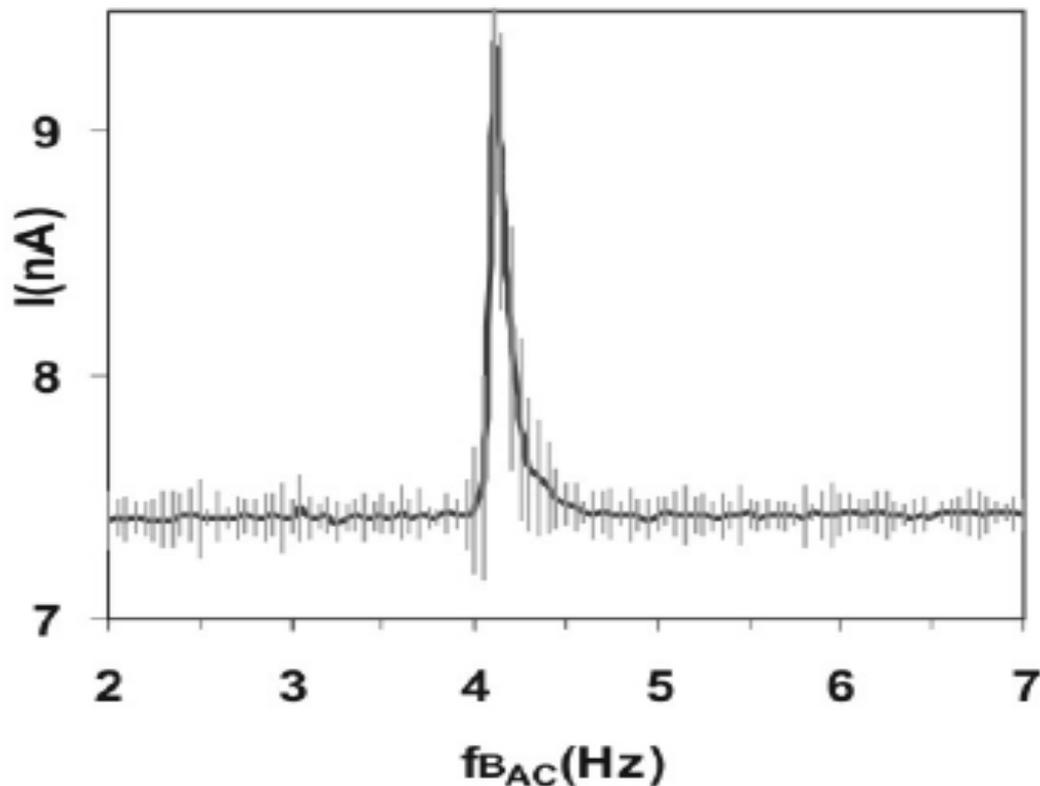
- 1. E. Del Giudice, M. Fleischmann, G. Preparata, and G. Talpo, Bioelectromagnetics 23, 522-530 (2002).**
- 2. N. Comisso, E. Del Giudice, A. De Ninno et al., Bioelectromagnetics 27, 16-25 (2006).**
- 3. D. Alberto, L. Busso, R. Garfagnini et al., Electromagnetic Biology and Medicine 27 (3), 241-253 (2008).**
- 4. A. Pazur, Biomagnetic. Res. Technol. 2, 8 (2004).**
- 5. L. Giuliani, S. Grimaldi, A. Lisi et al. Biomagnetic. Res. Technol. 6, 1 (2008).**

# Экспериментальное средство (А. Pазur, 2004)



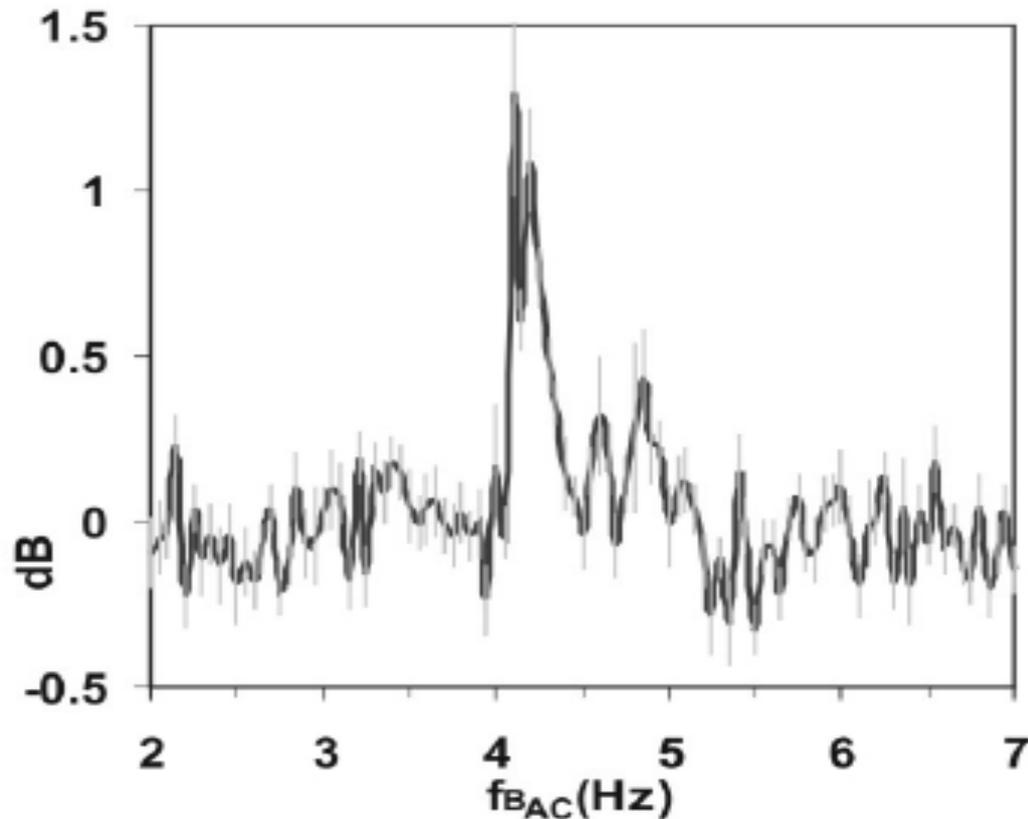
Схематический эскиз устройства для дифференциальной нелинейной диэлектрической спектроскопии (DNLDS) и фотография открытой камерой из пермаллоя с образцом – справа. Два комплекта 4 золотых электродов (E1, E2, 10 мм длины, расстояние между ними 2 мм), каждый расположен в двух смежных кюветах (C) 1x1x4.3 см, позволяя одновременное измерение двух образцов (используемый объем 1 мл каждый) при одинаковых условиях окружающей среды. Кюветы окружены резервуаром (T) для того, чтобы обеспечить защиту атмосферы аргоном.

## Увеличение тока в условиях ICR (DC)



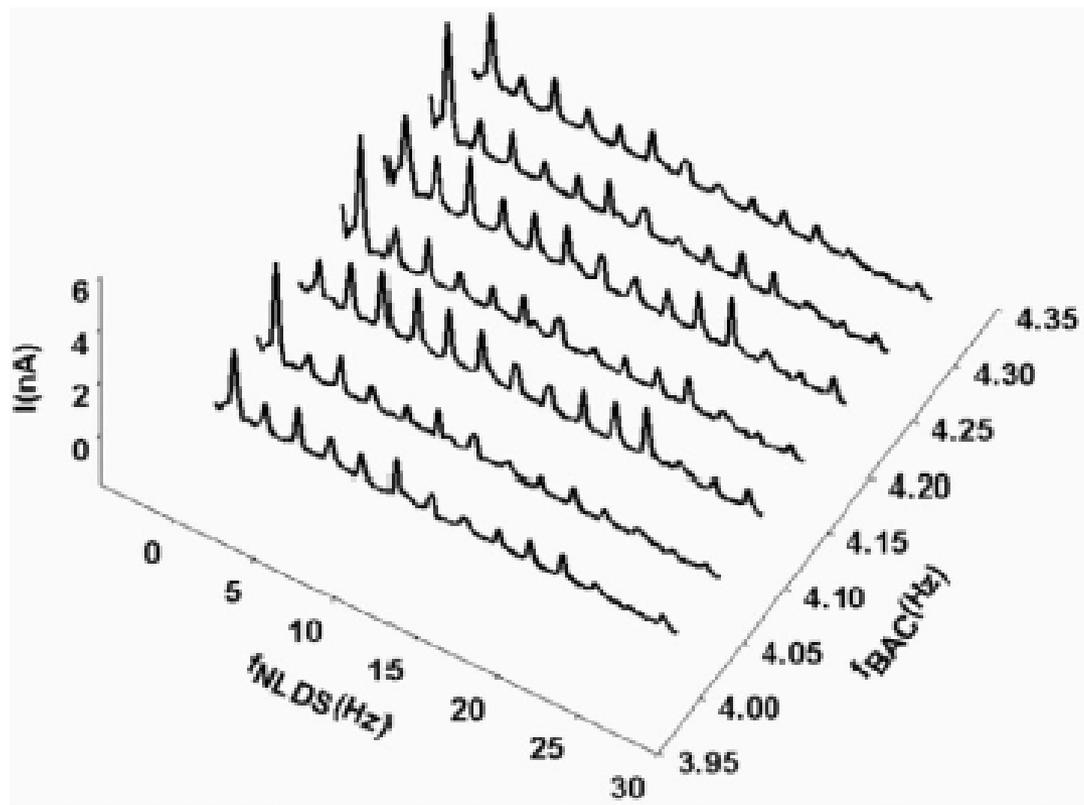
Увеличение тока через раствор глутаминовой кислоты/HCl (2.24 mM, pH = 2.85) вблизи условий ICR.  $V_{dc} = 40$  мкТл, амплитуда переменного поля  $V_{ac}$  - 50 нТл, частотное разрешение  $\Delta f = 0.05$  Гц. Постоянное напряжение на электродах 80 милливольт.

## Увеличение тока в условиях ICR (AC)



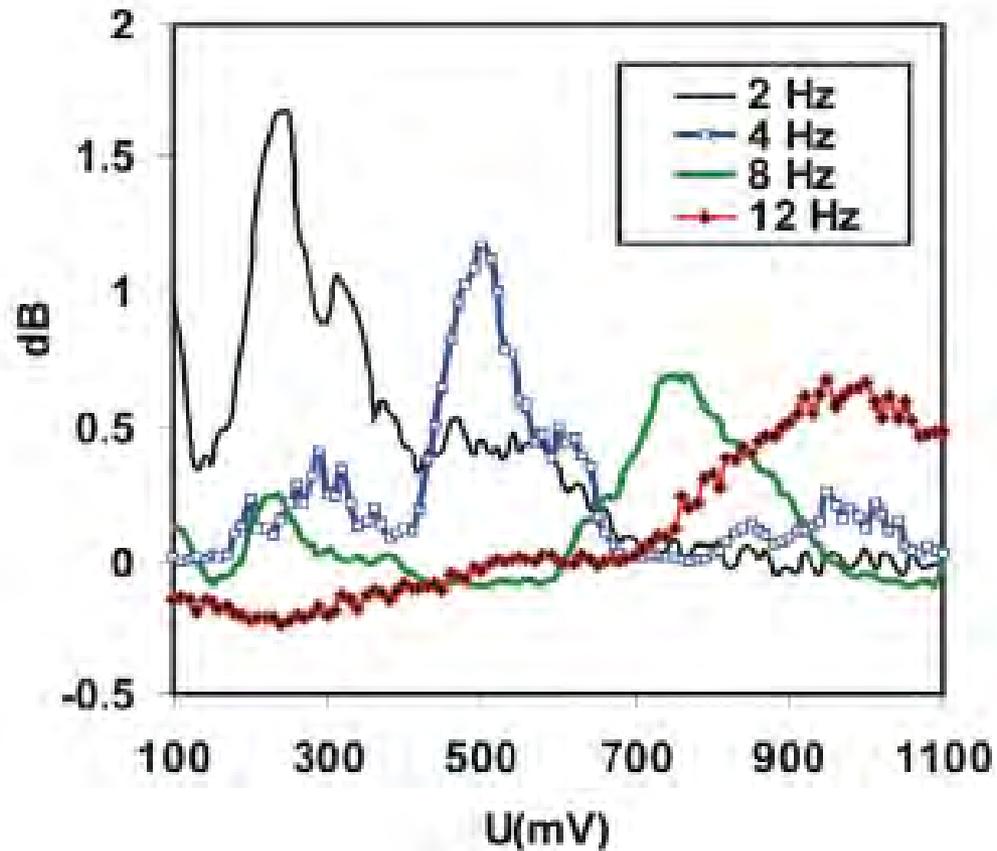
Представление 2х гармоник спектров NLDS, взятых для каждой сканируемой частоты  $f_{BAC}$ . Данные были отнесены к референтным сканам с  $V_{DC} = 40 \mu T$ , но без  $V_{AC}$ . Серые полосы метки указывают стандартные отклонения.

# Спектры NLDS в условиях ионного циклотронного резонанса (ICR)



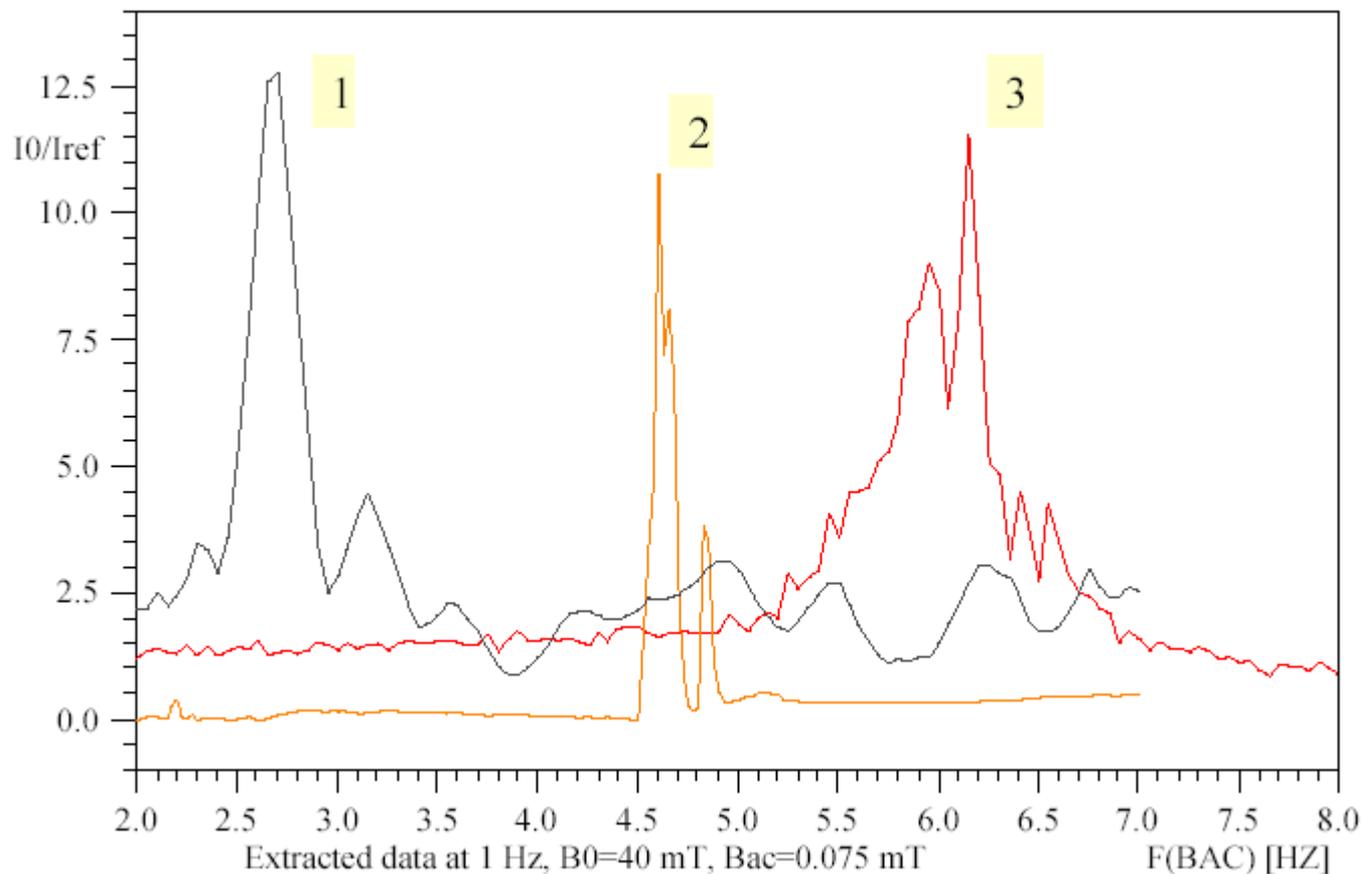
Трехмерное представление данных NLDS. Раствор глутаминовой кислоты/HCl (2.24 мМ, pH 2.85) во время ICR ( $V_{dc}=40$  мкТл, переменное поле  $B_{ac}=50$  нТл,  $f_{BAC} = 4.14$  Гц). Шаг 0.05 Гц.

# Данные DNLDS



**Voltammograms для некоторых гармоник DNLDS (синусоидальная волна 2 Гц с переменной амплитудой 100- 1100 mV) раствора глутаминовой кислоты/HCl (2.24 mM, pH 2.85) в условиях ICR ( $V_{dc} = 40$  мкТл,  $V_{ac} = 50$  нТл, 4.14 Гц).**

# Примеры некоторых ICR сигналов (АС)



**1: Лецитин липосомы (0.5% w/w, 10 mM Tris/HCl, pH 7.5, 20°C)**

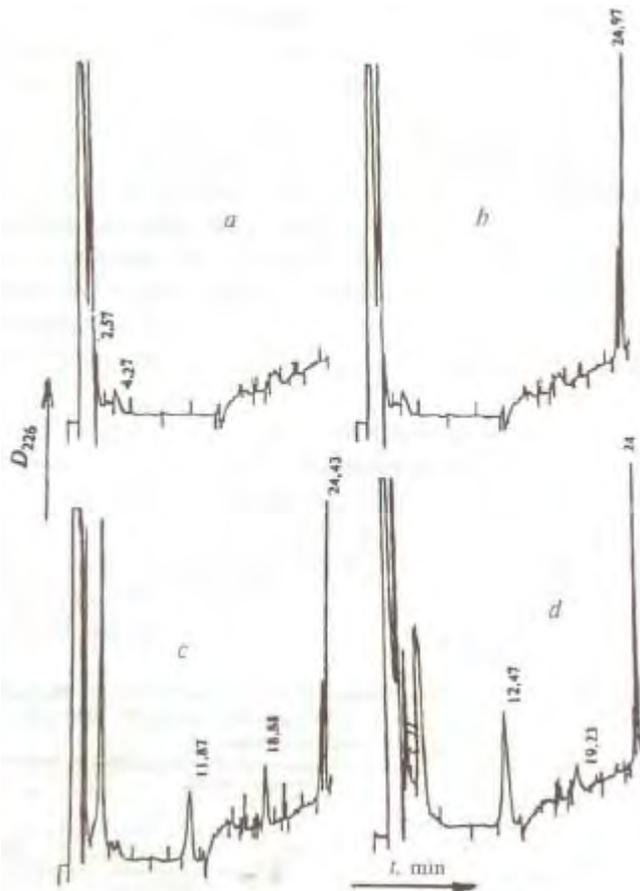
**2: Глутамат (0.2 g/L HCl, pH=2.85, 20°C)**

**3: Глицин (0.2 g/L HCl, pH=2.7, 20°C)**

## Теоретические подходы:

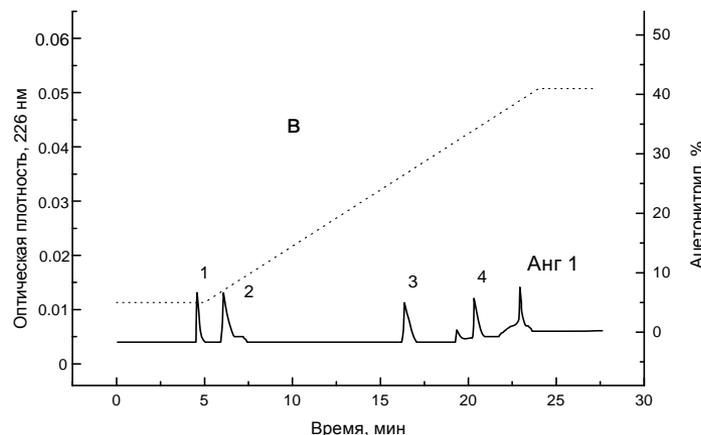
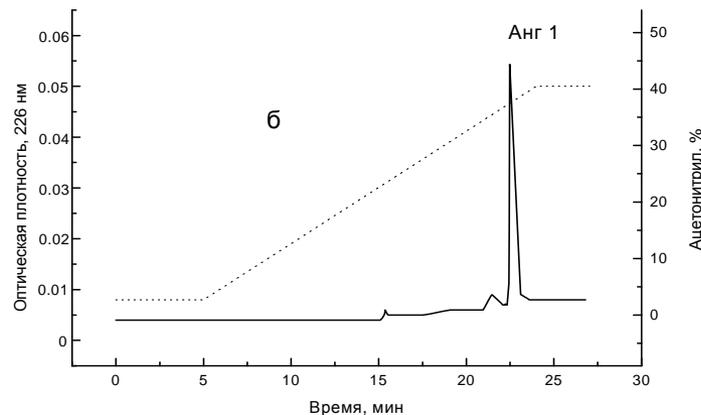
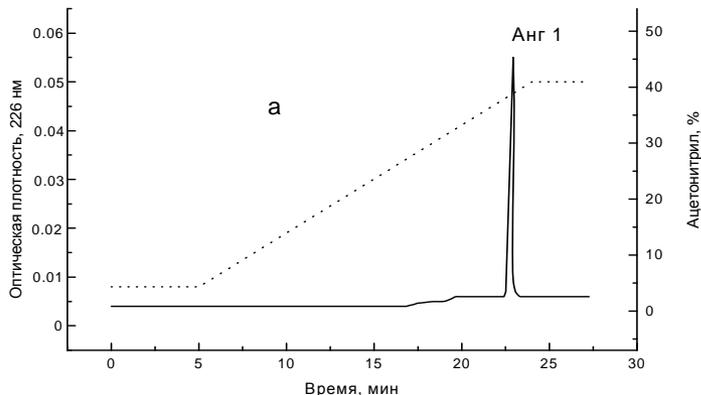
- 1. Карнаухов А.В. (1996) – Диссипативные структуры, диссипативный резонанс.
- 2. Жадин М.Н. (1998) – Микрокристаллы в растворе.
- 3. E. Del Giudice, G. Preparata et al. (2002) QED теория ICR.

# Профиль элюции при HPLC эквимолярных растворов Asp, Glu, Arg, Lys после часовой экспозиции в слабом электромагнитном поле



Условия ICR для АК ( $B_0 = 40$  мкТл;  $B_1 = 0,1$  мкТл ( $f$  3,51; 4,17; 4,20; 4,65 Гц).  $U = 45$  мВ. а: исходный раствор; б: раствор в кювете без МП; с, д: растворы после экспозиции МП.

# Профиль элюции при HPLC ангиотензина 1 (30 мкг/мл) после воздействия слабых МП (ПМП=42 мкТл; ПеМП=0,05 мкТл, частоты 3,5-5,0 Гц; экспозиция 12 часов)



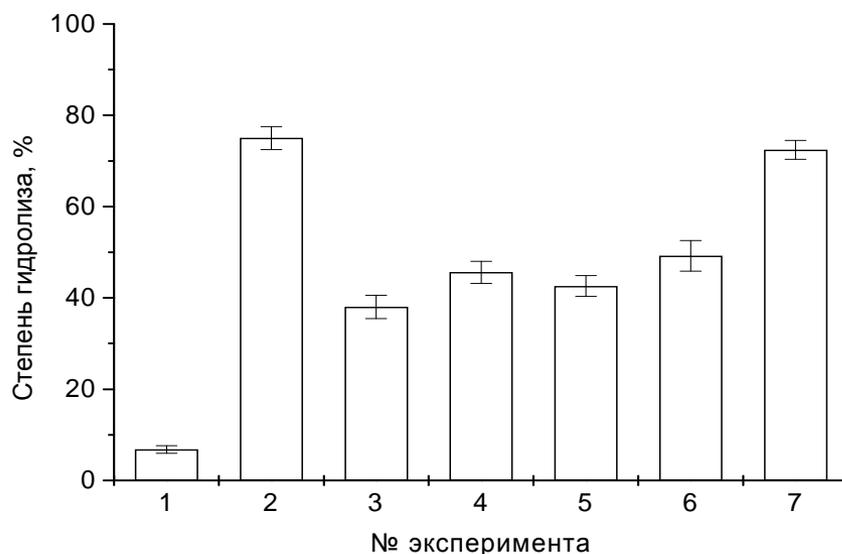
**а - исходный пептид.**

**б - контрольная проба при 12 часовой экспозиции.**

**в - опытная проба**

**1, 2, 3, 4 - выход фрагментов гидролиза: 1 – DRV; 2 – FHL; 3 – DRVYI; 4 - HPFHL**

# Гидролиз ангиотензина 1 (30 мкг/мл) при действии слабых МП в присутствии различных химических добавок (n=5). Экспозиция в МП-12 часов

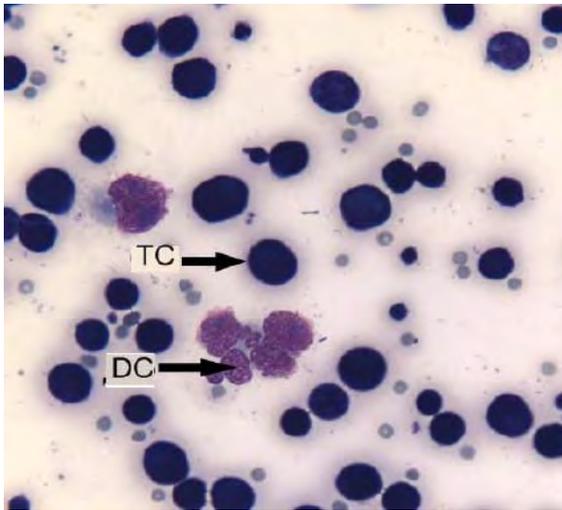
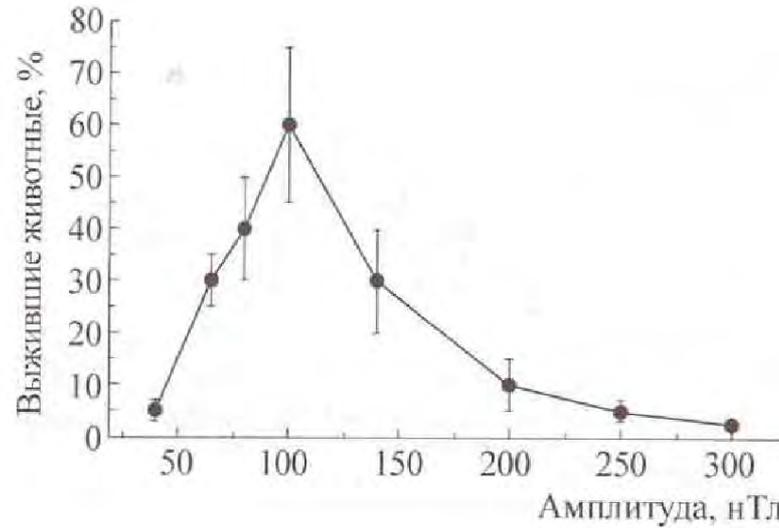


1. Спонтанный гидролиз.
2. Индуцированный МП гидролиз.
3. Гидролиз в обработанной МП воде (экспозиция пептида 12 часов).
4. Индуцированный МП гидролиз в присутствии каталазы (10 мкг/мл).
5. Индуцированный МП гидролиз в присутствии пероксидазы хрена и ABTS (по 10 мкг/мл).
6. Индуцированный МП гидролиз в присутствии БСА (10 мкг/мл).
7. Индуцированный МП гидролиз в присутствии ингибиторов протеаз.

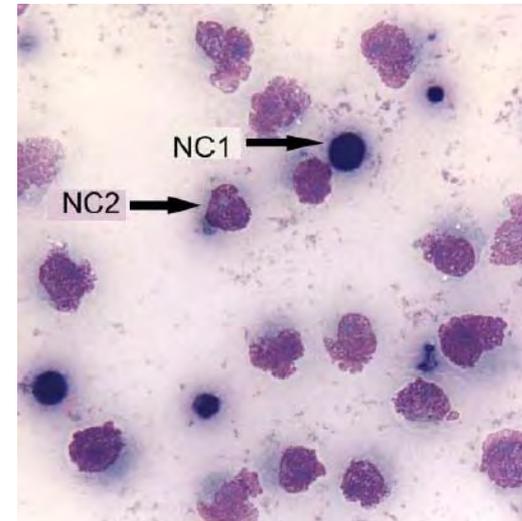
# Эффекты биологического действия слабых и сверхслабых магнитных полей

ПМП	ПеМП		Биологический эффект
	Индукция (мкТл)	Индукция (нТл)	
42	1; 40; 100; 120; 160; 640	1; 3,7; 32	Активация деления планарий <i>Dugesia Tigrina</i>
<0,1	-	-	Активация деления планарий <i>Dugesia Tigrina</i>
30-49	40-200	3,5-5,0 (сумма частот); 4,38 и 4,88 1; 4,4; 16,5	<b>Торможение развития АКЭ у животных-опухоленосителей.</b>
40	40	3,5-5,0	Снижение устойчивости ДНК хроматина клеток АКЭ и мозга мышей к ДНКазе I
40	40	3,5-5,0	Снижение функциональной активности гистоновых белков, защищающих ДНК от действия ДНКазы I
40	40	3,5-5,0	Снижение активности рекомбинантных обратных транскриптаз вируса саркомы Рауса и вируса иммунодефицита человека (HIV-1)
42	50-100	3,5-5,0	Стимуляция гидролиза амилоидного протеина и уменьшение числа амилоидных бляшек

# Противоопухолевое действие слабых МП (ПМП 42 мкТл; ПеМП частота 4,4 Гц, соответствует иону глутаминовой кислоты)



Контроль



Опыт

## Цитологический анализ

# Выводы

1. **Найдены комбинации параметров магнитных полей, вызывающих резонансноподобный отклик проводимости водных растворов ряда аминокислот. Формальным условием является равенство частоты переменной компоненты поля частоте циклотронного резонанса ионной формы аминокислоты при  $B_s$  в диапазоне 20 - 100 мкТл и соотношении величин  $B_s/B_a \sim 500-1000$ .**
2. **Аминокислоты в вышеописанных условиях более активно вступают в реакцию поликонденсации с образованием пептидных молекул. Протеины же, напротив, более активно гидролизуются с образованием коротких пептидных фрагментов.**
3. **Показано, что воздействие МП, с определенными нами параметрами, обладает чрезвычайно высокой биологической активностью: влияет на интенсивность деления планарий; подавляет или тормозит развитие злокачественных новообразований у мышей; приводит к ослаблению белковой защиты молекул ДНК к действию ДНКазы 1; снижает функциональную активность ряда ферментов нуклеинового обмена и содержание амилоидного протеина и амилоидных бляшек в коре и гиппокампе животных-моделей болезни Альцгеймера.**

# Литература

1. В.В. Новиков и М.Н. Жадин, Биофизика 39 (1), 45-49 (1994).
2. В.В. Новиков, Биофизика 39 (5), 825-830 (1994).
3. В.В. Новиков, Биофизика 41 (5), 973-978 (1996).
4. M.N. Zhadin, V.V. Novikov, F.S. Barnes, and N. F. Pergola, Bioelectromagnetics 19, 41-45 (1998).
5. В.В. Новиков, Е.Е. Фесенко , Биофизика 46 (2), 235-241 (2001).
6. E. Del Giudice, M. Fleischmann, G. Preparata, and G. Talpo, Bioelectromagnetics 23, 522-530 (2002).
7. N. Comisso, E. Del Giudice, A. De Ninno et al., Bioelectromagnetics 27, 16-25 (2006).
8. D. Alberto, L. Busso, R. Garfagnini et al., Electromagnetic Biology and Medicine 27 (3), 241-253 (2008).
9. A. Pazur, Biomagnetic. Res. Technol. 2, 8 (2004).
10. V.V. Novikov, I.M. Sheiman, E.E. Fesenko, Bioelectromagnetics 29, 387-393 (2008).
11. V.V. Novikov, I.M. Sheiman, E.E. Fesenko, Bioelectromagnetics 30, 343-351 (2009).

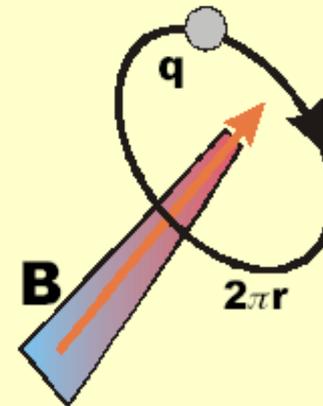
## The Ion Cyclotron Resonance (ICR): Basics

The movement of a charged particle  $q$  with the speed  $v$  in a magnetic field  $B$  results in a force  $F$ , which is perpendicular to  $B$  and  $v$  in an rectangular frame of reference. We get the vector product:

$$\mathbf{F} = Q \cdot \mathbf{v} \otimes \mathbf{B} \quad (1)$$

This *Lorentz* force urges the particles with mass  $m$  onto a orbit with radius  $r$  in a plane perpendicular to  $B$ .

$$r = \frac{m \cdot v}{q \cdot B} \quad (2)$$



It is called „*Lamour* precession“ and leads after solving to the orbit frequency of the generic „Ion Cyclotron Resonance Formula“:

$$f = \frac{q \cdot B}{m \cdot 2\pi} \quad (3)$$

Whereas  $f$  denotes the idealized *Lamour* precession frequency of the Ion in the vacuum (not respective to any interaction with it's environment).

## The Ion Cyclotron Resonance (ICR): Coherence

Why can Ions under certain conditions move in water like in the vacuum without thermic interactions ( $kT$  Paradox) ? Or: water has  $\epsilon_r \sim 80$ , isn't it ?

### The prediction of the two-fluid property of water (Landau 1947):

- At room temperature  $\sim 40\%$  of the bulk water form **domains** of **molecules coherent oscillating** between two inner electron configurations with  $\Delta E = 12$  eV after applying a EMF  $\Rightarrow$  **coherent regions** will establish.

### Properties of the water's coherent phase regions ( $\sim 40\%$ at 293 K):

- size about 1000 Å (100 nm) respective to 12 eV.
- high polarizability ( $\epsilon_r \sim 160$ )
- inaccessible for moving ions, Exception the very small  $H^+$
- Decoupled against thermic environment by an energy gap of 0.26 eV
- No participation on electrolyte conductivity (*Ohm's* portion)

### Properties of the water's non coherent (bulk) phase ( $\sim 60\%$ at 293 K):

- thermic energy ( $kT$ ) dominating
- low polarizability ( $\epsilon_r \sim 15$ )
- accessible for all ions
- Entire contribution for electrolyte conductivity (*Ohm's* portion)

## The Ion Cyclotron Resonance (ICR): Quantum state coupling

After applying an magnetic field  $\mathbf{B}_0$ , the Ions begin to move in orbits an perpendicular orientated plane. Orbits matching the size of the coherent water with their radius  $r_{cd}$  domains and including them get stable (Giudice et. al. 2002).

Their Wavefunktion  $\psi$  matches the *Schrödinger*-equation for a coupled harmonic oscillator:

$$\Delta\Psi + \frac{2m}{\hbar} \left( W + \frac{q \cdot \mathbf{B}_0 \cdot \hbar}{m \cdot 2\pi} \right) \Psi = 0 \quad (4)$$

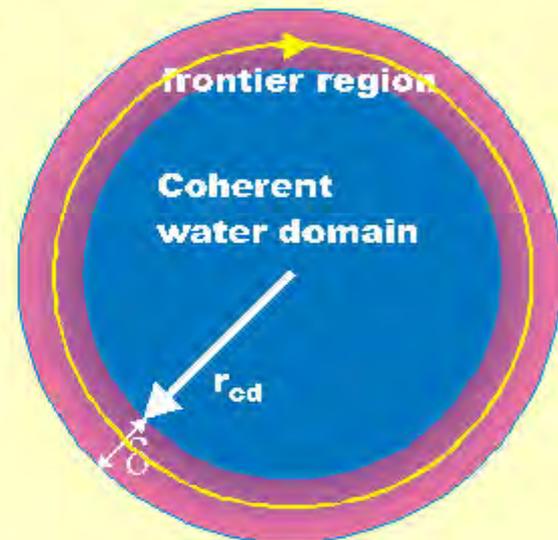
Where  $W = \mathbf{B}_0 \times \gamma$  is the total Energy of the coherent domain with it's Magneton  $\gamma$ .

The Ion then has the probability of residence

$$|\Psi|^2 \cdot dV = 1 \quad (5)$$

for the coherent domain, while it is moving in the **domain's frontier**  $\delta$  :

- Interface between coherent and incoherent regions
- thickness of about 2-4 nm
- stabilizes the ICR orbit, total-reflexion to the outer incoherent region.
- No „collision“ of ions, because coherence requires constant phases.



## The Ion Cyclotron Resonance (ICR): Energy exchange

Applying only a static magnetic field  $B_0$  still provides no energy exchange.

**Superimposing a weak alternating magnetic field  $B_{ac}$  :**

- Parallel directed to  $B_0$
- Comparable weak to  $B_0$  (factor  $10^{-2} - 10^{-5}$ )
- Sinusoidal signal with **frequency  $\omega$**
- **Amplitude window  $0 < B_{ac} < B_{ac}(\delta)$**   
(Zhadin et. al. 1998)
- $B_{ac}$  causes sidebands on the fundamental cyclotron frequency  $\Omega$ , with frequency  $f_s$ :

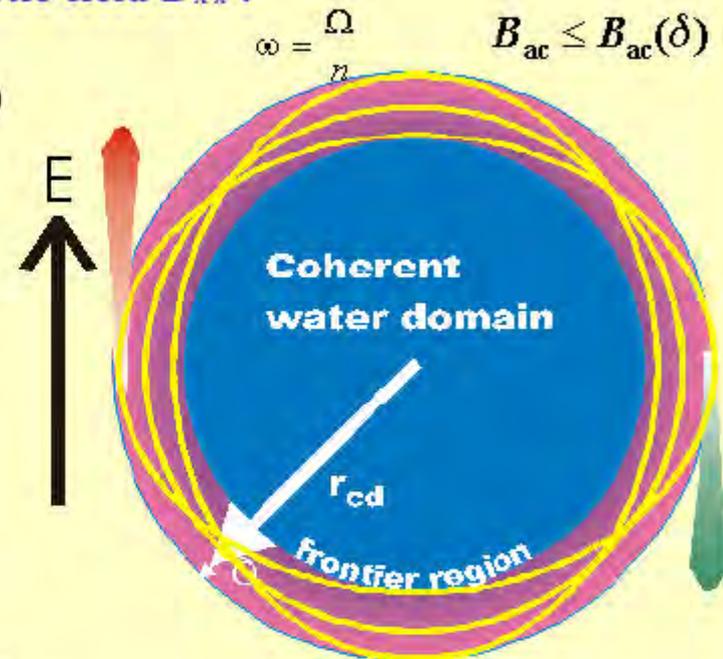
$$f_s = \Omega - n \cdot \omega \quad (5)$$

(with harmonics  $n_0, n_1, \dots, n_x$ , and  $\lim B_{ac}^n \rightarrow 0$ )

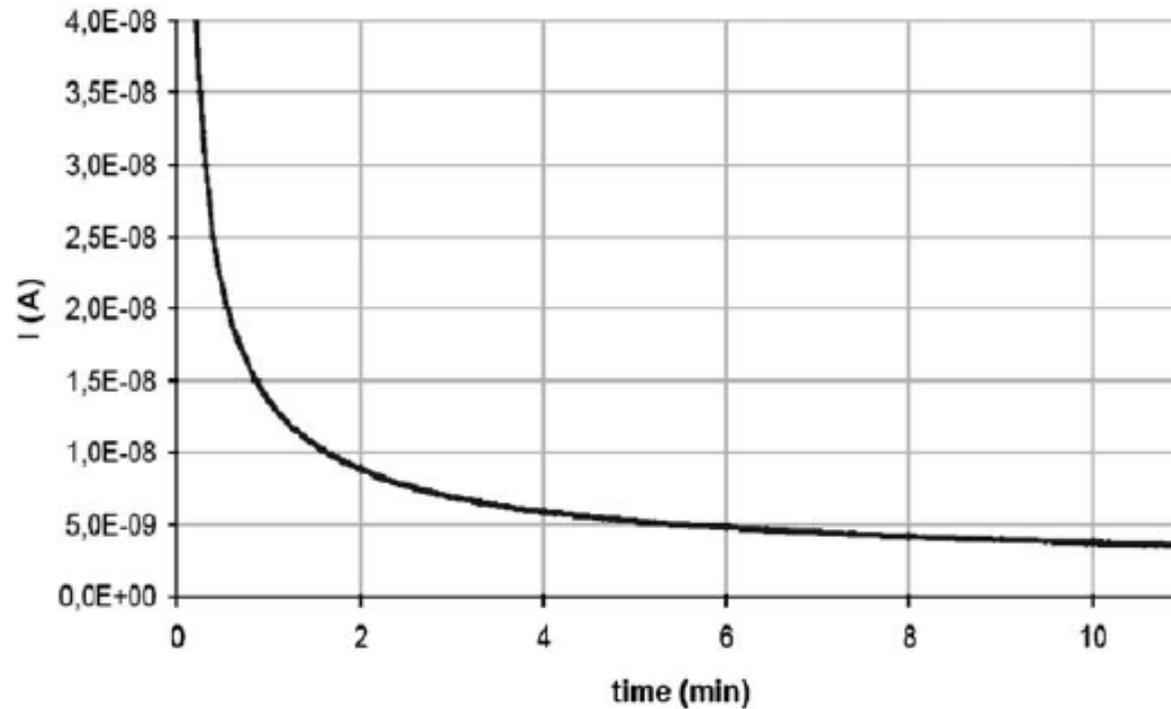
Any of these frequencies vanish if the harmonic Condition  $\omega = \frac{\Omega}{n}$  (6) is matched.

This „zero frequency“ becomes a translation, because the ions loose rotation pulse:

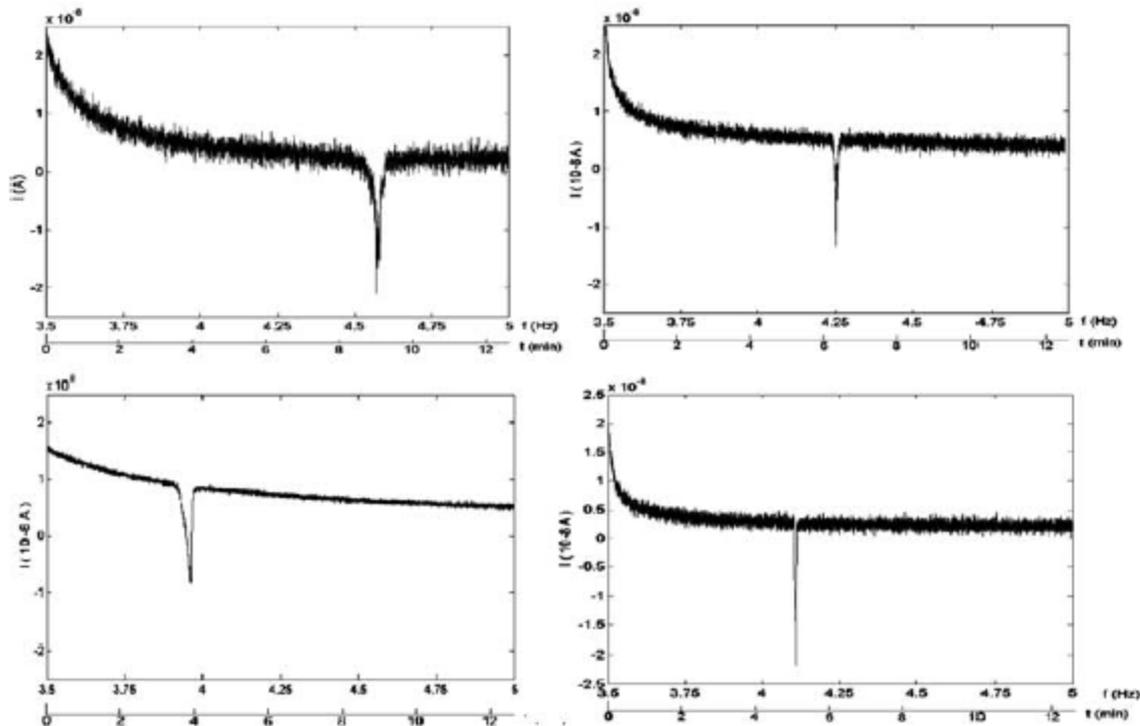
- It must leave the coherent area
- In the incoherent environment it is withdrawn by an external electric field  $E$ .



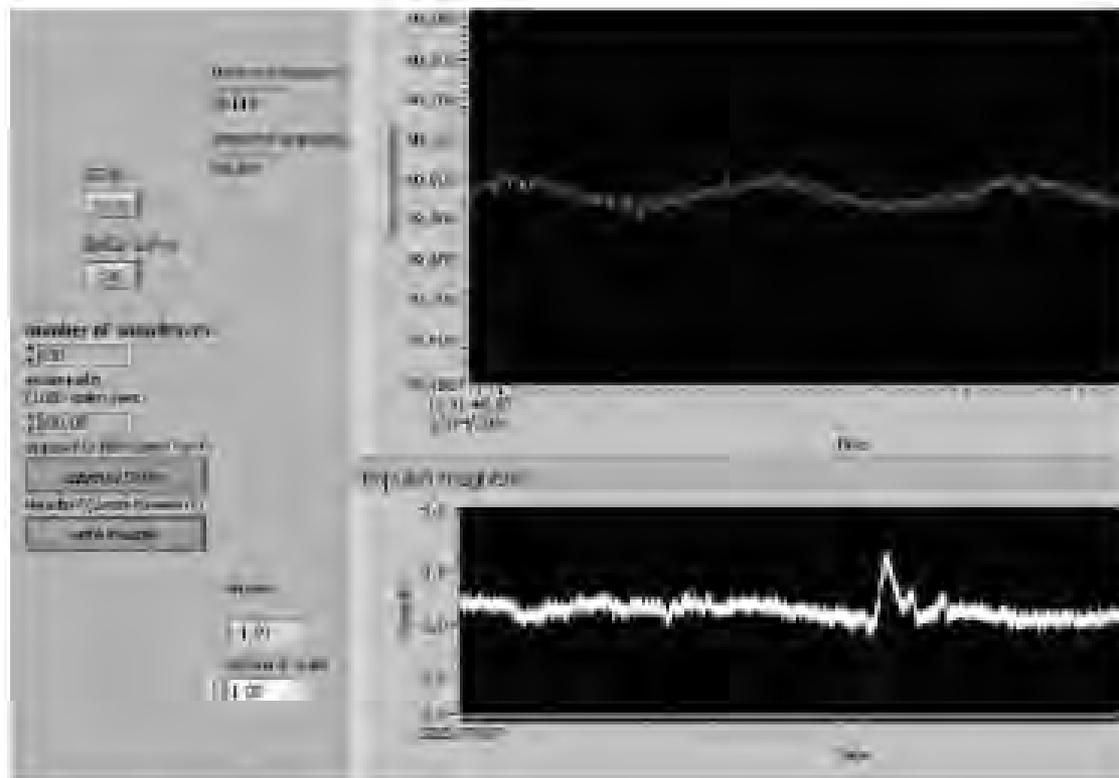
Behavior of ionic electrolytic current as a function of time for a solution of glutamic acid at pH 2.85, at 100 mV, and in the absence of magnetic fields.



In the inserts are reported four typical behaviors of ionic electrolytic current as a function of time and of the corresponding frequency, for a solution of glutamic acid at pH 2.85. The solution is placed in a static magnetic field flux density of 40 mT and a variable alternating magnetic field flux density of 40 nT. The peaks appear near the cyclotron resonance frequency (D. Alberto et al., 2008).







**Figure 5**

**The resonance curve in the experiment with electrodes outside the cell.** Cell with external electrodes and polarization 80 mV, Temperature : 22°C, L- glutamic acid 38 mg/ml, pH 2.89. B: 40  $\mu$ T,  $B_0$  : 40 nT, Sweep time: 100 sec, Total data current recorded : 100 sec, Scan rate : 100 point/sec, Peak resonance frequency 4,119 Hz. The resonance peak with maximum near the cyclotron frequency of about 4.0 Hz. The abscissa: the scanning of frequency of alternating magnetic field. The ordinate: the current in the coil detector.