

НЕОРГАНИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ
И НАНОМАТЕРИАЛЫ

УДК 616.71;617-089.844

СИНТЕЗ БИОАКТИВНОГО В-СОДЕРЖАЩЕГО СТЕКЛА
И СТЕКЛОКЕРАМИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ПУТЕМ ПИРОЛИЗА
ЖИДКОЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ФАЗЫ

© 2020 г. Д. Н. Грищенко^а, М. А. Медков^а, Е. К. Папынов^{а, *}, А. Б. Слободюк^а,
Е. Б. Меркулов^а, Ю. Е. Скурихина^б

^аИнститут химии ДВО РАН, пр-т 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690022 Россия

^бТихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России,
пр-т Острякова, 2, Владивосток, 690002 Россия

*e-mail: papunov@mail.ru

Поступила в редакцию 03.10.2019 г.

После доработки 24.10.2019 г.

Принята к публикации 28.10.2019 г.

В работе представлен оригинальный способ синтеза биоактивного стекла 45S5 Bioglass и стеклокерамики на его основе, легированных 5, 15, 25 и 60 мас. % бора, путем пиролиза смеси органических прекурсоров тетраэтоксисилана, трибутилфосфата, олеата натрия и олеата кальция в жидкой фазе. Высокое содержание бора (>25 мас. %) достигнуто замещением части SiO₂ на B₂O₃ в составе образцов за счет использования высококонцентрированного органического раствора бора, полученного жидкостно-твердофазной экстракцией. Состав и физико-химические характеристики полученных биообразцов исследованы методами ИК-спектроскопии, ЯМР на ядрах ³¹P, ¹¹B, ²⁹Si, РФА, РЭМ и ЭДС. Проведена оценка антибактериальных свойств биостекел при формировании на их поверхности биопленок условно-патогенных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* различной морфологии в зависимости от концентрации бора в составе образцов. Перспектива представленного метода заключается в возможности синтеза биосовместимых борсодержащих стекол в виде объемных материалов, а также тонкослойных покрытий на поверхности и внутрипористом объеме инертных керамик, что позволит решать задачи в области костной имплантологии современной медицины.

Ключевые слова: биостекло, стеклокерамика, биоактивные покрытия, борсодержащие биоматериалы, пиролиз органических растворов, антибактериальная активность

DOI: 10.31857/S0044457X20030058

ВВЕДЕНИЕ

Потребность медицины в материалах, используемых для замены или регенерации костной ткани, служит стимулом для разработки различных биоматериалов, в том числе и биоактивных стекол [1–4]. Биоактивные стекла относятся к классу керамики, способной взаимодействовать с костными тканями организма. Биостекло запускает реакции организма, отвечающие за восстановление костного дефекта за счет медленного растворения компонентов биостекла. Продукты растворения стимулируют пролиферацию остеогенных клеток, что способствует воспроизводству новых тканей. В процессе растворения на поверхности биостекла формируется биологически активный слой нанокристаллического гидроксипатита, который обеспечивает прочную связь искусственного материала с костью и мягкими тканями [4–6].

Состав биостекел с оптимальными биосовместимыми свойствами (отсутствие токсичности, биоактивность в процессах остеокондукции и остеоиндукции, биорезорбируемость и др.) предложен Л. Хенчем под маркой “45S5 Bioglass” и включает в мас. %: 45 SiO₂, 24.5 Na₂O, 24.5 CaO, 6 P₂O₅ [7]. Однако в ряде исследований доказано, что биоактивные стекла, легированные бором, имеют еще более высокую биологическую активность, улучшенную биосовместимость и антибактериальные свойства по сравнению с традиционным биостеклом [8, 9]. Роль бора в организме человека определяется его участием в обмене жиров, углеводов, гормонов и витаминов. Кроме того, регулируя паратиреоидный гормон, бор косвенно воздействует на обмен магния, кальция, фосфора и витамина D, а также вовлечен в метаболизм костных тканей и принимает активное участие в ее формировании. Более того, бор влияет на жизненно важные процессы, включая эмбриогенез, рост костей и психо-

Таблица 1. Состав стекла 45S5

Состав	Содержание, мас. %	Реагент	Количество, г
Na ₂ O	24.5	C ₁₈ H ₃₃ O ₂ Na	2.088
SiO ₂	45	C ₈ H ₂₀ O ₄ Si	1.354
CaO	24.5	C ₃₆ H ₆₆ O ₄ Ca	2.285
P ₂ O ₅	6	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	0.195

моторные навыки [10, 11]. Известно, что борсодержащее биостекло вызывает повышенную пролиферацию остеобластов в клетках [10], а контролируемое высвобождение бора из биостекла способствует улучшенной регенерации костных тканей [12, 13].

Для получения биостекла, в том числе содержащих бор, чаще используют золь-гель методы [12, 14, 15]. Однако процесс приготовления золя из исходных реагентов является достаточно длительным и занимает от одного дня [16] до одной недели [15]. Применяют также метод получения стекла в расплаве [17, 18]. Для этого используют смеси из SiO₂, H₃BO₃, CaCO₃, Na₂CO₃ и NaH₂PO₄ · 2H₂O или SiO₂, Na₂O, CaO, P₂O₅, B₂O₃, которые плавят при 1300–1450°C. Указанные методы не позволяют получать покрытия из биоактивного стекла, повторяющие форму пор на пористых биоинертных носителях. В частности, предложенным в [16] методом получают порошок биоактивного стекла, поскольку пропитать гелем пористую керамику невозможно.

Метод пиролиза органических растворов был использован в работе [12] для получения каркасов из борсодержащих биоактивных стекол. Для этого готовили растворы, содержащие тетраэтилортосиликат, нитрат кальция, трибутилборат, триэтилфосфат и соляную кислоту в этаноле. Этим раствором несколько раз пропитывали полиуретановую губку и обжигали при температуре 700°C. В результате были получены пористые структуры содержащие мезо- и макропоры. Таким образом, использование органических растворов, содержащих компоненты стекла, позволяет пропитывать пористые структуры и получать биоактивные слои или каркасы. Но необходимо отметить, что в составе стекла, предложенного в работе [12], отсутствует такой важный компонент костной ткани, как натрий.

В связи с этим очевидный интерес может представлять способ прямого пиролиза органических растворов широкого компонентного состава, оригинальность которого заключается в возможности синтеза как объемных биостекол, так и тонкослойных биопокрытий на инертных керамических носителях с глубоким проникновением в их пористый объем, представляющих практический интерес в костной имплантологии.

Целью настоящего исследования явилась разработка способа синтеза биоактивных стекол состава 45S5 Bioglass, легированных 5, 15, 25 и 60 мас. % бора, и тонкослойных биопокрытий на их основе на пористой инертной керамике пиролизом органических прекурсоров в жидкой фазе. Оценка антибактериальных свойств биостекол в зависимости от содержания бора.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы. Для получения биостекол использовали олеат натрия (C₁₈H₃₃O₂Na, 98%), олеат кальция (C₃₆H₆₆O₄Ca, 98%), скипидар (сульфатный, очищенный для органического синтеза), тетраэтоксисилан (C₈H₂₀O₄Si, 99.5%), трибутилфосфат (C₁₂H₂₇O₄P, 99%), бензол (C₆H₆, 99.8%). Для получения органического раствора бора использовали борную кислоту (H₃BO₃, 99.8%), три-*n*-октиламин (C₂₄H₅₁N, 98%) и 1-октанол (C₈H₁₈O, 99%).

Методика синтеза. В органический раствор, содержащий олеат натрия в скипидаре и тетраэтоксисилан, добавляли органический раствор олеата кальция в скипидаре с бензолом и трибутилфосфатом. Борную кислоту растворяли при температуре 180°C в смеси три-*n*-октиламина (ТОВА) и 1-октанола (Ос) с соотношением ТОВА : Ос = 1 : 1. Далее органический раствор, содержащий бор, в заданных пропорциях смешивали с раствором, содержащим остальные компоненты стекла. Борсодержащее биоактивное стекло получено замещением части SiO₂ на B₂O₃ в составе биостекла 45S5 Bioglass (табл. 1).

После смешивания всех необходимых компонентов выполняли отгонку растворителя при температуре 150–200°C. Полученную массу (прекурсор) переносили в тигель, подвергали пиролизу, нагревая в муфельной печи до 1300°C со скоростью 7 град/мин и выдерживали при этой температуре в течение 20 мин. После этого образец переносили в камеру отжига с температурой 520–550°C, выдерживали при этой температуре 2 ч, а затем охлаждали до комнатной температуры.

Микробиологические исследования. Микробиологические исследования (антибактериальная активность) заключались в оценке степени нарастания бактериальной пленки *Pseudomonas aeruginosa* на поверхности образцов биостекол с содержанием 0, 5, 15 мас. % B₂O₃. Образцы размещали в жидкой питательной среде с бактериальной культурой. Культивирование проводили при 37°C в течение 48 ч. Фиксацию биопленки на образце осуществляли путем промывки в 4%-ном формальдегиде с 1%-ным раствором фосфатного буфера и последующим воздействием 1%-ным раствором тетраоксида осмия в течение 1 ч. Обеззараживание проводили с помощью последователь-

ной обработки в этаноле различной концентрации и при соответствующей экспозиции (30% – 10 мин, 50% – 10 мин, 70% – 10 мин, 96% – 10 мин, 100% – 20 мин), а затем в ацетоне 20 мин. Морфологию сформированных биопленок изучали с помощью электронной микроскопии на приборе Carl Zeiss Ultra 55 (Германия) с катодом на полевой эмиссии при ускоряющих напряжениях 1–5 кВ и токе пучка $I \approx 100$ пА.

Методы исследования. Рентгенофазовый анализ (РФА) образцов проводили на дифрактометре D8 Advance Bruker AXS (Германия) в $\text{CuK}\alpha$ -излучении с графитовым монохроматором. Кристаллические фазы образующихся на разных стадиях синтеза стекол определяли с использованием программы поиска EVA по базе порошковых данных PDF-2. Для исследования качественного и количественного элементарного состава, а также морфологии образцов использовали метод растворяющей электронной микроскопии (РЭМ). РЭМ-изображения образцов получали на электронном сканирующем микроскопе S5500 Hitachi (Япония). ИК-спектры регистрировали на вакуумном ИК-спектрометре Vertex 70V фирмы Bruker (Германия) при помощи приставки нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО или ATR) в диапазоне частот 350–4000 см^{-1} . Спектры ЯМР и MAS ЯМР ^{11}B , ^{29}Si , ^{31}P регистрировали на спектрометре Avance AV-300 Bruker (Германия) при температуре 305 К. Частота вращения образца в MAS-экспериментах составляла 7 кГц. Измерение химических сдвигов (ХС) резонансных линий проводили методом замещения с использованием в качестве стандарта $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2 \cdot \text{BF}_3$ (^{11}B), тетраметилсилана (^{29}Si) и 85%-ной H_3PO_4 (^{31}P). Ошибка измерения ХС составляла 1.0 м.д. Разложение спектра на компоненты гауссовой формы проводили в самостоятельно разработанной программе с использованием модифицированного метода минимизации Ньютона. Ошибка подгонки кривой не превышала 8% от ее площади. Температуру стеклования T_g определяли методом дифференциальной сканирующей калориметрии на калориметре DSC-204 Netzch (Германия) в температурном интервале 30–650°C в платиновых тиглях, скорость нагревания 10 град/мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее для получения биостекол нами был предложен метод пиролиза органических растворов [19, 20]. В качестве растворимых в органических растворителях компонентов стекла были использованы тетраэтоксисилан, трибутилфосфат и олеаты натрия и кальция. Отмечен ряд преимуществ получения биостекол этим методом. Метод позволяет вводить в стекло допирующие компоненты. Их удобно вводить в виде экстрактов в ор-

ганических растворителях [21]. Для получения борсодержащего биостекла метод жидкостной экстракции не применялся, так как бор плохо экстрагируется из водных растворов. В связи с этим нами разработан метод жидкостно-твердофазной экстракции бора: борную кислоту растворяли в смеси ТОА с Ос при нагревании. При этом установлено что в Ос борная кислота не растворяется, но с ТОА она образует полибораты триоктиламмония с мольным отношением В : ТОА > 3. Именно они растворяются в органических растворителях, в частности в Ос. Метод жидкостно-твердофазной экстракции позволяет получить высококонцентрированный органический раствор бора: до 40 мас. % H_3BO_3 в смеси ТОА с Ос.

В настоящей работе исследованы условия получения и некоторые свойства борсодержащей стеклокерамики, полученной методом пиролиза органических растворов. Получены образцы с содержанием оксида бора 5, 15, 25 и 60 мас. %.

Рентгенофазовый анализ при обжиге прекурсоров с различным содержанием B_2O_3 в зависимости от температуры выявил фазы, представленные в табл. 2. Начиная с 500°C наряду с аморфной фазой образуются фосфаты натрия, кальция и комбеиты, среди которых, в соответствии с [22], соединение $\text{Na}_4\text{Ca}_4\text{Si}_6\text{O}_{18}$, которое может рассматриваться как предшественник фазы ($\text{Na}_{15.78}\text{Ca}_3(\text{Si}_6\text{O}_{12})$).

Предлагаемый метод позволяет варьировать содержание бора в широком диапазоне и получать стекла или стеклокерамику различных составов. При увеличении содержания бора в стекле, вероятно, происходит вытеснение фосфатного аниона из силикатной сетки стекла. Об этом свидетельствуют данные РФА для стекол с содержанием оксида бора >25% (табл. 2). Следует отметить появление в стекле фазы гидроксипатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, который является основной минеральной составляющей костной ткани, также активно синтезируется и исследуется учеными в качестве биоматериала [23]. При повышении температуры обжига гидроксипатит трансформируется в оксипатит, который впоследствии при взаимодействии со средой организма снова переходит в гидроксипатит.

В качестве примера на рис. 1 приведены дифрактограммы продуктов обжига прекурсора с 5%-ным содержанием B_2O_3 при различных температурах. В интервале температур 500–1000°C в продуктах обжига на фоне рентгеноаморфной фазы присутствуют в основном две фазы: Ca_2SiO_4 и $\text{Na}_4\text{Ca}_4(\text{Si}_6\text{O}_{18})$, а при увеличении содержания бора в стекле появляются фазы фосфатов кальция, что, вероятно, говорит о вытеснении последних из силикатной сетки стекла. Это, как будет показано ниже, подтверждается данными MAS ЯМР ^{31}P .

Таблица 2. Обжиг прекурсоров при различных температурах

Состав прекурсора, мас. %	Фазы при обжиге			
	500°C	700°C	1000°C	1300°C
45 SiO ₂ , 24.5 Na ₂ O, 24.5 CaO, 6 P ₂ O ₅	p/a* Na ₂ CaSi ₃ O ₈ Na ₃ PO ₄ Ca ₂ SiO ₄ · Ca ₃ (PO ₄) ₂	p/a Na ₂ CaSi ₃ O ₈ Na ₃ PO ₄ Ca ₂ SiO ₄ · Ca ₃ (PO ₄) ₂	p/a Na ₂ CaSi ₃ O ₈ Na ₃ PO ₄ Ca ₂ SiO ₄ · Ca ₃ (PO ₄) ₂	p/a
40 SiO ₂ , 24.5 Na ₂ O, 24.5 CaO, 6 P ₂ O ₅ , 5 B ₂ O ₃	p/a Ca ₂ SiO ₄ Na ₄ Ca ₄ (Si ₆ O ₁₈)	p/a Ca ₂ SiO ₄ Na ₄ Ca ₄ (Si ₆ O ₁₈)	p/a Ca ₂ SiO ₄ Na ₄ Ca ₄ Si ₆ O ₁₈	p/a
30 SiO ₂ , 24.5 Na ₂ O, 24.5 CaO, 6 P ₂ O ₅ , 15 B ₂ O ₃	p/a Ca ₂ SiO ₄ Na _{15.78} Ca ₃ (Si ₆ O ₁₂)	p/a Ca ₂ SiO ₄ Na _{15.78} Ca ₃ (Si ₆ O ₁₂)	p/a Ca ₂ SiO ₄ Na _{15.78} Ca ₃ (Si ₆ O ₁₂)	p/a
20 SiO ₂ , 24.5 Na ₂ O, 24.5 CaO, 6 P ₂ O ₅ , 25 B ₂ O ₃	p/a	p/a Na ₆ Ca ₃ Si ₆ O ₁₈ Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	p/a Na ₆ Ca ₃ Si ₆ O ₁₈ Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ O	p/a Рефлексы Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ O
13.2 SiO ₂ , 7.4 Na ₂ O, 15.6 CaO, 3.8 P ₂ O ₅ , 60 B ₂ O ₃	p/a	p/a Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	p/a Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ O	p/a Рефлексы Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ O

*p/a – рентгеноаморфная фаза.

Температура стеклования образцов колеблется в пределах 520–550°C (табл. 3). Для снятия напряжений и предотвращения растрескивания образцов полученные стекла во время охлаждения подвергали изотермической выдержке при температуре 520–550°C. Полученные при 1300°C стекла обнаруживают тенденцию к кристаллизации при дополнительной изотермической выдержке выше

650°C. Основной наблюдаемой фазой в продуктах кристаллизации стекла является Na₆Ca₃Si₆O₁₈, а при повышении содержания B₂O₃ > 5% дополнительно кристаллизуется Na₆Ca₃(PO₄)_{5/2}. При изотермической выдержке полученных образцов в камере отжига с температурой 700–750°C в зависимости от времени выдержки возможно получение как

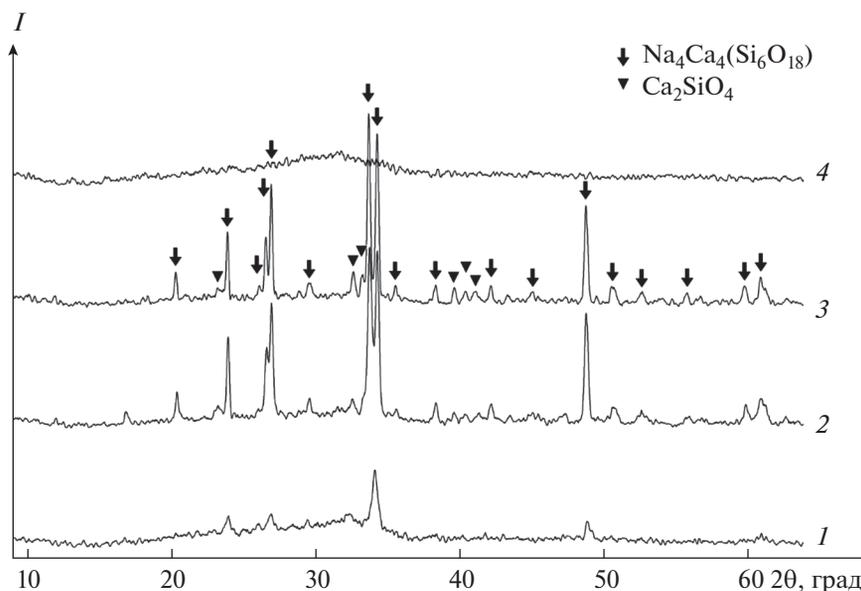


Рис. 1. Дифрактограммы прекурсора с 5%-ным содержанием B₂O₃ после обжига при различных температурах: 1 – 500, 2 – 700, 3 – 1000, 4 – 1300°C.

Таблица 3. Характеристики борсодержащего стекла

B_2O_3 , мас. %	Температура стеклования T_g , °C	Отжиг стекла при температуре, °C	Фазы после отжига
0	539	750	$Na_6Ca_3Si_6O_{18}$
5	527	750	$Na_6Ca_3Si_6O_{18}$
15	519	750	$Na_6Ca_3Si_6O_{18}$ $Na_6Ca_3(PO_4)_{5/2}$
25	533	700	$Na_6Ca_3Si_6O_{18}$ $Na_6Ca_3(PO_4)_{5/2}$
60	546	700	Рентгеноаморфная $Na_6Ca_3Si_6O_{18}$ $Ca_{10}(PO_4)_6O$

керамики, так и стеклокерамики, содержащей фазы фосфатов и силикатов кальция (табл. 3), что должно повышать их биоактивность.

Стекла, содержащие 5, 15, 25 мас. % оксида бора, прозрачны (рис. 2), рентгеноаморфны и содержат все компоненты: кремний, кислород, натрий, кальций, фосфор и бор. В энергодисперсионном спектре бор дает очень слабый сигнал. Например, пик углерода на рис. 2б соответствует 0.282 кэВ с интенсивностью 100 усл. ед., 15% оксида бора в образце дают сигнал, соответствующий 0.185 кэВ с интенсивностью 20 усл. ед. Таким образом, он практически сливается с фоновым сигналом.

В ИК-спектрах стекол в области 900–1100 cm^{-1} имеются две интенсивные полосы поглощения с максимумами при 941 и 1045 cm^{-1} , относящиеся к колебаниям ν_3 связей Si–O (рис. 3). Колебания ν_2 связей Si–O представлены интенсивной полосой при 474 cm^{-1} , а колебания ν_1 – двумя полосами с максимумами при 721 и 768 cm^{-1} . Расщепление полосы валентных колебаний ν_3 связей Si–O свидетельствует о наличии в составе стекла различных

тетраэдров $[SiO_4]$. Известно, что чем больше степень связности тетраэдров друг с другом, тем в более высокочастотной области будет находиться основной максимум поглощения. У силикатов с островной структурой тетраэдры $[SiO_4]$ непосредственно не связаны друг с другом и основной максимум поглощения находится в области 880–950 cm^{-1} . У каркасных силикатов с наиболее высокой степенью полимеризации кремнекислородных тетраэдров эта полоса сдвигается в высокочастотную область до 1100–1120 cm^{-1} . Таким образом, на основании данных ИК-спектроскопии можно сделать заключение, что в составе полученного нами стекла имеются тетраэдры $[SiO_4]$ с различной степенью полимеризации.

В ИК-спектрах (рис. 3) стекол присутствует также полоса поглощения с максимумом при 1375 cm^{-1} , которая относится к асимметричным валентным колебаниям ν_3 связей В–О. С увеличением содержания бора в стекле интенсивность этой полосы возрастает, а полос, относящихся к колебаниям связей Si–O, снижается. В соответствии с [24], полосы поглощения, отвечающие валентным колебаниям ν_3 связей В–О, при тригональном окруже-

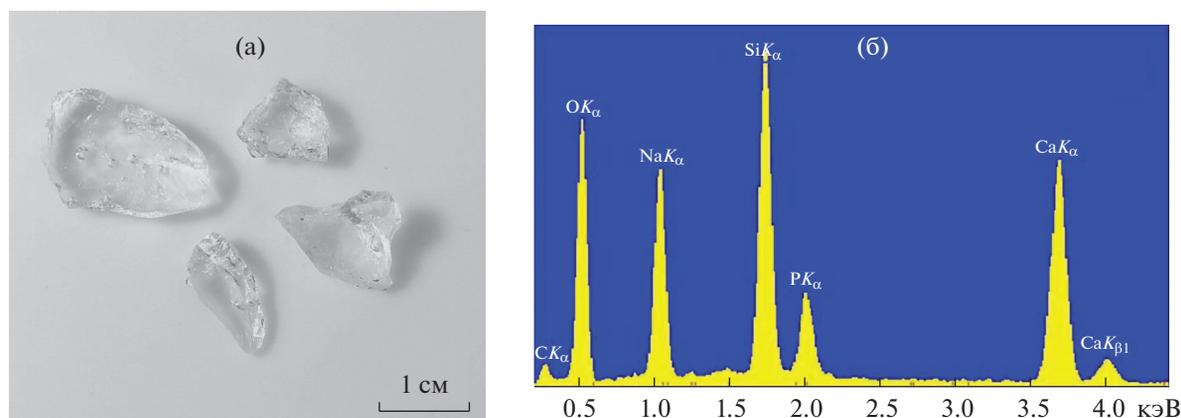


Рис. 2. Фотография (а) и энергодисперсионный спектр (б) борсодержащего биостекла.

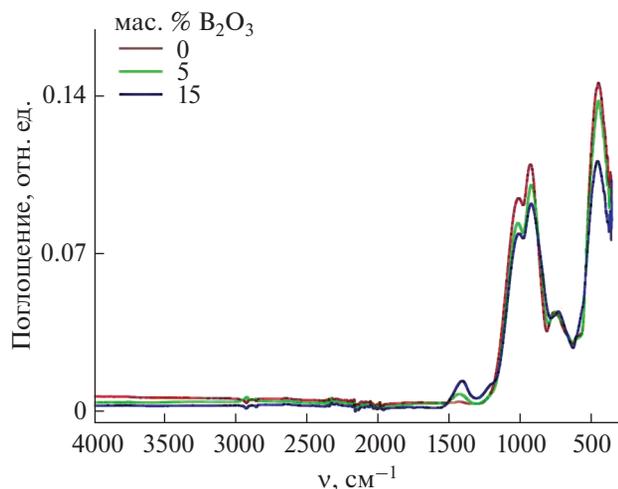


Рис. 3. ИК-спектры образцов стекла, содержащих 0, 5 и 15 мас. % B_2O_3 .

нии бора находятся вблизи 1300 см^{-1} , в то время как при тетраэдрическом окружении это поглощение смещено в область более низких частот ($800\text{--}1100\text{ см}^{-1}$), которая перекрывается полосами поглощения с участием колебаний связей Si–O. На основании этого можно сделать вывод о наличии в составе полученных нами стекол тригонально-координированных боратных групп.

Спектры MAS ЯМР ^{11}B биостекол, содержащих 5 и 15 мас. % B_2O_3 (рис. 4), имеют по две компоненты различной ширины. Узкие компоненты гауссовой формы со сдвигами -0.6 и -1.2 м.д., имеющие полуширину ~ 300 Гц, можно отнести к атомам бора $B^{(4)}$ в тетраэдрическом окружении мостиковых атомов кислорода [25]. Широкие компоненты, имеющие тот же сдвиг, вероятно, соответствуют атомам $B^{(3)}$ группировок BO_3^{3-} , для которых высокие значения градиента электрического поля приводят к эффектам второго порядка в спектрах ЯМР ^{11}B . Поскольку интенсивность компонент невелика, их форма также моделировалась гауссовыми кривыми, полуширина которых составляла ~ 2 кГц. Отношение интегральных интенсивностей узкой и широкой компонент, взятое без учета боковых линий от вращения образца, составило $30 : 70$ для биостекла с 15%-ным со-

Таблица 4. Интегральные интенсивности (I) сигналов в спектрах MAS ЯМР ^{29}Si исследованных стекол

B_2O_3 , мас. %	$I(Si^{(2)})$	$I(Si^{(3)})$	$I(Si^{(4)})$
	%		
15	52	42	6
5	41	51	8

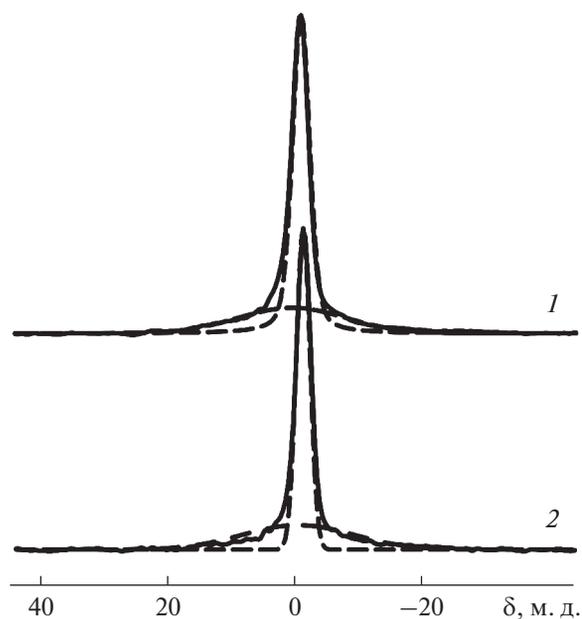


Рис. 4. Спектры MAS ЯМР ^{11}B в стеклах: 15 мас. % B_2O_3 (1) и 5 мас. % B_2O_3 (2).

держанием B_2O_3 и $40 : 60$ для биостекла с 5%-ным содержанием B_2O_3 . Полученные отношения можно считать оценкой относительного содержания упомянутых групп в стеклах.

Спектры MAS ЯМР ^{29}Si (рис. 5) могут быть разложены на три компоненты с ХС -88 , -95 и -105 м.д., соответствующими группировкам Si(2), Si(3) и Si(4) [25]. Соотношение интегральных интенсивностей сигналов приведено в табл. 4. Наблюдаемое распределение интенсивностей характерно для стекол, содержащих наряду с SiO_2 несколько стеклообразователей [24, 25].

В спектрах MAS ЯМР ^{31}P (рис. 6) наблюдаются сигналы с ХС 5.5 и 1 м.д., соответствующие полностью деполимеризованным группировкам PO_4^{3-} ($P^{(0)}$) и группировкам $P^{(1)}$, сохраняющим связь P–O–P и входящим в состав фосфатной стекольной сетки. Соотношения интегральных интенсивностей сигналов составляют $79 : 21$ и $75 : 25$ для стекол 45B15S5 и 40S5B5 соответственно. Положения и интенсивности сигналов согласуются с литературными данными для стекол близкого состава: $24.6Na_2O\text{--}26.7CaO\text{--}27.7SiO_2\text{--}18.4B_2O_3\text{--}2.6P_2O_5$ и $24.6Na_2O\text{--}26.7CaO\text{--}41.5SiO_2\text{--}4.6B_2O_3\text{--}2.6P_2O_5$ [22]. Поскольку концентрация P_2O_5 в исследованных нами составах выше, содержание групп $P^{(1)}$ также более высокое, а сигналы несколько смещены в область сильного поля. Можно отметить, что, как и в работе [26], имеется тенденция к компенсации одного стеклообразователя другим: при уменьшении содержания B_2O_3 в стекле относительная

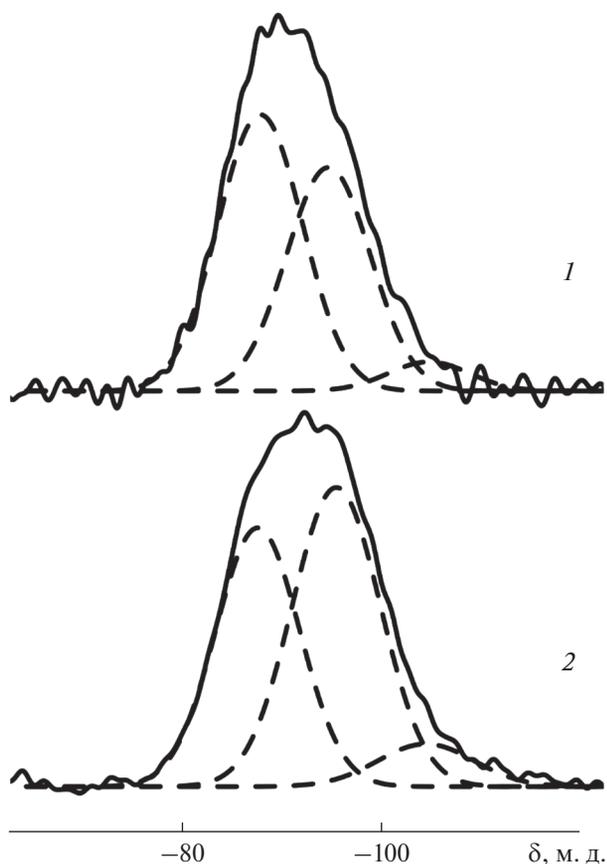


Рис. 5. Спектры MAS ЯМР ^{29}Si стекл: 15 мас. % B_2O_3 (1) и 5 мас. % B_2O_3 (2).

концентрация мостиковых фосфатных групп возрастает.

Как известно, биостекла по своим механическим свойствам уступают костной ткани (низкая прочность на растяжение и сопротивление к удару, хрупкость и др.). Для костного эндопротезирования лучше использовать прочную пористую биоинертную керамику, аналогичную предложенной в работе [27], пропитанную органическим раствором, содержащим все компоненты биоактивного стекла. На рис. 7 и 8 приведены микрофотографии и энергодисперсионные спектры исходной керамики из $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ и керамики, пропитанной биостеклом, с содержанием оксида бора 15% с последующим обжигом при 1300°C . В энергодисперсионном спектре появились линии компонентов стекла, а интенсивность сигнала алюминия значительно снизилась. Из приведенных рисунков видно, что после нанесения биостекла на поверхность образца и его прокаливании на керамике образуется тонкий биоактивный слой стекла, не нарушающий морфологию поверхности носителя. Такой биоактивный слой должен способствовать возникновению анатомической взаимосвязи между изменяющейся живой

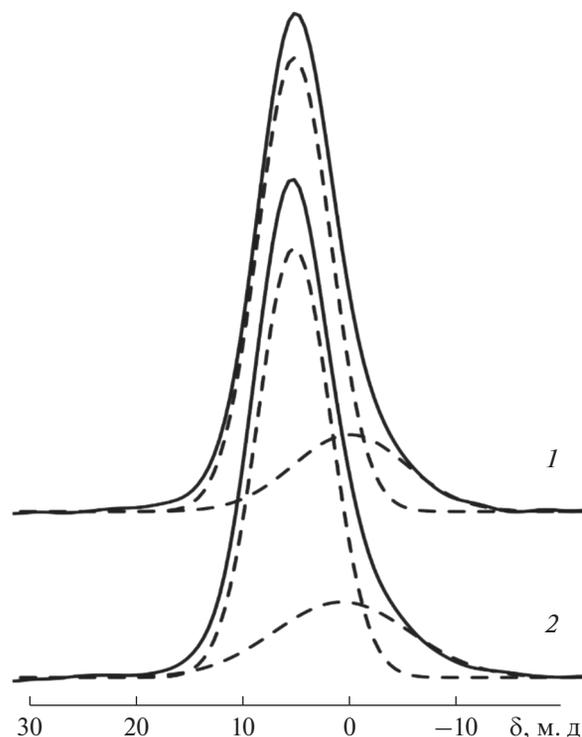


Рис. 6. Спектры MAS ЯМР ^{31}P стекл: 15 мас. % B_2O_3 (1) и 5 мас. % B_2O_3 (2).

костью и поверхностью импланта. Необходимо подчеркнуть, что, как показано выше, при дополнительном отжиге при температуре $700\text{--}750^\circ\text{C}$ на поверхности керамики в составе стеклофазы могут быть сформированы кристаллы фосфатов кальция, что должно способствовать повышению биоактивности покрытий.

Существуют литературные данные по исследованию биоактивности и цитотоксичности стекла 45S5В, полученного золь-гель методом [15]. Было установлено, что цитотоксичность этого стекла не превышает цитотоксичность стекла 45S5, что указывает на его безопасность для применения в биомедицинской области. Исследования разных авторов показывают, что биостекла имеют большой потенциал в лечении хронического остеомиелита, например, S53P4 обладает выраженной антибактериальной активностью в отношении штаммов возбудителей хронического остеомиелита MRSA, MRSE, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, эффект обусловлен влиянием биостекла на микробные биопленки. Стекло S53P4 оказывает сильное ингибирующее действие на все протестированные патогены. Стекло CaPSiO_2 показывает умеренные антибактериальные свойства [28–30].

В настоящем исследовании нами изучена способность различных составов борсодержащего биоактивного стекла влиять на формирование

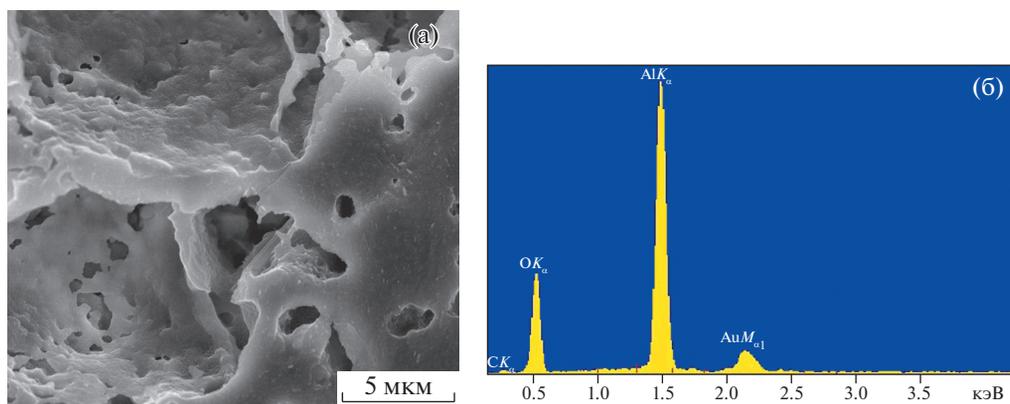


Рис. 7. РЭМ-изображение (а) и ЭДС-спектр (б) образца из $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$.

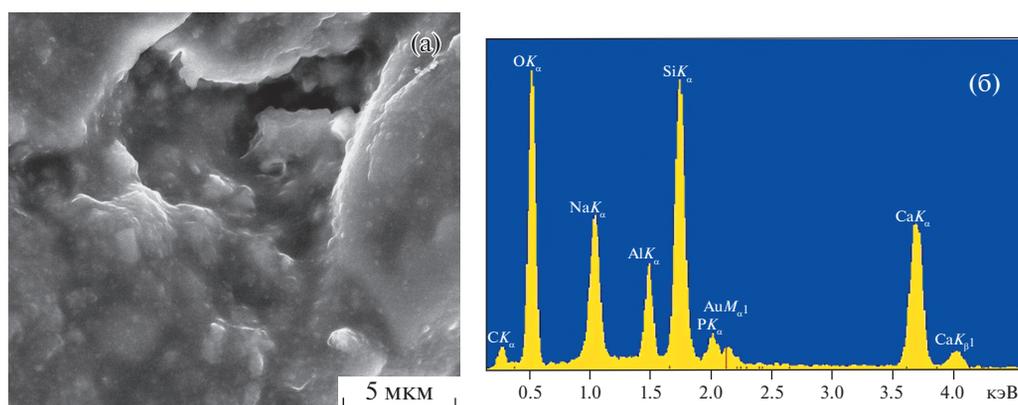


Рис. 8. РЭМ-изображение (а) и ЭДС-спектр (б) образца из $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, покрытого биостеклом.

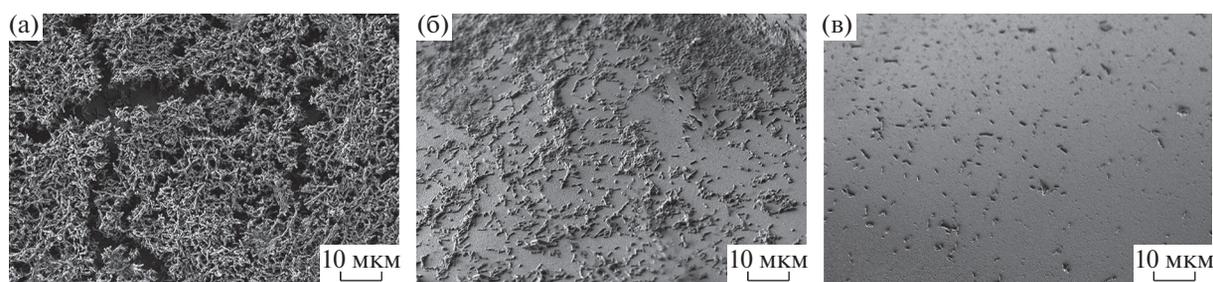


Рис. 9. РЭМ-изображения бактериальной пленки на образцах биостеклол: а – 0 мас. % B_2O_3 ; б – 5 мас. % B_2O_3 ; в – 15 мас. % B_2O_3 .

бактериальной биопленки, образуемой на исследуемом материале мультирезистентным бактериальным штаммом *Pseudomonas aeruginosa*. Обнаружена заметная разница в антибиопленочной активности образцов. Данные сканирующей микроскопии свидетельствуют о значительном уменьшении биомассы и уменьшении общего объема клеток в биопленках *P. aeruginosa* с увеличением процентного содержания в образцах B_2O_3 (рис. 9).

На образце, представленном на рис. 9а, наблюдаются участки толстой биопленки, и даже единичные клетки развивают выраженные пилы адгезии. На следующем образце (рис. 9б) биопленка гораздо более тонкая, разреженная, адгезивные пилы практически не видны, много деформированных, по-видимому, погибших клеток. На образце, показанном на рис. 9в, биопленка не сформирована, видны не связанные между собой одиночные бактериальные клетки, пилей нет.

Скорее всего, это не активное начало образования биопленки, а просто случайно оставшиеся бактерии из питательной среды. Можно сделать вывод, что B_2O_3 в составе биостекла обладает антибактериальными и антибиопленочными свойствами. B_2O_3 можно рассматривать как эффективный компонент биоактивных стекол для профилактики и лечения связанных с биопленками инфекций протезов костей и суставов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реализован оригинальный способ синтеза борсодержащего биостекла “45S5 Bioglass” и стеклокерамики на его основе, который заключается в пиролизе смеси органических прекурсоров тетраэтоксисилана, трибутилфосфата, олеата натрия и олеата кальция в жидкой фазе. Получены образцы биостекла объемного типа и в виде тонкослойных покрытий на пористом керамическом носителе $\gamma-Al_2O_3$ с содержанием оксида бора 5, 15, 25 и 60 мас. %. Введение бора в состав образцов достигнуто использованием высококонцентрированного органического раствора бора, приготовленного жидкостной твердофазной экстракцией. По результатам РФА показано, что состав образцов включает кальцийфосфатные биокомпоненты в виде апатита и гидроксиапатита, формируемые в зависимости от температурных режимов прокаливания. По данным ИК-спектроскопии установлено, что биостекла имеют тетраэдры $[SiO_4]$ с различной степенью полимеризации, а бор организуется в виде тригонально-координированных боратных групп. Наличие, тип и соотношение кремнийфосфатных и бороксидных группировок в составе образцов определено методом ЯМР на ядрах ^{31}P , ^{11}B , ^{29}Si . Выявлена тенденция к компенсации одного стеклообразователя другим, например, увеличение концентрации мостиковых фосфатных групп в структуре стекла при уменьшении количества вводимого в синтез бора. Методом РЭМ изучена морфология покрытий биостекла на пористом $\gamma-Al_2O_3$ отмечено наличие плотного слоя биостекла на внутренней поверхности пор, содержащего кальций и фосфор по данным ЭДС. Исследованы антибактериальные свойства борсодержащих биостекол. Установлено, что повышение концентрации B_2O_3 в составе образцов препятствует образованию бактериальных пленок *Pseudomonas aeruginosa* на его поверхности.

Показано, что предлагаемый пиролизный способ формирования биостекол из органических растворов в виде объемного материала и тонкослойных покрытий на пористой поверхности керамических носителей является простым и менее длительным по сравнению с золь-гель процессом, а получаемые образцы представляют пер-

спективу для костной имплантологии современной медицины.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного заказа Институту химии ДВО РАН (проект № 265-2019-0002), исследование антибактериальных свойств биостекла — при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-73-10107).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Rahaman M.N., Day D.E., Bal B.S. et al.* // Acta Biomater. 2011. V. 7. № 6. P. 2355. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.03.016>
2. *Gerhardt L.-C., Boccaccini A.R.* // Materials (Basel). 2010. V. 3. № 7. P. 3867. <https://doi.org/10.3390/ma3073867>
3. *Kaur G., Pandey O.P., Singh K. et al.* // J. Biomed. Mater. Res.: A. 2014. V. 102. № 1. P. 254. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34690>
4. *Chen Q.Z., Thompson I.D., Boccaccini A.R.* // Biomaterials. 2006. V. 27. № 11. P. 2414. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.11.025>
5. *El-Rashidy A.A., Roether J.A., Harhaus L. et al.* // Acta Biomater. 2017. V. 62. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.030>
6. *Medkov M.A., Rudnev V.S., Grishchenko D.N. et al.* // Bioglass: Properties, Functions and Applications. Nova Science Publisher, Inc. 2016. P. 55.
7. *Hench L.L.* // Biomed. Glass. 2015. V. 1. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1515/bglass-2015-0001>
8. *Balasubramanian P., Buttner T., Miguez P.V. et al.* // J. Eur. Ceram. Soc. 2018. V. 38. № 3. P. 855. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2017.11.001>
9. *Wu C., Chang J.* // J. Control Release. 2014. V. 193. P. 282. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.026>
10. *Rico P., Rodrigo-Navarro A., Salmerón-Sánchez M.* // Tissue Eng.: A. 2015. V. 21. № 21–22. P. 2662. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2015.0044>
11. *Sych O., Gunduz O., Pinchuk N. et al.* // J. Austral. Ceram. Soc. 2016. V. 52. P. 103. <https://austceram.com/wp-content/uploads/2016/06/13-JACS-52-2-Faiki-103-110.pdf>
12. *Wu C., Miron R., Sculean A. et al.* // Biomaterials. 2011. V. 32. № 29. P. 7068. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.009>
13. *Yang Q., Chen S., Shi H. et al.* // Mater. Sci. Eng.: C. 2015. V. 55. P. 105. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.05.049>
14. *Delioanli A.M., Yildirim M.* // J. Australian Ceramic Soc. 2016. V. 52. № 2. P. 9. <https://pdfs.semanticscholar.org/90bb/521db626c2cad31bcd4888574c8273e1f85c.pdf>

15. *Furlan R.G., Correr W.R., Costa Russi A.F. et al.* // J. Sol-Gel Sci. Technol. 2018. V. 88. № 1. P. 181. <https://doi.org/10.1007/s10971-018-4806-8>
16. *Jie Q., Lin K., Zhong J. et al.* // J. Sol-Gel Sci. Technol. 2004. V. 30. № 1. P. 49. <https://doi.org/10.1023/B:JSST.0000028196.09929.a3>
17. *Huang W., Day D.E., Kittiratanapiboon K. et al.* // J. Mater. Sci.: Mater. Med. 2006. V. 17. № 7. P. 583. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-9220-z>
18. *Sakthi Prasad, Susmit Datta, Tarun Adarsh et al.* // J. Non-Cryst. Solids. 2018. V. 498. P. 204. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2018.06.027>
19. *Medkov M.A., Grishchenko D.N., Rudnev V.S. et al.* // Glass Ceram. 2014. V. 70. Iss. 11-12. P. 417. <https://doi.org/10.1007/s10717-014-9593-2>
20. *Медков М.А., Грищенко Д.Н., Стеблевская Н.И. и др.* // Хим. технология. 2013. Т. 14. № 5. С. 257.
21. *Medkov M.A., Grishchenko D.N., Kuryavyi V.G. et al.* // Glass Ceram. 2018. V. 75. Iss. 7-8. P. 322. <https://doi.org/10.1007/s10717-018-0079-5>
22. *Volzone C., Stabile F.M.* // New J. Glass Ceramics. 2013. V. 3. P. 53. <https://doi.org/10.4236/njgc.2013.31009>
23. *Solonenko A.P., Blesman A.I., Polonyankin D.A. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2018. V. 63. № 8. P. 993. <https://doi.org/10.1134/S0036023618080211>
24. *Shmurak S.Z., Kedrov V.V., Kiselev A.P. et al.* // Phys. Solid State. 2015. V. 57. P. 1588. <https://doi.org/10.1134/S1063783415080326>
25. *Eckert H.* // J. Sol-Gel Sci. Technol. 2018. V. 88. № 2. P. 263. <https://doi.org/10.1007/s10971-018-4795-7>
26. *Yu Y., Edén M.* // RSC Adv. 2016. V. 6. № 103. P. 101288. <https://doi.org/10.1039/c6ra15275a>
27. *Yamanovskaya I.A., Gerasimova T.V., Agafonov A.V.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2018. V. 63. № 9. P. 1125. <https://doi.org/10.1134/S0036023618090218>
28. *Andersson O.H., Rosenquist J., Karlsson K.H.* // J. Biomed. Mater. Res. 1993. V. 27. P. 941. <https://doi.org/10.1002/jbm.820270713>
29. *Drago L., Romanò D., De Vecchi E. et al.* // BMC Infect Dis. 2013. V. 13. P. 584. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-584>
30. *Drago L., Vassena C., Fenu S. et al.* // Future Microbiol. 2014. V. 9 № 5. P. 593. <https://doi.org/10.2217/fmb.14.20>