

ЭМУЛЬСИФИКАЦИЯ РАСТВОРОВ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПОЛИДИМЕТИЛСИЛОКСАНЕ ПДМС-1000

А. Н. Рубан¹
А. И. Казанец¹
Т. В. Крупская²
В. В. Туров²

¹Клиническая офтальмологическая больница
«Центр микрохирургии глаза», Киев, Украина
²Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины, Киев

E-mail: v_turov@ukr.net

Получено 21.11.2013

С целью создания биологически инертных материалов, пригодных для применения в широком диапазоне температур, а также в агрессивных средах методами оптической микроскопии и ЯМР-криометрии изучено эмульгирование водных растворов сывороточного альбумина человека и гиалуроновой кислоты в полидиметилсилоксане ПДМС-1000. Показано, что сывороточный альбумин человека, в отличие от гиалуроновой кислоты, может формировать в силиконовой матрице стойкие эмульсии, размер капель в которых изменяется от 100 до 10000 нм. Присутствие дисперсной фазы (сывороточный альбумин человека или гиалуроновая кислота) существенно повышает температуру таяния полидиметилсилоксана, что, вероятно, обусловлено упорядоченным влиянием микро- и наночастиц биополимеров на локализованные между ними кристаллы полидиметилсилоксана.

В случае диспергирования раствора гиалуроновой кислоты в жидком силиконе наблюдаются только микрокапли водной фазы, а наноразмерные капли либо не образуются, либо присутствуют в количестве, недостаточном для регистрации методом ЯМР-криометрии.

Установлена возможность существенного влияния эмульгированного раствора сывороточного альбумина человека на температуру размораживания ПДМС-1000, что отражается на его оптических параметрах. Этот эффект регистрируется как в области низких температур, так и температуры, близкой к температуре человеческого тела, что может влиять на состояние силикона при использовании его в качестве импланта.

Ключевые слова: ¹H-ЯМР-спектроскопия, силикон, сывороточный альбумин человека, гиалуроновая кислота, кластеры воды.

Полимерные продукты на основе полидиметилсилоксанов широко применяются в медицине в качестве гидрофобных адсорбентов, обладающих высокими адсорбционными свойствами к протеиновым молекулам. Эти материалы биологически инертны и пригодны для применения в широком диапазоне температур, а также в агрессивных средах [1–3]. В последние годы полидиметилсилоксаны (силиконы) активно используют и в качестве биологически инертного, гидрофобного, нетоксичного материала для имплантации, в том числе и в витреоретинальной хирургии при исправлении дефектов, связанных с отслоением сетчатки и другими серьезными заболеваниями [4, 5]. В процес-

се эксплуатации такие импланты контактируют с тканями организма и биологически жидкостями, содержащими кроме воды растворенные полисахариды (гиалуроновая кислота) и протеины (альбумин, коллаген). При этом возможно взаимопроникновение водной и органической фаз с образованием эмульсионных систем типа «вода–масло» или «масло–вода». Эмульгированию могут способствовать произвольные движения мышц, в частности мышц глаза, частота сокращений которых в период короткого сна может достигать нескольких Гц. Механические и оптические свойства имплантов, содержащих микро- и наночастицы воды, могут существенно отличаться от свойств

исходного полимера, что может повлечь за собой послеоперационные осложнения, а это, в некоторых случаях, приводит к необходимости повторных операций.

Если размер капель дисперсной фазы в эмульсии измеряется микронами, их можно регистрировать с помощью оптической микроскопии, которая, в сочетании с компьютерной регистрацией оптического сигнала, позволяет получать увеличение больше тысячекратного. Для капель меньшего размера может быть использована ЯМР-криоскопия [6–12], основанная на изменении температуры фазового перехода «вода–лед» в зависимости от размера капель дисперсной (водной) фазы. В большинстве случаев этот метод используется для определения распределения по размерам пор или капель с радиусом 20–1 000 Å [6–11], что отвечает понижению температуры замерзания воды на 1–30 градусов. Однако незамерзающая вода в спектрах ^1H ЯМР может быть зарегистрирована и при более низких температурах [12–14]. Учитывая, что избыточная энергия кластеров воды, содержащих 100 и более молекул, как и для капель большего размера, сосредоточена на их внешней границе, диапазон измерения радиусов пор (или наночапель воды) может быть расширен вплоть до десятых долей нанометра. Измерения, выполненные на нанопористых кремнеземных и углеродных адсорбентах [12–14], показали удовлетворительное согласование данных, полученных методами низкотемпературной адсорбции азота и ЯМР-криометрии в диапазоне 0,2–100 нм.

Целью работы было изучение эмульгирования растворов сывороточного альбумина человека (САЧ) и гиалуроновой кислоты (ГК) в полидиметилсилоксане ПДМС-1000. В качестве методов исследования использовали оптическую микроскопию и ЯМР-криометрию; первый метод позволяет надежно регистрировать формирование эмульсий с размерами капель 0,1–10 мкм, а второй — 1–100 нм.

Материалы и методы

Исходными материалами служили ПДМС-1000 (Кремнийполимер, Украина) и Oxane 1000 (Bausch+Lomb, Великобритания), которые спектрально не различимы; водные растворы САЧ (10% -й раствор для инъекций); 1,5% -й водный раствор ГК, приготовленный из лиофилизированной ГК (Китай) путем растворения ее точной навески

в дистиллированной воде. Эмульгирование проводили в стеклянных бюксах объемом 10 мл, куда помещали навеску водного раствора САЧ (ГК) и 1 мл ПДМС. Полученную смесь подвергали ультразвуковой обработке (5–7 мин, 293 К). Перед спектральными и микроскопическими измерениями эмульсии выдерживали 2 сут при комнатной температуре. Эмульсии, содержащие САЧ, оставались стабильными, если их концентрация ($C_{\text{САЧ}}$) не превышала 2% мас, а ГК — при $C_{\text{ГК}} < 2\%$ мас. При больших количествах водной фракции наблюдалось расслоение эмульсий на водную и водно-органическую фазы. При этом в нижней части сосуда появлялся слой, обогащенный водой, более тяжелый, чем жидкий силикон. В случае ГК объем водной фракции был небольшим — меньше объема добавляемого водного раствора ГК. При расслоении эмульсий САЧ ($C_{\text{САЧ}} > 2\%$ мас) объем водной фазы существенно увеличивался и превосходил объем добавляемого раствора протеина, что свидетельствовало о формировании в нижней части сосуда эмульсии силикона в водном растворе САЧ.

Микрофотографирование эмульсий проводили с помощью микроскопа Primi Star (Carl Zeiss, Германия) при увеличении $\times 1000$ с использованием иммерсии.

Спектры ЯМР получали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения (Varian Mercury, США) с рабочей частотой 400 МГц. Использовали 90° -зондирующий импульс длительностью 3 мкс. Температура в датчике регулировалась термоприставкой Bruker VT-1000 с точностью ± 1 град. Интенсивность сигналов определяли, измеряя площадь пиков в предположении гауссовской формы сигнала и оптимизации его нулевой линии и фазы с точностью, которая для хорошо разрешенных сигналов была не ниже 5%. Для предотвращения переохлаждения воды и силикона в исследуемых объектах концентрацию незамерзающей воды ($C_{\text{ув}}$) и ПДМС ($C_{\text{ПДМС}}$) измеряли при нагревании образцов, предварительно охлажденных до температуры 200 К. Время установки температуры в каждой точке составляло 5 мин, после чего образец выдерживали 10 мин при постоянной температуре. Методика ЯМР-измерений и определения термодинамических характеристик и радиуса кластеров межфазной воды подробно описана в [11–14]. Замерзшая вода (лед) и ПДМС (в виде ван-дер-ваальсовых молекулярных кристаллов) не наблюдаются в спектрах из-за значительного (на 2–4 по-

рядка) уменьшения времени поперечной релаксации твердых тел по сравнению с жидкостью [15].

Для определения геометрических размеров наночапель воды использовали уравнение Гиббса–Томсона, связывающее радиус каплей (R) со снижением температуры замерзания воды в них:

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_s T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R}, \quad (1)$$

где $T_m(R)$ — температура плавления льда, локализованного в порах радиуса R ; $T_{m,\infty}$ — температура плавления объемного льда; ρ — плотность твердой фазы; σ_s — энергия взаимодействия твердого тела (макромолекулы, лед) с жидкостью; ΔH_f — объемная энтальпия плавления. Это уравнение может быть использовано для вычисления распределения наночапель (кластеров) воды по размерам на основе температурной зависимости величины C_{uw} , полученной методом ^1H ЯМР-спектроскопии с послойным вымораживанием воды, когда применение других методов анализа структурных характеристик наночапель воды затруднительно [12, 13]. Для практического использования уравнение (1) можно представить в виде $\Delta T_m = k/R$, в котором константа k для полимерных систем, содержащих воду, близка к $50 \text{ K}\cdot\text{nm}$, что для пористых тел подтверждается сопоставлением распределений, полученных методом ЯМР-криометрии и низкотемпературной адсорбции азота [12, 13]. Следует отметить, что точность определения радиусов каплей методом ЯМР-криометрии зависит от точности определения температуры, которая в большинстве ЯМР-экспериментов не превышает ± 1 град. Тогда верхним пределом измерения радиуса каплей является $R = 200 \text{ nm}$.

Параллельно проводили измерения с использованием оптической микроскопии, что позволяет определить радиус каплей в дисперсионной среде, размер которых составляет от долей нм до 10 мкм .

Результаты и обсуждение

Микрофотографии эмульсий водного раствора САЧ в силиконе при различных концентрациях водной фазы в диапазоне 1–8% мас приведены на рис. 1. На фотографиях регистрируются микрокапли водной фазы, диаметр большинства из которых на-

ходится в диапазоне 1–3 мкм. С ростом концентрации эмульсии количество каплей в зоне видимости возрастает, причем преимущественно за счет роста числа каплей с диаметром 1–2 мкм. В эмульсиях, склонных к расслаиванию ($C_{САЧ} = 4\text{--}8\%$ мас), наблюдается слияние отдельных каплей, которое приводит к появлению участков с неоднородными оптическими характеристиками, особенно заметными при $C_{САЧ} = 8\%$ мас (рис. 1, з).

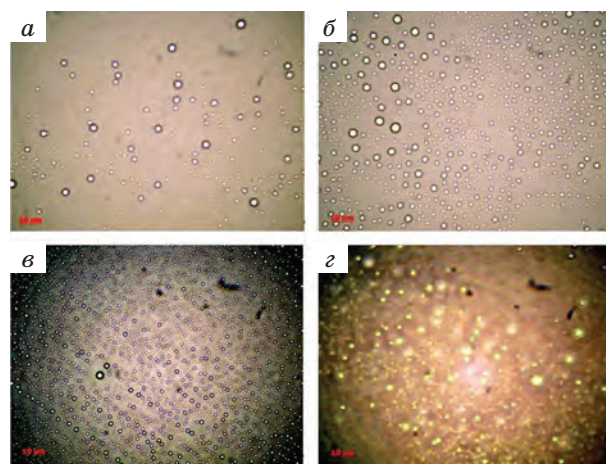


Рис. 1. Микрофотографии эмульсий САЧ в силиконовом масле ПДМС-1000 при концентрации водной фазы:

а — 1% мас; б — 2% мас; в — 4% мас; з — 8% мас

Спектры ^1H ЯМР водной фазы эмульсии раствора САЧ в ПДМС приведены на рис. 2. Химические сдвиги воды измеряли относительно сигнала протонов ПДМС, принятого за 0 м. д. При $C_{САЧ} = 1\%$ мас химический сдвиг воды составляет 5 м. д. и слабо зависит от температуры. С понижением температуры интенсивность сигнала воды уменьшается (из-за ее замерзания) и перестает регистрироваться в спектрах при $T < 260 \text{ K}$. Близкие значения химического сдвига наблюдаются и для более концентрированных эмульсий. С ростом концентрации эмульсии интенсивность сигнала воды растет.

Как отмечалось выше, при $C_{САЧ} = 4\%$ мас эмульсия расслаивается на преимущественно водную и силиконовую фазы, при этом в спектрах появляются два сигнала воды с несколько различающимися значениями химических сдвигов, которые отвечают двум возможным эмульсионным системам — «вода–масло» (более интенсивный сигнал) и «масло–вода» (рис. 2, $C_{САЧ} = 4\%$ мас). Величина химического сдвига воды отвечает сильноассоциированной воде (молекулы ко-

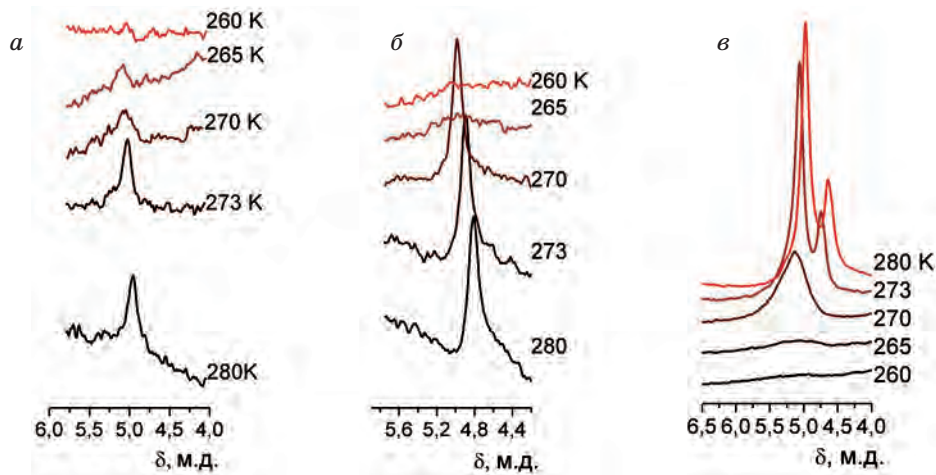


Рис. 2. Снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР водной фракции эмульсии раствора САЧ в ПДМС-1000: *a* — 1% мас; *b* — 2% мас; *c* — 4% мас САЧ

торой принимают участие в формировании двух и более водородных связей), близкой по структуре к жидкой воде [12–14].

Исследование замороженных водных растворов САЧ с разной концентрацией [16, 17] показывает, что его молекулы способны связывать значительное количество воды, которая локализуется внутри глобул в пустотах, сформированных близко расположенными фрагментами биополимерных цепей. Такая вода является сильносвязанной и может не замерзать вплоть до 200 К. Тем не менее, в рамках проведенных экспериментов сильносвязанная вода не регистрируется, что обусловлено необходимостью измерять сигнал воды на фоне значительно более интенсивного (на два порядка) сигнала метильных групп ПДМС. Поэтому можно считать, что регистрируемый сигнал относится преимущественно к микронным и субмикронным каплям раствора САЧ, находящегося в виде эмульсии в ПДМС.

На рис. 3, *a* приведена зависимость изменения концентрации незамерзающей воды от температуры, *b* — рассчитанные на их основе, в соответствии с формулой (1), распределения по радиусам нанокapлей дисперсной фазы. Поскольку количество экспериментальных точек в температурном интервале уменьшения интенсивности сигнала воды от своего максимального значения до нуля было ограничено, для получения более наглядных распределений к имеющимся на рис. 3, *a* точкам в диапазоне температур $265 < T < 273$ К добавляли несколько виртуальных точек, лежащих на сглаженных кривых $C_{uw}(T)$ через 1–2 градуса.

На полученных распределениях $\Delta C_{uw}(R)$ могут быть выделены три–четыре макси-

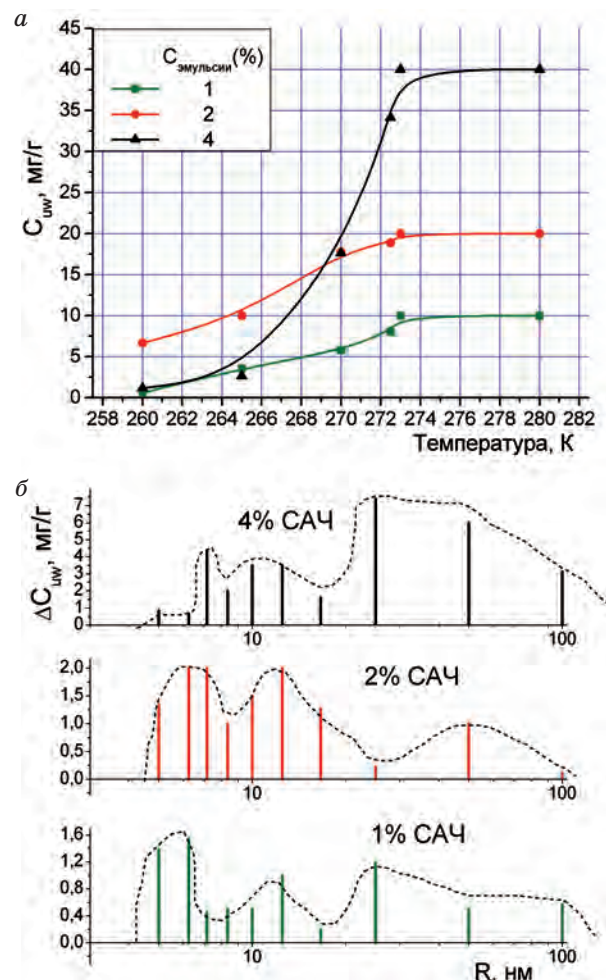


Рис. 3. Зависимость концентрации незамерзающей воды от температуры при разном содержании дисперсной фазы в эмульсиях водного раствора САЧ (*a*) и построенные на их основе распределения по радиусам нанокapлей воды (*b*)

му, отвечающих преимущественному формированию нанокapель определенного размера. В области капель субмикронного размера ($R = 30\text{--}100$ нм) интенсивность и форма максимума зависят от концентрации эмульсии. Максимальная масса капель такого размера фиксируется в эмульсии, содержащей 4% мас САЧ. В наиболее разбавленной эмульсии повышено содержание нанокapель с радиусом $R < 7$ нм. С ростом концентрации дисперсной фазы до 2% мас возрастает максимум с $R = 9\text{--}15$ нм.

Снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР ПДМС приведены на рис. 4. Сигнал метильных групп наблюдается в виде одиночного сигнала неправильной гауссовской формы с химическим сдвигом $\delta_{\text{H}} = 0$ м. д. Искажение формы сигнала обусловлено неоднородностью образца. В области $\delta_{\text{H}} = 5$ м. д. также регистрируется слабоинтенсивный сигнал воды, который при более высокой чувствительности прибора показан на рис. 3. На рис. 5 приведена температурная зависимость концентрации незамерзшей части ПДМС в процессе оттаивания образцов, предварительно охлажденных до 200 К. Кривая размораживания $[C_{\text{ПДМС}}(T)]$ имеет сложный вид. На ней регистрируются две области подъема в температурных диапазонах $230 < T < 240$ К и $260 < T < 280$ К, что свидетельствует о возможности совместного существования твердой и жидкой фаз силикона в широком диапазоне температур. Области роста $C_{\text{ПДМС}}$ разделены плато или участком более медленного роста интенсивности сигнала при повышении температуры

($240 < T < 260$ К). В этом диапазоне температур практически не наблюдается таяние замерзшего ПДМС. Можно предположить, что при $T > 240$ К в жидкой фазе силикона (примерно 75% от общего количества ПДМС-1000) присутствуют кристаллические формы твердого ПДМС, полное таяние которых происходит только при 280 К.

Как следует из данных рис. 5, процесс размораживания ПДМС существенно зависит от количества эмульсионной фазы, что особенно наглядно проявляется при $C_{\text{САЧ}} = 4\%$ мас. В присутствии дисперсной фазы температура размораживания ПДМС-1000 может возрастать на 20–30 градусов. При этом существенно расширяется температурная область совместного существования жидкой и твердой фаз силикона. Ранее подобный эффект наблюдался нами при изучении эмульгирования раствора гиалуроновой кислоты в силиконе ПДМС-5700 [18]. Поскольку плавление молекулярных кристаллов сопровождается эндотермическим эффектом, стабилизация твердой фазы силикона может быть связана с наличием компенсирующей его рост энтропии коллоидной системы.

В отличие от раствора САЧ, эмульсификация раствора ГК в ПДМС-1000 происходит значительно хуже. Даже в системе, содержащей 1% мас раствора ГК, после суток оттаивания визуально фиксируется наличие объемной водной фазы. На рис. 6 представлены микрофотографии ПДМС-1000 после диспергирования в нем раствора ГК. Эмульсия стабильна только при $C_{\text{ГК}} = 0,5\%$

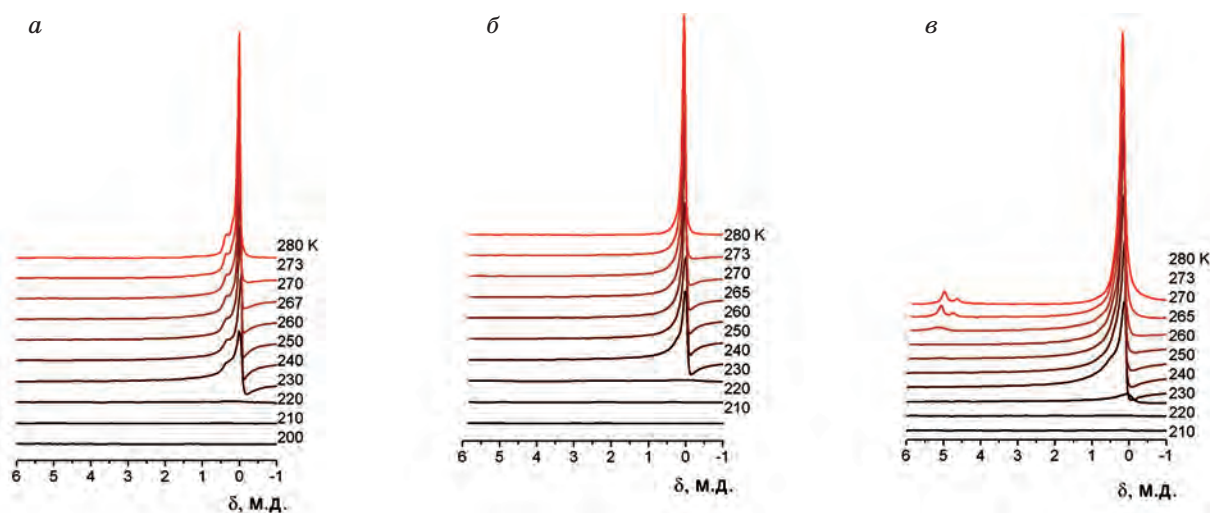


Рис. 4. Снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР ПДМС-1000, содержащие разное количество диспергированного раствора САЧ: 1% (а); 2% (б); 4% (в)

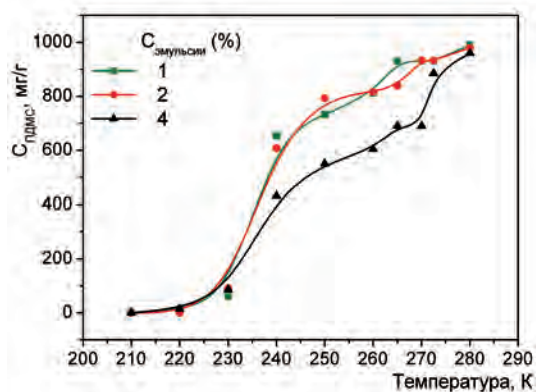


Рис. 5. Температурная зависимость концентрации незамерзшей фазы ПДМС-1000, снятая при разной концентрации диспергированного раствора САЧ

мас. В остальных случаях микроскопические исследования проводили на более легкой фракции коллоида, расположенной в верхней части сосуда. Установлено, что рост количества микрокапель водной фазы в поле зрения и их средние размеры слабо коррелируют с количеством эмульгированного раствора ГК. Вероятно, способность эмульсий «ПДМС–раствор биополимеров» существенно зависит от вязкости силикона, поскольку изученное ранее [18] эмульгирование раствора ГК в более вязком силиконе (ПДМС-5700) проходит без расслаивания вплоть до концентрации дисперсной фазы, равной 4% мас.

На рис. 7 приведены снятые при разной температуре спектры метильных групп ПДМС-1000 и построенная на их основе

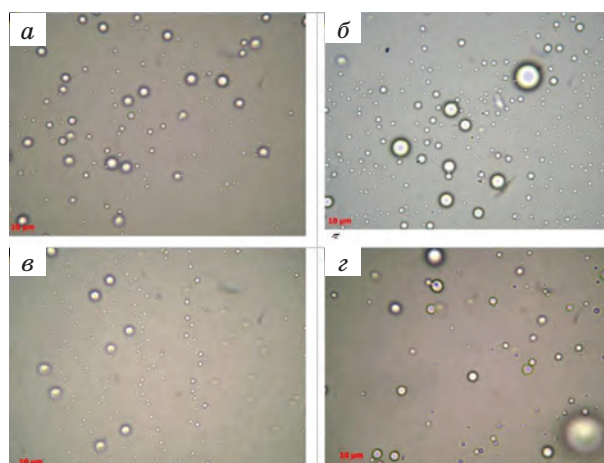


Рис. 6. Микрофотографии эмульсий ГК в силиконовом масле ПДМС-1000 при концентрациях водной фазы: а — 0,5% мас; б — 2% мас; в — 4% мас; г — 8% мас

зависимость концентрации незамерзшего силикона от концентрации дисперсной фазы (рис. 8). Вид кривых зависимости $C_{\text{ПДМС}}(T)$ аналогичен представленным на рис. 5, где наблюдаются два участка размораживания ПДМС в температурных интервалах $230 < T < 240$ К и $260 < T < 280$ К. Очевидно, отсутствие корреляции формы кривой с концентрацией эмульсии обусловлено тем, что в рабочей области ампулы, содержащей эмульсию, сохраняется приблизительно одинаковое соотношение ПДМС и водной эмульсии ГК. При этом объемная фаза раствора ГК не проявляется в спектрах из-за ее малого объема и локализации на дне измерительной ампулы, вне зоны регистрации сигнала ЯМР.

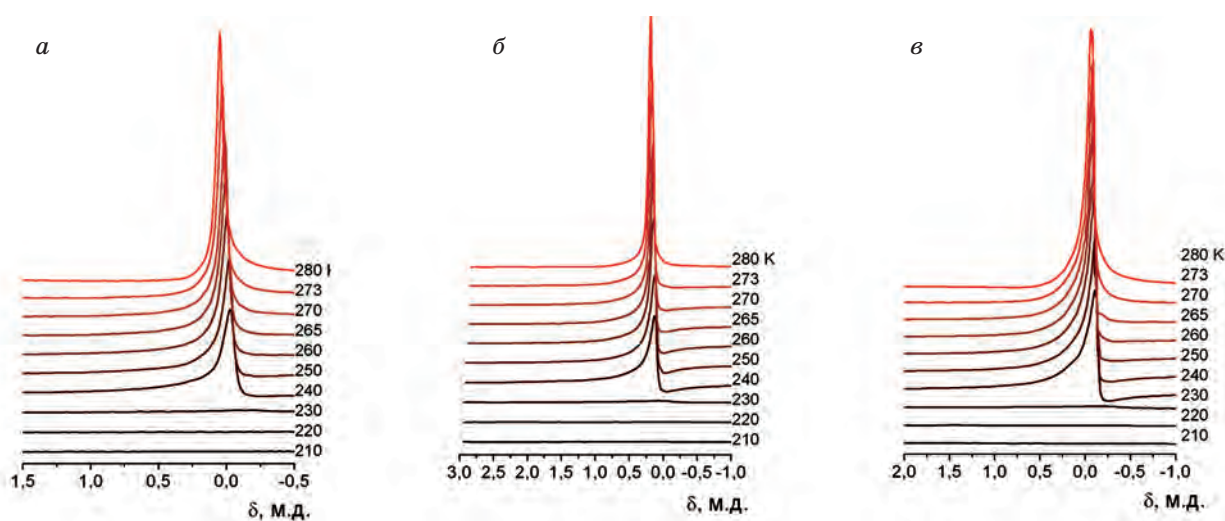


Рис. 7. Снятые при разной температуре спектры метильных групп ^1H ЯМР ПДМС-1000, содержащие разное количество диспергированного раствора ГК: 0,5% (а); 2% (б); 8% (в)

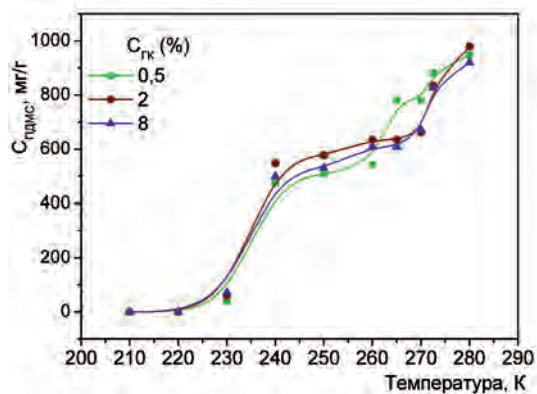


Рис. 8. Температурная зависимость концентрации незамерзшей фазы ПДМС-1000, снятая при разной концентрации диспергированного раствора ГК

Замерзший силикон с диспергированными в нем микрокаплями биополимерных эмульсий представляет собой гидрофобный материал с развитой поверхностью, который граничит с гидрофильной поверхностью капель дисперсной фазы, находящихся в твердом или жидком состоянии. Можно предположить, что именно свойства границы раздела фаз способны влиять на температуру фазового перехода дисперсионной среды. Для проверки этого предположения была исследована система ПДМС-1000/Si-100, где силикон заполнял более половины порового пространства силикагеля Si-100, суммарный объем пор которого составлял $1,2 \text{ см}^3/\text{г}$ [13].

На рис. 9 приведены снятые при разной температуре спектры силикона в матрице SiO_2 (а), рассчитанная на их основе зависимость изменения количества незамерзшего ПДМС-1000, отнесенного к массе кремнезема (б), и взятое из [13] распределение по ра-

диусам пор силикагеля Si-100, рассчитанное на основе низкотемпературной адсорбции азота (в). Гидратированность поверхности кремнезема осуществлялась путем добавления к высушенному при 200°C кремнезему 1,5% мас воды, которая могла равномерно распределяться по поверхности, связываясь с силанольными группами, концентрация которых для Si-100 составляет 2,6 ОН-группы на 1 нм^2 [19].

Из данных рис. 9, а, б следует, что незамерзающий ПДМС-1000 присутствует во всей области изменения температуры. При этом можно выделить две температурные области ($T < 250 \text{ K}$ и $T > 250 \text{ K}$, области А и Б, соответственно), в которых существуют разные состояния адсорбированного силикона. Область А характеризуется относительно медленным ростом с температурой незамерзшего ПДМС-1000. Сравнивая интенсивность сигналов незамерзшего силикона в кремнеземной матрице (рис. 9, а) и в коллоидных системах (рис. 4 и 7), можно заключить, что количество ПДМС-1000, не замерзающего при низких температурах (область А на рис. 9, б), существенно выше. Это может быть связано с адсорбционными взаимодействиями ПДМС-1000/ SiO_2 , которые понижают температуру замерзания жидкостей.

Если предположить, что при проникновении силикона в поровое пространство силикагеля первыми заполняются поры меньшего размера (в которых выше адсорбционный потенциал), то поровое пространство Si-100, занятое силиконом, соответствует части распределения по радиусам пор, ограниченного на рис. 9, в заштрихованной областью. Как следует из данных рис. 9, б, полное плавление силикона наблюдается только при $T = 300 \text{ K}$,

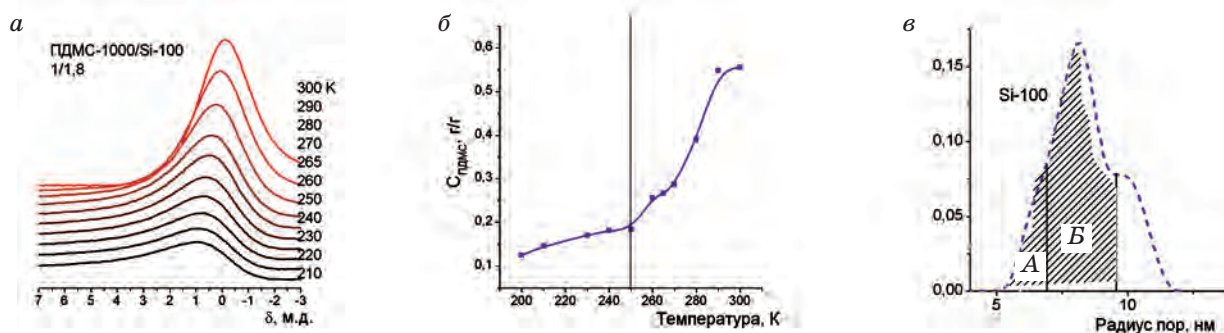


Рис. 9. Снятые при разной температуре спектры силикона: в матрице SiO_2 (а); зависимость изменения количества незамерзшего ПДМС-1000, отнесенного к массе кремнезема (б); распределение по радиусам пор силикагеля Si-100, рассчитанное на основе низкотемпературной адсорбции азота (в); А и Б: области с $T < 250 \text{ K}$ и $T > 250 \text{ K}$, соответственно

что значительно выше температуры плавления объемного силикона (область *Б* на рис. 9, б). ПДМС в порах силикагеля следует рассматривать как некую фрактальную структуру, характеристические размеры которой определяются геометрией порового пространства адсорбента. Тогда есть основание полагать, что именно рост поверхности контакта силикона с гидратированной поверхностью ответственен за повышение температуры его размораживания.

Таким образом, диспергирование раствора САЧ в среде ПДМС-1000 при $C_{САЧ} < 2\%$ мас сопровождается формированием устойчивых эмульсий, в которых размер капель водной фазы может составлять от

10 мкм до 5 нм. В случае диспергирования раствора ГК в жидком силиконе наблюдаются только микрокапли водной фазы, а наноразмерные капли либо не образуются, либо присутствуют в количестве, недостаточном для регистрации методом ЯМР-криометрии.

Кроме того, обнаружена возможность существенного влияния эмульгированного раствора САЧ на температуру размораживания ПДМС-1000, что отражается на его оптических параметрах. Этот эффект регистрируется как в области низких температур, так и температуры, близкой к температуре человеческого тела, что может влиять на состояние силикона при использовании его в хирургии в качестве импланта.

REFERENCES

1. Unger K. K. Porous silica: its properties and use in column liquid chromatography. Amsterdam: Elsevier. 1979, 336 p.
2. Jesinowski T., Krysztafkiewicz A. Preparation of the hydrophilic/hydrophobic silica particles. *Colloid Surface A: Phys. Chem Engin. Aspects*. 2002, V. 207, P. 49–58.
3. *Medical Chemistry and clinical applications of silica dioxide*. A. A. Chuiko ed. Kyiv: Naukova dumka. 2003, 415 p. (In Russian)
4. Castellarin A, Grigorian R., Bhagat N., Priore L. D., Zarbin M. A. Vitrectomy with silicone oil infusion in severe diabetic retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.* 2003, V. 87, P. 318–321.
5. Kirchhof B., Tavakolian U., Paulmann H., Heimann K. Histopathological findings in eyes after silicone oil injection. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1986, V. 224, P. 34–37.
6. Strange J. H., Rahman M., Smith E. G. Characterization of porous solids by NMR. *Phys. Rev. Lett.* 1993, V. 71, P. 3589–3591.
7. Strange J. H., Allen S. G., Stephenson P. C. L., Matveeva N. P. Phase equilibria of absorbed liquids and the structure of porous media. *Magn. Reson. Imag.* 1996, V. 14, P. 963–965.
8. Strange J. H., Mitchell J., Webber J. B. W. Pore surface exploration by NMR. *Magn. Reson. Imag.* 2003, V. 21, P. 221–226.
9. Aksnes D. W., Kimtys L. H and H NMR studies of benzene confined in porous solids: melting point depression and pore size distribution. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* 2004, V. 25, P. 146–152.
10. Khokhlov A. G., Valiullin R. P., Stepovich M. A., Kärger J. NMR crioporometry and adsorption methods for characterization of pore size distribution in porous silica. *Kolloidnyj zh.* 2008, 70(4), 550–557. (In Russian).
11. Petrov O. V. Furo I. NMR cryoporometry: Principles, application and potential. *Progr. NMR.* 2009, V. 54, P. 97–122.
12. Gun'ko V. M., Turov V. V., Gorbik P. P. Water at the interfaces. *Kyiv: Naukova dumka.* 2009, 694 p. (In Russian).
13. Turov V. V., Gun'ko V. M. Clustered water and ways of its applications. *Kyiv: Naukova dumka.* 2011, 313 p. (In Russian).
14. Gun'ko V. M., Turov V. V., Bogatyrev V. M., Zarko V. I., Leboda R., Goncharuk E. V., Novza A. A., Turov A. V., Chuiko A. A. Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic Interfaces. *Adv. Colloid. Interf. Sci.* 2005, V. 118, P. 125–172.
15. Pople J. A., Schneider W. G., Bernstein H. J. High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance. *New York: McGraw-Hill Book Company.* 1959. P. 165–180.
16. Turov V. V., Rugal A. O., Gun'ko V. M. Supramolecular structures with participants of blood polypeptides and highly dispersed silica particles. *Chem. Phys. and Technol. of Surface.* 2007, V. 2, P. 357–391. (In Russian).
17. Turov V. V., Galagan N. P., Rugal A. P. Sugars influence on serum albumin hydration at low temperatures. *Biophysics.* 2007, 52(5), 780–784. (In Russian).
18. Ruban A. M., Kazanets A. I., Krupskaya T. V., Turov V. V. Interphase interaction of vitreoretinal silicone with a solution of hyaluronic acid. *Med. Chem.* 2012, V. 14, P. 44–47. (In Ukrainian).
19. Tertykh V. A., Belyakova L. A. Chemical reactions with silica surface participant. *Kyiv: Nauk. dumka,* 1991, 246 p. (In Russian).

ЕМУЛЬСИФІКАЦІЯ РОЗЧИНІВ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ ЛЮДИНИ ТА ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ В ПОЛІДИМЕТИЛСИЛОКСАНІ ПДМС-1000

*A. M. Рубан¹
A. I. Казанець¹
T. V. Крупська²
B. V. Туров²*

¹Клінічна офтальмологічна лікарня
«Центр мікрохірургії ока», Київ, Україна

²Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка
НАН України, Київ

E-mail: *v_turov@ukr.net*

З метою створення біологічно інертних матеріалів, придатних для застосування в широкому діапазоні температур, а також в агресивних середовищах методами оптичної мікроскопії та ЯМР-криометрії вивчено емульгування водних розчинів сироваткового альбуміну людини і гіалуронової кислоти в полідиметилсилоксані ПДМС-1000. Показано, що сироватковий альбумін людини, на відміну від гіалуронової кислоти, може формувати в силіконовій матриці стійкі емульсії, розмір крапель в яких змінюється від 100 до 10 000 нм. Присутність дисперсної фази (сироваткового альбуміну людини чи гіалуронової кислоти) істотно підвищує температуру танення полідиметилсилоксану, що, ймовірно, зумовлено впорядкованим впливом мікро- та нанокрапель біополімерів на локалізовані між ними кристали ПДМС.

У разі диспергування розчину гіалуронової кислоти в рідкому силіконі спостерігаються тільки мікрокраплі водної фази, а нанорозмірні краплі або не утворюються, або присутні в кількості, недостатній для реєстрації методом ЯМР-криометрії.

Встановлено можливість істотного впливу емульгованого розчину сироваткового альбуміну людини на температуру танення ПДМС-1000, що виявляється на його оптичних параметрах.

Цей ефект реєструється як у ділянці низьких температур, так і температури, близької до температури тіла людини, що може впливати на стан силікону в разі використання його як імплантата.

Ключові слова: ¹H ЯМР-спектроскопія, силікон, сироватковий альбумін людини, гіалуронова кислота, кластери води.

THE EMULSIFICATION OF HUMAN SERUM ALBUMIN AND HYALURONIC ACID SOLUTIONS IN POLYDIMETHYLSILOXANE PDMS-1000

*A. M. Ruban¹
A. I. Kazanets¹
T. V. Krupskaya²
V. V. Turov²*

¹Clinical eye hospital «Eye microsurgery
center», Kyiv, Ukraine

²Chuiko Institute of Surface Chemistry
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

E-mail: *v_turov@ukr.net*

To create a biologically inert material suitable for use in a wide range of temperatures and in corrosive environments, the methods of optical microscopy and NMR-cryometry were used for investigation of emulsification of solutions of human serum albumin and hyaluronic acid in polymethylsiloxane PDMS-1000. Unlike hyaluronic acid, human serum albumin forms persistent emulsions in the silicon matrix, whose size of the droplets varies from 100 to 10 000 nm. The presence of dispersed phase (human serum albumin or hyaluronic acid) increases significantly melting temperature of polydimethylsiloxane. It is probably due to ordering influence of micro- and nanodrops of biopolymers on PDMS crystals localized between them.

In case of dispersion of hyaluronic acid solution in liquid silicone only microdroplets of the aqueous phase are observed and nanosized droplets either didn't form or were in amount not sufficient to be detected by NMR cryometry.

The possibility of a significant influence of human serum albumin emulsified solution on PDMS-1000 defrosting temperature is revealed, that is impacted on its optical parameters. This effect is recorded both in the low temperature region and at temperature close to human body, which might influence on silicone state when it is used as implant.

Key words: ¹H NMR-spectroscopy, silicone, human serum albumin, hyaluronic acid, water clusters.