
**Silica-Nanopartikel mit speziellen Eigenschaften
für die Herstellung dentaler Kompositmaterialien**

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades

Doktor der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.

genehmigte Dissertation

von

Dipl.-Chem. Hendrik Fullriede

geboren am 09.05.1985 in Sulingen

2015

Referent: Prof. Dr. Peter Behrens

Korreferent: Prof. Dr. Henning Menzel

Tag der Promotion: 19.01.2015

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Peter Behrens für die Möglichkeit bedanken meine Forschungsarbeit im Rahmen einer interdisziplinären Kooperation durchzuführen. Vielen Dank für die sehr gute und persönliche Betreuung sowie für die Gelegenheit, meine Ergebnisse auf unterschiedlichen nationalen und internationalen Tagungen vorstellen zu dürfen.

Herrn Prof. Dr. Henning Menzel danke ich für die Übernahme des Korreferats und die stets sehr gute Zusammenarbeit im Teilprojekt D12 des SFB 599.

Herrn Prof. Dr. Scheper danke ich für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Frau Prof. Dr. Meike Stiesch danke ich ebenfalls für die sehr gute Zusammenarbeit im Teilprojekt D12 und die Hilfe bei (zahn-)medizinischen Problemstellungen.

Außerdem möchte ich allen weiteren Mitgliedern des Teilprojekts D12 danken für die gute Kooperation, die interdisziplinären Hilfestellungen und die vielen konstruktiven fachlichen Diskussionen. Vielen Dank dafür an Michaela Jahns, Nina Rubens, Christoph Hübsch und Dr. Lothar Borchers. Sebastian Grade, Katharina Doll, Jörn Schaeske und Dr. Andreas Winkel danke ich zusätzlich noch für die vielen *in vitro*-Untersuchungen und deren Auswertung. Dr. Michael Eisenburger danke ich für die Korrekturen hinsichtlich zahnmedizinischer Gesichtspunkte. Allen weiteren SFB-Mitgliedern vielen Dank für den wissenschaftlichen Austausch und die Möglichkeit zur interdisziplinären Weiterbildung.

Ein besonderer Dank gilt Nico Timpe für die Herstellung zahlreicher Kompositproben, die Durchführung und Auswertung der mechanischen Tests, einer sehr guten Zusammenarbeit und vielen tollen Tagungen.

Den jetzigen und ehemaligen Mitgliedern des AK Behrens möchte ich für das einmalige Arbeitsklima, die selbstverständliche Hilfsbereitschaft, zahlreiche Fachgespräche, zahllose Kaffeeraumaktivitäten und die wunderschöne Zeit danken! Vielen Dank für die vielen Messungen und Auswertungshilfen. Songül Noyun, Natalja Wendt und Jann Lippke danke ich für die Sorptionsmessungen. Katharina Nolte und Sergej Springer sei für die TG-Messungen gedankt. Weiterhin möchte ich mich bei Dr. Britta Hering, Dr. Imke Bremer, Dr. Janosch

Cravillon, Gesa Zahn und Maria Schweinefuß für ihre Zeit am PC-REM bedanken. Dr. Sina Williams und Alexandra Satalov danke ich für ihre Hilfestellung bei den IR-Messungen. Dr. Christian Schröder und Philip Zerner danke ich für die Hilfe bezüglich Fotografie. Sebastian Fessel, Sebastian Lilienthal und Thomas Asche danke ich für die Hilfe bei Computerproblemen. Dr. Michael Wiebcke, Maria Schweinefuß, Hans-Christoph Schwarz und Fabian Kempf danke ich für die Hilfe bei allen Arten von fachlichen Problemen. Birgit Förster und Merle Feldt danke ich für die Hilfe bei verwaltungstechnischen Problemen. Katharina Nolte danke ich herzlich für die vielen OC-Synthesen und die kompetente Beratung in Sachen HPLC.

Der gesamten „Bio-Crew“ möchte ich für viele fachliche Diskussionen und die Unterstützung bedanken. Dazu gehören und gehörten Dr. Nina Ehlert, Dr. Britta Hering, Dr. Olga Kufelt, Dr. Sina Williams, Dr. Anne Christel, Dr. Tammo Lüßenhop, Marc Kieke, Hans-Christoph Schwarz, Natalja Wendt, Niklas Burblied, Kim Kreisköther und Alexandra Satalov. Ein besonderer Dank geht hierbei an das Bio-Labor. Vielen Dank für ein sehr angenehmes Arbeitsklima (auch wenn die Temperaturen oft etwas anderes sagten), mannigfaltige Unterstützungen und die Aufrechterhaltung gewisser Traditionen zum Ende der Woche. Danke dafür an Anne Christel, Tammo Lüßenhop, Tanja Heemeier, Philipp Abendroth und vor allem ganz besonders an Gesa Zahn.

Thomas Asche danke ich für die Hilfe bei Formatierungen, Konvertierungen, Software- Graphik- und Druckproblemen. Den fleißigen Korrekturlesern Gesa Zahn, Ramona Weist, Philipp Abendroth, Hans-Christoph Schwarz und Frank Schmitz danke ich für ihre Zeit und Mühe! Nicole Shamitko-Klingensmith danke ich für die Korrektur des Abstracts.

Meiner HiWine Darja Jugan und meiner „Bachelorette“ Irina Weilert danke ich für die Synthese und Charakterisierung zahlreicher Proben.

Zum Schluss möchte ich mich bei meinen Eltern Elke und Heino Fullriede, meinen Großeltern Irma und Willi Witte, meiner Großmutter Erika Fullriede (sowie Heinz Becker und seiner Familie) und Frank Schmitz für die stetige finanzielle, emotionale und menschliche Unterstützung und Motivation bedanken.

Kurzzusammenfassung

Zahnkaries ist eine der häufigsten Krankheiten weltweit. Allein in Deutschland werden jährlich etwa 85 Millionen Zähne mit Füllungen ausgestattet, wobei zunehmend auf quecksilberhaltige Amalgamfüllungen verzichtet wird. Aufgrund von besseren ästhetischen Eigenschaften, geringeren gesundheitlichen Bedenken und guten mechanischen Eigenschaften kommen heutzutage vermehrt dentale Kompositmaterialien zum Einsatz. Ein großer Nachteil ist jedoch die reduzierte Lebensdauer, welche zumeist auf nicht hinreichende Materialeigenschaften, Materialermüdung und -abnutzung oder Sekundärkaries zurückzuführen ist.

Die vorliegende Dissertation behandelt die Synthese und Charakterisierung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln, die als Füllstoffe für dentale Kompositmaterialien eingesetzt werden. Zusätzlich soll durch das Einbringen von antimikrobiellen Wirkstoffen in das Porensystem solcher Partikel ein Freisetzungssystem generiert werden, welches die Bildung von bakteriellen Biofilmen verhindert.

Durch tensidgesteuerte Synthesen konnten über das Sol-Gel-Verfahren sphärische Silica-Nanopartikel mit einem Mesoporensystem hergestellt werden. Mittels *Postgrafting*-Methoden wurden diese mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen ausgestattet, um die Einlagerungsmenge und die Freisetzungskinetik des antimikrobiellen Wirkstoffs Chlorhexidin gezielt zu steuern. *In vitro*-Untersuchungen zeigten eine ausreichende antibakterielle Wirksamkeit der beladenen Partikel und geringe cytotoxische Effekte auf humane Zellen. Die Einbringung der Partikel in die Polymermatrix von Kompositmaterialien bewirkte eine Verringerung der Freisetzungsgeschwindigkeit. *In vitro*-Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass diese Komposite dennoch ausreichende antibakterielle Eigenschaften besaßen.

Durch die Modifizierung von Silica-Nanopartikeln mit Polyvinylpyridin konnte ein pH-sensitives *Stimulus-Response*-System generiert werden. Freisetzungsforschungen zeigten, dass wie erwartet bei niedrigeren pH-Werten wesentlich größere Mengen an Chlorhexidin freigesetzt wurden als bei neutralen pH-Werten. In *in vitro*-Untersuchungen wurde jedoch auch bei neutralen pH-Werten eine antibakterielle Wirksamkeit des Systems beobachtet. Ein weiterer Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Verbesserung der mechanischen Eigenschaften von Kompositmaterialien durch die Variation der Morphologie der Füllstoffpartikel. Durch den Einsatz von anisotropen Silica-Nanofasern mit Methacrylat-Modifizierung konnten die Biegefestigkeitswerte dentaler Kompositmaterialien bei geringen Füllstoffgehalten im Vergleich zu sphärischen Füllstoffen verbessert werden. Der Einsatz von modifizierten mesoporösen Silica-Sphären führte zu einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften über nahezu den gesamten betrachteten Füllstoffbereich. Ferner wurden anisotrope Silica-Partikel aus inversen Silica-Opal-Strukturen hergestellt und mittels Ultraschallbehandlung zerkleinert. Entgegen der Erwartungen führten diese Füllstoffe zu keiner Verbesserung der mechanischen Eigenschaften.

Stichworte: mesoporöse Silica-Nanopartikel, dentale Kompositmaterialien, Wirkstofffreisetzungssysteme, *Stimulus-Response*-Systeme, Chlorhexidin, Opalstruktur.

Abstract

Dental caries is a major global health problem. In Germany alone, about 85 million dental restorations are inserted per year. Dental composite materials have replaced mercury-containing amalgams due to their enhanced esthetics, fewer associated health concerns and good mechanical properties. However, a disadvantage of dental composites is a reduced life span which is often caused by insufficient material strength, material fatigue and abrasion or secondary caries.

In this work, mesoporous silica nanoparticles were synthesized and characterized with regard to their utilization as fillers for dental composite materials. By incorporating antimicrobial agents into the pores of these silica particles, it is possible to establish a drug release system that inhibits the formation of bacterial biofilms.

Spherical mesoporous silica nanoparticles were synthesized via the sol-gel route by surfactant-directed processes. The particles were modified via post-grafting with different functional groups to control the incorporated amount, as well as the release kinetics of the antimicrobial agent, chlorhexidine. *In vitro* investigations showed a sufficient antibacterial activity and marginal cytotoxicity when human cells were exposed to the loaded particles. Incorporation of the particles into the polymer matrix of composite materials led to a decreased release rate. However, *in vitro* investigations confirmed the antibacterial properties of these composites.

A pH-sensitive stimulus-response system was created by modifying silica nanoparticles with poly(vinyl pyridine). At low pH values a greater amount of chlorhexidine was released as compared to neutral pH systems. However, *in vitro* investigations revealed antibacterial properties even at neutral pH values.

This work also investigated the role of filler morphology on the mechanical properties of composite materials. The flexural strength of dental composites increased by incorporating low amounts of anisotropic silica fibers modified with methacrylate groups, as compared to unmodified spherical fillers. Mesoporous silica spheres with a methacrylate modification led to enhanced mechanical properties over the whole observed filler content.

Additionally, anisotropic silica particles were synthesized by the disintegration of inverse silica opal structures by ultrasonic treatment. Contrary to the expectation, these fillers did not improve the composite mechanics.

Keywords: mesoporous silica nanoparticles, dental composite materials, drug release systems, stimulus-response systems, chlorhexidine, opal structure.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	XII
Abkürzungsverzeichnis	XIII
1 Einleitung.....	1
2 Allgemeine Grundlagen.....	6
2.1 Zähne und Zahnkaries.....	6
2.2 Dentale Komposite	8
2.2.1 Polymermatrix.....	9
2.2.2 Füllstoffe	11
2.2.3 Nano-, Mikro- und Hybridkomposite	12
2.2.4 Komposite mit anisotropen Füllstoffen.....	13
2.2.5 Mechanische Werkstoffprüfung	15
2.3 Synthese von mesoporösen Silica-Nanopartikeln (MPSNP)	17
2.3.1 Porensystem.....	17
2.3.2 Kontrolle der Partikelgröße.....	19
2.3.3 Kontrolle der Partikelmorphologie	19
2.3.4 Oberflächenmodifizierung.....	22
2.4 Biomedizinische Anwendungen von Silica-Nanopartikeln	24
2.5 <i>Stimuli-Response-Systeme</i>	27
2.5.1 pH-sensitive Systeme.....	28
2.5.2 Temperatur-sensitive Systeme	31
2.5.3 Photo-sensitive Systeme.....	32
2.5.4 Redox-sensitive Systeme.....	34
2.5.5 <i>Stimulus-Response-System</i> für dentale Anwendung.....	34
2.6 Chlorhexidin.....	36
2.7 Silica-Nanopartikel durch inverse Silica-Opal-Strukturen	38
2.7.1 Inverse Silica-Opale	38
2.7.2 Vermahlung	40

2.7.3	Ultraschallbehandlung.....	40
3	Analytische Methoden.....	42
3.1	Rasterelektronenmikroskopie.....	42
3.1.1	Energiedispersive Röntgenspektroskopie	42
3.2	Dynamische und elektrophoretische Lichtstreuung.....	43
3.3	Sorptionsmessung.....	44
3.4	Röntgen-Pulverdiffraktometrie.....	45
3.5	Infrarot-Spektroskopie	46
3.6	Thermogravimetrie und Differentialthermoanalyse	46
3.7	UV/Vis-Spektroskopie	47
3.8	Agarplattentests	48
3.9	MTT-Test.....	49
3.10	LDH-Test.....	50
3.11	Resazurin-Test.....	51
3.12	Lebend-/Tot-Differenzierung.....	52
3.13	Rheologie	53
3.14	Drei-Punkt-Biegeprüfung.....	53
4	Experimenteller Teil.....	55
4.1	Synthese von mesoporösen Silica-Nanopartikeln (MPSNP).....	55
4.1.1	Sphärische mesoporöse Silica-Nanopartikel.....	55
4.1.2	Faserförmige mesoporöse Silica-Nanopartikel.....	55
4.2	Modifizierung der Silica-Nanopartikel	56
4.2.1	Amino- Modifizierung.....	56
4.2.2	PVP-Modifizierung.....	56
4.2.3	Methylmethacrylat- Modifizierung	57
4.2.4	Thiol- Modifizierung	57
4.2.5	Sulfonsäure- Modifizierung.....	58
4.3	Synthese von inversen Silica-Opal-Partikeln	58
4.3.1	Synthese von anisotropen Silica-Partikeln durch Vermahlung	59
4.3.2	Synthese von anisotropen Silica-Partikeln durch Ultraschall	59

4.4	Freisetzungsexperimente	59
4.5	Herstellung der Kompositmaterialien	60
5	Ergebnisse und Diskussion	62
5.1	Charakterisierung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln	62
5.1.1	Größe und Morphologie.....	62
5.1.2	Partikeloberfläche und Porensystem	65
5.1.3	Partikelmodifizierungen.....	68
5.2	Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung.....	76
5.2.1	Wirkstoffeinlagerung.....	77
5.2.2	Freisetzung aus dispergierten Silica-Nanopartikeln.....	79
5.2.3	Freisetzung aus Silica-Nanopartikeln in Kompositen.....	85
5.3	<i>Stimulus-Response</i> -Freisetzung	88
5.4	<i>In vitro</i> -Untersuchungen	92
5.4.1	Fibroblastenaktivität	93
5.4.2	Bakterienviabilität	97
5.4.3	Untersuchung des therapeutischen Fensters.....	100
5.4.4	Wirkung auf Biofilme	102
5.4.5	Komposite	105
5.4.6	<i>Stimulus-Response</i> -System	107
5.5	Charakterisierung inverser Silica-Opal-Strukturen	109
5.5.1	Vermahlung der inversen Silica-Opalstrukturen.....	112
5.5.2	Ultraschallbehandlung der inversen Silica-Opalstrukturen.....	116
5.6	Mechanische Eigenschaften von Kompositmaterialien	118
5.6.1	Komplexe Viskosität.....	119
5.6.2	Biegefestigkeit	121
5.6.3	<i>E</i> -Modul	125
5.6.4	Füllstoffdispersion	129
6	Zusammenfassung und Ausblick	133
7	Literatur.....	140
8	Anhang	152

8.1	Chemikalienverzeichnis	152
8.2	Freisetzungsprofile	152
8.3	Sorptionsmessungen, IR-Messungen	153
8.4	Thermogravimetrische Messungen	153
8.5	Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge	157
8.6	Lebenslauf.....	160

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Komposit-Prüfkörper für mechanische Untersuchungen. ^[17]	3
Abb. 2: Schematische Darstellung eines pH-sensitiven <i>Stimulus-Response</i> -Systems (nach ^[21]).....	4
Abb. 3: Aufbau des Zahns (nach ^[32]).	7
Abb. 4: Für dentale Kompositmaterialien verwendete Monomere: Bis-GMA (oben) und TEGDMA (unten).....	10
Abb. 5: Mechanismus der photoinitierten Bildung eines α -Aminoalkylradikals. ^[14]	11
Abb. 6: Mechanismus der radikalischen Polymerisation von Methylmethacrylaten.....	11
Abb. 7: Schematische Darstellung eines Nanokomposits (links) und eines Hybridkomposits (rechts).....	13
Abb. 8: Rissbildung in Komposit mit sphärischen (links) und anisotropen (rechts) Füllstoffpartikeln.....	14
Abb. 9: Schematischer Aufbau einer Drei-Punkt-Biegeprüfung.....	15
Abb. 10: Schematisches Spannungs-Dehnungs-Diagramm einer spröden (a) und duktilen (b) Probe.	16
Abb. 11: Bildung von mesoporösen Silica-Materialien; a) echter Flüssigkristall-Templat-Mechanismus, b) kooperativer Flüssigkristall-Templat-Mechanismus. ^[70]	18
Abb. 12: Von SADASIVAN postulierter Wachstumsmechanismus für anisotrope Silica-Partikel; a) ungeordnete Silica-Tensid-Intermediate, b) hexagonal geordnete Silica-Tensid-Intermediate, c) gerichtetes Wachstum zu elongierten Silica-Tensid-Intermediaten (nach ^[76]).	21
Abb. 13: Von HUH postulierter Wachstumsmechanismus für anisotrope Silica-Partikel; R = Methyl oder Ethyl, R ₂ = ungeladene bzw. hydrophobe Gruppe; a) Interaktion von Micelle und Organosilan, b) Wachstum elongierter Silica-Tensid-Intermediate, c) Zusammenlagerung einzelner Silica-Tensid-Intermediate (nach ^[82]).....	22
Abb. 14: Wirkstofffreisetzungprofile (nach ^[132]).	27
Abb. 15: pH-sensitives <i>Stimulus-Response</i> -System durch Bindungsbruch.....	29

Abb. 16: pH-sensitives <i>Stimulus-Response</i> -System mit Cyclodextrin-Pseudorotaxanen (nach ^[153]).....	30
Abb. 17: pH-sensitives <i>Stimulus-Response</i> -System mit Cucurbit[6]uril-Pseudorotaxanen (nach ^[155]).....	31
Abb. 18: Temperaturabhängige Kontraktion eines Hydrogels (Wassermoleküle hier durch blaue Punkte dargestellt).....	32
Abb. 19: Photolyse eines Coumarin-Derivats.....	33
Abb. 20: Photoinduzierte Freisetzung durch <i>cis-trans</i> -Isomerisierung eines Azobenzol-Derivats (nach ^[164]).....	34
Abb. 21: Reduktive Spaltung eines Cystin-Derivats durch GSH.....	34
Abb. 22: Reversible Protonierung von PVP.....	35
Abb. 23: pH-sensitives <i>Stimulus-Response</i> -System aus mit PVP modifizierten MPSNP (nach ^[21]).....	36
Abb. 24: Strukturen von Chlorhexidin (links) und Gluconsäure (rechts).....	37
Abb. 25: Synthese anisotroper Partikel durch Zerkleinerung der inversen Silica-Opal-Struktur.....	40
Abb. 26: Reduktion des gelben MTT zum violetten Formazan durch die Reduktionsequivalente NADH oder NADPH, welches nur in vitalen Zellen produziert wird.....	49
Abb. 27: Mechanismus des LDH-Tests.....	51
Abb. 28: Mechanismus des Resazurin-Tests.....	52
Abb. 29: Schema der Modifizierung von MPSNP mit Trimethoxyorganosilanen.....	56
Abb. 30: Schema der Modifizierung von Silica-Nanopartikeln mit PVP.....	57
Abb. 31: Oxidation von thiol-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit H ₂ O ₂	58
Abb. 32: REM-Aufnahmen sphärischer Silica-Nanopartikel (REM-PCI).....	63
Abb. 33: DLS-Messung von sphärischen Silica-Nanopartikeln.....	63
Abb. 34: REM-Aufnahmen faserförmiger Silica-Nanopartikel (REM-PCI).....	64
Abb. 35: Querschnitt (a) und Seitenansicht (b) eines faserförmigen Silica-Partikels (REM-ACI).....	64
Abb. 36: Argon-Adsorptions- und Desorptionsisothermen von sphärischen Silica-Nanopartikeln (links) und faserförmigen Silica-Nanopartikeln (rechts).....	66
Abb. 37: Argon-Adsorptions- und Desorptionsisothermen von Aerosil OX 50 - Partikeln.....	66

Abb. 38: Porenweitenverteilungen von sphärischen Silica-Nanopartikeln (links) und faserförmigen Silica-Nanopartikeln (rechts).....	67
Abb. 39: Röntgen-Pulverdiffraktogramme von sphärischen Silica-Nanopartikeln, faserförmigen Silica-Nanopartikeln und Aerosil OX 50.	67
Abb. 40: IR-Spektren von unmodifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln.	69
Abb. 41: IR-Spektren von unmodifizierten, thiol-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.	71
Abb. 42: Zeta-Potentialverläufe von unmodifizierten, thiol-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.....	72
Abb. 43: Zeta-Potentialverläufe von unmodifizierten und amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln.....	73
Abb. 44: Struktur von Bismaleimid-S (BMPM).	73
Abb. 45: Mechanismus der MICHAEL-Addition von Aminen an Maleimiden.	74
Abb. 46: IR-Spektren von unmodifizierten, amino-modifizierten, BMPM-modifizierten und PVP-modifizierten Silica-Nanopartikel.	74
Abb. 47: Zeta-Potentialverläufe von Silica-Nanopartikeln, die mit PVP mit unterschiedlichen mittleren Molmassen modifiziert wurden.	76
Abb. 48: IR-Spektren von unmodifizierten, sulfonsäure-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikel nach CHX-GI-Einlagerung.	77
Abb. 49: Thermogravimetrische Untersuchungen von unmodifizierten, sulfonsäure-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Beladung.	79
Abb. 50: UV/Vis-Spektren von Chlorhexidin-Digluconat, Wasser und der leeren Mikrotiterplatte.....	80
Abb. 51: Kumulative Freisetzung von CHX-Cl aus unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.....	81
Abb. 52: Kumulative Freisetzung von CHX-GI aus unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.....	82
Abb. 53: Kumulative Freisetzung von CHX-GI aus unmodifizierten Silica-Nanopartikeln ohne <i>initial burst release</i>	83
Abb. 54: Kumulative Freisetzung von CHX-GI aus sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln ohne <i>initial burst release</i>	83

Abb. 55: Kumulative Freisetzung von CHX-GI aus amino-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln.....	84
Abb. 56: Freisetzungsprofile von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln in Dispersion und in einem Komposit verarbeitet.....	86
Abb. 57: Freisetzungsprofile von CHX-GI aus 1 g unterschiedlicher Komposite mit jeweils 10% mesoporösen Silica-Nanopartikeln als Füllstoffe.	87
Abb. 58: Freisetzungsprofile von CHX-GI aus jeweils 1 g Hybridkomposit mit unterschiedlichen Gehalten an mesoporösen Silica-Nanopartikeln als Füllstoff.	87
Abb. 59: Freisetzungsprofile von CHX-Cl aus PVP ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$)-modifizierten Silica-Nanopartikeln bei unterschiedlichen pH-Werten.	90
Abb. 60: Freisetzungsprofile von CHX-GI aus PVP ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$)-modifizierten Silica-Nanopartikeln bei unterschiedlichen pH-Werten.	90
Abb. 61: Kumulative CHX-GI-Freisetzung bei unterschiedlichen pH-Werten (blaue Bereiche: pH 7.4, rote Bereiche: pH 4).....	92
Abb. 62: REM-Aufnahme humaner Gingivafibroblasten-Zellen (JÖRN SCHAESKE, Medizinische Hochschule Hannover).....	93
Abb. 63: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit unterschiedlich modifizierten Silica-Nanopartikeln inkubiert wurden.	95
Abb. 64: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Beladung inkubiert wurden.	96
Abb. 65: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Beladung inkubiert wurden.....	97
Abb. 66: REM-Aufnahmen von <i>S. aureus</i> (a, nach [207]) und <i>S. mutans</i> (b, nach [208]).....	98
Abb. 67: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Beladung inkubiert wurden.....	101
Abb. 68: Relative Membranschädigung von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Beladung inkubiert wurden.....	102
Abb. 69: Metabolische Aktivität von <i>S. mutans</i> (oben) und <i>S. aureus</i> (unten), die bei der Biofilmbildung mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Einlagerung inkubiert wurden.....	103

Abb. 70: Metabolische Aktivität von <i>S. mutans</i> (oben) und <i>S. aureus</i> (unten) in reifen Biofilmen nach der verzögerten Inkubation mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Einlagerung.....	105
Abb. 71: CLSM-Aufnahmen der Lebend/Tod-Differenzierung von <i>S. aureus</i> auf Plastikkontrolle.....	106
Abb. 72: CLSM-Aufnahmen der Lebend/Tod-Differenzierung von <i>S. aureus</i> auf Kompositen mit Füllstoffen mit CHX-GI-Beladung: a) Kompositoberfläche, 5 wt% Füllstoffgehalt; b) Plastikumgebung, 5 wt% Füllstoffgehalt; c) Kompositoberfläche, 20 wt% Füllstoffgehalt; d) Plastikumgebung, 20 wt% Füllstoffgehalt.....	107
Abb. 73: Relative metabolische Aktivität von <i>S. mutans</i> (oben) und <i>S. aureus</i> (unten) nach der Inkubation von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit eingelagertem CHX-GI.....	109
Abb. 74: REM-Aufnahmen von PMMA-Sphären in Opalstruktur (REM-PCI).....	110
Abb. 75: DLS-Messung von PMMA-Sphären.....	110
Abb. 76: PMMA-Opalstücke, die aus unterschiedlichen Richtungen beleuchtet werden.....	111
Abb. 77: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen (REM-ACI).....	111
Abb. 78: Inverse Silica-Opalstücke nach Calcination.....	112
Abb. 79: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Vermahlung mit einer Drehzahl von 650 min ⁻¹ nach 3 min (a) und 210 min (b) (REM-PCI).	113
Abb. 80: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Vermahlung mit einer Drehzahl von 200 min ⁻¹ nach 3 min (a, b), 60 min (c, d) und 12 h (e, f) (REM-ACI).....	114
Abb. 81: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Vermahlung mit einer Drehzahl von 100 min ⁻¹ nach 3 min (a, b), 60 min (c, d) und 12 h (e, f) (REM-ACI).....	115
Abb. 82: Dispersion von inversen Silica-Opal-Partikeln nach der Ultraschallbehandlung.....	116
Abb. 83: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Ultraschallbehandlung mit einer Leistung von 160 W nach 0.5 min (a, b) und 5 min (c, d) (REM-ACI).	117

Abb. 84: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Ultraschallbehandlung mit einer Leistung von 40 W nach 0.5 min (oben) und 8 min (unten) (REM-ACI).....	118
Abb. 85: Komposit-Prüfkörper für mechanische Untersuchungen; Markierung: Prüfkörper für Drei-Punkt-Biegeprüfung. ^[17]	119
Abb. 86: Komplexe Viskositäten der Monomermischungen von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (Gesamtfüllstoffgehalt 50 wt%, unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen.....	120
Abb. 87: Biegefestigkeiten von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen	123
Abb. 88: Biegefestigkeiten von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen.	125
Abb. 89: <i>E</i> -Moduln von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen.....	127
Abb. 90: <i>E</i> -Moduln von Nanokompositen (links) und Hybridkompositen (rechts) mit unterschiedlichen Füllstoffen.....	128
Abb. 91: REM-Aufnahmen von Bruchkanten von Nanokompositen, die mit jeweils 10 wt% Füllstoffgehalt hergestellt wurden: a) Aerosil OX 50, b) modifizierte Silica-Sphären, c) modifizierte Silica-Fasern, d) unmodifizierte Silica-Fasern.....	130
Abb. 92: EDX-Aufnahme der abgegrenzten Bereiche; a) REM-Aufnahme, b) Silicium-Signal, c) Sauerstoff-Signal, d) Kohlenstoff-Signal.....	131
Abb. 93: Freisetzungsprofile von CHX-Cl aus amino-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln.....	152
Abb. 94: Freisetzungsprofile von CHX-Gl aus PVP ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$)-modifizierten Silica-Nanopartikeln bei unterschiedlichen pH-Werten.	152
Abb. 95: Argon-Adsorptions- und Desorptionsisothermen von sphärischen Silica-Nanopartikeln.....	153
Abb. 96: IR-Spektren von Silica-Nanopartikeln, welche mit PVP unterschiedlicher molarer Massen modifiziert wurden.	153
Abb. 97: TG-Messung von Silica-Nanopartikeln.....	153
Abb. 98: TG-Messung von Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.....	153
Abb. 99: TG-Messung von Silica-Nanopartikeln mit CHX-Gl-Einlagerung.	153

Abb. 100: TG-Messung von unmodifizierten Silica-Partikeln mit CHX-Gl-Einlagerung nach einer Freisetzungsdauer von 7 d.....	153
Abb. 101: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln. ..	154
Abb. 102: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.	154
Abb. 103: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Gl-Einlagerung.	154
Abb. 104: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Partikeln mit CHX-Gl-Einlagerung nach einer Freisetzungsdauer von 7 d.....	154
Abb. 105: TG-Messung von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln...	154
Abb. 106: TG-Messung von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.	154
Abb. 107: TG-Messung von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Gl-Einlagerung.	155
Abb. 108: TG-Messung von amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln.	155
Abb. 109: TG-Messung von amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.	155
Abb. 110: TG-Messung von amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Gl-Einlagerung.	155
Abb. 111: TG- Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$).	155
Abb. 112: TG- Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$).	155
Abb. 113: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Cl-Einlagerung.....	156
Abb. 114: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in verdünnter Salzsäure.....	156
Abb. 115: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in Gluconsäure.....	156
Abb. 116: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in Gluconsäure.....	156
Abb. 117: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in konzentrierter Salzsäure.....	156

Abb. 118: TG-Messung von PMMA-Sphären in einer inversen Silica-Opalstruktur.....	156
--	-----

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von unmodifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Partikeln (Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}).....	70
Tabelle 2: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von unmodifizierten, thiol-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Partikeln (Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}).....	71
Tabelle 3: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von amino-, BMPM- und PVP-modifizierten Silica-Partikeln (Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}).....	75
Tabelle 4: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von unmodifizierten, sulfonsäure-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Partikeln nach CHX-Gl-Einlagerung (Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}).....	78
Tabelle 5: Ergebnisse der Agarplattentests von unbeladenen mesoporösen Silica-Nanopartikeln (+ = Bakterienwachstum, - = kein Bakterienwachstum).	98
Tabelle 6a, b: Ergebnisse der Agarplattentests von mit CHX-Cl beladenen mesoporösen Silica-Nanopartikel (+ = Bakterienwachstum, - = kein Bakterienwachstum).....	99
Tabelle 7a, b: Ergebnisse der Agarplattentests von mit CHX-Gl beladenen mesoporösen Silica-Nanopartikel (+ = Bakterienwachstum, - = kein Bakterienwachstum).....	100

Abkürzungsverzeichnis

$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
µm	Mikrometer
µmol	Mikromol
µS	Mikrosiemens
a. u.	<i>arbitrary unit</i> , willkürliche Einheit
Abb.	Abbildung
APTMS	3-Aminopropyltrimethoxysilan
BET	BRUNAUER, EMMETT und TELLER
Bis-GMA	2,2-Bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloxypropoxy)phenyl]-propan
BJH	BARRET, JOYNER und HALENDA
BMPM	1,1'-(Methylendi-4,1-phenylen)bismaleimid
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CHX	Chlorhexidin
CHX-Cl	Chlorhexidin-Dihydrochlorid
CHX-Gl	Chlorhexidin-Digluconat
CLSM	<i>confocal laser scanning microscopy</i> , konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie
cm	Zentimeter
CQ	Campherchinon
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
d	<i>days</i> , Tage
<i>D</i>	Diffusionskoeffizient
DBU	8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DLS	dynamische Lichtstreuung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDMAB	Ethyl-4-dimethylaminobenzoat
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> , und andere
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i>
<i>G</i>	Erdbeschleunigung
g	Gramm
GSH	Glutathion
h	Stunde
IEP	isoelektrischer Punkt
INT	2-(4-Iodphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-tetrazoliumchlorid
IR	Infrarot
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
kV	Kilovolt
L	Liter
LDH	Lactatdehydrogenase
m	Meter
MAPTMS	3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan

mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mm	Millimeter
MMA	Methylmethacrylat
mmol	Millimol
mod.	modifiziert
MPa	Megapascal
MPSNP	mesoporöse Silica-Nanopartikel
MPTMS	3-Mercaptopropyltrimethoxysilan
MTT	3-(4,5-Dimethyldiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
mV	Millivolt
M_w	gewichtsgemittelte molare Masse
NAD ⁺ /NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NLDFT	Nichtlokale Dichtefunktionaltheorie
nm	Nanometer
p	Dampfdruck
p_0	Sättigungsdampfdruck auf einer ebenen Fläche
Pa	Pascal
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> , Phosphatgepufferte Salzlösung
PMMA	Polymethylmethacrylat
PP	Polypropylen
PVP	Poly-(4-vinylpyridin)
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	<i>rounds per minute</i> , Umdrehungen pro Minute
s	Sekunde
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
SDA	strukturdirigierendes Agens
SDS	Natriumdodecylsulfat
t	<i>time</i> , Zeit
T	Temperatur
TEGDMA	Triethylenglycoldimethacrylat
TEOS	Tetraethoxysilan
UV	Ultraviolett
W	Watt
wt%	Massenprozent

1 Einleitung

Trotz kontinuierlicher Verbesserung der Dentalhygiene ist Zahnkaries eine der am häufigsten auftretenden Krankheiten weltweit.^[1] Mikroorganismen können an der Zahnoberfläche oder im Bereich der Weichgewebstdurchtrittsstelle adhären und die Zahnhartsubstanz angreifen. Die Organisation der Bakterien in komplexen Biofilmgemeinschaften begünstigt das Bakterienwachstum und die Widerstandsfähigkeit gegenüber antimikrobiellen Substanzen. Die Folge sind einerseits Entzündungsreaktionen am Zahnhalteapparat, aber auch die Produktion von Milchsäure durch den Bakterienstoffwechsel. Dadurch kann es zu einer Demineralisierung und nachfolgender Kavitätsbildung im Zahnschmelz und Dentin kommen, wodurch eine zahnmedizinische Behandlung notwendig wird. Allein in Deutschland werden jährlich ca. 1 Million dentale Implantate inseriert^[2] und etwa 85 Millionen Zähne mit Füllungen versorgt.^[1,3] Dabei wird zunehmend auf quecksilberhaltige Amalgamfüllungen verzichtet und ein verstärkter Fokus auf Kompositmaterialien gelegt. Die heutzutage verwendeten dentalen Komposite weisen im Vergleich zu Amalgam geringere toxikologische Bedenken und bessere ästhetische Eigenschaften auf, da eine farbliche Anpassung an die umgebenden Zahnbereiche möglich ist.^[4] Bei Kompositfüllungen kann eine substanzsparende Kavitätenpräparation erfolgen, da das Komposit mit einem Adhäsivsystem an der Zahnhartsubstanz verankert werden kann. Amalgam weist keine Haftung an Dentin oder Zahnschmelz auf, weshalb häufig Kavitätenunterschnitte zur mechanischen Fixierung notwendig sind.^[5,6] Aufgrund kontinuierlicher Verbesserung der mechanischen Eigenschaften finden Komposite nicht mehr nur Anwendung als Kavitätenfüllmaterial im Frontzahnbereich, sie werden zudem als Seitenzahnfüllungsmaterialien, zur Fissurversiegelung, als Befestigungsmaterial für Inlays, Kronen, Ätz-Klebe-Brücken und Brackets, als Stumpfaufbaumaterialien unter Kronen sowie als Wurzelkanalsealer eingesetzt.^[6,7]

Ein erheblicher Nachteil dentaler Komposite liegt jedoch in der begrenzten Lebensdauer der Füllungen. Während Amalgamfüllungen eine durchschnittliche Verweildauer von 15 Jahren aufzeigen, liegt die durchschnittliche Lebensdauer von Kompositfüllungen lediglich bei 5 Jahren.^[4] Diese verminderte Lebensdauer ist oft auf Materialermüdung durch die anhaltende thermische und mechanische

Wechselbelastung in der Mundhöhle oder auf Sekundärkaries durch mikrobielle Infektionen zurückzuführen.^[5,8,9] Die Verbesserung der mechanischen Eigenschaften der dentalen Komposite und die Ausstattung mit antibakteriellen Eigenschaften würde somit zu einer positiven Entwicklung der klinischen Langzeitprognose führen. Die Notwendigkeit für Füllungsrevisionen würde sich entsprechend reduzieren, was zu einer Kostenreduktion und einer geringeren Patientenbelastung führen würde. Diesem Ansatz folgend werden im Teilprojekt D12 „Dentale Keramiken und Komposite“ des Sonderforschungsbereiches 599 „Zukunftsfähige bioresorbierbare und permanente Implantate aus metallischen und keramischen Werkstoffen“ neuartige Kompositmaterialien entwickelt.

Dentale Kompositmaterialien bestehen aus einer Polymermatrix, in die unterschiedliche Füllstoffpartikel eingebettet sind. Als Ausgangsstoffe werden meist Bis-GMA aufgrund einer geringen Polymerisationsschrumpfung und TEGDMA als Verdünnungsmittel eingesetzt. Als Initiatoren für die photoinduzierte radikalische Polymerisation werden zum Beispiel Campherchinon und Ethyl-4-dimethylaminobenzoat verwendet.^[6,7,10-13] Der Zusatz von anorganischen Füllstoffen führt zu einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften, Erhöhung der Festigkeit sowie zur Herabsetzung des Ausdehnungskoeffizienten und der Polymerisationsschrumpfung.^[12] Je nach Größe werden Mikro- und Nanofüllstoffe unterschieden. Mikrofüller besitzen eine mittlere Partikelgröße von 0.1 bis 5 μm , bestehen meist aus Quarz, Keramiken, Borosilikat- oder Barium-Gläser, Zirkoniumdioxid oder Ytterbiumfluorid und besitzen eine inhomogene, splitterförmige Morphologie.^[14] Nanofüller hingegen weisen eine mittlere Partikelgröße von 10 bis 50 nm auf. Sie bestehen meist aus amorphen Silica-Partikeln, welche durch Flammenpyrolyse hergestellt werden. Sie weisen eine sphärische Morphologie auf, besitzen eine hohe spezifische Oberfläche und sind nicht porös.^[5,13,15,16] Nanokomposite, die lediglich Nanofüllstoffe enthalten, besitzen in der zahnmedizinischen Praxis meist einen Füllstoffanteil von 35 bis 50 wt%. Hybridkomposite enthalten sowohl Nano- als auch Mikrofüllstoffe mit einem Gesamtfüllstoffgehalt von 85 wt%, wobei der Anteil des Nanofüllstoffs 15 bis 30% beträgt.^[6,8,13] Abb. 1 zeigt Beispiele für Prüfkörper für mechanische Untersuchungen, die mit unterschiedlichen Füllstoffen hergestellt wurden.



Abb. 1: Komposit-Prüfkörper für mechanische Untersuchungen.^[17]

Die in der Zahnheilkunde verwendeten Nanofüllstoffe bestehen aus dichten Silica-Nanopartikeln. Durch den Einsatz von porösen Silica-Nanopartikeln besteht die Möglichkeit der Beladung mit antimikrobiell wirksamen Stoffen in die Füllstoffe und damit auch in die Kompositmatrix. Als potentieller Wirkstoff eignet sich beispielsweise Chlorhexidin, welches aufgrund seines breiten antimikrobiellen Spektrums, seiner hohen Substantivität und geringer Tendenz zur Resistenzbildung als „Goldstandard“ in der Zahnmedizin verwendet wird.^[18,19] Als Substantivität wird die anhaltende Bindung einer Substanz an ein Substrat, in diesem Fall die Oberflächen der Mundhöhle, bezeichnet. Dies bedingt eine längere Verfügbarkeit und somit eine langfristige antimikrobielle Wirksamkeit.^[20] Durch die Verwendung von Füllstoffen mit eingelagertem Wirkstoff kann ein Freisetzungssystem generiert werden, das die dentalen Kompositmaterialien mit antibakteriellen Eigenschaften ausstattet, um Biofilmbildung und Sekundärkaries zu verhindern. Die Freisetzungskinetik aus den Partikeln kann durch die Modifizierung der Silica-Partikel mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen angepasst werden. Durch die Ausstattung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln mit einem pH-sensitiven Polymer könnte zudem ein reversibles *Stimulus-Response*-System generiert werden. Bei neutralen Bedingungen verbleiben die Polymerstränge in einer komprimierten Form, so dass die Porenöffnungen verschlossen werden und der Wirkstoff nicht austritt. Die Erniedrigung des pH-Wertes, beispielsweise aufgrund einer bakteriellen Infektion, führt zur Protonierung der Polymerstränge, welche sich dann durch die elektrostatische Repulsion der positiven Ladungen aufrichten und die Porenöffnungen freigeben. Der Wirkstoff wird abgegeben und die Infektion bekämpft. Nach der Rückkehr zu physiologischen pH-Werten erfolgt eine Deprotonierung und die

Polymerstränge verschließen die Porenöffnungen erneut. Somit wird ein Reservoir gebildet, aus dem nur bei Bedarf Wirkstoff freigesetzt wird (Abb. 2).^[21]

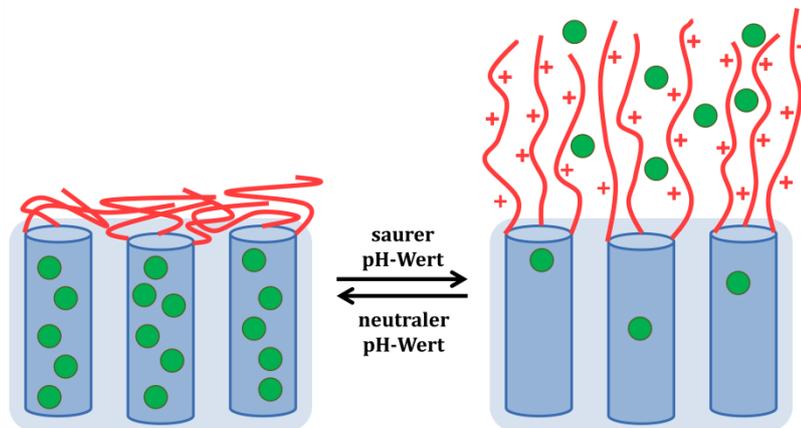


Abb. 2: Schematische Darstellung eines pH-sensitiven *Stimulus-Response-Systems* (nach ^[21]).

Zur Evaluation des potentiellen Einsatzes als Füllstoffe für dentale Komposite sind *in vitro*-Untersuchungen der unterschiedlichen Partikel und Freisetzungssysteme unabdingbar. Eine ausreichende Wirkung gegen oral relevante Keime, wie beispielsweise *Streptococcus mutans* und *Staphylococcus aureus*, sollte gegeben sein. Gleichzeitig sollten die Partikel und Komposite keine negative Wirkung auf die Viabilität oder metabolische Aktivität von humanen Gingivafibroblasten-Zellen haben. Ein Ziel dieser Arbeit ist somit die Herstellung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln durch einen Sol-Gel-Prozess unter Verwendung von strukturdirigierenden Agenzien. Durch die Einlagerung von Chlorhexidin und der Etablierung von geeigneten Modifizierungen zur Kontrolle der Freisetzungskinetik sollen verschiedene Freisetzungssysteme generiert werden. Anschließend soll mit unterschiedlichen *in vitro*-Untersuchungen die antimikrobiellen und cytotoxischen Eigenschaften der Partikel untersucht werden.

Die meisten Füllstoffe für dentale Kompositmaterialien sind von sphärischer Gestalt. Durch den Einsatz von anisotropen Füllstoffmaterialien soll eine Steigerung der mechanischen Eigenschaften dieser Materialien erreicht werden. In der Gruppe um FONG wurden beispielsweise hoch anisotrope Attapulgit-Fasern mit einem Primärpartikeldurchmesser von 10 bis 25 nm und einer Länge von 0.1 bis 3.0 μm eingesetzt. Die Einbringung dieser kristallinen Silikat-Fasern resultierte in gesteigerten Biegefestigkeiten und Elastizitätsmodul-

Werten bei geringen Partikelgehalten.^[4,22] Dies wird mit sogenannten Überbrückungseffekten erklärt. Sobald sich ein Riss durch mechanische Beanspruchung bildet und innerhalb des Materials fortschreitet, bleiben die faserförmigen Partikel zwischen den Rissflächen intakt. Durch die überbrückende Wirkung kommt es zur Inhibition des Rissfortschritts, so dass das Kompositmaterial durch die Fasern stabilisiert wird.^[4,22,23] Aufgrund der Asbest-ähnlichen Struktur von Attapulgit und den damit verbundenen gesundheitlichen Bedenken ist der Einsatz in dentalen Kompositen kritisch zu betrachten. Durch den Einsatz anisotroper Silica-Nanopartikel als Füllstoffe für Kompositmaterialien könnte dieses Gefährdungspotential minimiert werden. Silica-Nanopartikel weisen ein geringes Gefährdungspotential auf und wurden in einer modifizierten Form kürzlich von der FDA allgemein als ungefährlich anerkannt und zur ersten klinischen Studie am Menschen zugelassen.^[24-30] Durch eine gezielte Steuerung der Syntheseparameter können Silica-Nanopartikel in einer großen Anzahl unterschiedlicher Größen und Morphologien hergestellt werden, wie zum Beispiel hoch anisotrope Silica-Fasern.^[31] Dabei können *bottom-up*-Prozesse genutzt werden, bei denen aus molekularen Vorläufern Nanopartikel hergestellt werden. Des Weiteren können makroskopische Strukturen in *top-down*-Prozessen gezielt zerkleinert werden, beispielsweise durch Vermahlung oder Ultraschallbehandlung. Die Herstellung dieser anisotropen Silica-Nanopartikel sowie der Kompositmaterialien und die anschließende mechanische Werkstoffprüfung sind ebenfalls Teil dieser Arbeit.

2 Allgemeine Grundlagen

In diesem Kapitel werden die Grundlagen über dentale Kompositmaterialien und Silica-Nanopartikel als Füllstoffe vorgestellt. Zunächst wird auf den Aufbau von Zähnen und dentaler Kompositmaterialien eingegangen. Des Weiteren werden der Herstellungsprozess von mesoporösen Silica-Nanopartikeln und deren biomedizinische Anwendungen vorgestellt, wobei ein Schwerpunkt auf der kontrollierten Freisetzung unterschiedlicher Wirkstoffe liegt.

2.1 Zähne und Zahnkaries

Zähne bestehen aus Zahnhartsubstanzen und aus Weichgewebe und werden anatonisch in zwei Bereiche eingeteilt. Der sichtbare Bereich oberhalb der Gingiva (Zahnfleisch) wird als Zahnkrone bezeichnet, der untere Teil wird Zahnwurzel genannt (Abb. 3). Der äußere Zahnschmelz besteht zum größten Teil aus Hydroxylapatit. Darunter liegt das Dentin (Zahnbein), welches einen etwas geringeren anorganischen Anteil aufweist und ein Gerüst aus Collagenfasern besitzt. Die Härte des Dentins ist geringer als die Härte des Schmelzes. Durch das Collagengerüst ist das Dentin elastischer als der nahezu vollständig mineralische Zahnschmelz. Beide schützen die aus Weichgewebe bestehende Pulpa (Zahnmark), welche Blut- und Lymphgefäße sowie Nervenfasern enthält und somit für die Sensibilität des Zahns verantwortlich ist. Als peridontales Ligament oder Wurzelhaut wird der Zahnhalteapparat bezeichnet. Er besteht aus vielen Bindegewebsfaserbündeln, welche die Zahnwurzel mit dem Kieferknochen verbinden.^[32] Durch diese Anordnung werden Kaukräfte, die als Druck auf den Zahn wirken, in Zugkräfte auf den Kieferknochen umgewandelt, um druckindizierte Knochenumbauprozesse zu verhindern.

Durch eine Besiedelung der Zahnoberfläche mit Mikroorganismen können die Zahnhartsubstanzen geschädigt werden, was zu Kavitäten in der Zahnkrone oder im schlimmsten Fall zum Verlust des gesamten Zahns führen kann. Die Therapie kann durch Füllungen oder Kronen sowie bei Verlust des Zahns durch Zahnersatz einschließlich des Setzens von Implantaten erfolgen. Tritt an den bereits behandelten Stellen der Füllungen erneut Karies auf, zum Beispiel durch

das Eindringen von Mikroorganismen durch Risse oder ungenügend abgedichtete Randbereiche, so wird dies als Sekundärkaries bezeichnet.^[9]

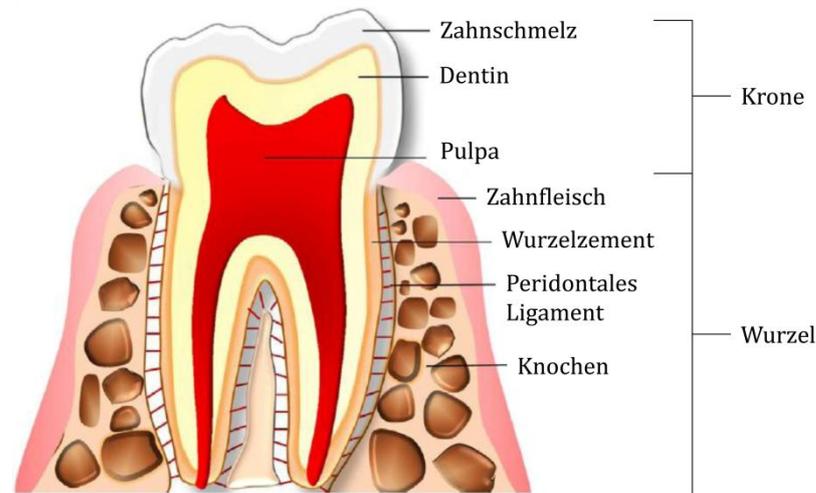


Abb. 3: Aufbau des Zahns (nach ^[32]).

Die für die Kariesbildung verantwortlichen Mikroorganismen sind für gewöhnlich in einem sogenannten Biofilm organisiert. Die Grundlage für die Biofilmentstehung ist die Bildung eines Pellikels auf der Oberfläche von Zähnen oder Implantaten. Das Pellikel ist eine dünne, fest haftende Schicht aus adsorbierten Speichelproteinen, die sich innerhalb von Sekunden selbstständig auf gereinigten Oberflächen in der Mundhöhle bildet. Diese Schicht agiert als Substrat für die initiale Anlagerung von Bakterien. Nach der Anhaftung werden weitere Bakterien zur Anlagerung stimuliert und es bilden sich Mikrokolonien. Diese produzieren eine Schutzschicht aus extrazellulären polymeren Substanzen, die die Bakterien vor äußeren Angriffen wie antimikrobiellen Substanzen schützt.^[33,34] So können die Mikroorganismen ungehindert Nährstoffe austauschen, proliferieren und pathogene Stoffe freisetzen. Es entsteht ein dichter Belag, welcher als Biofilm oder Dentalplaque bezeichnet wird. Die Mikroorganismen produzieren eine hohe lokale Konzentration an organischen Säuren, wie zum Beispiel Milchsäure, die den Zahnschmelz demineralisieren und dadurch Karies verursachen können.^[35] Des Weiteren können durch Bakterien Entzündungen des Zahnhalteapparates (Parodontitis), des Weichgewebes sowie des Kieferknochens in der Nähe von Dentalimplantaten (Periimplantitis) verursacht werden, die im schlimmsten Fall den Verlust des Zahnes oder Implantates zur Folge haben können.^[36,37]

2.2 Dentale Komposite

Bereits seit der Mitte des 18. Jahrhunderts, nach der Entdeckung der Kautschukvulkanisation, werden Kunststoffe in der dentalen Implantologie eingesetzt.^[16] In den 1930er Jahren fanden dann Methylmethacrylate Einzug in die Zahnheilkunde,^[13] der Durchbruch gelang jedoch erst in den 1960er Jahren mit dem Bis-GMA-System von BOWEN (siehe Abschnitt 2.2.1).^[10] Moderne Dentalkompositmaterialien bestehen aus einer organischen Polymermatrix, in die anorganische Füllstoffpartikel eingebracht werden.^[6,14] Durch die stetige Verbesserung der mechanischen Eigenschaften werden sie heutzutage nicht nur als Füllungsmaterialien im Frontzahnbereich eingesetzt, sondern finden auch Anwendung als Seitenzahnfüllungsmaterialien, zur Fissurversiegelung, als Befestigungsmaterial für Inlays, Kronen, Ätz-Klebe-Brücken und Brackets, als Stumpfaufbaumaterialien unter Kronen sowie als Wurzelkanalsealer.^[6,7]

Dentale Komposite verdrängen in der modernen Zahnheilkunde immer mehr die zuvor verwendeten Füllungen aus Amalgam, da sie bessere ästhetische Eigenschaften aufweisen und weniger Anlass für gesundheitliche Bedenken geben. Amalgamfüllungen bestehen aus einer Legierung von verschiedenen Metallen (Silber, Zinn, Kupfer und Zink)^[7] mit Quecksilber, welches sowohl im elementaren als auch im ionischen Zustand toxische Eigenschaften besitzt.^[5] Quecksilber kann im Körper akkumulieren und das zentrale Nervensystem schädigen. Kompositfüllungen hingegen setzen toxische Substanzen nur in einem äußerst geringen Maße frei. Nicht reagierte Monomere verbleiben zu ca. 90% im inerten Komposit, ihre Freisetzung wird lediglich direkt nach der Einbringung beobachtet, danach reduziert sie sich drastisch.^[38] Die Konzentrationen von freigesetzten Monomeren und deren Abbauprodukten sind derart gering, dass sich bei richtiger Verarbeitung keine toxischen Reaktionen beobachten lassen.^[7,39-42] Ein weiterer Nachteil dentaler Amalgame liegt in der nicht vorhandenen Haftung am Dentin und Zahnschmelz. Aus diesem Grunde muss oft gesunde Zahnhartsubstanz entfernt werden, da die Fixierung nur mechanisch in einem Unterschnitt der Kavität erfolgt.^[5,6] Das Komposit hingegen haftet über ein Adhäsivsystem an der zuvor mit Phosphorsäure angeätzten Zahnhartsubstanz durch mikromechanische Retention. Der Abtrag von gesunder Zahnhartsubstanz wird somit auf ein Minimum reduziert. Durch

die hohe thermische Leitfähigkeit von Amalgam kann es zeitweise zu Temperaturempfindlichkeit kommen, was eine Unterfütterung notwendig macht.^[6] Die Wärmeleitfähigkeit und der thermische Ausdehnungskoeffizient von Kompositmaterialien ähneln hingegen den Werten der Zahnhartsubstanz.^[6,43]

Allerdings besteht ein großer klinischer Nachteil in der begrenzten Lebensdauer dentaler Komposite. Während Amalgamfüllungen durchschnittlich bis zu 15 Jahre in den Kavitäten verbleiben, weisen Komposite lediglich eine Lebensdauer von ca. 5 Jahren auf.^[4] Besonders im Seitenzahnbereich, wo weitaus höhere Kaukräfte als im Frontzahnbereich auftreten, besitzen Kompositrestaurationen eine geringere durchschnittliche Lebensrate als Amalgamfüllungen. Dieser begrenzte Zeitraum ist oft auf Materialermüdung und -abrasion zurückzuführen.^[5,8] Die Verbesserung der mechanischen Eigenschaften dentaler Komposite würde demnach eine Verbesserung der klinischen Langzeitprognose mit sich bringen, was häufigen Füllungsaustausch verhindert und eine Kostenersparnis sowie gesteigertes Patientenwohlbefinden bedeutet.

2.2.1 Polymermatrix

Die heutzutage gängigsten Polymersysteme für dentale Komposite basieren auf dem von BOWEN entwickelten Bis-GMA (2,2-Bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloxypropoxy)phenyl]-propan, Abb. 4 oben). In monomerer Form liegt Bis-GMA als eine hochviskose Flüssigkeit vor aufgrund von intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen der Hydroxyl-Gruppen. Zur verbesserten Handhabung werden zur Verdünnung niedermolekulare Dimethylmethacrylatmonomere hinzugefügt. TEGDMA (Triethylenglycoldimethacrylat, Abb. 4 unten) wird häufig aufgrund seiner geringeren Viskosität und seiner hervorragenden Copolymerisationseigenschaften eingesetzt. Die Viskositätsabnahme der Monomermischung bewirkt eine Steigerung der Molekülbeweglichkeit. Der Doppelbindungsumsatz wird somit erhöht, was zu einer Verbesserung der mechanischen Festigkeit führt. Zudem kann dadurch der einbrachte Gesamtfüllergehalt auf Werte von 40 bis 80 wt% erhöht werden. Der Nachteil von TEGDMA liegt allerdings in einer erhöhten Polymerisationsschrumpfung im Vergleich zu reinem Bis-GMA. Eine typische Zusammensetzung enthält ca. 70 wt% Bis-GMA und 30 wt% TEGDMA.^[6,7,10-13]

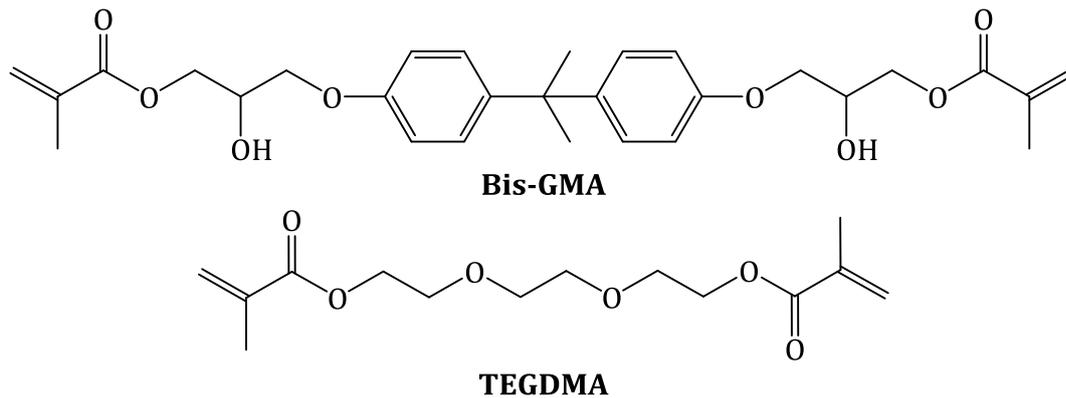


Abb. 4: Für dentale Kompositmaterialien verwendete Monomere: Bis-GMA (oben) und TEGDMA (unten).

Bis-GMA bietet gegenüber Methylmethacrylat (MMA) viele Vorteile. Da die Bis-GMA-Monomereinheiten zwei Doppelbindungen besitzen, sind sie in der Lage ein dreidimensionales Netzwerk bei der Polymerisation auszubilden, was die mechanischen Eigenschaften verbessert. Die Größe und der rigide aromatische Kern der Bis-GMA-Monomere vermindert die Polymerisationsschrumpfung. Diese tritt auf, da sich durch die Ausbildung von kovalenten Bindungen zwischen den Alkeneinheiten im Zuge der Polymerisation der Abstand zwischen den Monomereinheiten verkürzt. Die Dichte wird somit erhöht und das Material kontrahiert. Dadurch kann es zu Spaltbildungen am Rand der Füllungen kommen, in die Mikroorganismen eindringen und Infektionen verursachen können.^[5,13,16,44] Obgleich auch selbsthärtende oder thermisch härtende Systeme bekannt sind, erfolgt die Vernetzung in den meisten Dentalkompositen über eine photoinduzierte radikalische Polymerisation. Der Monomermischung werden hierfür spezielle Photoinitiatoren wie Campherchinon (CQ) und Ethyl-4-dimethylaminobenzoat (EDMAB) beigemischt. Bei der Bestrahlung mit blauem Licht mit einer Wellenlänge von 468 nm absorbiert Campherchinon und geht über einen n,π^* -Übergang in einen angeregten Zustand über. Bei Anwesenheit eines Protonendonators als Beschleuniger, wie das tertiäre Amin EDMAB, wird ein Wasserstoffatom abstrahiert und es entstehen α -Aminoalkylradikale, die die Polymerisation initiieren (Abb. 5).^[5-7,14]

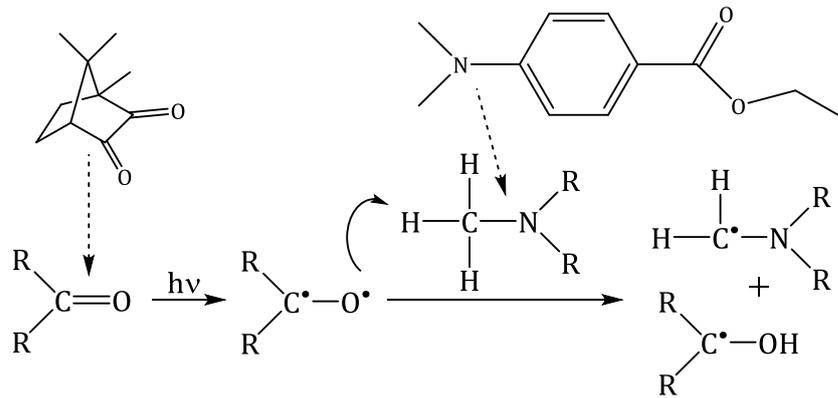


Abb. 5: Mechanismus der photoinitierten Bildung eines α -Aminoalkylradikals.^[14]

Die α -Aminoalkylradikale reagieren mit den Doppelbindungen der Monomere und erzeugen somit ein wachstumsfähiges tertiäres Radikal, welches mit weiteren Monomermolekülen reagieren kann. Es bildet sich ein hochvernetztes Polymer aus. Der Mechanismus ist vereinfacht in Abb. 6 dargestellt.

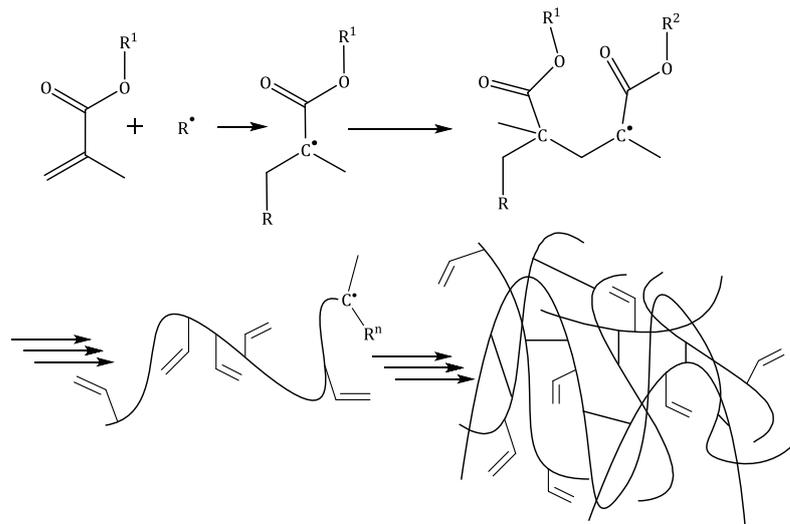


Abb. 6: Mechanismus der radikalischen Polymerisation von Methylmethacrylaten.

2.2.2 Füllstoffe

Dentalen Kompositmaterialien werden anorganische Füllstoffe zugesetzt, um die mechanischen und optischen Eigenschaften zu verbessern. Je nach mittlerer Partikelgröße werden sie in Mikrofüllstoffe (0.1-5 μm) und Nanofüllstoffe (5-100 nm) unterteilt.^[14] Da Nanofüllstoffpartikel aufgrund ihrer Größe (< 100 nm) nicht in der Lage sind sichtbares Licht ($\lambda = 380\text{-}780\text{ nm}$) zu absorbieren oder zu streuen, werden Mikrofüllstoffe zugesetzt, um eine ästhetische Opazität der Komposite zu gewährleisten. Als Mikrofüller können

Quarzpartikel, die einen ähnlichen Brechungsindex wie die Bis-GMA-Matrix besitzen, Keramiken, Borosilikatglas, Strontium- beziehungsweise Barium-Gläser, Titandioxid, Zirkoniumdioxid und Ytterbiumfluorid verwendet werden. Letztere sind röntgenopak, so dass Kompositdefekte mittels Röntgenaufnahmen besser erkennbar sind.^[12] Mikrofüller besitzen meist eine inhomogene, splitterförmige Struktur, was auf den Herstellungsprozess durch die Zerkleinerung und Vermahlung größerer Partikel zurückzuführen ist. Des Weiteren werden den Kompositen Pigmente, meist in Form von Eisenoxiden, zugesetzt, um eine ästhetische Anpassung an die Farbe des Zahnes zu ermöglichen.^[5]

Nanofüllstoffe bestehen meist aus amorphen, nicht-porösen Silica-Nanopartikeln, die durch Flammenpyrolyse von SiCl_4 hergestellt werden können. Sie weisen eine homogene Größenverteilung, eine große spezifische Oberfläche sowie eine sphärische Morphologie auf. Der mittlere Partikeldurchmesser beträgt 10-50 nm.^[5,13,15,16] Selbst die Oberfläche von pyrogenen Silica-Nanopartikeln weist eine hohe Dichte hydrophiler Silanol-Gruppen auf. Dadurch kann es aufgrund repulsiver Interaktionen zwischen den hydrophilen Füllstoffen und der hydrophoben Polymermatrix zu Agglomeratbildung kommen, was die mechanischen Eigenschaften des Kompositmaterials beeinträchtigt. Die Füllstoffe werden deshalb mit hydrophoben Organosilanen, wie 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan, modifiziert. Dadurch verbessern sich die Dispergierbarkeit der Partikel in der Matrix sowie der Hydrolysewiderstand. Die Methacrylat-Gruppe kann im Zuge der Polymerisation kovalente Bindungen zwischen dem Füllstoff und dem Polymer ausbilden, was zu einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften und der Belastungsübertragung führt.^[45,46]

2.2.3 Nano-, Mikro- und Hybridkomposite

Gemeinhin sind zwei Sorten von dentalen Kompositmaterialien auf dem Markt erhältlich, die je nach Art ihrer Füllstoffe unterschieden werden: Nanokomposite, die lediglich Nanofüllstoffe enthalten, und Hybridkomposite, die ein Gemisch aus Nano- und Mikrofüllstoffen beinhalten.^[12,15] Mikrokomposite, die lediglich mit Mikrofüllstoffen gefüllt sind, werden als Füllungsmaterialien nur noch selten eingesetzt, da sie sehr anfällig gegenüber

Abrasion sind. Die Füllstoffe lösen sich durch mechanische Beanspruchung, wie Kauen und Zahnbürsten, leicht aus der Kompositoberfläche, was verringerte mechanische Eigenschaften, eine unästhetische Erscheinung und eine raue Oberfläche, auf der sich bevorzugt Bakterien ansiedeln können, zur Folge hat.^[5,14,47]

Nanokomposite enthalten 35-50 wt% Fülleranteil, da höhere Anteile die Verarbeitbarkeit der Monomermischung aufgrund hoher Viskositätswerte erschweren. Hybridkomposite hingegen enthalten bis zu 85 wt% Gesamtfüllstoffanteil (70-85 wt% Mikrofüllstoff und 15-30% Nanofüllstoff), da die kleineren Nanofüllstoffe die Zwischenräume inmitten der größeren Mikrofüllstoffen besetzen können (Abb. 7).^[6,8,13]

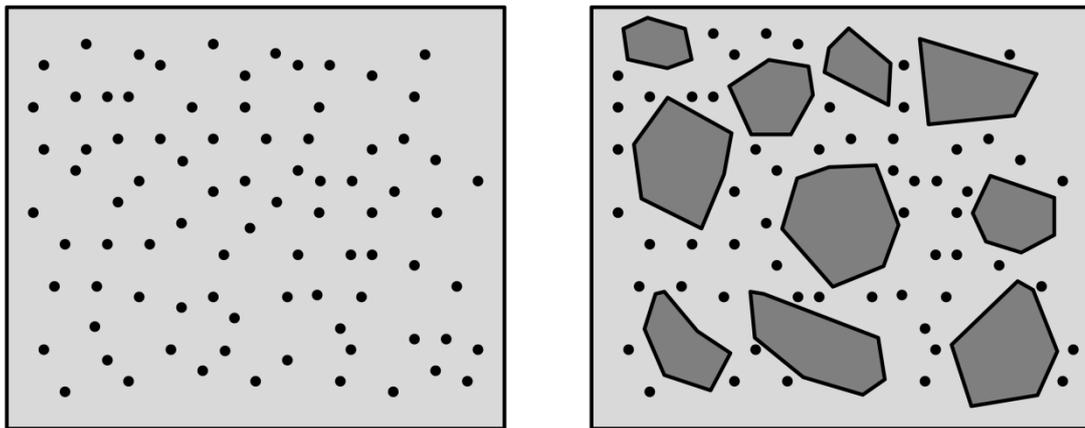


Abb. 7: Schematische Darstellung eines Nanokomposits (links) und eines Hybridkomposits (rechts).

Ein erhöhter Fülleranteil verringert die Polymerisationsschrumpfung des Materials, da der prozentuale Anteil an kontrahierbarer Kunststoffmatrix geringer ausfällt. Die mechanischen Eigenschaften (Elastizitätsmodul, Vickershärte und teilweise auch Biegefestigkeit) steigen mit zunehmendem Füllstoffgehalt, somit weisen Hybridkomposite im Allgemeinen bessere Werte auf als Nanokomposite.^[6,10,12]

2.2.4 Komposite mit anisotropen Füllstoffen

Die Verwendung von Füllstoffen mit anisotroper Gestalt, also mit nicht in allen Raumrichtungen gleicher Ausdehnung, für dentale Kompositmaterialien soll laut einigen Studien zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften führen.^[4,22,48-53] Gute Ergebnisse wurden beispielsweise mit Glasfasern als

Füllstoff gemacht bezüglich Biegefestigkeit, E -Modul und Abrasionswiderstand.^[48-52] Aufgrund ihrer Größe von ca. 5-10 μm im Durchschnitt und 25 μm Länge^[51,53] handelt es sich hier nicht um Nanopartikel, die per Definition in mindestens einer Dimension eine Größe von unter 100 nm besitzen.^[9,43] Da Nanopartikel eine große spezifische Oberfläche im Verhältnis zum Volumen aufweisen, besitzen sie eine extrem hohe Oberflächenenergie.^[9,45] Die Interaktionen zwischen anorganischer und organischer Matrix in einem Komposit könnten also durch den Einsatz von Nanofüllstoffen mit anisotroper Gestalt erhöht werden, was zu einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften führt.

Die Gruppe um FONG^[4,22] hat kristalline Attapulgit-Fasern als Füllstoffe für Kompositmaterialien untersucht. Attapulgit, auch Palygorskit oder Bergleder genannt,^[54] ist ein faserförmiges Schichtsilikat mit der Formel $(\text{Mg,Al})_2\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dessen Primärpartikel einen Durchmesser von 10-25 nm und eine Länge von 0.1-3.0 μm besitzen und somit nanoskalig sind.^[22,55] Die mechanischen Eigenschaften der Kompositmaterialien, wie E -Modul und Biegefestigkeit, konnten – zumindest bei niedrigen Füllstoffgehalten – verbessert werden. Diese Verbesserung wird auf sogenannte Überbrückungseffekte zurück geführt. Sobald sich ein Riss aufgrund von mechanischer Beanspruchung bildet, bleiben die faserförmigen Füllstoffe zwischen den Rissflächen intakt und wirken verbrückend. Der Rissfortschritt wird somit unterbunden, da der Materialzusammenhalt durch die Fasern stabilisiert wird (Abb. 8 rechts).^[4,22,23]

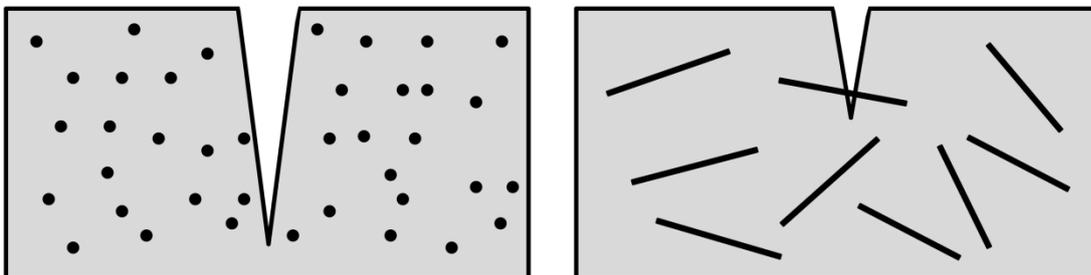


Abb. 8: Rissbildung in Komposit mit sphärischen (links) und anisotropen (rechts) Füllstoffpartikeln.

Aufgrund der kristallinen Struktur des Attapulgits, die stark der von Asbest ähnelt, sind gesundheitliche Bedenken bezüglich der Anwendung in dentalen

Kompositen angebracht. Diese kristallinen Fasern weisen toxische und mutagene Eigenschaften auf, können Fibrosen oder Hämolyse auslösen.^[56-58] Als Alternative könnten zum Beispiel amorphe Silica-Nanopartikel mit faserförmiger Morphologie verwendet werden. Diese könnten aufgrund ihrer anisotropen Gestalt überbrückend wirken, weisen aber keine zytotoxischen oder mutagenen Eigenschaften auf.^[58-62]

2.2.5 Mechanische Werkstoffprüfung

Dentale Werkstoffe sind in der Mundhöhle einer großen Anzahl von teilweise aggressiven Bedingungen ausgesetzt: Wechsel von pH-Wert, Temperatur und Nahrungszusammensetzung, starke mechanische Belastung durch Kauen und die tägliche Zahnpflege sowie chemische Einflüsse durch Medikamente, Zahnpastabestandteile oder Mundspüllösungen.^[63] Dentale Komposite müssen stabil gegenüber Deformation und Bruch sein, ihre mechanischen Eigenschaften bedürfen umfassender Werkstoffprüfung. Meist werden diese Prüfverfahren an die DIN-EN-ISO-Norm 4049:2010-03 (Zahnheilkunde – Polymerbasierende Restaurationsmaterialien) angelehnt.^[12,15,64] Im Drei-Punkt-Biegeversuch beispielsweise wird ein stäbchenförmiger Probekörper auf zwei zueinander parallelen Widerlagern aufgelegt und mittig belastet.

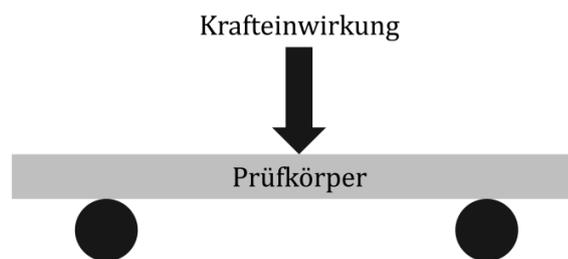


Abb. 9: Schematischer Aufbau einer Drei-Punkt-Biegeprüfung.

Durch die Messung der Belastung beim Bruch kann die Biegefestigkeit nach Gleichung (1) ermittelt werden.

$$\sigma = \frac{3 \cdot F \cdot L}{2 \cdot b \cdot h^2} \quad (1)$$

- σ : Biegefestigkeit
- F : maximale Kraft
- L : Abstand zwischen den Widerlagern
- b : Breite des Probekörpers
- h : Höhe des Probekörpers

Die Durchbiegung des Prüfkörpers in Abhängigkeit von der Biegekraft lässt Rückschlüsse auf den E -Modul (Elastizitätsmodul) des Kompositmaterials zu. In Abb. 10 ist das Spannungs-Dehnungs-Diagramm einer spröden und einer duktilen Probe schematisch dargestellt. Der Anfangsbereich der Kurve wird von einem reversiblen linear-elastischen Verhalten geprägt, in dem das HOOKEsche Gesetz gilt. Die Steigung des linearen Bereichs wird als E -Modul bezeichnet. Dieser beschreibt den Widerstand gegen die elastische Deformation unter Belastung und ist ein Maß für die Steifigkeit eines Materials.^[6] Je größer der E -Modul, desto weniger wird das Material deformiert. Wenn die Kurve abflacht, wird die Dehnung plastisch und es tritt eine irreversible Deformation auf. Bei weiterer Beanspruchung kommt es letztendlich zum Bruch.^[16]

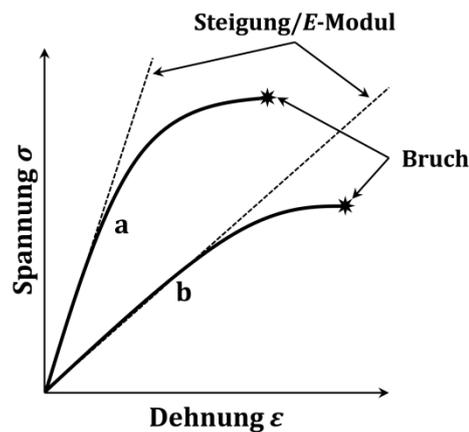


Abb. 10: Schematisches Spannungs-Dehnungs-Diagramm einer spröden (a) und duktilen (b) Probe.

Die Berechnung des E -Moduls erfolgt aus der Steigung des linearen Anfangsbereichs der Kurve gemäß Gleichung (2):

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon} = \frac{F}{\Delta l} \cdot \frac{L^3}{4 \cdot b \cdot h^3} \quad (2)$$

E : E -Modul

σ : Spannung

ϵ : Dehnung

F : einwirkende Kraft

Δl : Längenänderung durch Durchbiegung (linearer Bereich)

L : Abstand zwischen den Widerlagern

b : Breite des Probekörpers

h : Höhe des Probekörpers

Dentale Komposite weisen ein viskoelastisches Verhalten auf, so dass deren Kurve nur bei kleinen Kraftwerten ein lineares Verhalten aufweist. Dennoch liefert die beschriebene Methode hier recht genaue Werte bei der Bestimmung des *E*-Moduls.

2.3 Synthese von mesoporösen Silica-Nanopartikeln (MPSNP)

Im folgenden Abschnitt wird auf die Synthese von mesoporösen Silica-Nanopartikeln eingegangen. Durch die gezielte Variation der Syntheseparameter können die Eigenschaften des Porensystems, die Partikelgröße, die Partikelmorphologie sowie die Oberflächeneigenschaften den jeweiligen Anwendungsgebieten angepasst werden.

2.3.1 Porensystem

Mesoporöse Silica-Materialien gewinnen immer mehr Interesse seit ihrer Herstellung durch YANAGISAWA *et al.* und die MOBIL OIL COMPANY zu Beginn der 1990er Jahre.^[65,66] Sie besitzen eine große spezifische Oberfläche, großes Porenvolumen und eine kontrollierbare Porenweitenverteilung.^[67] Da mesoporöse Materialien per IUPAC-Definition^[68] Porendurchmesser von 2 bis 50 nm aufweisen, werden sie häufig auch als „nanoporös“ bezeichnet. Es werden im Allgemeinen zwei unterschiedliche Mechanismen für die Bildung des mesoporösen Systems unterschieden, wobei anionische, kationische oder neutrale amphiphile Moleküle wie Tenside als strukturdirigierende Agenzien (SDAs) fungieren.^[69,70] Der echte Flüssigkristall-Templat-Mechanismus geht von der Bildung einer lyotropen flüssigkristallinen Phase bei höheren SDA-Konzentrationen aus. Bei der Überschreitung einer gewissen kritischen Konzentration bilden die Tensidmoleküle größere Aggregate aus, sogenannte Micellen. Der Grund dafür sind hydrophobe intermolekulare Wechselwirkungen und assoziierte entropische Effekte durch die Freisetzung von Wassermolekülen, die zuvor an die freien Tensidmoleküle koordiniert waren. Die Form der Micellen ist abhängig von Konzentration, Temperatur, Lösungsmittel sowie Art des Tensids. Sie können sphärische oder zylindrische Gestalt aufweisen und sich zu hexagonalen, kubischen oder lamellaren Phasen anordnen.^[71] Die langreichweitig geordneten Phasen werden als lyotrope Phasen bezeichnet. Um diese Micellen bildet sich dann per Sol-Gel-Verfahren die anorganische Silica-

Phase. Hierzu werden die eingesetzten Silica-Vorstufen, wie zum Beispiel Tetraethoxysilan (TEOS) oder Tetramethoxysilan, zunächst hydrolysiert und kondensieren dann zu einem amorphen Siliciumdioxid-Netzwerk um die organische Phase.^[72]



Nach Entfernung des SDAs durch Calcination bei hohen Temperaturen oder durch Lösungsmittel-Extraktion wird das mesoporöse Silica-Material erhalten (Abb. 11a).^[27] Im Gegensatz dazu steht der kooperative Templat-Flüssigkristall-Mechanismus, bei dem sich mesoporöse Silica-Materialien auch bei geringen Tensid-Konzentrationen bilden können. Durch attraktive Wechselwirkungen zwischen den Tensidmolekülen und der Silica-Vorstufe bilden sich auch in verdünnten silicatischen Tensidlösungen selbstorganisierte lyotrope Phasen aus. Nach Kondensation der Silica-Vorstufe und Entfernung des SDAs erhält man das mesoporöse Material (Abb. 11b).^[70]

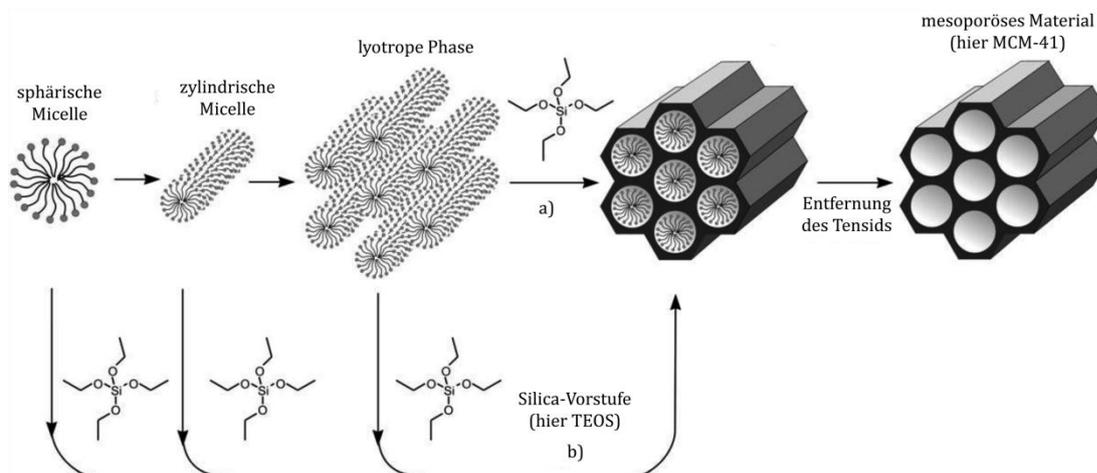


Abb. 11: Bildung von mesoporösen Silica-Materialien; a) echter Flüssigkristall-Templat-Mechanismus, b) kooperativer Flüssigkristall-Templat-Mechanismus.^[70]

Die Porengröße der Partikel kann durch die Wahl des Tensids oder durch die Zugabe von Quellungsmittel, wie etwa 1,3,5-Trimethylbenzol, zur Vergrößerung des Micellendurchmessers, gesteuert werden.^[73]

2.3.2 Kontrolle der Partikelgröße

Zur Synthese von mesoporösen Silica-Partikeln im nanoskaligen Bereich sind unterschiedliche Synthesestrategien anwendbar. Eine modifizierte STÖBER-Methode nutzt beispielsweise niedrig siedende Alkohole, um hydrophobes Tetraalkoxysilan als Silica-Vorstufe in Lösung zu bringen und somit eine homogene Syntheselösung zu erreichen.^[74] Die *Quench*-Methode nutzt einen Verdünnungsschritt gefolgt von der Neutralisation der Syntheselösung, um das Wachstum der Silica-Partikel zu stoppen.^[75,76] Eine äußerst verdünnte Reaktionslösung kann ebenfalls zur Bildung von Silica-Nanopartikeln führen, da sich die Micellen-Silica-Intermediate nicht zu größeren Aggregaten zusammen lagern können.^[77] Eine weitere Methode nutzt zweierlei Tenside, eine ionische Alkylammonium-Verbindung zur Micellen-Bildung und ein neutrales Blockcopolymer zur Abschirmung der Silica-Partikel-Oberfläche, um deren Wachstum zu unterdrücken.^[78] Ein Überschuss von Triethanolamin führt zu einer Komplexierung der Silica-Vorstufe und zu einer Verringerung deren Hydrolysegeschwindigkeit. Die Oberfläche der Micellen-Silica-Intermediate wird ebenfalls besetzt, was die Zusammenlagerung einzelner Intermediate inhibiert und die resultierende Partikelgröße begrenzt.^[79] QIAO *et al.* postulieren hingegen, dass es die basischen Eigenschaften von Triethanolamin und Diethanolamin sind, die die Bildung von Nanopartikeln begünstigen. Durch die Pufferwirkung dieser Additive wird der initiale pH-Wert der Syntheselösung in den basischen Bereich (ca. pH 9) verschoben, in dem Hydrolyse und Kondensation gleichzeitig ablaufen können. Die sich bildenden Micellen-Silica-Aggregate erreichen eine gewisse Größe und hören dann auf zu wachsen. Durch das basische Medium werden Silanol-Gruppen auf der Aggregatoberfläche deprotoniert und die entstehenden negativen Ladungen hindern weitere Silanspezies aufgrund elektrostatischer Repulsion bei der weiteren Anlagerung.^[80]

2.3.3 Kontrolle der Partikelmorphologie

Durch die Variation von Syntheseparametern oder die Zugabe von co-strukturdirigierenden Agenzien ist die Steuerung der Morphologie von Silica-Partikeln möglich. Neben sphärischen Partikeln sind eine große Anzahl anisotroper Formen möglich, wie Fasern,^[31] Bänder,^[81] Stäbchen,^[82] Helices,^[83] Röhrrchen,^[84] Plättchen,^[85] Würfel,^[86] Rhombendodekaeder^[87] oder Schäume.^[88]

Die Partikel können in mindestens einer Raumrichtung nanoskalige Abmessungen (< 100 nm) aufweisen, kompakt sein oder ein poröses System besitzen. Die genauen Mechanismen zur Bildung von anisotropen Silica-Partikeln sind noch nicht vollständig bekannt, es werden jedoch einige Theorien postuliert. Die Bildung von Silica-Würfeln und Dreiecken an Flüssig-Flüssig-Übergangsflächen wird durch Verringerung der Nukleations- und Wachstumsgeschwindigkeit erklärt. Tenside oder Ionen lagern sich bevorzugt an bestimmten Partikelflächen an und schirmen diese ab, was in einem gerichteten Wachstum der unbesetzten Bereiche resultiert.^[86] Des Weiteren werden Template mit unterschiedlichen Formen eingesetzt, um die sich die Silica-Struktur bildet und die jeweilige Form übernimmt. Hierfür können unter anderem verschiedene Organogele,^[83] Kohlenstoffnanoröhren,^[84] CaCO_3 -Fasern,^[89] Mikroemulsionen^[88] oder Polymerkügelchen^[90] eingesetzt werden. SADASIVAN *et al.* postulieren für die Bildung von hoch anisotropen mesoporösen Silica-Fasern einen Mechanismus, der auf repulsiven Wechselwirkungen zwischen anionischen Spezies basiert. Zunächst bilden sich, wie in Abschnitt 2.3 beschrieben, einzelne zylindrische Tensid-Micellen, die mit Silica beschichtet sind. Diese formen ungeordnete Aggregate mit sphärischer Gestalt (Abb. 12a), die sich unter interner Reorganisation der Micellenausrichtung in Silica-Tensid-Aggregate mit hexagonaler Anordnung umwandeln, die eine den nematischen Flüssigkristallen ähnliche Struktur aufweisen (Abb. 12b). Bei Anwesenheit von anionischen Organosilanen, wie etwa 3-Mercaptopropyltrimethoxysilan (MPTMS), bilden sich durch Cokondensation negativ geladene Gruppen an der Oberfläche. Durch elektrostatische Repulsion wird die Anlagerung weiterer Micellen mit anionischer Oberfläche (durch deprotonierte Thiol- oder Silanol-Gruppen) verhindert und seitliches Wachstum gehemmt. Die Silica-Tensid-Intermediate lagern sich somit bevorzugt an den Enden der elongierten Cluster an, was zu einem anisotropen Wachstum führt (Abb. 12c).^[76]

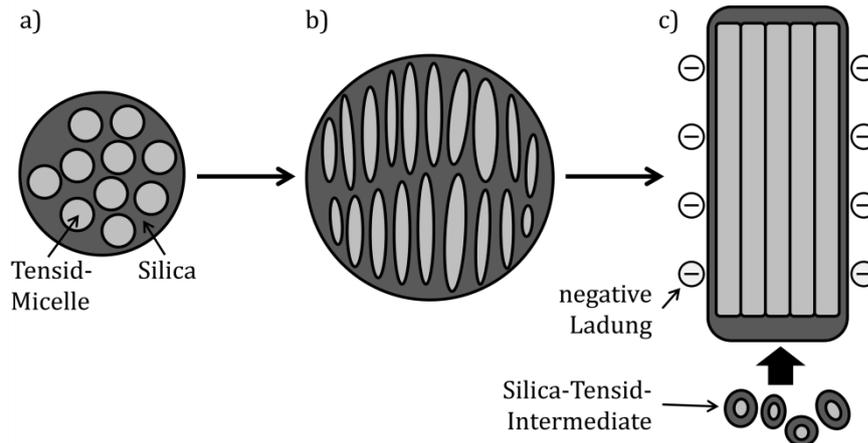


Abb. 12: Von SADASIVAN postulierter Wachstumsmechanismus für anisotrope Silica-Partikel; a) ungeordnete Silica-Tensid-Intermediate, b) hexagonal geordnete Silica-Tensid-Intermediate, c) gerichtetes Wachstum zu elongierten Silica-Tensid-Intermediaten (nach [76]).

Für ungeladene Organosilane postulieren HUH *et al.* einen Co-SDA-Mechanismus zur Silica-Faser-Bildung, der auf VAN-DER-WAALS-Interaktionen zwischen Organosilanen und den hydrophoben Alkylschwänzen der Tensidmoleküle basiert. Bei der Bildung der Micellen-Silica-Intermediate richten sich ungeladene bzw. hydrophobe organische Gruppen zum ebenfalls hydrophoben Kern der Micellen aus, so dass die hydrophilen Silanol-Gruppen auf der Oberfläche ausgerichtet werden (Abb. 13a). Durch diese Ausrichtung werden die Silanol-Gruppen räumlich nah aneinander gebracht, was eine rasche Kondensation und Silica-Bildung an der Oberfläche bewirkt. Elongierte Micellen-Silica-Intermediate werden somit stabilisiert und ein Wachstum findet bevorzugt an den nicht vollständig kondensierten Enden statt (Abb. 13b). Diese Intermediate lagern sich dann zusammen und bilden somit eine hexagonal geordnete Porenstruktur aus (Abb. 13c).^[82] Die Ausrichtung der Porenkanäle nach Entfernung der SDAs verläuft somit parallel zur Wachstumsrichtung der Silica-Faser.

Die Bildung von chiralen helikalen Silica-Fasern kann durch die Bildung von helikalen Micellen erklärt werden, da aus der Verdrehung der zunächst zylindrischen Tensid-Micellen eine verringerte freie Oberflächenenergie resultiert.^[91]

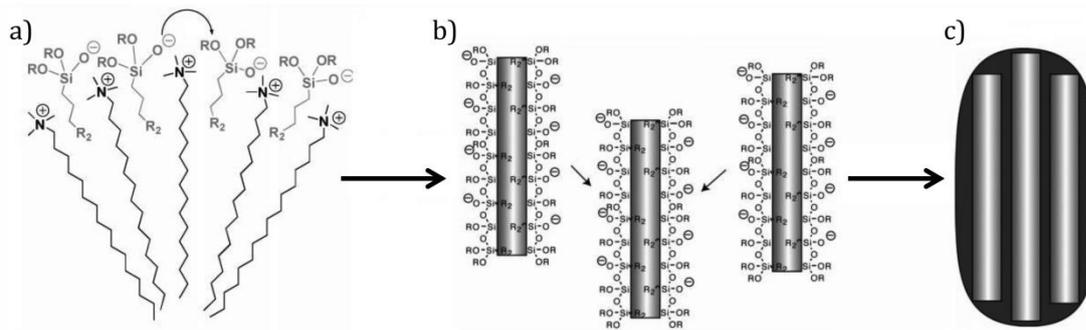


Abb. 13: Von HUH postulierter Wachstumsmechanismus für anisotrope Silica-Partikel; R = Methyl oder Ethyl, R₂ = ungeladene bzw. hydrophobe Gruppe; a) Interaktion von Micelle und Organosilan, b) Wachstum elongierter Silica-Tensid-Intermediate, c) Zusammenlagerung einzelner Silica-Tensid-Intermediate (nach [82]).

2.3.4 Oberflächenmodifizierung

Durch die gezielte Modifizierung der Oberfläche mit verschiedenen organischen Gruppen oder Polymeren ist eine Steuerung der physikalischen und chemischen Eigenschaften von mesoporösen Silica-Nanopartikeln in einfacher Weise möglich. Modifizierte MPSNP finden unter anderem Anwendung als Absorptionsmittel in der Wasseraufbereitung, Ionenaustauscher, in der Sensorik, Katalyse, Chromatographie, Separation, Wirkstofffreisetzung oder zur Immobilisierung von Biomolekülen.^[79,92] Die Wechselwirkungen mit Wirkstoffmolekülen oder Metallionen können variiert werden, das Agglomerationsverhalten minimiert, die Interaktionen mit Zellen gesteuert und verschiedene Indikatorstoffe hinzugefügt werden. Es werden generell zwei Synthesestrategien dafür verwendet: die Co-Kondensationsmethode und die *Postgraftig*-Methode.^[93] Die Co-Kondensationsmethode ist eine Synthese, bei der die Silica-Vorstufen und Tenside *in situ* mit Trialkoxyorganosilanen umgesetzt werden. Die Organosilane hydrolysieren und kondensieren zusammen mit den Silica-Vorstufen, somit werden die funktionellen Gruppen direkt in die Silica-Struktur eingebunden. Dies führt zu einer homogenen Verteilung. Es muss darauf geachtet werden, dass die organischen Gruppen nicht in der Form mit den Templat-Silica-Aggregaten wechselwirken, dass die Struktur der entstehenden Partikel ungewollt beeinflusst wird (siehe Abschnitt 2.3.3). Des Weiteren können die SDAs lediglich durch postsynthetische Extraktion entfernt werden, da hohe Temperaturen die organischen Gruppen zersetzen können. Für biomedizinische Anwendungen ist eine unvollständige Extraktion aufgrund zelltoxischer Eigenschaften von Tensiden von erheblichem Nachteil.

Bei der *Postgrafting*-Methode werden zunächst die Silica-Nanopartikel hergestellt. Deren Oberfläche weist eine hohe Anzahl von reaktiven Silanol-Gruppen (Si–OH) auf. Diese können anschließend mit funktionellen Molekülen, wie Trialkoxy- oder Trichlororganosilanen reagieren. Es bildet sich zunächst eine stabile monomolekulare Adsorptionsschicht auf der Partikeloberfläche aus, auch als *self-assembled monolayer* bezeichnet.^[94,95] Durch Kondensationsreaktionen werden nun kovalente Siloxanbindungen (Si–O–Si) zwischen Silan und Oberfläche geknüpft und somit die Partikeloberfläche mit unterschiedlichen Gruppen ausgestattet. Amine haben hierbei eine katalytische Wirkung.^[96] Die Struktur der Partikel bleibt weitestgehend intakt, jedoch kann es zu einer unselektiven oder inhomogenen Verteilung der Gruppen auf der Oberfläche oder an den Porenöffnungen kommen, was zum Blockieren der Poren führen kann.^[27,70] Neben anderen Parametern kann ein zu geringer Wassergehalt in der Syntheselösung zu einer unvollständigen Schicht führen, während ein Wasserüberschuss eine exzessive Kondensation der Silanmoleküle untereinander verursachen könnte. Letzteres kann zur Bildung von dichten ungeordneten Multischichten oder größeren Oligomeren führen, die die Porenöffnungen der Partikel blockieren könnten. Die Modifizierung mit Silanen wird deswegen häufig in Toulol durchgeführt, da dieses Lösungsmittel einen optimalen Wassergehalt für die Bildung von Organotrisilanol-Molekülen aufweist, so dass die Monoschichtbildung bevorzugt abläuft.^[96,97]

Eine selektive Modifizierung von äußerer und innerer Oberfläche ist bei der *Postgrafting*-Methode außerdem möglich, indem ein erster (äußerer) Modifizierungsschritt der Partikeloberfläche vor der Entfernung des SDAs angewandt wird. Durch Extraktion werden anschließend die Poren freigegeben und ihre (innere) Oberfläche kann selektiv mit einem anderen Silan modifiziert werden.^[98,99]

Neben den bereits beschriebenen kovalenten Anbindungsmethoden ist es möglich Polymere mit funktionellen Gruppen durch elektrostatische Wechselwirkungen an die Oberfläche von Silica-Nanopartikeln zu binden. Die bei physiologischen Bedingungen deprotoniert vorliegenden Silanol-Gruppen (Si–O⁻) können beispielsweise positiv geladendes Polyethylenimin adsorbieren.^[100]

2.4 Biomedizinische Anwendungen von Silica-Nanopartikeln

Seit der ersten Anwendung von mesoporösen Silica-Materialien als Wirkstofffreisetzungssysteme im Jahr 2001^[101] wird die medizinische Anwendung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln als *drug delivery* - Systeme zunehmend untersucht. MPSNP weisen eine große spezifische Oberfläche, ein großes Porenvolumen, teilweise hoch geordnete Porenstrukturen und eine einstellbare Porenweitenverteilung auf, was eine hohe Beladung und kontrollierte Abgabe von unterschiedlichsten Wirkstoffmolekülen ermöglicht. Die Beladung erfolgt meist durch die Dispersion der Silica-Partikel in einer konzentrierten Wirkstofflösung, bei der der jeweilige Stoff in die Poren und an die Partikeloberfläche adsorbiert wird.^[102]

Ogleich die Toxizitätsbewertung von Silica-Nanopartikeln aufgrund der großen Variabilität von Größe, Morphologie, Porengröße und -anordnung sowie Oberflächenchemie noch weiterer Untersuchungen bedarf, werden MPSNP als weitestgehend biokompatibel *in vitro* und *in vivo* angesehen. Teilweise werden sie in Zytotoxizitätsstudien als Negativkontrolle eingesetzt. Silica-Nanopartikel werden unter anderem in der Kosmetik, als Lebensmittelzusatzstoff und als Füllstoffe für medizinische Kompositmaterialien eingesetzt und wurden in einer mit Polyethylenglycol-modifizierten Form von der FDA (*U.S. Food and Drug Administration*, U.S.-Bundesbehörde zur Überwachung von Nahrungs- und Arzneimitteln) allgemein als ungefährlich anerkannt und zur ersten klinischen Studie am Menschen zugelassen.^[24-30] Durch die Modifizierung der Partikeloberfläche mit Polyethylenglycol kann deren Biokompatibilität, Verweilzeit im Blutkreislauf sowie Löslichkeit in biologischen Medien verbessert werden. Ungewollte Agglomeration, Biodegradation, Serumproteinadsorption, Phagozytose und die Hämolyse von roten Blutkörperchen werden minimiert, was diese MPSNP insbesondere für intravenöse Anwendungen interessant macht.^[103-107]

Die Dispersion von Nanopartikeln in biologischen Medien ist ein wichtiger Faktor für deren Wirksamkeit. Unmodifizierte MPSNP tendieren zur Agglomeration aufgrund von Wasserstoffbrückenbindungen der Oberflächen-Silanol-Gruppen. Die Agglomerationstendenz kann durch eine Modifizierung mit ionischen Gruppen minimiert werden. Die elektrostatische Abstoßung der

gleich geladenen Gruppen hat eine repulsive Wirkung und bewirkt die Stabilisierung der Dispersion.^[108,109] Die Modifizierung der Partikel mit neutralen wasserlöslichen Polymeren verringert eine Agglomeration durch sterische Hinderung.^[109] Nach einer gewissen Zeit in physiologischen Medien lösen sich MPSNP durch die Hydrolyse von Siloxanbindungen auf. Die Abbauprodukte werden vom Körper ausgeschieden und es kommt zu keiner Akkumulation in bestimmten Geweben oder Organen, was eventuell die geringe Toxizität von MPSNP erklären könnte.^[29]

Vor allem in der Krebsdiagnostik und -therapie wird der Einsatz von MPSNP-basierten Systemen intensiv untersucht. Laut dem sogenannten EPR-Effekt (Erhöhte Permeabilität und Retention) akkumulieren Nanopartikel mit einer bestimmten Größe bevorzugt in Tumorgewebe.^[110] Durch die Ausstattung der äußeren Oberfläche von MPSNP mit tumorzellenspezifischen Liganden, wie bestimmten Peptiden, Antikörpern, Aptameren oder Folsäurederivaten ist außerdem ein gezielter Transport in Krebszellen durch Endozytose möglich.^[29,111-114] Eine erhöhte Zellaufnahme kann zudem durch die Verwendung von stäbchenförmigen Partikeln oder positiv geladener Oberflächengruppen erreicht werden.^[115] Die Einlagerung von Fluoreszenzfarbstoffen oder Seltenen Erden-Komplexen in das Porensystem ermöglicht eine gezielte, nicht invasive Detektion von Tumorgewebe.^[111,116] Des Weiteren können teilweise hoch toxische Medikamente auf diese Weise selektiv in Krebszellen eingebracht werden, was Nebenwirkungen reduziert. Innerhalb der Partikel werden empfindliche Stoffe vor Hydrolyse oder enzymatischer Degradation geschützt und somit ihre effektive Wirksamkeit erhöht.^[29,117,118] Hydrophobe oder schwer lösliche Stoffe können innerhalb von MSPNP in wässrigen beziehungsweise physiologischen Systemen eingebracht, dispergiert und freigesetzt werden.^[102,108,119] Neben einer Vielzahl organischer Wirkstoffe können auch anorganische Substanzen mit antimikrobieller Wirksamkeit eingelagert werden, wie zum Beispiel Silber-Nanopartikel.^[120,121] Selbst Biomoleküle, wie Proteine, Enzyme, DNA- oder RNA-Moleküle, können je nach Größe in das Porensystem oder an die Partikeloberfläche gebunden und in Zellen transportiert werden, was sie interessant macht für die Anwendung in der Gentherapie, der Stammzellenforschung oder dem *tissue engineering*.^[109,122-126]

Die Freisetzungskinetik der jeweiligen Wirkstoffe an den Partikeln ist abhängig von einer Vielzahl unterschiedlicher Parameter. Eine Erhöhung der Porengröße oder eine Verringerung der Partikelgröße führt beispielsweise zu einer Erhöhung der Freisetzungsrates.^[102,119,127] Des Weiteren ist es möglich, die Partikeloberfläche chemisch zu modifizieren (siehe Abschnitt 2.3.4), um die Freisetzungskinetik zu beeinflussen. Abb. 14 zeigt unterschiedliche Wirkstoff-freisetzungprofile, die durch verschiedene Modifizierungen erzielt werden können. Profil **a** wird oft bei unmodifizierten Materialien beobachtet, bei denen nur schwache Wechselwirkungen zwischen Wirkstoff und Trägermaterial bestehen. Zu Beginn erfolgt die Freisetzung einer sehr großen Menge, ein *initial burst release*, gefolgt von einer sehr geringen Freisetzungsrates. Dies ist bei akuten Infektionen wünschenswert, bei denen kurzzeitig hohe Wirkstoffdosen notwendig sind, jedoch nicht für Langzeitanwendungen. Profil **b** zeigt ein Freisetzungprofil mit einer Geschwindigkeit erster Ordnung, die durch Diffusion, Auflösung oder stärkere Wechselwirkungen, wie Wasserstoffbrückenbindungen oder VAN-DER-WAALS-Kräfte, verursacht werden kann. Die Wirkstoffmoleküle werden stärker an die Partikeloberfläche gebunden und somit langsamer freigesetzt. Anionische oder kationische funktionelle Gruppen auf der Partikeloberfläche sind in der Lage durch elektrostatische Wechselwirkungen die Freisetzungskinetik entgegen geladener Wirkstoffmoleküle diesbezüglich zu beeinflussen sowie die eingelagerte Menge zu erhöhen.^[123,128-130] Des Weiteren können Polymere an der Partikeloberfläche als Diffusionsbarriere wirken und die Freisetzungsgeschwindigkeit zusätzlich verlangsamen.^[129]

Für viele biomedizinische Langzeitanwendungen ist eine kontinuierliche Freisetzung mit einer Kinetik nullter Ordnung (Profil **c**) wünschenswert. Dies kann beispielsweise durch ein Wirkstoffreservoir mit einer gesättigten Suspension, die durch eine Membran vom Freisetzungsmittel getrennt ist, realisiert werden.^[131] Freisetzungprofil **d** zeigt den Verlauf eines *Stimulus-Response-Systems*, bei dem die Freisetzung reversibel und nur bei Einwirkung eines externen Reizes erfolgt.^[132] In Abschnitt 2.5 wird auf unterschiedliche *Stimuli-Response-Systems* im Detail eingegangen.

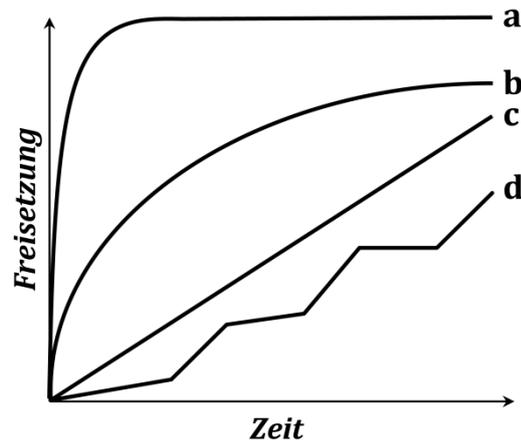


Abb. 14: Wirkstofffreisetzungsprofile (nach ^[132]).

2.5 *Stimuli-Response-Systeme*

Durch Medikamentenfreisetzungssysteme, basierend auf mesoporösen Silica-Nanopartikeln, können Biofilmbildung und bakterielle Infektionen auf der Oberfläche von dentalen Implantaten und Kompositen verhindert werden. Eine große Herausforderung stellt hierbei die Langzeitwirkung dieser Systeme dar. Implantat-assoziierte Infektionen sind meist der Hauptgrund für das Spätversagen dentaler Implantate nach mehreren Jahren.^[133] Die Freisetzung antimikrobiell wirksamer Mengen aus konventionellen Systemen ist jedoch zeitlich begrenzt und erschöpft sich oft in den ersten 24 Stunden. Eine Alternative stellen die sogenannten *Stimuli-Response-Systeme* (Reiz-Reaktions-Systeme) dar. Hierbei wird der eingelagerte Wirkstoff nur unter Einwirkung eines (*Stimulus*) oder mehrerer (*Stimuli*) externen Reize freigesetzt. Der Wirkstoff wird somit im Idealfall über einen längeren Zeitraum zurückgehalten und erst wenn er benötigt wird, abgegeben. Nach Beendigung des Stimulus wird auch die Freisetzung beendet. Somit wird ein intelligentes Wirkstoffreservoir geschaffen, das lediglich nach Bedarf den eingelagerten Stoff freisetzt.

In der Literatur wurden eine Vielzahl *Stimuli-Response-Wirkstoffträgersysteme* untersucht.^[132,134–136] Obwohl verschiedene Trägersysteme, wie zum Beispiel Hydrogele^[137,138] bekannt sind, bieten mesoporöse Silica-Nanopartikel als Wirkstoffreservoirs wie oben bereits erwähnt viele Vorteile. Sie besitzen eine große spezifische Oberfläche, große Porenvolumina, einstellbare Porengrößen, Morphologien und Partikelgrößen sowie eine chemisch modifizierbare Oberfläche. Zudem weisen sie eine hohe Biokompatibilität *in vitro* und *in vivo* auf und können über Endocytose in Zellen eindringen. Ein wichtiges Anwendungsgebiet

für MPSNP basierte *Stimuli-Response-Systeme* ist die Krebstherapie. Antitumormedikamente weisen eine teilweise erhebliche systemische Toxizität auf.^[139,140] Eine lokale Freisetzung lediglich im Inneren der Tumorzellen ist somit wünschenswert, um die Nebenwirkungen auf den Organismus zu minimieren. Des Weiteren wird an *Stimuli-Response-Systemen* geforscht, die in der Diabetes-Therapie eingesetzt werden könnten.^[141,142] Diese sollen auf den Glucoseanteil des Bluts reagieren und eine kontrollierte Insulinfreisetzung ermöglichen.

Die Freisetzung von eingelagerten Wirkstoffen aus *Stimuli-Response-Systemen* kann durch unterschiedliche Reize erfolgen, wie zum Beispiel durch Änderungen von pH-Wert oder Temperatur, Redoxreaktionen, Lichteinwirkung, enzymatische Aktivität^[139] oder Antigen-Antikörper-Wechselwirkungen.^[143]

2.5.1 pH-sensitive Systeme

Stimulus-Response-Systeme, die auf die Änderung des pH-Werts reagieren, sind in der biomedizinischen Anwendung weit verbreitet, da viele Bereiche des menschlichen Organismus unterschiedliche pH-Werte aufweisen, wie im Gastrointestinaltrakt oder in bestimmten Zellbestandteilen. So können die Wirkstoffe systematisch in den Zielbereichen freigesetzt werden, während sie in anderen Gewebereichen eingelagert verbleiben.

Die Porenöffnungen von MPSNP, in denen Wirkstoffe (in Abb. 15 durch grüne Kreise dargestellt) eingelagert sind, können von verschiedenen Stoffen, wie Fe_3O_4 -, CdS- oder Gold-Nanopartikel sowie größeren (Bio-) Molekülen blockiert werden (in Abb. 15 schematisch durch gelbe Würfel dargestellt).^[144–146] Diese „*gate keeper*“ sind kovalent oder koordinativ^[144] an die Silica-Oberfläche gebunden und verhindern die Freisetzung des Wirkstoffs. Alternativ können auch die Medikamente selbst durch kovalente Bindungen an die Silica-Nanopartikel gebunden sein. Durch die Änderung des pH-Wertes können die Bindungen irreversibel gespalten werden, die *gate keeper* lösen sich von den Porenöffnungen und der Wirkstoff kann freigesetzt werden. Dies kann zum Beispiel durch die pH-Wert-abhängige Hydrolyse von Amidien,^[147] Acetalen,^[148] Hydrazonen^[140] oder Phenylborsäureestern^[141,146,149] erreicht werden. Die Art der Bindung bestimmt hierbei den pH-Bereich, in dem die Freisetzung stattfindet.

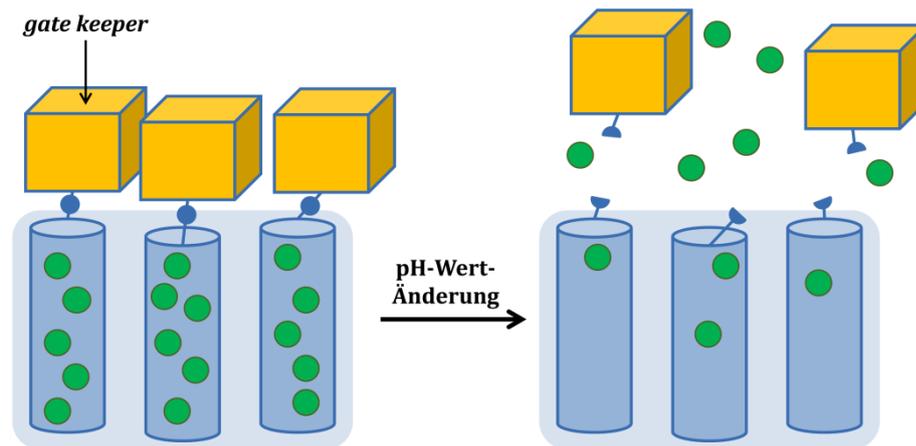


Abb. 15: pH-sensitives *Stimulus-Response*-System durch Bindungsbruch.

Ein großes Potential bezüglich pH-kontrollierter *Stimulus-Response*-Systeme besitzen die sogenannten Pseudorotaxane.^[134] Als Pseudorotaxane bezeichnet man Molekulanordnungen, die einen linearen Bereich besitzen, auf dem ein makrocyclisches Molekül aufgefädelt ist. Besitzt die lineare Einheit eine große Endgruppe, die die Abgabe des Makrocyclus verhindert, wird die Anordnung als Rotaxan bezeichnet.^[150] Die linearen Einheiten können auf der Oberfläche von MPSNP gebunden werden und bilden somit pH-sensitive *Stimulus-Response*-Systeme. Als Makrocyclen werden häufig Cyclodextrine eingesetzt, cyclische Oligosaccharide, die stabile Komplexe mit neutralen Stickstoffverbindungen eingehen. Wird der pH-Wert abgesenkt, so werden die Stickstoffatome protoniert, was zu einer Ablösung der Cyclodextrine führt. Die Porenöffnungen werden freigegeben und der Wirkstoff kann hinaus diffundieren, beispielhaft in Abb. 16 dargestellt. Als lineare Einheiten können unter anderem Polyethylenimin,^[151] Alinin,^[152] Benzimidazol^[142,153] und deren Derivate genutzt werden. Durch verschiedene elektronenschiebende oder -ziehende Substituenten kann der jeweilige pK_s-Wert der Stickstoffverbindung variiert werden und somit der pH-Bereich eingestellt werden, in dem die Verbindung protoniert wird und der Wirkstoff freigesetzt wird. Da die Ablösung von Cyclodextrin nicht durch eine Endgruppe verhindert wird, werden diese Systeme als Pseudorotaxane bezeichnet.

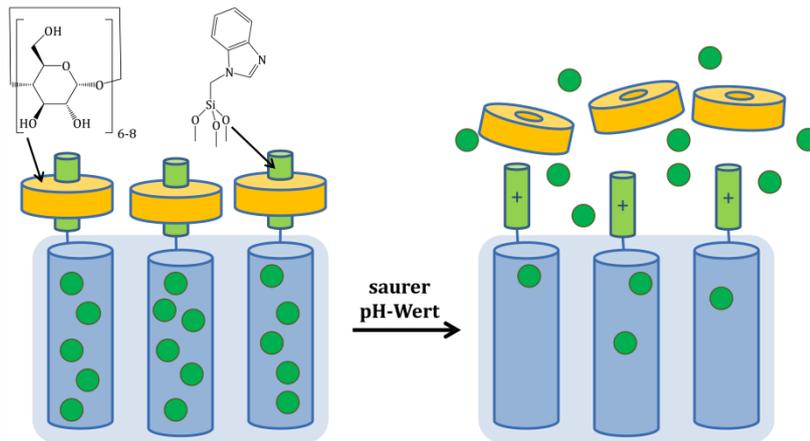


Abb. 16: pH-sensitives *Stimulus-Response*-System mit Cyclodextrin-Pseudorotaxanen (nach ^[153]).

Des Weiteren kann Cucurbit[6]uril als makrocyclischer *gate keeper* verwendet werden. Diese Moleküle bilden stabile Komplexe mit Bisammoniumeinheiten über Ion-Dipol-Wechselwirkungen. Werden die Stickstoffatome durch einen erhöhten pH-Wert deprotoniert, so lösen sich die Makrocyclen ab und der Wirkstoff kann freigesetzt werden.^[154] ANGELOS *et al.* haben ein System entwickelt, bei dem die lineare Einheit eines Rotaxans mit mehreren Bisammoniumeinheiten ausgestattet ist.^[155] Bei neutralen pH-Werten liegt lediglich die untere Einheit ($-\text{NH}_2^+-\text{(CH}_2\text{)}_4-\text{NH}_2^+-$) protoniert vor. Wird der pH-Wert abgesenkt, so wird die obere Einheit ($-\text{NH}_2^+-\text{(CH}_2\text{)}_6-\text{NH}_2^+-\text{Ph-}$, ein Anilinderivat mit einem niedrigeren pK_s -Wert), ebenfalls protoniert. Da die Komplexbildungskonstante von Cucurbit[6]uril mit einer ($-\text{NH}_2^+-\text{(CH}_2\text{)}_6-\text{NH}_2^+-$)-Einheit um eine Größenordnung größer ist als mit einer ($-\text{NH}_2^+-\text{(CH}_2\text{)}_4-\text{NH}_2^+-$)-Einheit, verschiebt sich der Makrocyclen von der Porenöffnung weg und ermöglicht somit die Freisetzung des Medikaments (Abb. 17). Durch verschiedene Substituten an der Anilineinheit kann die Basizität und somit der pH-Wert, bei dem eine Protonierung stattfindet, reguliert werden.

Die Protonierung und Deprotonierung erfolgt hier reversibel. Steigt der pH-Wert jedoch zu stark an (ca. pH 10), so werden sämtliche Ammonium-Gruppen der linearen Einheit deprotoniert und die Cucurbit[6]uril-Einheiten lösen sich irreversibel ab.

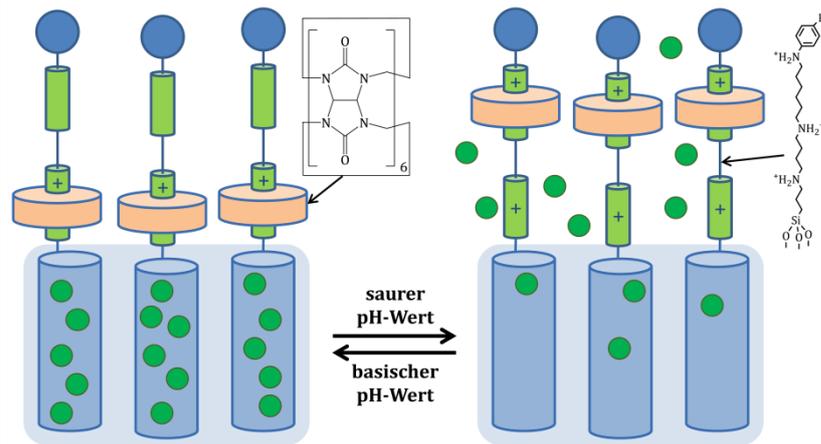


Abb. 17: pH-sensitives *Stimulus-Response-System* mit Cucurbit[6]uril-Preudorotaxanen (nach [155]).

2.5.2 Temperatur-sensitive Systeme

Stimulus-Response-Systeme, die auf Temperaturänderung reagieren, bestehen oft aus MPSNP mit einem superparamagnetischen Eisenoxidkern in Form von *Core/Shell*- beziehungsweise Kern/Hülle-Partikeln. Durch ein oszillierendes magnetisches Feld können diese Partikel lokal erhitzt werden. Da die Diffusionsgeschwindigkeit stark temperaturabhängig ist, werden eingelagerte Wirkstoffe durch die erhöhte Temperatur schneller freigesetzt.^[156] Pseudorotaxan-Systeme, deren Makrocyclus sich aufgrund von thermischer Anregung von der linearen Einheit löst und die Porenöffnungen freigibt, sind ebenfalls bekannt.^[157] Des Weiteren wurden Systeme untersucht, deren Silica-Poren mit ineinander gewundenen Peptiden verschlossen wurden.^[158] Durch Temperaturerhöhung und die damit verbundene erhöhten Molekülbewegungen wird der Peptidkomplex zerstört, die einzelnen Stränge trennen sich und die Porenöffnungen werden freigegeben.

Temperatursensitive Hydrogele, wie Poly(N-isopropylacrylamid), werden ebenfalls als *Stimuli-Response-Systeme* eingesetzt. Unterhalb der sogenannten kritischen Lösungstemperatur dominieren die hydrophilen Wechselwirkungen des Hydrogels mit Wassermolekülen, die Wasserlöslichkeit ist hoch und das Polymer angeschwollen. Beim Überschreiten dieser Temperatur gehen diese Polymere von einem expandierten in einem komprimierten Zustand über. Die über Wasserstoffbrückenbindungen gebundenen Wassermoleküle werden entropiebedingt abgegeben, die hydrophoben Eigenschaften des Hydrogels

überwiegen und die Wasserlöslichkeit wird stark reduziert. Es kommt zu einer Kontraktion des Polymers (Abb. 18).^[137]

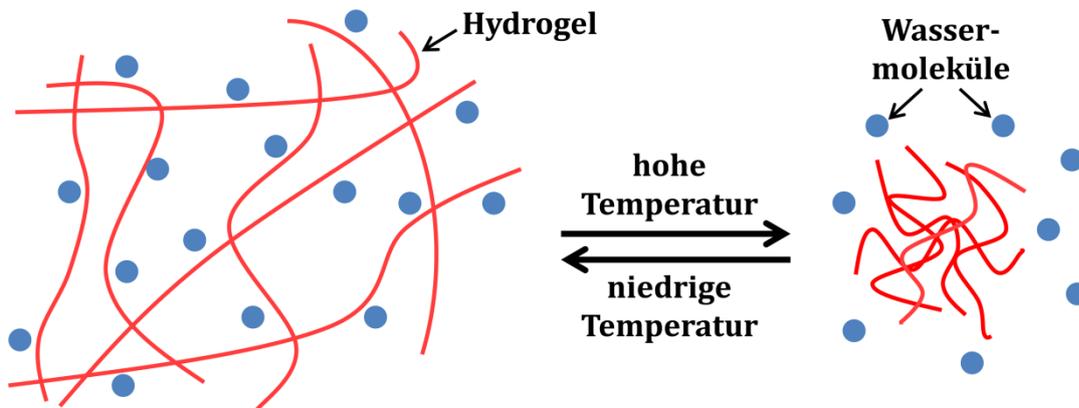


Abb. 18: Temperaturabhängige Kontraktion eines Hydrogels (Wassermoleküle hier durch blaue Punkte dargestellt).

Eine gezielte Wirkstoffabgabe kann je nach kritischer Lösungstemperatur und Zusammensetzung des Hydrogels gesteuert werden. Hydrophile Substanzen können im angeschwollenen Hydrogel unterhalb der kritischen Lösungstemperatur freigesetzt werden. Hydrophobere Wirkstoffe können oberhalb der kritischen Lösungstemperatur durch einen Auspress-Effekt abgegeben werden.^[138]

2.5.3 Photo-sensitive Systeme

Die Wirkstofffreisetzung bestimmter *Stimuli-Response*-Systeme kann durch Bestrahlung mit Licht unterschiedlicher Wellenlänge induziert werden. Infrarot-Strahlung und Licht im sichtbaren Bereich bieten in biomedizinischen Anwendungen viele Vorteile gegenüber UV-Strahlung. Sie besitzen eine höhere Eindringtiefe im menschlichen Gewebe und eine geringere zellschädigende Wirkung.^[159] Viele photo-sensitive Systeme nutzen Coumarin-Derivate oder andere Gruppen, die eine photolysierbare C–O-Bindung besitzen, die bei Lichteinstrahlung gespalten wird (Abb. 19). Ähnlich wie in dem in Abb. 15 beschriebenen System, werden die Poren von MPSNP von Nanopartikeln^[145] oder größeren Molekülen,^[160] die kovalent über Coumarinderivate an die Partikeloberfläche gebunden sind, verschlossen. Alternativ können die Wirkstoffe auch hier direkt kovalent angebunden werden.^[161] Durch

Bestrahlung wird ein Bindungsbruch initiiert, die *gate keeper* lösen sich ab und der Wirkstoff wird freigesetzt.

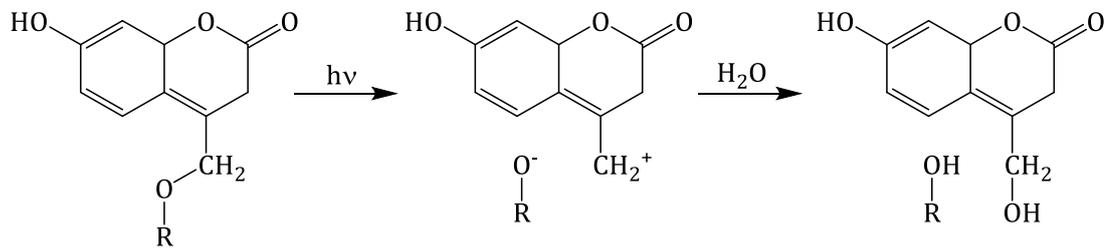


Abb. 19: Photolyse eines Coumarin-Derivats.

Es sind aber auch Systeme bekannt, deren Porenöffnungen durch größere Metallkomplexe verschlossen werden. Ein Ruthenium-Komplex, der über eine koordinative Bindung an ein Schwefelatom an der Partikeloberfläche gebunden ist, kann unter Einwirkung von sichtbarem Licht durch die Spaltung der koordinativen Ru-S-Bindung abgelöst werden und den Wirkstoff freisetzen.^[162]

Des Weiteren nutzen einige Systeme Photosensibilatoren, die bei Bestrahlung hochreaktiven Singulett-Sauerstoff erzeugen. Dieser kann einen Bis(alkylthio)-ethen-Linker spalten^[159] oder eine Lipiddoppelschicht um das Nanopartikel zerstören^[163] und somit den Wirkstoff freizusetzen.

Poreninnerenräume, die mit Azobenzol-Derivaten modifiziert sind und in denen Wirkstoffmoleküle eingelagert sind, können ebenfalls ein *Stimulus-Response*-System bilden.^[164] Durch die Bestrahlung mit sichtbarem Licht wird die *cis-trans*-Photoisomerisierung induziert. Durch die kontinuierliche Umwandlung der Isomere ineinander entsteht auf molekularer Ebene eine dynamische Bewegung, die die Wirkstoffmoleküle aus den Poreninnerenräumen freisetzt (Abb. 20).

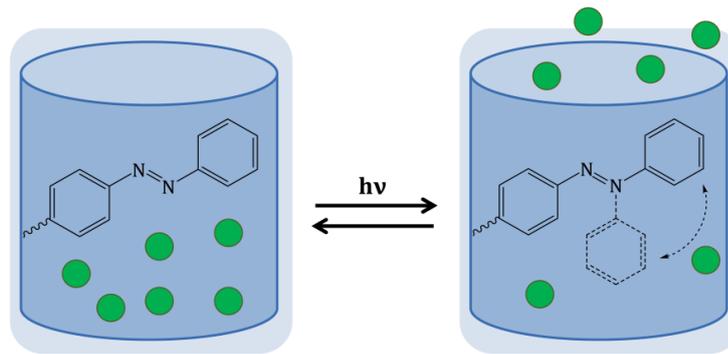


Abb. 20: Photoinduzierte Freisetzung durch *cis-trans*-Isomerisierung eines Azobenzol-Derivats (nach ^[164]).

2.5.4 Redox-sensitive Systeme

Eine weitere Möglichkeit der Aktivierung von *Stimuli-Response*-Systemen stellen Redoxreaktionen dar. Verschiedene *gate keeper* können zum Beispiel über Cystin-Derivat-Linker kovalent an die Oberfläche von MPSNP gebunden sein.^[165] Cystin besitzt eine Disulfidbrücke, die enzymatisch oder durch intrazelluläre Reduktionsstoffe, wie zum Beispiel Glutathion (GSH), gespalten werden kann (Abb. 21). Der *gate keeper* gibt die Porenöffnungen frei, der Wirkstoff wird freigesetzt, ähnlich wie in dem System in Abb. 15 skizziert wird.

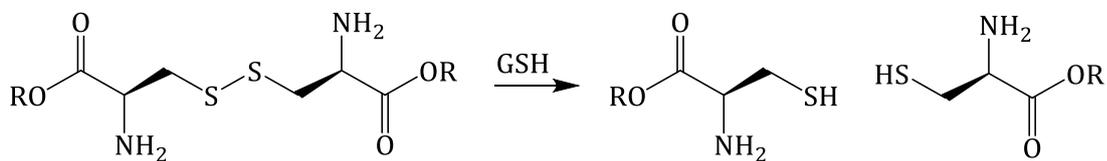


Abb. 21: Reduktive Spaltung eines Cystin-Derivats durch GSH.

Ein Beispiel für eine oxidative Spaltung ist die Spaltung von Arylborsäureester-Linkern durch intrazellulär gebildete reaktive Sauerstoffspezies.^[166]

2.5.5 *Stimulus-Response*-System für dentale Anwendung

Für den Einsatz von *Stimuli-Response*-Systemen im dentalen Bereich ist ein Langzeitreservoir wünschenswert, das nur bei einer auftretenden Infektion die eingelagerte Substanz freisetzt. Nach erfolgreicher Bekämpfung sollte auch die Freisetzung beendet werden, so dass verbleibender Wirkstoff zurück gehalten wird und erst bei einer erneuten Infektion erneut abgegeben werden kann. Nicht alle der in Abschnitt 2.5 beschriebenen Mechanismen sind hierfür geeignet. Die Systeme sollten reversibel arbeiten, demnach sind Systeme, deren

stimulierte Freisetzung auf den irreversiblen Bruch von chemischen Bindungen beruht, ungünstig, da hier auch nach Beendigung der Infektion weiterhin Wirkstoff austreten kann. *Stimuli-Response*-Systeme, die lediglich auf externe Reize wie beispielsweise Lichteinstrahlung oder magnetische Felder reagieren, sind ebenfalls ungeeignet. Ein geeigneter Stimulus für die dentale Anwendung könnte hingegen die pH-Wertabsenkung sein, welche durch bakterielle Infektionen verursacht wird. Nach erfolgreicher Infektionsbekämpfung durch den freigesetzten Wirkstoff wird der pH-Wert im Mund durch die Fluktuation und die Pufferwirkung des Speichels^[167] wieder neutralisiert und die Freisetzung somit beendet. Hierbei sollte jedoch darauf geachtet werden, dass lediglich eine längerfristige Absenkung des pH-Werts, wie durch eine bakterielle Infektion, zur Wirkstoffabgabe führt. Ein kurzzeitiger pH-Wert-Abfall, beispielsweise beim Genuss von Fruchtsäften oder Limonaden, soll hingegen zu keiner sofortigen Wirkstofffreisetzung führen.

MPSNP können mittels spezieller Linker^[168] mit verschiedenen Polymeren modifiziert werden, wie zum Beispiel mit Chitosan und seiner Copolymeren^[169-171] oder Poly(4-vinylpyridin) (PVP, Abb. 22),^[21] um ein pH-Wert-sensitives, reversibles *Stimulus-Response*-System zu generieren. Der große Vorteil von PVP besteht in der kostengünstigen kommerziellen Verfügbarkeit. Kosten- und zeitintensive Herstellungsschritte sind somit unnötig. Zudem befindet sich der Übergangsbereich im Bereich der physiologischen pH-Werte. Bei neutralen (gesunden) pH-Werten liegen die Pyridineinheiten der Polymerstränge deprotoniert vor, das Polymer ist komprimiert und verschließt die Poren der Silica-Nanopartikel. Bei sauren (infektiösen) pH-Werten werden die Stickstoffatome der Pyridin-Gruppen protoniert und generieren somit positive Ladungen auf den Polymersträngen (Abb. 22).

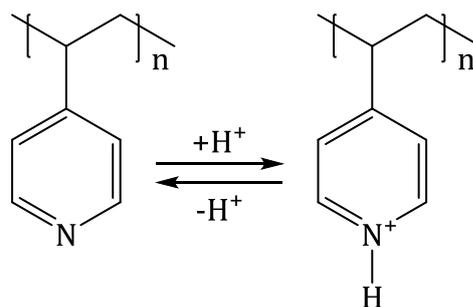


Abb. 22: Reversible Protonierung von PVP.

Die repulsiven Wechselwirkungen, verursacht durch die elektrostatische Abstoßung der kationischen Ladungen, bewirken eine Aufrichtung der Polymerstränge und die Porenöffnungen werden freigegeben. Nun kann der eingelagerte Wirkstoff hinaus diffundieren (Abb. 23). Eine erneute Neutralisation des pH-Wertes bewirkt eine Deprotonierung der Pyridin-Gruppen, die Polymerstränge lagern sich wieder zusammen und verschließen somit die Poren.^[21]

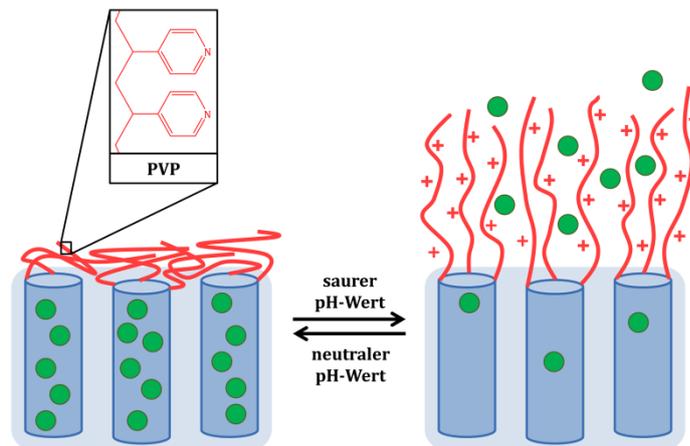


Abb. 23: pH-sensitives *Stimulus-Response*-System aus mit PVP modifizierten MPSNP (nach ^[21]).

2.6 Chlorhexidin

Chlorhexidin (1,1'-Hexamethylenbis[5-(4-chlorphenyl)biguanid], $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$, CHX, Abb. 24 links) ist ein antimikrobiell wirksamer Stoff, der eine breite Anwendung in der Zahnmedizin findet. CHX ist ein symmetrisches Molekül, bestehend aus zwei 4-Chlorphenyleinheiten, die jeweils an eine Biguanid-Gruppe gebunden sind und von einer hydrophoben Hexamethylenkette verbunden werden (Abb. 24 links). Durch ihre Stickstoffatome weisen die Biguanid-Einheiten basische Eigenschaften auf. Die pK_s -Werte von CHX sind 2.2 und 10.3, bei physiologischen pH-Werten liegt das Molekül zweifach kationisch geladen vor, wobei die Ladungen über die beiden Biguanid-Gruppen verteilt vorliegen.^[172] In der medizinischen Anwendung wird meist Chlorhexidin-Digluconat (CHX-Gl) genutzt. Die Struktur der Gluconsäure, der protonierten Form des Gluconat-Anions, ist in Abb. 24 rechts dargestellt.

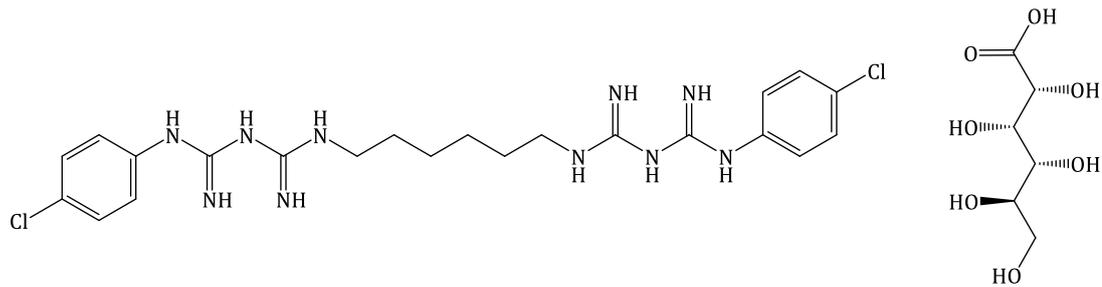


Abb. 24: Strukturen von Chlorhexidin (links) und Gluconsäure (rechts).

In der Zahnheilkunde wird CHX bereits seit Ende der 60er Jahre angewendet.^[7] Davor fand es als Antiseptikum unter anderem Verwendung als Desinfektionsmittel sowohl für chirurgisches Besteck als auch zur Hautdesinfektion vor operativen Eingriffen, zur Infektionsprophylaxe bei Verbrennungen und in Gleitmitteln für die gynäkologische und urologische Praxis.^[173-175] Aufgrund seiner hohen Löslichkeit ist das Chlorhexidin-Digluconat-Salz heute einer der am meisten verwendeten Wirkstoffe für Mundspüllösungen, die gegen bakterielle Biofilmbildung eingesetzt werden.^[176] CHX besitzt ein breites antimikrobielles Spektrum, es zeigt eine sehr gute Wirksamkeit gegen gram-positive und gram-negative Bakterien, Hefen und einigen Pilzen und Viren.^[20] Zudem führt CHX praktisch nicht zur Bildung von Resistenzen.^[173,177,178]

Die antibakterielle Aktivität ist auf die Interaktion zwischen dem Wirkstoffmolekül und der Bakterienzellmembran zurück zu führen. Nachdem sich das kationische CHX an die anionischen Bestandteile der Äußeren Zellmembran, insbesondere an Phosphatgruppen, angelagert hat, wird deren Integrität verändert. CHX ist nun in der Lage an die Phospholipide der Inneren Membran zu binden und diese somit zu destabilisieren. Die Permeabilität wird erhöht und es kommt zum Ausströmen niedermolekularer Cytoplasmabestandteilen, wie z.B. Kaliumionen. Zusätzlich werden essentielle Membranproteine, wie ATPase, inhibiert. Eine steigende CHX-Konzentration erhöht den Schaden an der Membran und auch größere Bestandteile können ausströmen. Dies führt schlussendlich zum Zelltod.^[18,175]

Der Vorteil von CHX gegenüber anderen antimikrobiellen Stoffen ist seine hohe Substantivität in der Mundhöhle. Als Substantivität wird die Eigenschaft eines (Wirk-) Stoffes bezeichnet über längere Zeit am Wirkungsort verfügbar zu sein,^[20] also eine Art Reservoir-Wirkung aufzuzeigen. Das kationische CHX

bindet aufgrund von elektrostatischen Wechselwirkungen an verschiedene anionische Komponenten in der Mundhöhle, wie an die mineralischen Phosphate des Zahnschmelzes oder an anionische Gruppen von Proteinen im Dentin beziehungsweise in der Mundschleimhaut.^[20,37,179] Eine einfache Mundspülung mit CHX weist eine antimikrobielle Aktivität von bis zu 5 Stunden auf, die Bakterienzahl im Speichel ist aufgrund der Substantivität über 12 Stunden reduziert.^[18] Die hohe Substantivität ist wahrscheinlich auch für eine Nebenwirkung von CHX verantwortlich, der Verfärbung der Zähne bei Gebrauch über einen längeren Zeitraum hinweg.^[179] Trotzdem hat die hervorragende Wirksamkeit bei der Vorbeugung und Behandlung von mikrobiellen Infektionen im Mundraum, wie Parodontitis oder Periimplantitis, Chlorhexidin zum „Goldstandard“ in der Zahnheilkunde gemacht.^[18,19]

CHX ist außerdem in der Lage die Bildung von dentalen Biofilmen zu hemmen. Die Bindung von CHX an die Pellikel sowie an die anionischen Bestandteile der im Speichel vorhandenen Glycoproteine reduziert die Anhaftung von Bakterien an die Oberfläche von Zähnen oder Implantaten. Somit wird die Bildung eines bakteriellen Biofilms gehemmt.^[18] Die Einlagerung von CHX in das Porensystem von mesoporösen Silica-Nanofüllstoffen in dentalen Kompositmaterialien könnte diese somit mit antibakteriellen Eigenschaften ausstatten.

2.7 Silica-Nanopartikel durch inverse Silica-Opal-Strukturen

Anisotrope Silica-Nanopartikel können, wie in Abschnitt 2.3.3 beschrieben, über sogenannte *bottom-up*-Prozesse dargestellt werden, also durch die chemische Zusammenlagerung molekularer Verläuferspezies zu einzelnen Partikeln. Im Gegensatz sind jedoch auch *top-down*-Prozesse möglich, bei denen größere Strukturen gezielt mechanisch bearbeitet und zerkleinert werden, um hoch anisotrope Nanopartikel herzustellen. Die Zerkleinerung kann zum Beispiel durch Vermahlung oder durch Ultraschalleinwirkung vollzogen werden. Als geeignete Ausgangsstoffe könnten makroporöse Silica-Strukturen, wie großporige Schäume oder inverse Opal-Strukturen, dienen.

2.7.1 Inverse Silica-Opale

Inverse Opal-Strukturen sind photonische Kristalle, die eine periodische Änderung des Brechungsindex aufweisen und somit in der Lage sind Photonen

mit einer der Periodizität entsprechenden Wellenlänge zu beugen, analog wie bei der durch die BRAGG-Bedingung beschriebenen Röntgendiffraktometrie (siehe Abschnitt 3.4). Somit wird eine photonische Bandlücke generiert, welche die Ausbreitung bestimmter Wellenlängen durch den Festkörper verhindert. Durch die Variation der Porengröße oder des Brechungsindex des Materials (beziehungsweise der Porenfüllung) kann die Lage der photonischen Bandlücke der jeweiligen Anwendung angepasst werden.^[180] Sie finden aufgrund ihrer optischen Eigenschaften unter anderem Anwendung als Pigmente, in optischen Wellenleitern mit engen Ecken sowie in der Leuchtdioden- und Lasertechnik.^[180,181]

Zur Herstellung von inversen Silica-Opalen dienen Polymerkügelchen aus Polystyrol oder Polymethylmethacrylat (PMMA) im Mikrometerbereich als Template. Durch Sedimentation oder Zentrifugation einer Polymer-Dispersion ordnen sich die jeweiligen Kügelchen in einer kubisch dichtesten Kugelpackung an, der Opal-Struktur. In die Lücken zwischen den Kügelchen wird eine Tetraethoxysilan-Lösung durch Kapillarkräfte eingesogen, die durch einen Sol-Gel-Prozess während der Trocknung eine Silica-Hülle ausbildet. Anschließend können die Polymertemplate durch Calcination oder Extraktion entfernt werden und man erhält das Silica-Gerüst in einer inversen Opal-Struktur (Abb. 25).^[182] Durch die Einbringung von mechanischer Kraft soll eine Zerkleinerung der fragilen Struktur an den dünnen Trennwänden zwischen den Poren erreicht werden, um hoch anisotrope Silica-Nanopartikel mit mehreren Zacken, also einer „sternenartigen“ Morphologie, herzustellen. Diese Kräfte können zum Beispiel durch Vermahlung in einer Kugelmühle oder durch Ultraschalleinwirkung erzeugt werden.

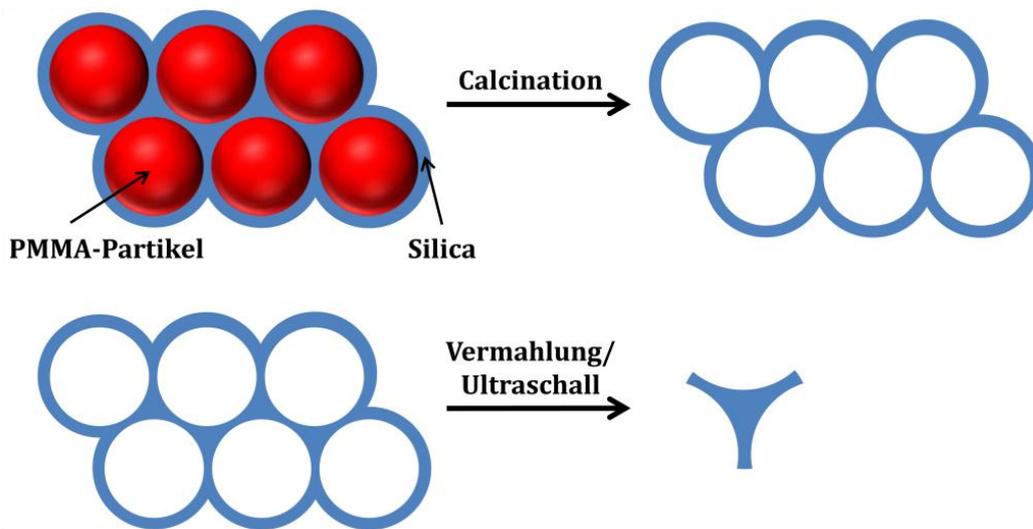


Abb. 25: Synthese anisotroper Partikel durch Zerkleinerung der inversen Silica-Opal-Struktur.

2.7.2 Vermahlung

Bei einer Planetenkugelmühle werden Mahlbecher und Mahlkugeln aus sehr abriebfestem Material, wie Zirconiumdioxid, verwendet. Alkohole werden der Mahlmischung hinzugegeben, um die zunehmende Partikelagglomeration während der Zerkleinerung zu minimieren. Die einzelnen Mahlbecher sind auf einer runden Plattform, dem sogenannten Sonnenrad, befestigt. Fängt dieses an zu rotieren, so drehen sich die Becher, die „Planeten“, mit der doppelten Drehzahl in die entgegengesetzte Richtung. Dadurch werden die Mahlkugeln aufgrund starker Zentrifugalkräfte von einer Becherwand zur anderen beschleunigt. Diese Prall- und Reibungskräfte bewirken dann eine Zerkleinerung des Probenmaterials.^[183] Für Kolloidvermahlungen beträgt das Verhältnis von Mahlkugeln zu Probe 9:1, es kann also nur jeweils ein geringer Teil vermahlen werden.

2.7.3 Ultraschallbehandlung

Des Weiteren soll untersucht werden, ob die inversen Silica-Opale durch Ultraschalleinwirkung zerkleinert werden können. Präparativ weist eine Ultraschallbehandlung einige Vorteile gegenüber der Planetenkugelmühlen-Vermahlung auf. Das Reaktionsvolumen bei der Ultraschallbehandlung ist geringer, die Gerätepräparation simpler, zeit-, kosten- und materialsparender.

Die teilweise schwierige Separation von Probe und Mahlkügelchen ist nicht nötig.

Ultraschall wird durch Schwingung einer Sonotrode mit hohen Intensitäten in einer Flüssigkeit oder Dispersion erzeugt. Es treten alternierende Zyklen mit hohen und niedrigen Drücken auf. Durch die niedrigen Drücke beginnt das Wasser zu verdampfen und bildet mikroskopisch kleine Bläschen. Während der anschließenden Hochdruckphase implodieren diese schlagartig und verursachen Mikroturbulenzen von bis zu 1000 Kilometer pro Stunde. Dieser Vorgang wird als Kavitation bezeichnet und bewirkt einen Eintrag von mechanischer Energie in das System, welche in der Lage ist Aggregate und Agglomerate aufzubrechen und so zu einer Dispersion oder Zerkleinerung der Probe führt.^[184]

3 Analytische Methoden

3.1 Rasterelektronenmikroskopie

Bei der Rasterelektronenmikroskopie (REM) handelt es sich um ein bildgebendes Verfahren, mit dem Partikelgrößen sowie -morphologien untersucht werden können. Mit Hilfe einer Wolframhaarnadel-Kathode oder einer Feldemissionskathode wird im Hochvakuum ein Elektronenstrahl erzeugt, der von einem elektromagnetischen Linsensystem gebündelt und fokussiert wird, um anschließend die zu untersuchende Probe abzurastern. Da die Wellenlänge der beschleunigten Elektronen bedeutend kleiner als die des sichtbaren Lichts ist, können weitaus kleinere Strukturen aufgelöst werden. Die Primärelektronen des Elektronenstrahls wechselwirken mit der Probenoberfläche und erzeugen dadurch vorwiegend energieärmere Sekundärelektronen und Rückstreuelektronen. Diese werden detektiert und in elektrische Signale umgewandelt, die wiederum zur Erzeugung des Bilds genutzt werden.

Die Messungen erfolgten an zwei unterschiedlichen Elektronenmikroskopen. Zum einen wurde ein Rasterelektronenmikroskop vom Typ JSM-6610LV der Firma JOEL (nachfolgend REM-ACI) genutzt. Hierfür wurden die pulverförmigen Proben auf ein leitfähiges Graphitklebepad gebracht und auf einem Aluminiumträger für 30 Sekunden mit einer dünnen Goldschicht bedampft. Zum anderen wurde ein Feldemissions-Rasterelektronenmikroskop der Marke JSM-6700F der Firma JOEL genutzt, das im Folgenden als REM-PCI bezeichnet wird. Diese Messungen wurden von DR. BRITTA HERING, DR. JANOSCH CRAVILLON, DR. IMKE BREMER, GESA ZAHN und MARIA SCHWEINEFUß durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit der Software ImageJ 1.47v.

3.1.1 Energiedispersive Röntgenspektroskopie

Die Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) liefert Informationen über die elementare Zusammensetzung der zu analysierenden Substanz. Bei der Bestrahlung im Rasterelektronenmikroskop kommt es durch die hochenergetischen Primärelektronen zur Anregung der Atome der Probe. Aus den inneren Schalen werden Elektronen herausgeschlagen. Ein energiereicheres Elektron einer höheren Schale nimmt dann dessen Platz ein und emittiert bei

diesem Übergang ein Röntgenquant, welches detektiert werden kann. Die Energie dieser Röntgenstrahlung ist für den jeweiligen Anregungsübergang und das jeweilige Element charakteristisch.

3.2 Dynamische und elektrophoretische Lichtstreuung

Die dynamische Lichtstreuung (DLS) wird genutzt, um den hydrodynamischen Radius sphärischer Partikel in einer kolloidalen Dispersion zu bestimmen. Die Messung basiert auf dem sogenannten TYNDALL-Effekt, der Streuung eines Laserstrahls an kleinen Partikeln, die sich aufgrund der BROWNSchen Molekularbewegung in der Dispersion bewegen. Die Beweglichkeit der Partikel ist abhängig von ihrer Größe und verursacht eine Fluktuation der gemessenen Streuintensität, aus der der Diffusionskoeffizienten D ermittelt werden kann. Mit Hilfe der STOKES-EINSTEIN-Gleichung (3) kann nun der hydrodynamische Partikelradius berechnet werden.

$$D = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \quad (3)$$

D : Diffusionskoeffizient

k : Boltzmann-Konstante

T : Temperatur

η : dynamische Viskosität

r : hydrodynamischer Radius

Mit der elektrophoretischen Lichtstreuung wird das Zeta-Potential ζ der Partikel bestimmt. An der Oberfläche geladener Teilchen bildet sich eine elektrochemische Doppelschicht aus, die aus einer starren Schicht entgegengesetzt geladener Ionen, der sogenannten STERN-Schicht, und einer diffusen Schicht von Ionen besteht. Bewegt sich das Partikel innerhalb der kolloidalen Dispersion, so bewegt sich eine Ionenschicht in der diffusen Schicht in Richtung der Partikelbewegung, während weniger stark gebundene Ionen abgeschert werden. Das elektrochemische Potential an dieser Scherfläche wird als Zeta-Potential bezeichnet und korreliert mit der Oberflächenladung des Partikels. Gemessen wird das Zeta-Potential, indem eine definierte Spannung an die beiden Elektroden der Messzelle angelegt wird. Unterschiedlich geladene Partikel weisen unterschiedliche Mobilitäten in diesem elektrischen Feld auf. Durch dynamische Lichtstreuung kann die elektrophoretische Mobilität

ermittelt und mit Hilfe der HENRY-Funktion (4) aus dieser das Zeta-Potential berechnet werden.

$$\mu_e = \frac{2 \cdot \varepsilon \cdot \zeta \cdot f(\kappa a)}{3 \cdot \eta} \quad (4)$$

μ_e : elektrophoretische Mobilität
 ε : dielektrische Konstante
 ζ : Zeta-Potential
 $f(\kappa a)$: HENRY-Funktion (für wässrige Systeme 1.5)
 η : dynamische Viskosität

Das Zeta-Potential ist stark abhängig vom pH-Wert des Dispersionsmediums. Der pH-Wert, an dem das Zeta-Potential den Wert Null annimmt, wird als isoelektrischer Punkt bezeichnet. Aufgrund der repulsiven Wechselwirkungen zwischen stark gleich geladenen Partikeln, gelten Dispersionen, deren Zeta-Potential einen Betrag von 30 mV übersteigen, als stabil.^[99]

Alle Partikel wurden in Reinstwasser dispergiert und mit einem Zetasizer Nano ZS und einem MPT2 Autotitrator der Firma MALVERN Instruments bei Raumtemperatur vermessen. Die Auswertung erfolgte mit der Software Zetasizer 7.02 der Firma MALVERN.

3.3 Sorptionsmessung

Sorptionsmessungen werden zur Untersuchung von spezifischer Oberfläche, Porenweitenverteilung und Porenvolumina von porösen Materialien genutzt. Das Prinzip dieses Messverfahrens beruht auf der Adsorption und Desorption eines Gases (Adsorptiv) auf einer festen Probe (Adsorbens) bei konstanter Temperatur. In den Poren kondensiert das Adsorptiv bei einem Dampfdruck p , der geringer ist als der Sättigungsdampfdruck p_0 auf einer ebenen Fläche. Durch die Auftragung des adsorbierten Gasvolumens gegen den Relativdruck p/p_0 erhält man eine Isotherme. Isothermen mit einer Hysterese können auf Mesoporen hindeuten, in denen die Kapillarverdunstung bei niedrigeren Relativdrücken erfolgt, wie die Kapillarkondensation.^[185] Sie werden als Typ-IV-Isothermen nach IUPAC klassifiziert. Es wird von einer Multischichtadsorption nach dem Modell von BRUNAUER, EMMETT und TELLER (BET-Theorie)^[186] ausgegangen, mit dem die spezifische Oberfläche der Probe bestimmt werden kann. Die Porenweitenverteilung kann nach dem Modell von BARRET, JOYNER und

HALEND A (BJH-Modell)^[187] berechnet werden, in dieser Arbeit wird die Nichtlokale Dichtefunktionaltheorie (NLDF T) verwendet. Hierbei wurde das Kalkulationsmodell “Ar at 87 K_zeolites/silica (cylindrical pores, NLDF T adsorption)” genutzt.

Die Messungen wurden von NATALJA WENDT und JANN LIPPKE an einem Gassorptionssystem Autosorb-3 der Firma QUANTACHROME mit Stickstoff bei 77.4 K und an einem Gassorptionssystem Autosorb-1 mit Argon bei 87.5 °C durchgeführt. Hierfür wurden die unmodifizierten Proben für 48 h bei 200 °C unter reduziertem Druck von Gasen und anderen leicht flüchtigen Stoffen durch Desorption befreit. Die Proben mit Modifizierung wurden mit einer reduzierten Temperatur von 110 °C behandelt und die Proben mit eingelagertem Wirkstoff bei 60 °C, um eine Zersetzung des organischen Materials zu vermeiden. Die Auswertung erfolgte mit der Software ASiQwin 2.0 der Firma QUANTACHROME.

3.4 Röntgen-Pulverdiffraktometrie

Die Röntgen-Pulverdiffraktometrie ist ein Analyseverfahren zur Aufklärung von Festkörperstrukturen. Hierbei wird Röntgenstrahlung in θ/θ -Reflexionsgeometrie auf eine feste Probe gestrahlt. Durch periodische Elektronendichtekontraste, verursacht entweder durch die Atome der Gitternetzebenen oder durch ein geordnetes Porensystem in einem amorphen Festkörper, werden die Röntgenstrahlen gebeugt und reflektiert. Die Wellenlänge der Strahlung liegt hierbei im Bereich dieser Kontrastabstände. Erfüllt der Beugungswinkel die BRAGGSche Gleichung (5), so kommt es zu konstruktiver Interferenz der Strahlen und ein Beugungsreflex kann detektiert werden.

$$n \cdot \lambda = 2d_{hkl} \sin \theta_{hkl} \quad (5)$$

n : Ordnung der Reflexe
 λ : Wellenlänge der Röntgenstrahlung
 d_{hkl} : Netzebenenabstand
 θ_{hkl} : Beugungswinkel

Die Messungen erfolgten an einem Diffraktometer der Firma STOE in BRAGG-BRENTANO-Geometrie unter Verwendung von CuK_α -Strahlung und einem

Sekundärmonochromator. Zur Auswertung wurde die Software WinXPow 1.08 der Firma STOE genutzt.

3.5 Infrarot-Spektroskopie

Die Infrarot(IR)-Spektroskopie wird für die qualitative und quantitative Analyse von organischen und anorganischen Substanzen genutzt. Hierbei treten Wechselwirkungen zwischen den Atomen bzw. Molekülen der zu untersuchenden Probe und der eingestrahlten IR-Strahlung auf. Die Strahlung wird absorbiert und regt Schwingungs- und Rotationsübergänge an, die transmittierte oder reflektierte Strahlung wird detektiert. IR-aktiv sind lediglich die Schwingungen, bei denen sich das Dipolmoment während der Schwingung ändert. Bestimmte funktionelle Gruppen absorbieren IR-Strahlung mit charakteristischer Energie, somit können aus den Spektren Rückschlüsse auf die chemische Zusammensetzung der Probe gezogen werden.

Die Spektren wurden mit einem Fourier-Transformations-Infrarot-Spektrometer von Typ Tensor 27 der Firma BRUKER aufgenommen. Dazu wurden die Proben mit trockenem Kaliumbromid verrieben, zu einem Pressling verarbeitet und in Transmissionsgeometrie gemessen. Alle Intensitäten wurden auf die signifikante (Si-O-Si)-Valenzschwingung des Silica-Gerüsts bei 1080 cm^{-1} normiert, da diese die größte Absorption aufweist. Die Auswertung erfolgte mit der Software OPUS 5.0 der Firma BRUKER und ORIGIN 8 der Firma ORIGINLAB.

3.6 Thermogravimetrie und Differentialthermoanalyse

Bei der Thermogravimetrie (TG) wird die zu analysierende Probe in einer kontrollierten Atmosphäre erhitzt. Durch verschiedene Prozesse, wie Redoxreaktionen, Zersetzung, Verdampfung, Sublimation oder Desorption, kann sich die Masse der Probe während der Aufheizphase ändern. Aus dieser Massenänderung je Zeiteinheit können Rückschlüsse auf thermische Eigenschaften und Zusammensetzung gezogen werden.

Simultan zur TG wird oft eine Differentialthermoanalyse durchgeführt. Hierbei wird eine Inertsubstanz parallel zur Probe erhitzt. Tritt eine Temperaturdifferenz auf, so deutet diese auf eine Reaktion oder eine Phasenumwandlung

der Probe hin. Hierbei kann zwischen exothermen und endothermen Vorgängen unterschieden werden.

Die Messungen wurden unter Luftatmosphäre von KATHARINA NOLTE und SERGEJ SPRINGER an einem Simultaneous Thermal Analyzer 429 der Firma NETZSCH durchgeführt. Der zu untersuchende Temperaturbereich betrug 1000 °C, die Aufheizrate 5 °C min⁻¹. Die Messdaten wurden mit der Software Proteus Thermal Analysis 4.3.1 der Firma NETZSCH und ORIGIN 8 der Firma ORIGINLAB ausgewertet.

3.7 UV/Vis-Spektroskopie

Die UV/Vis-Spektroskopie ist eine Methode, die unter anderem zur quantitativen Analyse eines Stoffes im gelösten Zustand genutzt werden kann. Sie basiert auf der Intensitätsänderung von elektromagnetischer Strahlung aus dem ultravioletten bzw. sichtbaren Bereich beim Durchgang durch den zu untersuchenden Stoffes beziehungsweise einer Lösung desselben. Durch Wechselwirkungen mit der Probe kommt es zur Absorption der Strahlung und somit zu einer Abschwächung ihrer Intensität. Diese Intensitätsänderung ist bei geringen Konzentrationen proportional zur Konzentration des gelösten Stoffes und wird durch das LAMBERT-BEERSche Gesetz (6) beschrieben.

$$E_{\lambda} = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (6)$$

E_{λ} : Extinktion bei einer bestimmten Wellenlänge λ

I_0 : Intensität der einfallenden Strahlung

I : Intensität der transmittierten Strahlung

ε : Extinktionskoeffizient

c : Konzentration des gelösten Stoffes

d : Weglänge der Strahlung durch die Probe

Die Konzentrationen von Chlorhexidin (CHX) wurden nach externer Kalibration bei einer Wellenlänge von 260 nm bestimmt.^[20] Die Messungen erfolgten mit einem EON Mikrotiterplatten-Photometer der Firma BIOTEK. Die Auswertung erfolgte mit den Programmen GEN5 2.04 der Firma BIOTEK, MICROSOFT OFFICE Excel 2007 der Firma MICROSOFT und ORIGIN 8 der Firma ORIGINLAB.

3.8 Agarplattentests

Um die antibakteriellen Eigenschaften zu untersuchen, wurden die verschiedenen modifizierten und mit Chlorhexidin beladenen Silica-Nanopartikel in Agarplatten eingebettet und mit unterschiedlichen Bakteriensuspensionen inkubiert.

Zunächst werden Dispersionen der jeweiligen Partikel in deionisiertem Wasser mit Konzentrationen von 1 mg mL^{-1} hergestellt. Hierfür werden die Dispersionen mit einem Ultraschall-Desintegrator der Firma BANDELIN für 2 min mit 20% der Maximalleistung von 400 W behandelt. Anschließend werden die Dispersionen zu unterschiedlichen Konzentrationen verdünnt und mit flüssigem Müller-Hinton-Agar versetzt und rasch in eine Mikrotiterplatte gegossen, in der der Agar abkühlt und erstarrt.

Die Untersuchungen der antibakteriellen Eigenschaften werden mit den Bakterienstämmen *Streptococcus mutans* (DSMZ 20523^T) und *Staphylococcus aureus* (DSMZ 20231^T) durchgeführt. Diesen Keimen kommt eine große Bedeutung bei der Kariesbildung und oralen Infektionen zu.^[179,188] *S. mutans* besiedelt zum Beispiel die Zähne von 80 bis 90% der Patienten in Westeuropa und den USA.^[35] Die kultivierten Reinkulturen wurden bei -80 °C gelagert. Für die Untersuchungen werden Vorkulturen hergestellt, indem die Bakterien in Todd-Hewitt-Bouillon (*S. mutans*) beziehungsweise Trypticase-Soja-Bouillon (*S. aureus*) bei 37 °C für 18 h inkubiert werden. Zur Herstellung der Hauptkultur werden die Vorkulturen im selben Medium um den Faktor 100 verdünnt und erneut für 4 h bei 37 °C inkubiert, um die logarithmische Wachstumsphase zu erreichen. Zur Herstellung der Bakteriensuspensionen werden die Hauptkulturen auf eine optische Dichte von 0.1 eingestellt und im jeweiligen Medium um den Faktor 1000 verdünnt. Jeweils 50 µL der Bakteriensuspensionen wurden auf die vorbereiteten Agarplatten verteilt und für 24 h bei 37 °C inkubiert. *S. mutans* wurde zur Inkubation mit 5% Kohlenstoffdioxid begast. Die Auswertung erfolgt optisch (qualitative Unterscheidung zwischen „Wachstum“ und „kein Wachstum“), um die minimale inhibitorische Konzentration der jeweiligen Nanopartikel zu bestimmen. Die Agarplattentests^[189] wurden von KATHARINA DOLL und SEBASTIAN GRADE in der

Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt und ausgewertet.

3.9 MTT-Test

Um zu untersuchen, ob die unterschiedlich modifizierten und mit Chlorhexidin beladenen Silica-Nanopartikel einen negativen Einfluss auf die metabolische Aktivität von eukaryontischen Zellen haben, sprich cytotoxisch wirken, wurden MTT-Tests durchgeführt. Hierbei werden die Zellen mit dem gelben, wasserlöslichen Tetrazolium-Farbstoff MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) versetzt. Der Farbstoff wird in den Zellen durch Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) und Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH) reduziert und in das violette, wasserunlösliche Formazan umgewandelt. Durch die Zugabe von Natriumdodecylsulfat (SDS) wird Formazan wieder in Lösung gebracht und kann anschließend photometrisch bei einer Wellenlänge von 550 bis 600 nm (hier 580 nm) detektiert werden.

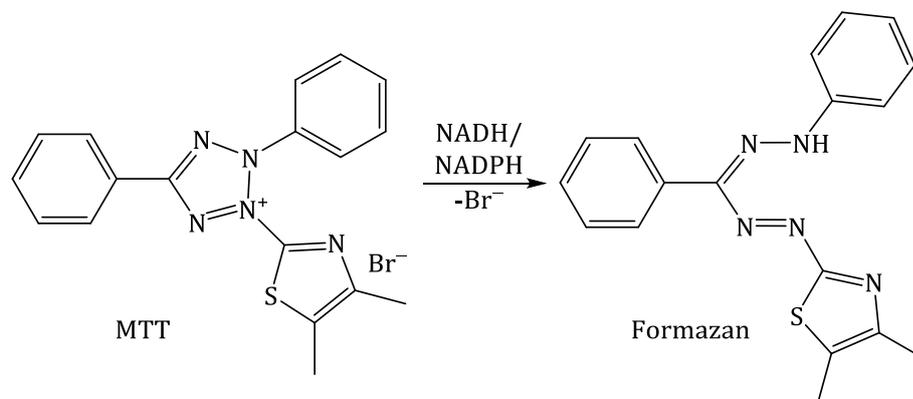


Abb. 26: Reduktion des gelben MTT zum violetten Formazan durch die Reduktionsequivalente NADH oder NADPH, welches nur in vitalen Zellen produziert wird.

Da nur lebendige Zellen, nicht aber tote Zellen, zur Reduktion des Farbstoffes in der Lage sind, ist die Intensität dieses Signales proportional zur metabolischen Aktivität.

In Anbetracht des Einsatzes als Füllstoffe für dentale Implantatmaterialien werden die MTT-Tests für die Testung der Silica-Nanopartikel mit primären humanen Gingivafibroblasten, sprich menschlichen Bindegewebszellen des Zahnfleisches, durchgeführt. Die zu untersuchenden Partikel werden in deionisiertem Wasser mit Hilfe eines Ultraschall-Desintegrators dispergiert, auf

verschiedene Konzentrationen verdünnt und direkt auf für 24 h vorkultivierte Zellen gegeben. Als Referenz dient eine Zellkultur ohne Nanopartikel, auf deren Werte die anderen Proben normiert werden. Nach einer Kultivierungszeit von 24 h bei 37 °C wird das Inkubationsmedium (200 µl) mit 10 µL MTT-Lösung (5 mg mL⁻¹) versetzt und für 4 h bei 37 °C und 5% Kohlenstoffdioxid inkubiert. Anschließend werden 100 µL SDS-Lösung (10% SDS in HCl, 0.01 mol L⁻¹) hinzugeben und über Nacht bei 37 °C und 5% Kohlenstoffdioxid inkubiert. Die Absorption wird photometrisch mit einem Mikrotiter-Plattenreader der Firma TECAN bei einer Wellenlänge von 580 nm (Referenzwellenlänge 650 nm) gemessen. Die Zellexperimente^[190] und deren Auswertung wurden von SEBASTIAN GRADE und JÖRN SCHAESKE in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt.

3.10 LDH-Test

Eine weitere Methode zur quantitativen Untersuchung der Cytotoxizität von Nanopartikeln ist der sogenannte LDH-Test. Bei einer Schädigung der Zellmembran durch cytotoxische Substanzen wird vermehrt Lactatdehydrogenase (LDH) freigesetzt. Dieses Enzym, welches im Cytoplasma jeder Zelle vorkommt, katalysiert im ersten Schritt die Oxidation von Lactat zu Pyruvat durch die Reduktion von Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD⁺, oxidierte Form) zu NADH/H⁺ (reduzierte Form). Das gebildete NADH/H⁺ reduziert nun im zweiten Schritt das blass gelbe Tetrazoliumsalz 2-(4-Iodphenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-tetrazoliumchlorid (INT) zu einem roten Formazansalz durch die Katalyse von Diaphorase. Der Gehalt an Formazan kann photometrisch bei einer Wellenlänge von 492 nm detektiert werden und ist proportional zur freigesetzten LDH-Menge, welche wiederum proportional zum Grad der cytotoxischen Membranschädigung ist.^[191]

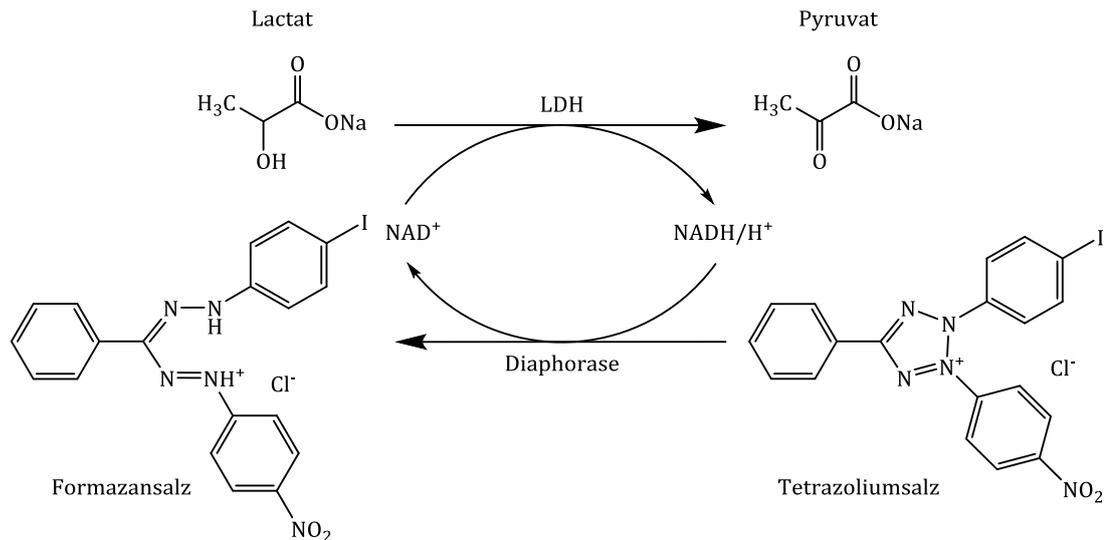


Abb. 27: Mechanismus des LDH-Tests.

Die zu untersuchenden Partikel werden in deionisiertem Wasser mit Hilfe eines Ultraschall-Desintegrators dispergiert, mit Zellkulturmedium auf verschiedene Konzentrationen verdünnt und direkt auf die adhären Zellen gegeben. Nach einer Kultivierungszeit von 24 h bei 37 °C und 5% Kohlenstoffdioxid-Begasung werden vorsichtig 100 μL des Überstandes entnommen. Anschließend werden 100 μL der frisch angesetzten kommerziell erhältlichen Reaktionsmischung, bestehend aus Diaphorase, NAD^+ , Lyophilisat, INT und Natriumlactat, hinzugeben und für 15 min bei Raumtemperatur unter Lichtabschluss inkubiert. Die Reaktion wird mit je 50 μL Salzsäure (1 mol L^{-1}) abgestoppt und die Absorption photometrisch mit einem Mikrotiter-Plattenreader der Firma TECAN bei einer Wellenlänge von 492 nm (Referenzwellenlänge 650 nm) gemessen. Die LDH-Tests und deren Auswertung wurden von JÖRN SCHAESKE in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt.

3.11 Resazurin-Test

Der Resazurin-Test wird unter anderen zur Untersuchung der metabolischen Aktivität von Bakterienzellen eingesetzt. Der blaue Farbstoff Resazurin wird von Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH), welches von metabolisch aktiven Zellen gebildet wird, über die Atmungskette zum rosa fluoreszierenden Resorufin oxidiert (Abb. 28). Die Menge an gebildetem Resorufin pro Zeiteinheit korreliert mit der metabolischen Bakterienaktivität und mit der vorhandenen

Zellmasse. Diese Methode kann somit zur Quantifizierung von Biofilmen genutzt werden.

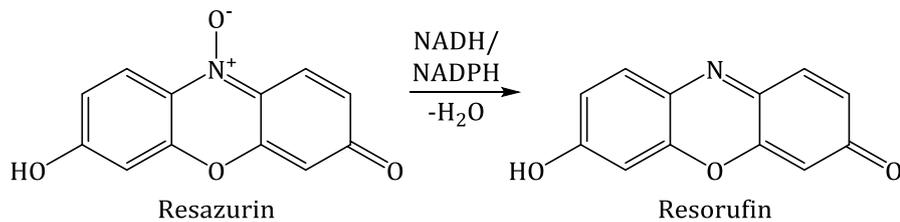


Abb. 28: Mechanismus des Resazurin-Tests.

Zunächst werden Bakteriensuspensionen mit definierter optischer Dichte präpariert. *Streptococcus mutans* wird in Todd-Hewitt-Bouillon (optische Dichte 0.04) und *Staphylococcus aureus* in Trypticase-Soja-Bouillon (optische Dichte 0.001) suspendiert. Nachdem eine definierte Menge an Partikeln hinzugeben wurde, erfolgt eine Inkubation bei 37 °C für 24 h. Soll zunächst eine Reifung des bakteriellen Biofilms erfolgen, so werden die Suspensionen ohne Partikelzusatz inkubiert, anschließend mit der Partikelsuspension versetzt und erneut für 24 h bei 37 °C inkubiert. Anschließend werden die Proben zweimal mit PBS gewaschen, mit Resazurin-Lösung in PBS (0.001%) versetzt und bei 37 °C inkubiert. Aufgrund der unterschiedlichen metabolischen Aktivität beträgt die die Inkubationszeit für *S. mutans* 30 min und für *S. aureus* 15 min. 100 µL der Probe werden photometrisch mit einem Mikrotiter-Plattenreader der Firma TECAN bei einer Anregungswellenlänge von 530 nm und einer Emissionswellenlänge von 590 nm analysiert. Die Resazurin-Tests wurden von KATHARINA DOLL in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt und ausgewertet.

3.12 Lebend-/Tot-Differenzierung

Die antibakteriellen Untersuchungen der Kompositmaterialien werden mit dem Bakterienstamm *Streptococcus mutans* (DSM 20231) durchgeführt. Die Bakterien werden über Nacht kultiviert, zweimal gewaschen und in einer Pufferlösung aus Tris(hydroxymethyl)-aminomethan und Salzsäure (TRIS-Puffer, pH 7.5) dispergiert und verdünnt. Anschließend erfolgt die Inkubation der Kompositmaterialien mit der Zellsuspension in einer Feuchtekammer bei 37 °C unter leichter Rotation für 5 h. Danach werden die Kompositoberflächen

mit PBS abgespült, um nicht adhärenente Zellen zu entfernen. Die Färbung der adhärenenten Zellen erfolgt mit einem *LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability-Kit* L7012 der Firma MOLECULAR PROBES. Die Zellen werden anschließend mit Glutaraldehyd-Lösung (2.5%) fixiert und mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie untersucht. Lebendige Zellen zeigen eine grüne Färbung, tote Zellen hingegen eine rote. Die unterschiedlichen Färbungen beruhen auf den Färbemitteln SYTO 9 und Propidiumiodid. SYTO 9 ist in der Lage sowohl in lebendige als auch in tote Zellen einzudringen und dort an Nucleinsäuren zu binden. Mit einem Anregungs-/Emissionsmaximum von 480/500 nm fluoresziert es grün. Propidiumiodid penetriert hingegen nur die beschädigten Membranen toter Zellen. Hier erfolgt eine Verschiebung der Anregungs-/Emissionsmaxima zu Werten von 490/635 nm, tote Zellen fluoreszieren somit rot.^[192] Die Untersuchungen und Auswertungen wurden von MARLY DALTON und Dr. ANDREAS WINKEL in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt.

3.13 Rheologie

Die komplexe Viskosität der Kompositmischungen, bestehend aus Monomeren, Initiatoren und Füllstoffpartikeln, wurde vor der photochemischen Aushärtung rheologisch untersucht. Dafür wurden 0.5 g des Gemisches in ein Rheometer mit Platte/Platte-Messanordnung mit Oszillationsmodus zwischen eine statische und eine gleitende Platte mit einem Abstand von 1 mm gegeben. Die Messungen erfolgten mit einer konstanten Frequenz von 1 Hz und einer ansteigenden Amplitude, so dass Schwerspannungen von 1 bis 1000 Pa erreicht wurden. Zum Vergleich der Werte untereinander wurde jeweils die minimale komplexe Viskosität zwischen 1 und 1000 Pa bestimmt. Die Viskositätsmessungen wurden von NICO TIMPE an der Technischen Universität Braunschweig an einem RheoStress® RS100 Messsystem der Firma HAAKE bei 25 °C durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit der Software Rheowin 3 der Firma HAAKE.

3.14 Drei-Punkt-Biegeprüfung

Um mechanische Eigenschaften der hergestellten Komposite, wie *E*-Modul und Biegefestigkeit, zu untersuchen, wurden Drei-Punkt-Biegeversuche durch-

geführt. Die in Anlehnung an DIN-EN-ISO-Norm 4049:2009^[64] hergestellten Prüfkörper waren stäbchenförmig, hatten Ausmaße von 25 x 2 x 2 mm und wurden bis zur Prüfung für mindestens 30 Tage bei Raumtemperatur gelagert. Für die Testung wurde herstellungsbedingt überstehendes Material vorsichtig entfernt. Der Prüfkörper wird unter Zuhilfenahme eines Messschiebers genau vermessen und in ein Universalprüfgerät mittig zwischen zwei Auflagepunkte positioniert, deren Abstand 20 mm beträgt. Der dritte mittige Auflagepunkt wird bis zum Bruch des Probenkörpers mit einer Geschwindigkeit von 0.75 mm min^{-1} immer weiter vorgeschoben. Aus der Messung der Länge der Durchbiegung sowie der maximalen Krafteinwirkung werden *E*-Modul und Biegefestigkeit berechnet.

Die Messungen wurden von NICO TIMPE an einer Universalprüf-Maschine 20K der Firma UTS in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. Zur Auswertung wurde die firmeneigene Software Phoenix 5.04 genutzt.

4 Experimenteller Teil

In diesem Kapitel wird auf die Synthese und Herstellung der verwendeten Silica-Partikel eingegangen sowie deren Modifizierung aufgezeigt. Für die Synthesen wurde ausschließlich Reinstwasser verwendet, welches über eine MicroPure-Reinstwasser-Anlage der Firma THERMO ELECTRON LED GmbH erhalten wurde und bei Raumtemperatur eine Leitfähigkeit von maximal $0.055 \mu\text{S cm}^{-1}$ aufweist.

4.1 Synthese von mesoporösen Silica-Nanopartikeln (MPSNP)

Im folgenden Abschnitt wird auf die Synthese von mesoporösen Silica-Nanopartikeln mit unterschiedlicher Morphologie eingegangen.

4.1.1 Sphärische mesoporöse Silica-Nanopartikel

Die Darstellung von sphärischen Silica-Nanopartikeln erfolgt nach einer Vorschrift von NEUMANN *et al.*,^[126] bei der durch den Zusatz von Diethanolamin die Partikelgröße kontrolliert werden soll (siehe Abschnitt 2.3.2).

Zunächst werden 5.48 g Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) in 130 mL Wasser, 23.10 mL Ethanol und 0.40 g Diethanolamin gelöst. Die Reaktionsmischung wird unter Rühren für ca. 30 min auf 40 °C erhitzt und anschließend mit 14.46 mL Tetraethoxysilan (TEOS) versetzt. Das Gemisch wird in einem verschlossenen Polypropylen-Gefäß für 2 h bei 40 °C gerührt, danach abkühlen gelassen und mit einer Zentrifugalbeschleunigung von 18000 G zentrifugiert. Die farblosen Partikel werden mit Wasser sowie Ethanol gewaschen und bei 60 °C getrocknet. Die Entfernung des SDAs erfolgt durch Calcination mit einer Aufheizrate von 1 °C min^{-1} bei 550 °C für 5 h.

4.1.2 Faserförmige mesoporöse Silica-Nanopartikel

Für die Synthese von faserförmigen Silica-Nanopartikeln wird eine Vorschrift von RAMBAULT *et al.*^[31] verwendet.

Hierfür werden 2.00 g CTAB in 9 mL Natriumhydroxidlösung (2 mol L^{-1}) und 1000 mL Wasser gelöst und für 30 min auf 60 °C erhitzt. Anschließend werden rasch 13.54 mL TEOS und 1.14 mL 3-Mercaptopropyltrimethoxysilan (MPTMS) hinzugegeben. Nachdem das Gemisch in einem verschlossenen Polypropylen-Gefäß für 2 h bei 60 °C und einer definierten Rührgeschwindigkeit von 250 rpm

gerührt wurde, werden die entstandenen Partikel mittels Vakuumfiltration von der Lösung abgetrennt. Hierfür wird eine Glasfritte (Porosität 4) verwendet. Die Partikel werden mit Wasser und Ethanol gewaschen, bei 60 °C getrocknet und analog zu den sphärischen Partikeln (siehe Abschnitt 4.1.1) bei 550 °C calciniert.

4.2 Modifizierung der Silica-Nanopartikel

Die unterschiedlichen Silica-Partikel werden unter Verwendung von verschiedenen Trimethoxyorganosilanen in Toluol modifiziert (Abb. 29).

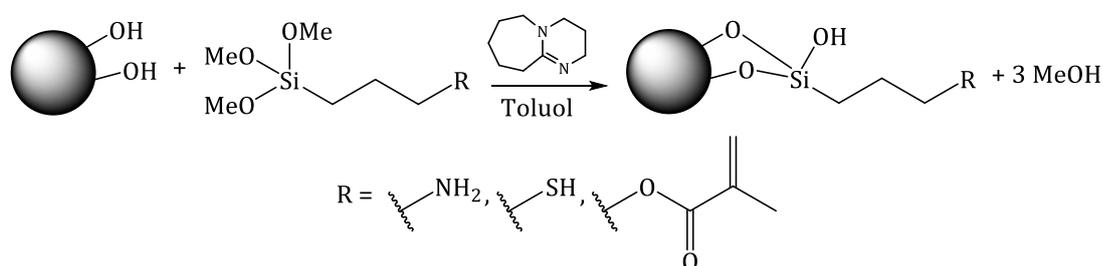


Abb. 29: Schema der Modifizierung von MPSNP mit Trimethoxyorganosilanen.

Sofern nicht anders angegeben, werden die Silica-Partikel mit einem Ultraschall-desintegrator W-450 D der Firma BRANSON (Maximalleistung 400 W) im entsprechenden Lösemittel unter Eiskühlung dispergiert.

4.2.1 Amino-Modifizierung

Für die Modifizierung der Silicapartikel mit Amino-Gruppen wird zunächst 1.00 g Silica-Nanopartikel in 40 mL Toluol mit Hilfe eines Ultraschall-desintegrators dispergiert. Anschließend werden 150 μL 1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]undec-7-en (DBU) und 187 μL APTMS hinzugefügt und das Gemisch unter Rühren in einem verschlossenen Glasgefäß für 2 h auf 80 °C erhitzt. Nachdem das Reaktionsgemisch abgekühlt war, werden die Partikel mittels Zentrifugation von der Lösung abgetrennt, dreimal mit Ethanol gewaschen und bei 60 °C getrocknet.^[126]

4.2.2 PVP-Modifizierung

Die Herstellung von Silicapartikeln mit Poly-(4-vinylpyridin)-Modifizierung erfolgt unter der Verwendung von 1,1'-(Methylendi-4,1-phenylen)bismaleimid (BMPM) als Linkermolekül.^[168] 1.00 g amino-modifizierte Silicapartikel (siehe

Abschnitt 4.2.1) werden dazu mit einem Ultraschalldesintegrator in 129 mL Acetonitril dispergiert. Anschließend werden 0.71 g BMPM hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 1.5 h unter Rückflussbedingungen auf 90 °C erhitzt. Die Farbe der Lösung verändert sich dabei von gelb zu rosa. Die Partikel werden zentrifugiert, dreimal mit Ethanol gewaschen und bei 60 °C getrocknet.

1.00 g dieser BMPM-modifizierten Silicapartikel werden in einer Lösung aus jeweils 25 mL Ethanol und Wasser dispergiert. Des Weiteren werden 1.00 g Poly-(4-vinylpyridin) (PVP), entweder mit einer gewichtsgemittelten molaren Masse (M_w) von 60000 g mol⁻¹ oder von 160000 g mol⁻¹ in 50 mL Ethanol gelöst und zur Partikeldispersion hinzugegeben. Das Gemisch wird anschließend unter Rückflussbedingungen für 2 h auf 90 °C erhitzt. Die Partikel werden zentrifugiert, dreimal mit Ethanol gewaschen und bei 60 °C getrocknet.

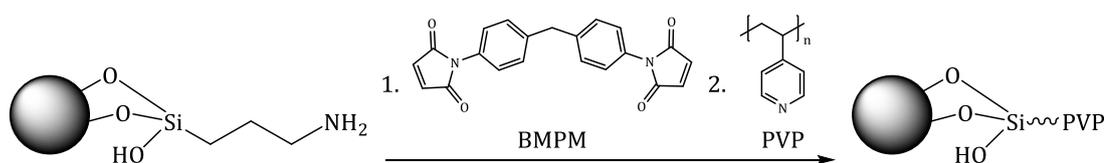


Abb. 30: Schema der Modifizierung von Silica-Nanopartikeln mit PVP.

4.2.3 Methacrylat- Modifizierung

Die Modifizierung der Silicapartikel mit Methacrylat-Gruppen erfolgt analog zu der in Abschnitt 4.2.1 beschriebenen Vorgehensweise. 1.00 g Silica-Nanopartikel werden in 40 mL Toluol dispergiert, mit 150 µL DBU und 254 µL MAPTMS (3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan) versetzt und unter Rühren für 2 h auf 80 °C erhitzt. Die Partikel werden zentrifugiert, dreimal mit Ethanol gewaschen und bei 60 °C getrocknet.

4.2.4 Thiol- Modifizierung

Die Modifizierung der Silicapartikel mit Thiol-Gruppen erfolgt analog zu der in Abschnitt 4.2.1 beschriebenen Vorgehensweise. 1.00 g Silica-Nanopartikel wird in 40 mL Toluol dispergiert. Anschließend werden 150 µL DBU und 198 µL MPTMS hinzugefügt und das Gemisch unter Rühren für 2 h auf 80 °C erhitzt. Nachdem das Reaktionsgemisch abgekühlt war, werden die Partikel zentrifugiert, dreimal mit Ethanol gewaschen und bei 60 °C getrocknet.

4.2.5 Sulfonsäure-Modifizierung

Um die Thiol-Gruppe zur Sulfonsäure-Gruppe zu oxidieren, werden 100 mg thiol-modifizierte Silica-Nanopartikel in 10 mL Wasserstoffperoxidlösung (35%) dispergiert und bei Raumtemperatur für 16 h gerührt. Anschließend werden die Partikel mittels Zentrifugation von der Lösung abgetrennt, mit Wasser und Ethanol gewaschen und bei 60 °C getrocknet.^[193]

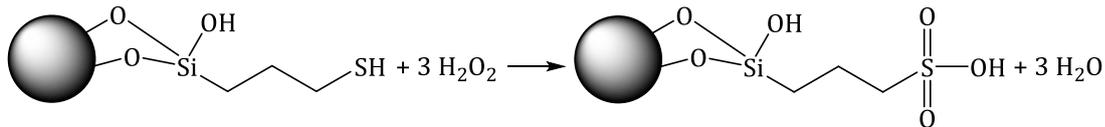


Abb. 31: Oxidation von thiol-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit H_2O_2 .

4.3 Synthese von inversen Silica-Opal-Partikeln

Für die Herstellung der inversen Silica-Opalstruktur müssen zunächst Kügelchen aus Polymethylmethacrylat (PMMA) als Template hergestellt werden.^[194] Hierzu werden 0.40 g Kaliumperoxodisulfat unter Rühren in 180 mL Wasser gelöst. In die Lösung wird für 30 min Stickstoff eingeleitet. Anschließend wird die Lösung unter Rückflussbedingungen für 60 min auf 80 °C erhitzt, wobei das Rühren und die Gaseinleitung andauern. Unter starkem Rühren werden dann 20 mL Methylmethacrylat zur Lösung hinzugegeben und für 90 min bei 80 °C gehalten. Nach Ende der Reaktionszeit wird das Gemisch abkühlen gelassen und durch Glaswolle mittels Vakuumfiltration filtriert. Das Filtrat wird anschließend mit einer Geschwindigkeit von 2000 rpm für 16 h zentrifugiert, die Flüssigkeit wird dekantiert und der Feststoff über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Der entstandene PMMA-Opal weist eine starke Opaleszenz auf.

Zur Herstellung des inversen Silica-Opals^[195] werden 5.00 g des PMMA-Opals auf ein Filterpapier in einer Nutsche mit Saugflasche gegeben und mit einem Spatel in ca. 5 mm große Teile zerkleinert. Unter reduziertem Druck wird eine Lösung aus 2.00 ml Wasser, 3.33 ml Ethanol, 0.83 mL konzentrierter Salzsäure und 5.00 mL TEOS auf die PMMA-Stücke getropft, die dann bei 60 °C getrocknet werden. Um die PMMA-Template zu entfernen, werden die Stücke mit einer

Aufheizrate von 1 °C min^{-1} auf 550 °C erhitzt und bei dieser Temperatur für 5 h calciniert.

4.3.1 Synthese von anisotropen Silica-Partikeln durch Vermahlung

Zur Vermahlung werden 1.10 g inverser Silica-Opal mit 108 g Zirconiumdioxid-Mahlkugeln (Durchmesser $100\text{ }\mu\text{m}$) und 20 mL Ethanol in einem Mahlbecher aus Zirconiumdioxid vermischt. Anschließend wird das Gemisch in einer Planetenkugelmühle PM100 der Firma RETSCH vermahlen, wobei nach jeweils einem Drittel der Mahldauer die Drehrichtung gewechselt wurde. Die Separation von Probe und Mahlkugeln erfolgt mittels eines Kunststoff-Analysesiebs aus Nylon mit einer Maschengröße von $80\text{ }\mu\text{m}$. Das Mahlgut wird unter Schüttelbewegungen mit Reinstwasser durch das Sieb gespült, anschließend durch Zentrifugation von der Flüssigkeit abgetrennt und bei 60 °C getrocknet.

4.3.2 Synthese von anisotropen Silica-Partikeln durch Ultraschall

1.20 g des erhaltenen inversen Silica-Opals werden in 40 mL Wasser gegeben und mit einem Ultraschalldesintegrator W-450 D der Firma BRANSON behandelt. Die Partikel, welche zur Kompositherstellung vorgesehen sind, werden für 10 min bei 120 W unter Eiskühlung behandelt. Anschließend werden die Partikel zentrifugiert und bei 60 °C getrocknet. Die Modifizierung mit Methacrylat-Gruppen erfolgt analog zur Vorgehensweise mit Silica-Nanopartikeln, wie in Abschnitt 4.2.3 beschrieben.

4.4 Freisetzungsexperimente

Die Freisetzungsexperimente werden mit unterschiedlich modifizierten Silica-Nanopartikeln durchgeführt, die mit dem Wirkstoff Chlorhexidin beladen wurden. Aufgrund der besseren Löslichkeit in Wasser werden Chlorhexidin-Dihydrochlorid (CHX-Cl) und Chlorhexidin-Digluconat (CHX-Gl) verwendet.

Die jeweiligen Silica-Partikel werden mit Hilfe des Ultraschall-Desintegrators in einer CHX-Cl-Lösung (1 mmol L^{-1}) beziehungsweise in einer CHX-Gl-Lösung (10 wt%, 118 mmol L^{-1}) dispergiert und anschließend bei Raumtemperatur 3 Tage gerührt. Die Inkubationslösungen der Partikel, die mit einer PVP-Modifizierung ausgestattet wurden, werden zusätzlich mit Salzsäure oder

Gluconsäure auf ca. pH 3 eingestellt, um die Poren für eine Einlagerung freizugeben. Anschließend werden die jeweiligen Partikel durch Zentrifugation von der Inkubationslösung abgetrennt und bei 60 °C getrocknet.

Für die Freisetzungsexperimente werden ca. 10 mg der beladenen Partikel in 2 mL des jeweiligen auf 37 °C vorgewärmten Freisetzungsmediums, in der Regel Wasser oder PBS, dispergiert. Die Dispergierung erfolgt in einem Ultraschallbad bei 37 °C für 5 min. Anschließend werden die Partikel für bei 37 °C gelagert und dann bei mit einer Beschleunigung von 10000 G für 15 min bei 37 °C zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert und photometrisch analysiert (siehe Abschnitt 3.7). Die Messungen erfolgten bei einer Wellenlänge von 260 nm. Die Silica-Partikel werden mit 2 mL frischem Medium versetzt und im Ultraschallbad redispergiert. Die Schritte werden wiederholt, um den Konzentrationsverlauf in Abhängigkeit von der Zeit zu untersuchen.

Die Komposite, in die mit CHX-GI beladene Silica-Nanopartikel eingebracht wurden, besitzen eine runde Scheibenform. Für die Freisetzung wurden sie in 2 mL Freisetzungsmedium (PBS) bei 37 °C eingelegt und nach einer bestimmten Zeit in ein Gefäß mit frischem Medium, ebenfalls bei 37 °C, überführt.

4.5 Herstellung der Kompositmaterialien

Zur Herstellung der Kompositmaterialien wurden 70 wt% Bis-GMA und 30 wt% TEGDMA vermischt. Diese Zusammensetzung entspricht dem in der zahnmedizinischen verwendeten Verhältnis. In der Literatur^[15,22,196] werden teilweise Zusammensetzung von 50 wt% Bis-GMA und 50 wt% TEGDMA genutzt, was zwar eine bessere Verarbeitbarkeit und eine erhöhte Füllstoffmenge ermöglicht, aufgrund der hohen Polymerisationsschrumpung jedoch nicht als praktikabel angesehen werden kann. 0.5 wt% CQ und 0.5 wt% EDMAB werden als Photoinitiator und Beschleuniger hinzu gegeben. Zur Verbesserung der Partikeldispersion wurden die jeweiligen Füllstoffe zuvor in der niederviskosen TEGDMA-Phase unter Ultraschalleinwirkung für 30 min dispergiert. Nach der Zugabe der restlichen organischen Bestandteile und, im Falle der Hybridkomposite, der Glasfüllstoffe (GM32087, SCHOTT) wird die Ultraschalleinwirkung für weitere 30 min fortgesetzt. Die Monomermischung für jeweils 40 Sekunden auf beiden Seiten bestrahlt, mindestens 30 Tage bei Raumtemperatur gelagert und durch Bestrahlung nachgehärtet. Die

Kompositmaterialien wurden von NICO TIMPE im Institut für Technische Chemie der Technischen Universität Braunschweig hergestellt.

5 Ergebnisse und Diskussion

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse bezüglich der Herstellung der unterschiedlichen Silica-Partikel und der Kompositmaterialien dargestellt und diskutiert. Des Weiteren wird die Freisetzung von Chlorhexidin aus Partikeln und aus Kompositen sowie aus einem *Stimulus-Response*-System vorgestellt und diskutiert. Die Resultate der *in vitro*-Untersuchungen und der mechanischen Untersuchungen werden ebenfalls dargestellt.

5.1 Charakterisierung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln

Zunächst werden die Silica-Nanopartikel, welche durch Sol-Gel-Verfahren hergestellt wurden, bezüglich ihrer Größe, Gestalt und ihres Porensystems charakterisiert. Zudem wird der Erfolg der Modifikation der Partikel mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen diskutiert.

5.1.1 Größe und Morphologie

Die Charakterisierung der Größen und Morphologien der unterschiedlichen Silica-Nanopartikel erfolgte mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM). Die Größenbestimmung mittels Dynamischer Lichtstreuung (DLS) ist auf die Vermessung von annähernd sphärischen Partikeln beschränkt, da der hydrodynamische Radius der STOKES-EINSTEIN-Beziehung isotrop ist und somit keine Rückschlüsse auf die Größenverteilung in unterschiedlichen Raumrichtungen zulässt.

Die Partikel, die nach einer Vorschrift von NEUMANN, CHRISTEL *et al.*^[126] hergestellt wurden, besitzen eine sphärische Gestalt und eine monodisperse Größenverteilung (Abb. 32). Sie weisen einen Durchmesser von ca. 30 bis 40 nm auf und liegen nicht aggregiert vor, tendieren jedoch leicht zur Agglomeration.

Diese Ergebnisse werden von den DLS-Messungen bestätigt (Abb. 33). Der mittlere hydrodynamische Partikelradius beträgt ca. 40 bis 50 nm. Zusätzlich ist noch ein geringer Anteil größerer Bestandteile zu erkennen, wobei es sich vermutlich um Agglomerate zusammengelagerter Nanopartikel handelt.

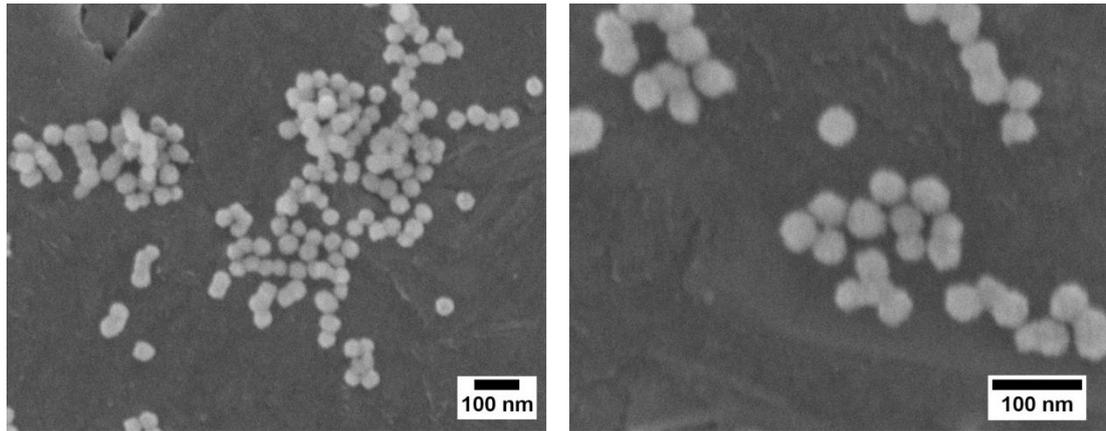


Abb. 32: REM-Aufnahmen sphärischer Silica-Nanopartikel (REM-PCI).

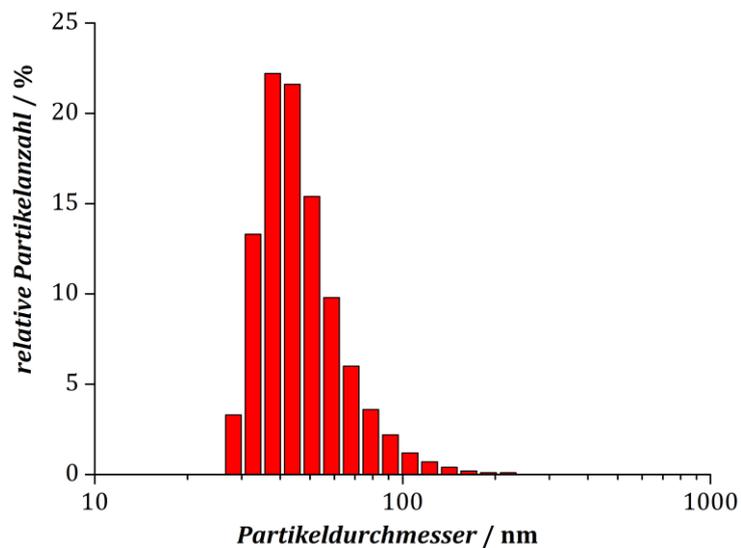


Abb. 33: DLS-Messung von sphärischen Silica-Nanopartikeln.

Die Synthese nach RAMBAUD^[31] ergab hoch anisotrope Partikel mit faserförmiger Morphologie (Abb. 34). Die Länge der Partikel ist heterogen und liegt größtenteils im Mikrometerbereich. Der Partikeldurchmesser liegt hingegen zwischen 70 und 100 nm, somit handelt es sich auch bei diesen Partikeln per Definition um Nanopartikel.^[9] Aufgrund dieser Abmessungen besitzen diese Silica-Fasern ein großes Aspektverhältnis (Verhältnis zwischen Länge und geringster lateraler Ausdehnung).

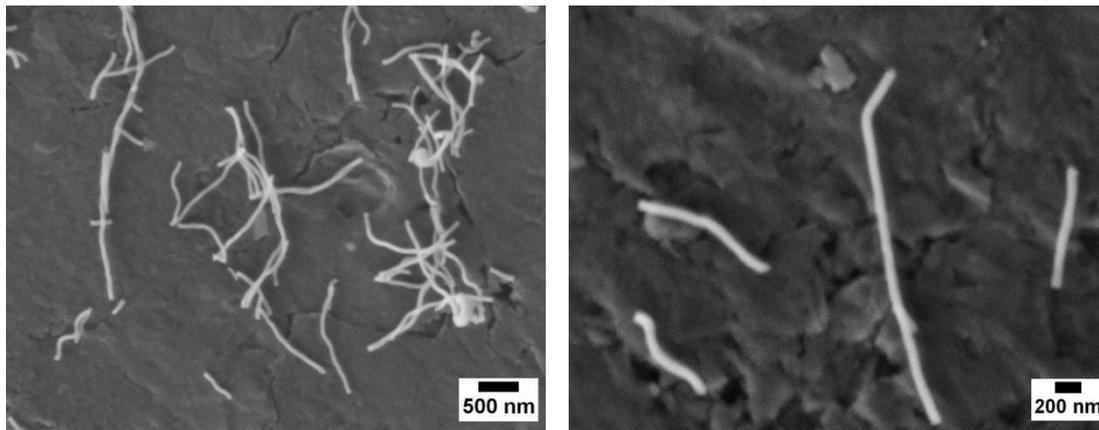


Abb. 34: REM-Aufnahmen faserförmiger Silica-Nanopartikel (REM-PCI).

Der Partikelquerschnitt der faserförmigen Silica-Partikel weist eine hexagonale Form auf, dargestellt in Abb. 35a. Diese Beobachtung ist mit dem von SADASIVAN *et al.* postulierten Wachstumsmechanismus für anisotrope Partikel konform. Dieser geht von einer hexagonalen Anordnung der Tensid-Micellen während der Partikelbildung aus.^[76] Die helikale Drehung des faserförmigen Silica-Partikels in Abb. 35b kann ebenfalls mit der Micellenausrichtung während der Synthese erklärt werden. Durch die helikale Anordnung wird eine energetisch günstigere Verringerung der freien Oberflächenenergie erreicht.^[91]

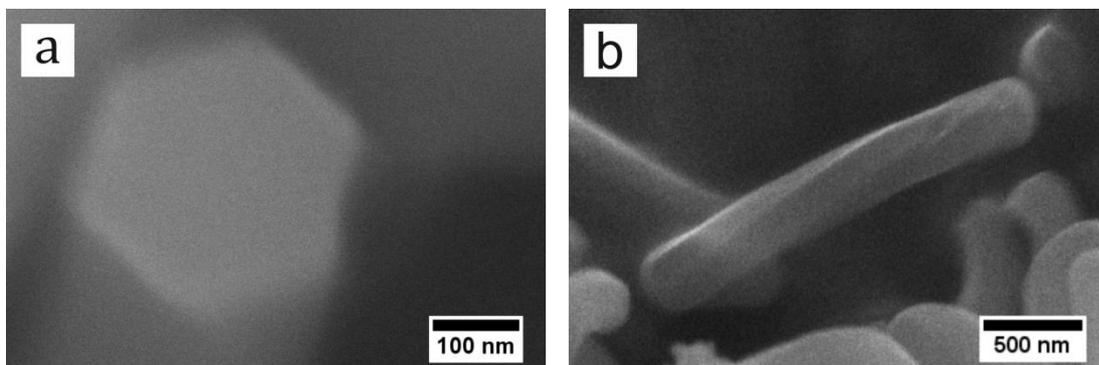


Abb. 35: Querschnitt (a) und Seitenansicht (b) eines faserförmigen Silica-Partikels (REM-ACI).

Durch eine Erhöhung der Tensidmenge während der Synthese trat dieser Effekt verstärkt auf, da sich hier neben elongierten Helices gewundene Partikel mit Spiral-Morphologie bildeten.^[197]

Die Entfernung der strukturdirigierenden Agenzien erfolgte mittels Calcination bei hohen Temperaturen. Durch diese Methode wird zwar unter Wasserabgabe eine gewisse Anzahl von Silanol-Gruppen in unreaktive Siloxan-Gruppen umgewandelt, welche anschließend nicht mehr für die Oberflächen-

modifizierung zur Verfügung stehen, jedoch werden hierbei sämtliche Tensid-Moleküle entfernt. Bei einer Extraktion in salzsaurem Ethanol unter Rückflussbedingungen konnten SDAs nur unvollständig entfernt werden, was eine stark zelltoxische Wirkung der Partikel zur Folge haben kann.^[198]

5.1.2 Partikeloberfläche und Porensystem

Zur Bestimmung der spezifischen Oberfläche, des Porenvolumens und der Porenweitenverteilung der reinen Füllstoffe wurden Argon-Sorptionsmessungen durchgeführt. Argon als Adsorptiv ist besonders für die Analyse von Mikroporen geeignet, da es aufgrund seines höheren Siedepunktes Mikroporen bei größeren Relativdrücken im Vergleich zu Stickstoff befüllt. Argon liegt atomar vor, besitzt kein Quadrupolmoment und hat einen geringeren kinetischen Durchmesser als Stickstoff. Somit sind genauere Messungen möglich.^[199] Abb. 36 zeigt die Argon-Isothermen einer Sorptionsmessung von sphärischen und faserförmigen Silica-Nanopartikeln. Bis p/p_0 -Werten von etwa 0.4 ist ein stufenweiser Anstieg der Isothermen zu erkennen, was auf die Befüllung von Mikroporen und kleinen Mesoporen zurückzuführen ist. Der Bereich danach weist keine Hysterese auf, welche durch Kapillarkondensation in größeren Mesoporen verursacht werden würde. Dies ist ein Hinweis dafür, dass lediglich sehr kleine Mesoporen vorhanden sind. Der steile Anstieg der Isotherme der Silica-Sphären ab ca. 0.94 p/p_0 bis zu Werten von $1900 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ ist durch Kondensation in interpartikulären Zwischenräumen zu erklären und wird hier nicht gezeigt. Eine detaillierte Darstellung findet sich im Anhang, Abschnitt 8.3.

Die Adsorptions- und Desorptionsisothermen der unporösen Silica-Nanopartikel Aerosil OX 50 zeigen, dass lediglich ein sehr geringes Volumen adsorbiert wird. Aufgrund dieser geringen Volumina ist der nicht kongruente Verlauf der Isothermen durch Messungenauigkeiten zu erklären. Da keine Poren vorhanden sind, kann keine Hysterese durch Kapillarkondensation beobachtet werden.

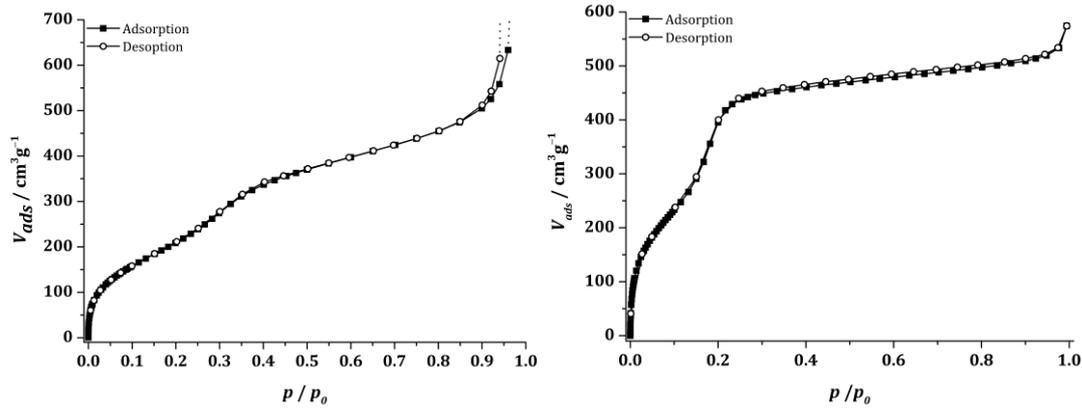


Abb. 36: Argon-Adsorptions- und Desorptionsisothermen von sphärischen Silica-Nanopartikeln (links) und faserförmigen Silica-Nanopartikeln (rechts).

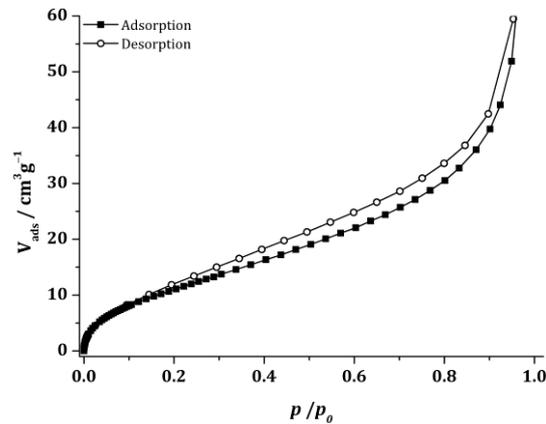


Abb. 37: Argon-Adsorptions- und Desorptionsisothermen von Aerosil OX 50 - Partikeln.

Die mit dem BET-Modell errechnete spezifische Oberfläche beträgt $730 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ für die sphärischen Partikel und $980 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ für die faserförmigen Partikel. Zum Vergleich: die spezifische Oberfläche des Referenzfüllstoffs Aerosil OX 50 beträgt lediglich $40 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Die Porenweitenverteilungen der sphärischen und anisotropen Partikel sind in Abb. 38 dargestellt. Sie zeigen eine relativ schmale Verteilung und durchschnittliche Porendurchmesser von 3.5 nm für Silica-Sphären bzw. 2.8 nm für Silica-Fasern. Die Poren liegen somit im unteren Mesoporen-Bereich. Das Porenvolumen beträgt jeweils $0.60 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ für die Silica-Sphären und $0.65 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ für die Silica-Fasern. Da Aerosil OX 50 aus unporösen Partikeln besteht, entfällt hier die Berechnung der Porenweitenverteilung und des Porenvolumens.

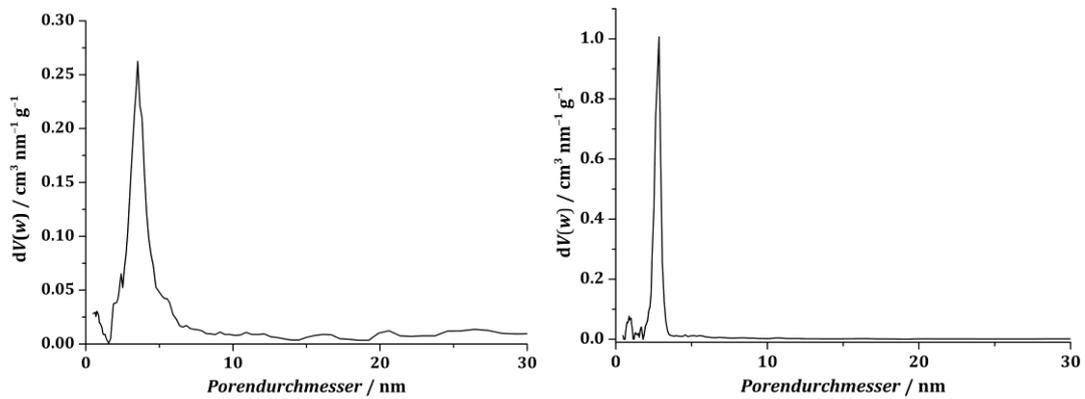


Abb. 38: Porenweitenverteilungen von sphärischen Silica-Nanopartikeln (links) und faserförmigen Silica-Nanopartikeln (rechts).

In Abb. 39 sind die Röntgen-Pulverdiffraktogramme von sphärischen Silica-Partikeln, faserförmigen Silica-Partikeln und dem Referenzfüllstoff Aerosil OX 50 dargestellt. Das Diffraktogramm der Silica-Fasern weist einen intensiven Reflex bei ca. $2.5^\circ 2\theta$ und zwei Reflexe mit einer geringen Intensität bei $4.3^\circ 2\theta$ und $4.9^\circ 2\theta$ auf. Diese Reflexe können als 100, 110 und 200-Reflexe einer hexagonal angeordneten Mesoporenstruktur indiziert werden. Silica-Sphären hingegen verursachen nur einen etwas breiteren 100-Reflex. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Porenstruktur in den Silica-Fasern eine höhere Ordnung als in den Silica-Sphären aufweist, was mit früheren Analysen übereinstimmt.^[198] Das Diffraktogramm von Aerosil OX 50 zeigt lediglich den Abfall der Primärstrahlintensität, hier ist kein geordnetes Porensystem vorhanden.

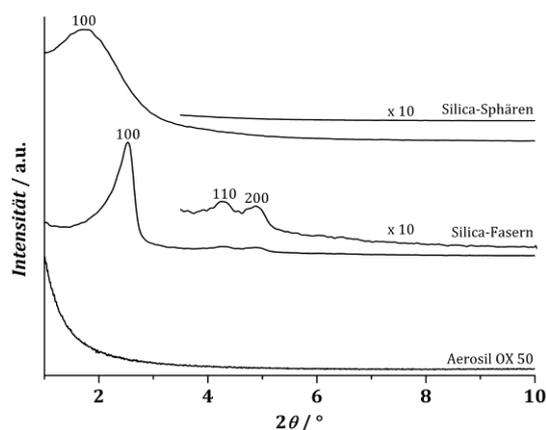


Abb. 39: Röntgen-Pulverdiffraktogramme von sphärischen Silica-Nanopartikeln, faserförmigen Silica-Nanopartikeln und Aerosil OX 50.

Aus den Ergebnissen der Sorptions- und Röntgen-Analysen lässt sich zusammenfassend sagen, dass die hergestellten Silica-Partikel Poren im unteren

Mesobereich besitzen. Die Silica-Fasern scheinen hexagonal geordnete Poren aufzuweisen, während die Silica-Sphären ein eher ungeordnetes Porensystem besitzen. Beide Partikelarten weisen eine hohe spezifische Oberfläche und großes Porenvolumen auf, was sie für die Einlagerung von Wirkstoffen interessant macht.

5.1.3 Partikelmodifizierungen

Der Erfolg der unterschiedlichen Modifizierungen der Partikel wurde mittels IR-Spektroskopie und Zeta-Potentialanalysen nachgewiesen.

Abb. 40 zeigt das IR-Spektrum von unmodifizierten mesoporösen Silica-Nanopartikeln. Es sind die für Silica-Materialien charakteristischen IR-Banden zu erkennen, welche in Tabelle 1 zusammenfassend beschrieben werden. Die Bande bei einer Wellenzahl von 1086 cm^{-1} wird durch (Si-O-Si)-Valenzschwingungen des Silica-Gerüsts verursacht. Da diese Bande sehr intensiv und charakteristisch für Silica ist, werden alle IR-Spektren der besseren Vergleichbarkeit halber auf deren Intensität normiert.^[200] Die Banden zwischen 2400 und 2300 cm^{-1} werden durch die asymmetrische (C=O)-Valenzschwingung von atmosphärischem Kohlenstoffdioxid in der Messzelle des IR-Spektrometers verursacht und werden im Folgenden nicht weiter berücksichtigt.

Die Modifizierung von Silica-Nanopartikeln mit Methacrylat-Gruppen stattet die Partikeloberfläche mit hydrophoben Gruppen aus, die eine große strukturelle Ähnlichkeit zur Bis-GMA-Matrix der dentalen Komposite besitzen. Somit sollte die Dispersion der Füllstoffe in der Monomermischung verbessert werden können. Des Weiteren können die Methacrylat-Gruppen der Silane mit den Methacrylat-Gruppen der Monomere im Zuge der Polymerisation reagieren und kovalente Bindungen zwischen anorganischer und organischer Matrix bilden. Dies führt zu verbesserten mechanischen Eigenschaften.^[45,46] Die Silica-Partikelmodifizierung lässt sich gut über IR-Spektroskopie nachweisen, da die (C=O)-Valenzschwingung der Carbonyl-Gruppe des Esters bei 1709 cm^{-1} eine intensive Bande aufweist, die nicht durch Silica-Banden überdeckt wird. Die zusätzlichen Banden nach der Modifizierung bei 2938 und 1456 cm^{-1} können der Propyl-Gruppe und der Alkenbindung zugeordnet werden.^[45] Neben den für Silica charakteristischen Banden zeigt das IR-Spektrum von unmodifizierten

Partikeln eine Bande bei 3740 cm^{-1} , die auf freie Silanol-Gruppen auf der Partikeloberfläche hindeutet. Nach der Modifizierung mit MAPTMS ist diese Bande nicht mehr zu erkennen, was auf eine erfolgreiche Kondensationsreaktion zwischen den Silanol-Gruppen des Partikels und des Silans hindeutet.

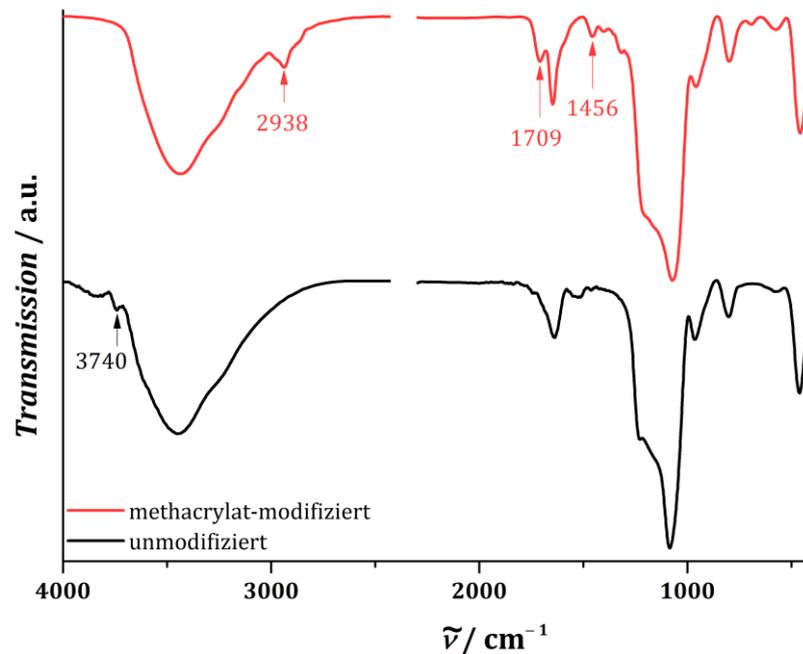


Abb. 40: IR-Spektren von unmodifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

Ein genauerer Vergleich der einzelnen Banden vor und nach dem Modifizierungsschritt in Tabelle 1 lässt den Schluss zu, dass die Modifizierung erfolgreich war.

Es konnte keine stabile Partikeldispersion in wässrigen Lösungen hergestellt werden, da die Partikel auf der Wasseroberfläche akkumulierten. Eine Zeta-Potential-Analyse in Wasser war somit nicht möglich. Dies deutet ebenfalls auf eine hohe Hydrophobizität der Partikel hin.

Tabelle 1: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von unmodifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Partikeln (Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}).

un-modifiziert	methacryl.-modifiziert	Art der Schwingung	Ursache	Lit.
3740	-	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[45]
3449	3435	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser	[200]
-	2938	(C-H)-Valenzschwingung	MAPTMS	[45]
-	1709	(C=O)-Valenzschwingung	MAPTMS	[45]
1640	1647	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser	[93]
-	1456	(C=C)-Valenzschwingung	MAPTMS	[45]
1086	1072	assym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
964	959	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
802	799	sym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
584	583	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
460	459	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica	[200]

Zur Modifizierung von Silica-Partikeln mit einer Sulfonsäure-Gruppe wurde zunächst eine Thiol-Gruppe an die Partikel-Oberfläche angebracht. Diese wurde dann in konzentrierter Wasserstoffperoxidlösung bei Raumtemperatur zur Sulfonsäure-Gruppe oxidiert. Durch die hohe Acidität der Sulfonsäure-Gruppe können die Silica-Partikel mit anionischen Eigenschaften ausgestattet werden, um die Menge an eingelagertem kationischen Wirkstoff aufgrund elektrostatischer Anziehungskräfte zu erhöhen und die Freisetzungskinetik zu steuern.^[128]

Der Nachweis über IR-Spektroskopie erweist sich hier jedoch als schwierig, da die (S-H)-Valenzschwingung der Thiol-Gruppe bei 2580 cm^{-1} nur eine geringe Intensität ausweist und hier nicht aufgelöst werden kann (Abb. 41). Die zwei Banden, welche durch die (S-O)-Valenzschwingung der Sulfonsäure-Gruppe verursacht werden, liegen zwischen 1300 und 1100 cm^{-1} und werden durch die breite und intensive Silica-Bande bei 1088 cm^{-1} überdeckt.^[193] Prinzipiell stünde auch die RAMAN-Spektroskopie als Analysemethode zur Verfügung, jedoch kam es aufgrund der hohen Intensität des Laserstrahls des verwendeten RAMAN-Mikroskops zu einer Zersetzung der organischen Probenbestandteile. Dadurch wurde eine Detektion der Thiol-Gruppen unmöglich. Der Nachweis über IR-Spektroskopie erfolgte somit über das Erscheinen der Bande bei 2936 cm^{-1} , welche auf die Propyl-Gruppe des Organosilans hindeutet. Die

reduzierte Intensität der IR-Bande bei 3742 cm^{-1} könnte zudem ein Hinweis auf eine Reaktion der freien Silanol-Gruppen mit den MPTMS-Molekülen sein

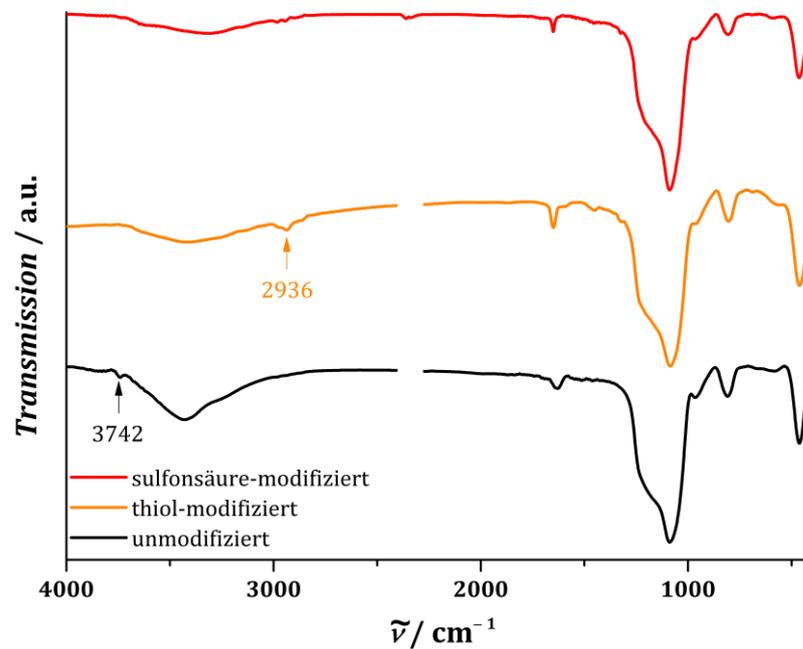


Abb. 41: IR-Spektren von unmodifizierten, thiol-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

Der Vergleich der Banden in Tabelle 2 deutet auch hier auf eine erfolgreiche Modifizierung hin.

Tabelle 2: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von unmodifizierten, thiol-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Partikeln (Wellenzahlen $\tilde{\nu} / \text{cm}^{-1}$).

un-mod.	thiol-mod.	sulf.-mod.	Art der Schwingung	Ursache	Lit.
3740	-	-	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[45]
3449	3411	3325	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser	[200]
-	2972	2982	(C-H)-Valenzschwingung	MPTMS	[45]
-	2935	2944	(C-H)-Valenzschwingung	MPTMS	[45]
1640	1649	1650	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser	[93]
1086	1086	1088	assym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
964	964	964	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
802	804	806	sym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
584	569	593	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
460	461	465	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica	[200]

Der jeweilige Verlauf des pH-Wert-abhängigen Zeta-Potentials der thiol- und sulfonsäure-modifizierten Partikel weist ebenfalls auf eine erfolgreiche

Modifizierung hin. Thiol-Gruppen haben ähnliche Eigenschaften wie Silanol-Gruppen, somit unterscheiden sich deren Zeta-Potentialverläufe nicht wesentlich. Lediglich der isoelektrische Punkt verschiebt sich geringfügig von pH 3.7 auf pH 2.8, was auf eine geringfügig größere Acidität hindeutet. Nach der Oxidation zeigen die Partikel jedoch unterschiedliche Zeta-Potentialverläufe. Selbst bei pH-Werten unter 2 weisen die sulfonsäure-modifizierten Partikel ein stark negatives Zeta-Potential von über -30 mV auf. Dies ist auf die negative Ladung deprotonierter Sulfonat-Anionen zurückzuführen. Die Verlaufsänderung deutet somit auf eine erfolgreiche Modifizierung hin.

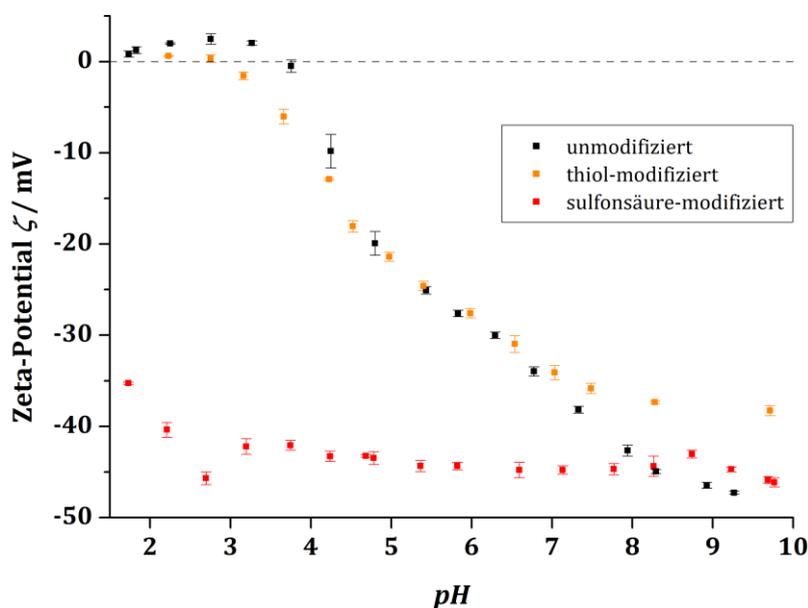


Abb. 42: Zeta-Potentialverläufe von unmodifizierten, thiol-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

Durch die Modifizierung mit Amino-Gruppen können Silica-Nanopartikel mit kationischen Eigenschaften ausgestattet werden. Durch die Basizität der Amino-Gruppe bilden sich in physiologischen Medien durch die Anlagerung eines Protons kationische Ammoniumverbindungen. Das Zeta-Potential ändert sich nach der Modifizierung, bei niedrigeren pH-Werten liegt es im stark positiven Bereich. Bei hohen pH-Werten verschieben sich die Zeta-Potentialwerte in den stark negativen Bereich, was wahrscheinlich auf die Deprotonierung der Amino-Gruppen aufgrund ihrer amphoteren Eigenschaften hindeutet.

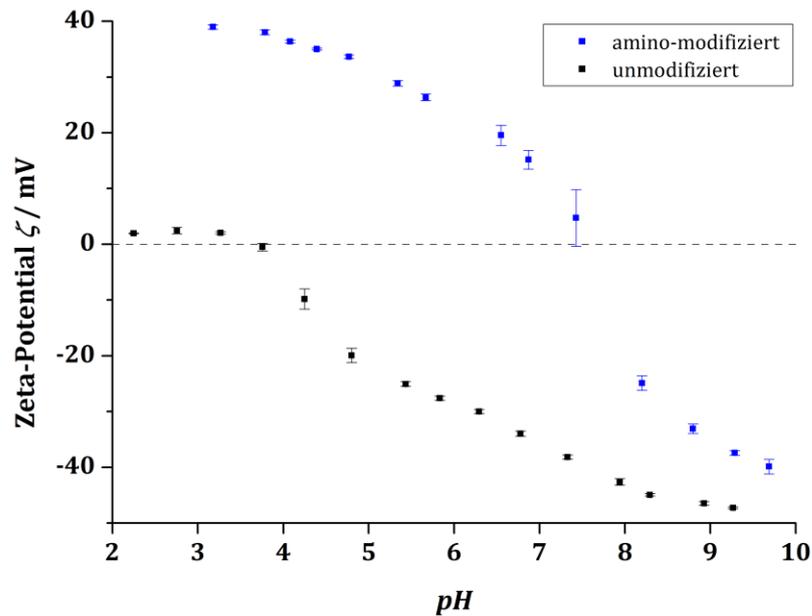


Abb. 43: Zeta-Potentialverläufe von unmodifizierten und amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

Die Anbindung von Poly(4-vinylpyridin) (PVP) an die Oberfläche von amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln erfolgte über 1,1'-(Methylendi-4,1-phenylen)bismaleimid (Bismaleimid-S, BMPM, Abb. 44) als Linkermolekül. BMPM ist ein Bismaleimid, welches in der Vernetzung von Harzen oder der Immobilisierung von Proteinen verwendet wird.

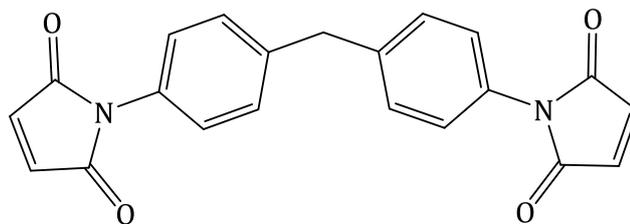


Abb. 44: Struktur von Bismaleimid-S (BMPM).

Als α,β -ungesättigte Carbonylverbindung reagiert BMPM mit nucleophilen Gruppen, wie Thiol- oder Amino-Gruppen, über einen MICHAEL-Additionsmechanismus. Dieser ist schematisch in Abb. 45 dargestellt, wobei R^1 für einen beliebigen Rest eines primären Amins steht und R^2 für den Rest des BMPM-Moleküls. Der Linker ist in der Lage, amino-modifizierte Silica-Partikel mit den Stickstoff-Gruppen von PVP zu verbinden.

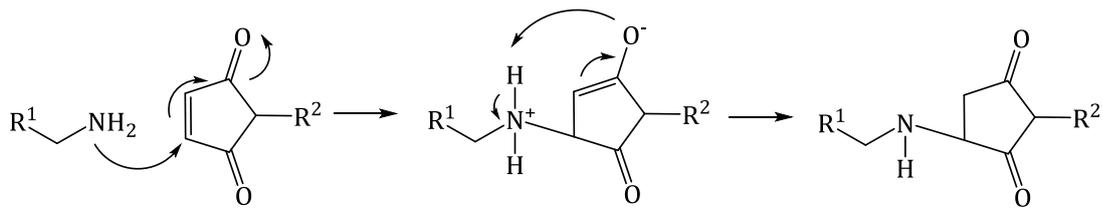


Abb. 45: Mechanismus der MICHAEL-Addition von Aminen an Maleimiden.

Der Verlauf der einzelnen Reaktionsschritte wurde mittels IR-Spektroskopie untersucht (Abb. 46). Das IR-Spektrum nach der Amino-Modifizierung weist eine breite Bande bei 3309 cm^{-1} auf, die auf N–H-Valenzschwingungen des primären Amins zurückzuführen ist, und weitere Banden zwischen 2980 und 2850 cm^{-1} , welche durch die symmetrischen und asymmetrischen C–H-Valenzschwingungen der Propyl-Gruppe verursacht werden.^[200] Nach der Umsetzung der amino-modifizierten Partikel mit BPPM weist das IR-Spektrum zusätzliche Banden bei 1713 , 1516 und 1392 cm^{-1} auf, die auf die charakteristische asymmetrische C=O-Valenzschwingung, die aromatische C=C-Valenzschwingung und die symmetrische C–N–C-Valenzschwingung des BPPM-Moleküls zurückzuführen sind.^[168] Nach der Umsetzung mit PVP kommen Banden bei 1607 und 1414 cm^{-1} hinzu, welche charakteristisch für Pyridin-Gruppen sind.^[21]

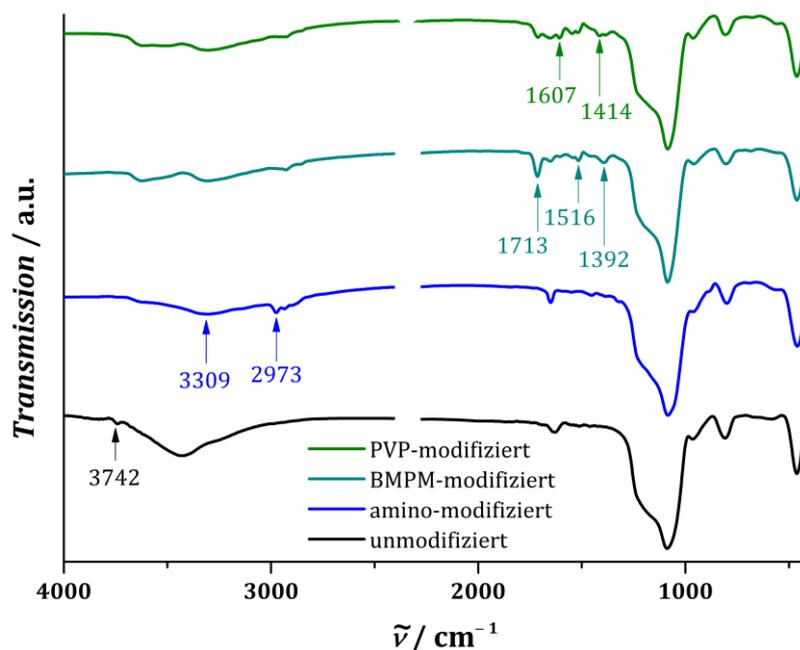


Abb. 46: IR-Spektren von unmodifizierten, amino-modifizierten, BPPM-modifizierten und PVP-modifizierten Silica-Nanopartikel.

In Tabelle 3 werden die Banden, welche durch die jeweiligen Modifizierungsschritte auftreten, miteinander verglichen. Es kann gefolgert werden, dass die Modifizierung der Silica-Nanopartikel mit PVP erfolgreich war, obgleich PVP keine primären Amino-Gruppen besitzt. Anscheinend ist das Stickstoffatom der Pyridin-Gruppe ebenfalls in der Lage stabile Bindungen mit BMPM auszubilden. Eine Anbindung, die lediglich über elektrostatische Wechselwirkungen erfolgt, ist hier eher unwahrscheinlich, da die vorangegangene Amino-Modifizierung die positive Ladungsdichte auf der Partikeloberfläche erhöht. Somit wäre eher eine Repulsion der beiden Stickstoffverbindungen zu erwarten.

Tabelle 3: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von amino-, BMPM- und PVP-modifizierten Silica-Partikeln (Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}).

amino-mod.	BMPM-mod.	PVP-mod.	Art der Schwingung	Ursache	Lit.
3309	3306	3305	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser	[200]
2937	2938	2923	(C-H)-Valenzschwingung	APTMS	[45]
-	1713	1713	asym. (C=O)-Valenzschwingung	BMPM	[168]
1651	1647	1655	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser	[93]
-	-	1607	(C=N)-Valenzschwingung	PVP	[21]
-	1516	1519	(C=C)-Valenzschwingung	BMPM	[168]
-	-	1414	(C=N)-Valenzschwingung	PVP	[21]
-	1388	1384	sym. (C-N-C)-Valenzschwingung	BMPM	[168]
1086	1072	1084	assym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
966	959	961	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
802	799	808	sym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
567	583	566	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
461	459	463	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica	[200]

Die IR-Spektren der Silica-Nanopartikel, die mit PVP mit unterschiedlichen gewichtsgemittelten molaren Massen ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$ beziehungsweise $160000 \text{ g mol}^{-1}$) modifiziert wurden, stimmen ungefähr überein (IR-Spektren siehe Anhang, Abschnitt 8.3). Der Zeta-Potentialverlauf der Partikel mit der höheren Molmasse weist jedoch größere Zeta-Potentialwerte im sauren pH-Bereich auf, was auf eine größere Anzahl an protonierbaren Pyridin-Gruppen hinweist. Beide Partikelarten weisen isoelektrische Punkte im neutralen pH-Wert-Bereich zwischen 7.3 und 8.1 auf, was sie besonders interessant für die

Anwendung als *Stimulus-Response*-System macht. Im physiologischen Bereich liegen die Polymerstränge somit nahezu ungeladen vor und verschließen die Porenöffnungen der Silica-Nanopartikel. Bei sauren pH-Werten, etwa während einer bakteriellen Infektion, werden die Stränge protoniert, richten sich auf und geben die Porenöffnungen frei, so dass Wirkstoffmoleküle austreten können. Aus dem Verlauf ist zu erkennen, dass niedrigere pH-Werte höhere Zeta-Potentialwerte verursachen. Somit sind möglichst niedrige pH-Werte für eine Freisetzung vorteilhaft.

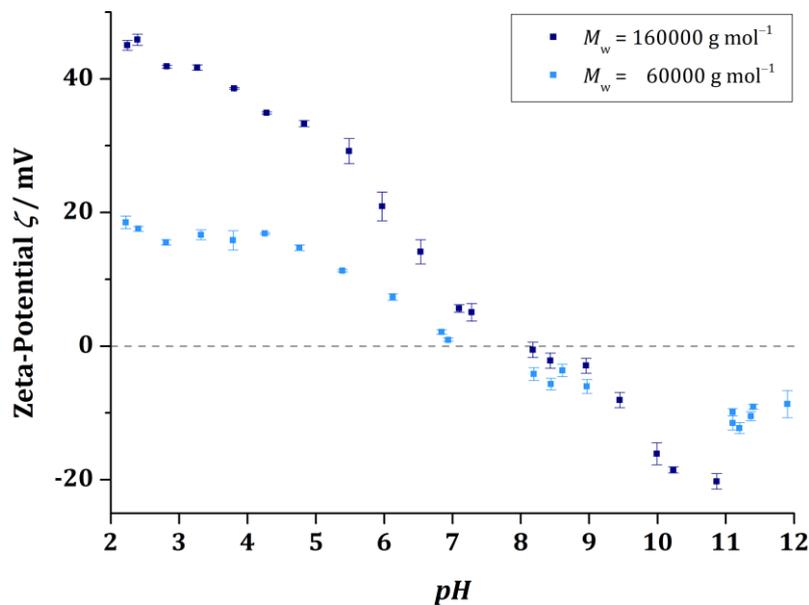


Abb. 47: Zeta-Potentialverläufe von Silica-Nanopartikeln, die mit PVP mit unterschiedlichen mittleren Molmassen modifiziert wurden.

Als weitere Anbindungsmöglichkeit käme die Bildung von quartären Ammonium-Ionen durch eine Alkylhalogenid-Gruppe in Frage. Eine Amidbindung durch eine mit *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid aktivierte Carbonsäure-Modifizierung wäre ebenfalls möglich.^[21,201] Da diese Methoden jedoch lediglich in der Lage waren, keine bis sehr geringe Mengen PVP anzubinden, wurde im Folgenden das BPPM-System verwendet.

5.2 Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der Einlagerung und der Freisetzung von Chlorhexidin-Dihydrochlorid (CHX-Cl) und Chlorhexidin-Digluconat (CHX-Gl) aus unterschiedlich modifizierten mesoporösen Silica-Nanopartikeln dargestellt. Hierbei werden Partikel mit anionischen (Sulfon-

säure-), kationischen (Amino-) und hydrophoben (Methacrylat-) Modifizierungen mit einander verglichen.

5.2.1 Wirkstoffeinlagerung

Nach einer Inkubation der unterschiedlich modifizierten Silica-Nanopartikel in CHX-Gl-Lösung wurden die getrockneten Partikel mittels IR-Spektroskopie untersucht. Sowohl unmodifizierte als auch sulfonsäure- und methacrylat-modifizierte Partikel zeigen nach der Einlagerung neben den charakteristischen Silica-Banden zusätzliche Signale, welche dem Chlorhexidin zugeordnet werden können (Abb. 48). Diese befinden sich vorwiegend im Bereich zwischen 1640 und 1410 cm^{-1} .

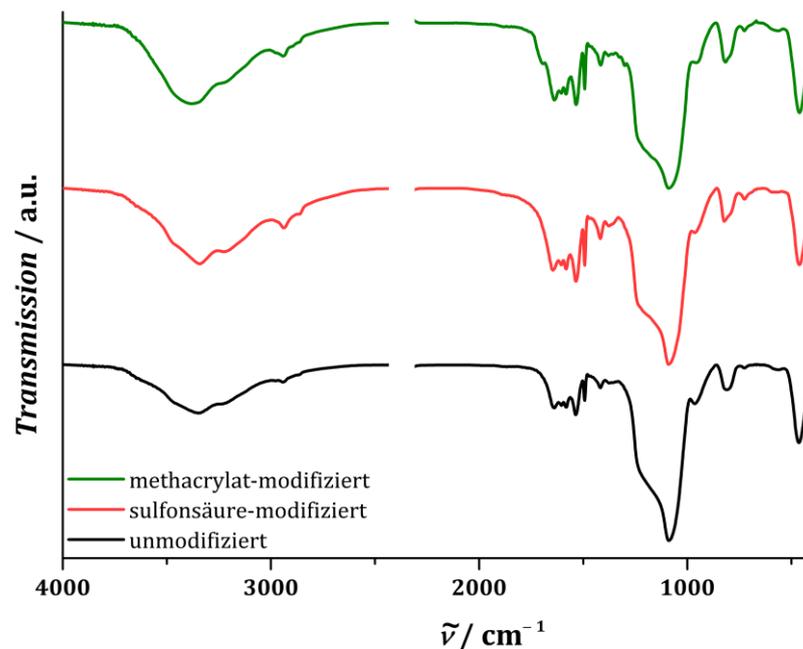


Abb. 48: IR-Spektren von unmodifizierten, sulfonsäure-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikel nach CHX-Gl-Einlagerung.

Die Zuordnung der Banden erfolgt in Tabelle 4 und deutet auf eine erfolgreiche Einlagerung von Chlorhexidin in die mesoporösen Silica-Nanopartikel hin.

Tabelle 4: Vergleichende Zuordnung der IR-Banden von unmodifizierten, sulfonsäure-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Partikeln nach CHX-Gl-Einlagerung (Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ / cm^{-1}).

un-mod.	sulf.-mod.	meth.-mod.	Art der Schwingung	Ursache	Lit.
3348	3344	3379	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser	[200]
2941	2938	2939	(C-H)-Valenzschwingung	CHX	[202]
2864	2860	2864	(C-H)-Valenzschwingung	CHX	[202]
1641	1646	1640	(N-H)-Deformationsschwingung	CHX	[203]
1605	1606	1605	(C=C)-Valenzschwingung	CHX	[202]
1536	1535	1535	(C=C)-Valenzschwingung	CHX	[202]
1494	1493	1493	arom. (C-Cl)-Valenzschwingung	CHX	[203]
1419	1418	1416	(C=N)-Valenzschwingung	CHX	[21]
1091	1091	1092	assym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
965	965	952	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
819	821	815	sym. (Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica	[200]
587	593	580	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica	[200]
462	461	460	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica	[200]

Der Massenanteil des in die mesoporösen Silica-Nanopartikel eingelagerten Wirkstoffs wurde mittels Thermogravimetrie bestimmt. Abb. 49 zeigt die Ergebnisse der thermogravimetrischen Untersuchungen an unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Partikeln. Zudem wurden sulfonsäure-modifizierte Partikel untersucht, in denen CHX-Gl eingelagert wurde. Aufgrund der Übersichtlichkeit werden hier die einzelnen Stufen nicht beschriftet. Eine detaillierte Auswertung der einzelnen TG-Messungen befindet sich im Anhang, Abschnitt 8.4. Der Massenverlust bis zu einer Temperatur von ca. 120 °C ist der Desorption von physisorbiertem Wasser zuzuschreiben. Im Bereich von 120 bis ca. 700 °C erfolgt die Zersetzung der organischen Substanzen, nämlich der Bestandteile der jeweiligen Modifizierung und des Wirkstoffs. Der starke Massenverlust in diesem Temperaturbereich nach der CHX-Gl-Einlagerung deutet auf eine hohe eingelagerte Wirkstoffmenge hin. Ab einer Temperatur von 700 °C findet nur noch eine Kondensation der oberflächlichen Silanol-Gruppen zu Siloxan-Gruppen statt.

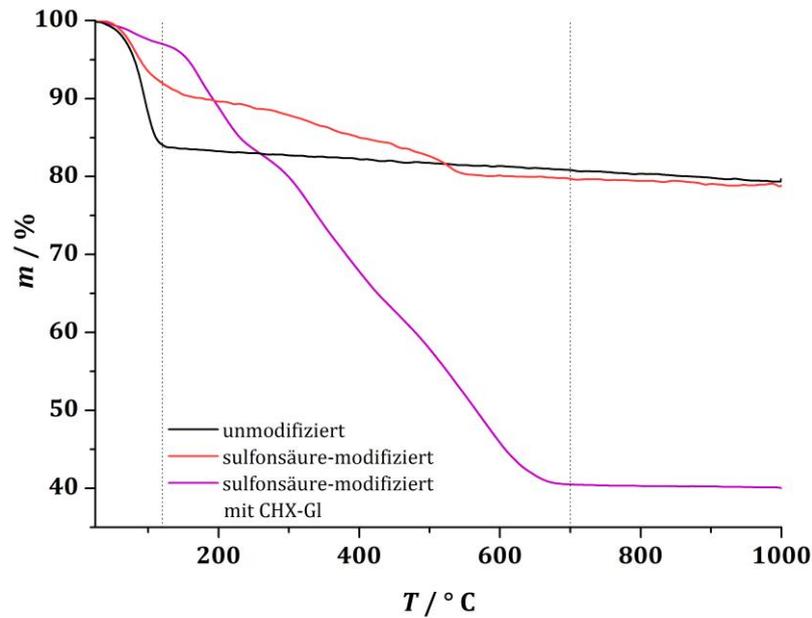


Abb. 49: Thermogravimetrische Untersuchungen von unmodifizierten, sulfonsäure-modifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Beladung.

5.2.2 Freisetzung aus dispergierten Silica-Nanopartikeln

Die Freisetzung von Chlorhexidin aus den beladenen Silica-Nanopartikeln wurde mit UV/Vis-Spektroskopie untersucht. Zur Bestimmung der optimalen Wellenlänge wurden Spektren von reinem Wasser, der verwendeten Mikrotiterplatten und CHX-GI-Lösung zwischen 200 und 300 nm aufgenommen (Abb. 50). Das Spektrum von Chlorhexidin-Digluconat besitzt einige lokale Maxima bei 205, 230 und 250 nm im untersuchten Bereich. Aufgrund der steigenden Eigenabsorption des Wassers und der Mikrotiterplatte unterhalb von 250 nm wird für alle Messungen eine Wellenlänge von 260 nm verwendet. Dies führt zu einer erhöhten Empfindlichkeit. Eine weitere Methode zur quantitativen Analyse von CHX wäre die kolorimetrische Untersuchung eines gelben Komplexes aus Chlorhexidin und Bromkresolgrün bei einer Wellenlänge von 410 nm.^[204] Der Fehler, welcher durch die Mikrotiterplatte verursacht wird, wäre minimal, da selbige Strahlung des sichtbaren Bereichs nicht absorbiert, so dass die Messung diesbezüglich nicht verfälscht wird. Für die Komplexbildung wäre allerdings eine Extraktion des CHX in Chlorform notwendig, was einen erheblichen präparativen Aufwand mit sich brächte. Außerdem könnte das Lösungsmittel die Polypropylen-Mikrotiterplatte angreifen und so die Messung verfälschen.

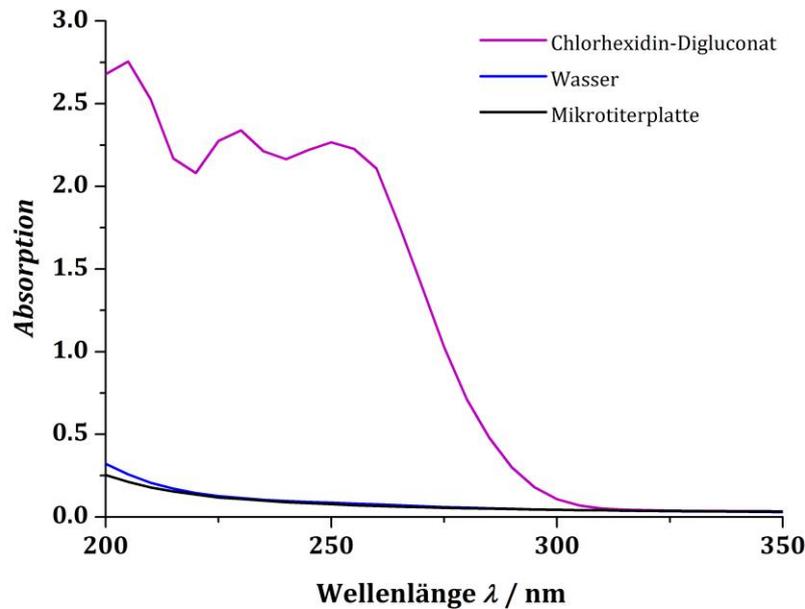


Abb. 50: UV/Vis-Spektren von Chlorhexidin-Digluconat, Wasser und der leeren Mikrotiterplatte.

Zur Untersuchung der Freisetzungskinetik wird die kumulativ freigesetzte Masse an Chlorhexidin pro Masse der beladenen Silica-Partikel in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen. Zur besseren Vergleichbarkeit mit den antibakteriellen Untersuchungen wird die jeweils freigesetzte Masse und nicht die Stoffmenge des Wirkstoffs aufgezeigt.

In Abb. 51 sind die Freisetzungsprofile von Chlorhexidin-Dihydrochlorid aus unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten MPSNP aufgetragen. Die Freisetzung des Wirkstoffes aus unmodifizierten Partikeln weist einen *initial burst release* auf, nachdem nur noch sehr geringe Mengen freigesetzt werden. Dies könnte auf oberflächlich adsorbierten Wirkstoff oder geringe Wechselwirkungen zwischen der Partikeloberfläche und dem Wirkstoff hindeuten. Durch die Modifizierung mit einer stark anionischen Sulfonsäure-Gruppe verändert sich das Freisetzungsprofil. Nach einem geringeren *initial burst release*, der wahrscheinlich auf Wirkstoff auf der äußeren Partikeloberfläche zurückzuführen ist, werden im Vergleich mit unmodifizierten Partikeln größere Wirkstoffmengen freigesetzt. Innerhalb des untersuchten Zeitraums von 7 Tagen scheint diese Freisetzung jedoch noch nicht beendet zu sein, da die Kurve bis zu diesem Zeitpunkt kein Plateau erreicht hat. Dies deutet auf einen insgesamt höheren Wirkstoffgehalt hin. Durch die attraktiven elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den kationischen CHX-Molekülen und den

anionischen Sulfonsäure-Gruppen der Silica-Nanopartikel könnten zudem zu einer langsameren Wirkstoffabgabe führen.

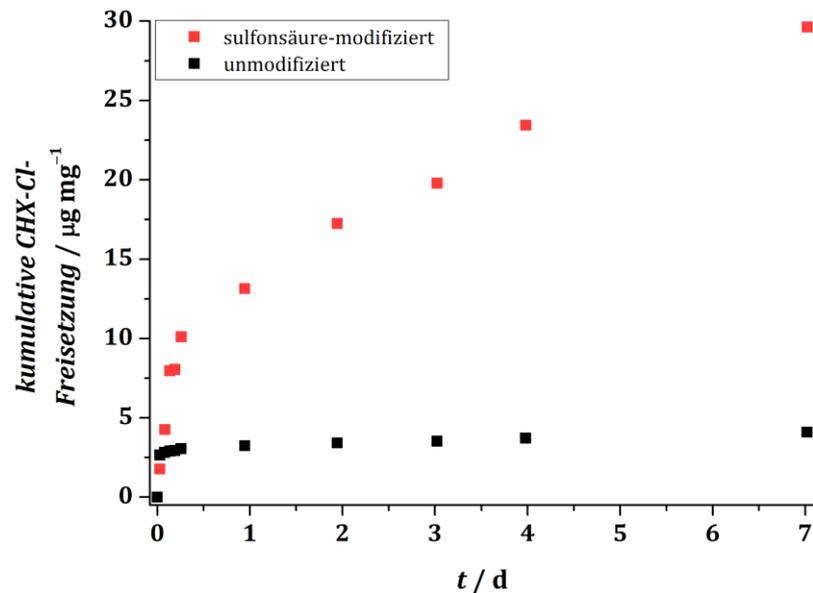


Abb. 51: Kumulative Freisetzung von CHX-Cl aus unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

Dieser Trend zeigt sich auch bei der thermogravimetrischen Untersuchung. Während unmodifizierte MPSNP vor der Freisetzung nur etwa 0.5 Massenprozent CHX-Cl aufnehmen, steigt die Masse bei sulfonsäure-modifizierten Partikeln auf ca. 5% an.

Bei der Beladung mit Chlorhexidin-Digluconat zeigt sich hingegen ein anderer Verlauf der jeweiligen Freisetzungsprofile (Abb. 52). Beide Freisetzungsvläufe zeigen einen starken *initial burst release*, bei dem zunächst eine sehr schnelle Freisetzung an Wirkstoff erfolgt. Die zu Beginn freigesetzte Menge aus den unmodifizierten Partikeln ist dabei höher als bei den sulfonsäure-modifizierten Partikeln. Nach etwa sechs Stunden flachen die Freisetzungsprofile ab und es werden geringere Mengen freigesetzt. Die im betrachteten Zeitraum von sieben Tagen insgesamt freigesetzte Masse an CHX-Cl ist bei den unmodifizierten Partikeln um ca. 20% höher als bei den sulfonsäure-modifizierten.

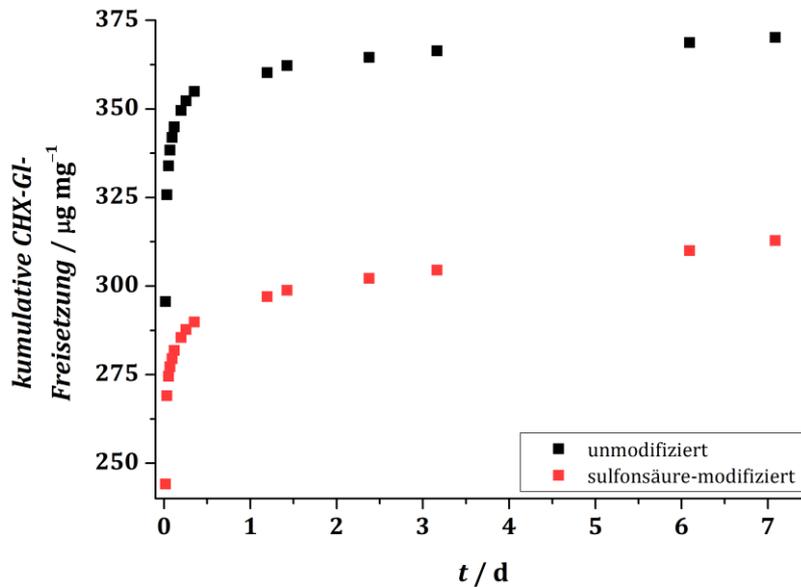


Abb. 52: Kumulative Freisetzung von CHX-GI aus unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

Thermogravimetrische Untersuchungen zeigen jedoch, dass unmodifizierte Partikeln nach der Wirkstoffeinlagerung einen Massenanteil von 32 wt% CHX-GI aufweisen, während sulfonsäure-modifizierte Partikeln etwa 44 wt% CHX-GI beinhalten, also eine größere Menge an Wirkstoff aufgenommen haben. Dies lässt vermuten, dass sich noch Restmengen in den Partikeln befinden. In Abb. 53 und Abb. 54 sind die Freisetzungsprofile von CHX-GI aus unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten MPSNP nach dem *initial burst release* aufgetragen. Es ist zu erkennen, dass beide Verläufe noch kein Plateau erreicht haben, die Freisetzung dementsprechend noch nicht beendet zu sein scheint.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass nach einer Freisetzungsdauer von 7 Tagen in beiden Partikelarten noch restlicher Wirkstoff eingelagert ist, welcher langsam abgegeben wird. Aus den unmodifizierten Partikeln scheint jedoch eine vergleichsweise große Menge bereits durch den *initial burst release* abgegeben worden zu sein. Thermogravimetrische Messungen zeigen, dass nach einer Freisetzungsdauer von 7 Tagen in den unmodifizierten MPSNP lediglich ein Restgehalt von 3 wt% verbleibt, dementsprechend schon ca. 91% des Wirkstoffes abgegeben wurde. Im Falle der sulfonsäure-modifizierten Partikel wird ein restlicher Wirkstoffgehalt von 10 wt% gemessen, hier erfolgte die Freisetzung bisher lediglich zu 77%.

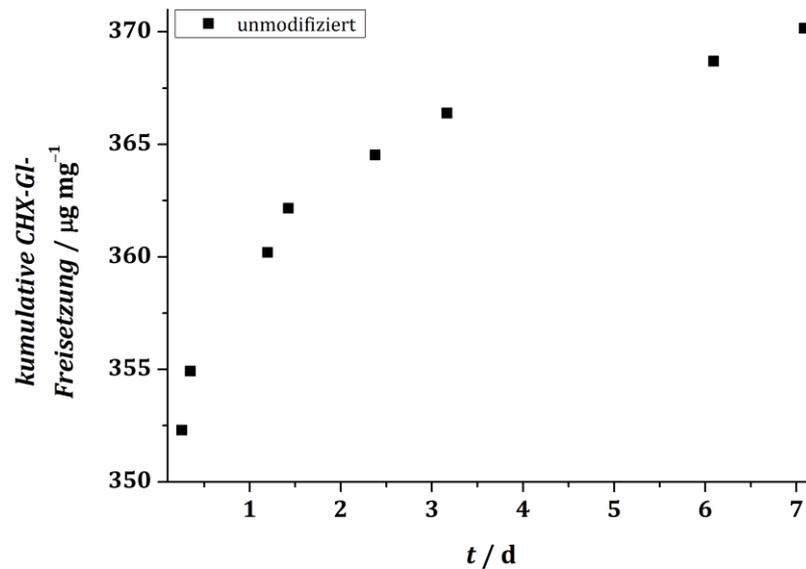


Abb. 53: Kumulative Freisetzung von CHX-GI aus unmodifizierten Silica-Nanopartikeln ohne *initial burst release*.

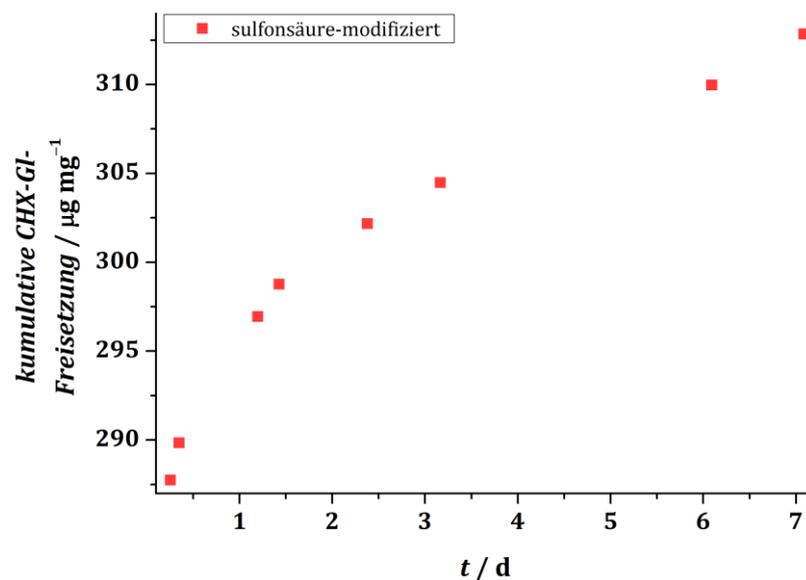


Abb. 54: Kumulative Freisetzung von CHX-GI aus sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln ohne *initial burst release*.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass in den Partikeln mit Sulfonsäure-Gruppen eine größere Wirkstoffmenge eingelagert werden kann, welche langsamer abgegeben wird. Somit wären diese Partikel für biomedizinische Langzeitanwendungen eher geeignet als die unmodifizierten Partikel.

Des Weiteren wurden MPSNP mit CHX-GI beladen, die mit einer Amino- bzw. mit einer Methacrylat-Modifizierung ausgestattet wurden. Die jeweiligen Freisetzungsverläufe sind in Abb. 55 dargestellt. Durch die Inkubation mit CHX-GI konnten nur verhältnismäßig geringe Wirkstoffbeladungen erreicht werden.

Die jeweiligen Freisetzungskurven befinden sich im Anhang, Abschnitt 8.2, die thermogravimetrischen Analysen in Abschnitt 8.4.

Die Silica-Nanopartikel mit einer Amino-Modifizierung zeigen einen starken *initial burst release* zu Beginn der Freisetzung von CHX-Gl. Anschließend weist die Freisetzungskurve einen stark abgeflachten Verlauf auf, welcher auf eine nahezu erschöpfte Freisetzung hindeutet. Der Freisetzungsverlauf aus methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln zeigt einen vergleichsweise geringen *initial burst release*. Im weiteren Verlauf werden geringere Mengen freigesetzt, jedoch ist im beobachteten Zeitraum von 7 Tagen noch kein Plateau zu erkennen. Insgesamt wird aus methacrylat-modifizierten Partikeln mehr CHX-Gl als aus amino-modifizierten MPSNP abgegeben.

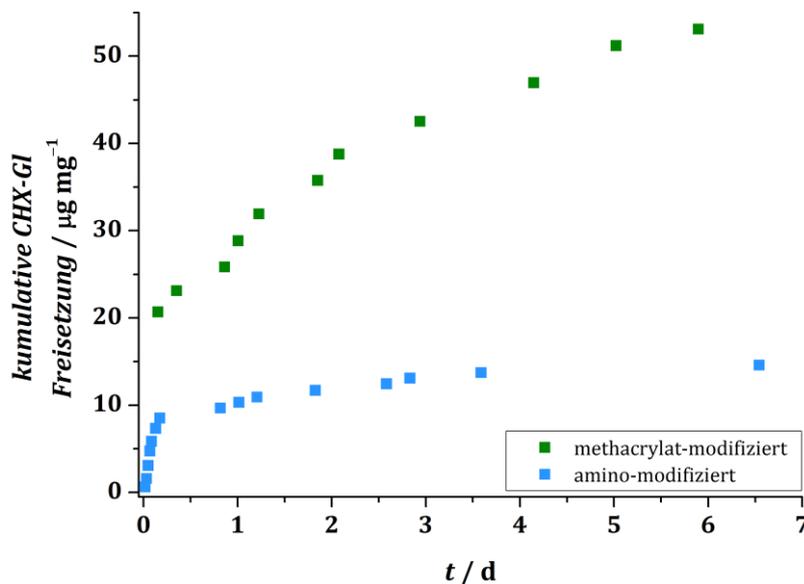


Abb. 55: Kumulative Freisetzung von CHX-Gl aus amino-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

Diese heterogenen Freisetzungsprofile sind wahrscheinlich auf die unterschiedlichen Wechselwirkungen der Partikel mit dem Wirkstoff zu erklären. Amino-modifizierte Partikel weisen bei physiologischen Bedingungen ein positives Zeta-Potential auf (siehe Abschnitt 5.1.3). Folglich bestehen repulsive Wechselwirkungen zwischen den Chlorhexidin-Kationen und der Partikeloberfläche. Dies könnte zu einer geringen Menge an eingelagertem CHX-Gl und einer raschen Wirkstoffabgabe führen. Thermogravimetrische Untersuchungen unterstützen diese Vermutung. Amino-modifizierte Partikel zeigen einen Massengehalt an CHX-Gl von lediglich 14 wt%, welches lediglich ca. 40%

des Massengehaltes in unmodifizierten Partikeln entspricht. Da diese Partikel somit lediglich eine geringe Wirkstoffmenge einlagern und eine rasche Freisetzung von CHX-GI aufweisen, sind sie eher nicht für Langzeitanwendungen geeignet.

Eine größere Wirkstoffmenge wird hingegen in methacrylat-modifizierten Partikeln eingelagert und freigesetzt. Laut thermogravimetrischen Messungen liegt der Massenanteil von CHX-GI bei ca. 27 wt%, was im Bereich der unmodifizierten MPSNP liegt. Da nach 7 Tagen jedoch nur eine weitaus geringere Menge als aus den unmodifizierten Partikeln freigesetzt wurde, ist wahrscheinlich noch eine gewisse Wirkstoffmenge in den Poren der methacrylat-modifizierten Partikeln enthalten. Dies könnte mit attraktiven Wechselwirkungen zwischen den Methacrylat-Gruppen und den Phenylen-Gruppen der Chlorhexidin-Moleküle, wie VAN-DER-WAALS-Kräfte oder im geringeren Maße π - π -Wechselwirkungen, zu erklären sein. Da diese Partikel zwar den Wirkstoff langsamer als unmodifizierte Partikel abgeben, jedoch eine geringe Menge Wirkstoff als sulfonsäure-modifizierte MPSNP aufnehmen, sind sie nur bedingt für den Einsatz in Langzeitanwendungen geeignet.

5.2.3 Freisetzung aus Silica-Nanopartikeln in Kompositen

Dentale Kompositmaterialien nehmen trotz ihrer hydrophoben Eigenschaften ein gewisses Maß an Wasser auf, was zu einer Quellung führt. Somit ist es prinzipiell möglich, wasserlösliche Wirkstoffe aus dem Porensystem der Silica-Nanofüllstoffe in das umgebende Medium freizusetzen. Die Silica-Partikel, welche in die Komposite eingebracht wurden, wurden mit Methacrylat-Gruppen modifiziert, um eine homogenere Verteilung in der Polymermatrix zu ermöglichen.

In Abb. 56 werden die Freisetzungsprofile aus 1 mg Silica-Nanopartikeln, die in PBS dispergiert vorliegen, und derselben Menge Silica-Nanopartikel, die in einem Komposit verarbeitet wurden, miteinander verglichen. Lediglich bei den dispergierten Partikeln ist ein *initial burst release* zu beobachten. Zwar wird hier eine weitaus größere Menge an CHX-GI freigesetzt, jedoch scheint nach ca. 6 Tagen bereits eine sehr große Wirkstoffmenge abgegeben worden zu sein. Wird dieselbe Menge Silica-Partikel hingegen in eine Kompositmatrix eingebracht, so erfolgt im betrachteten Zeitraum nur die Freisetzung geringer

Mengen. Die Wirkstoffabgabe scheint nach 47 Tagen noch nicht beendet zu sein. Die Polymer-Matrix wirkt hierbei vermutlich als Diffusionsbarriere, welche die Abgabe des Wirkstoffs inhibiert und somit den Gesamtzeitraum der Wirkstoffabgabe verlängert.

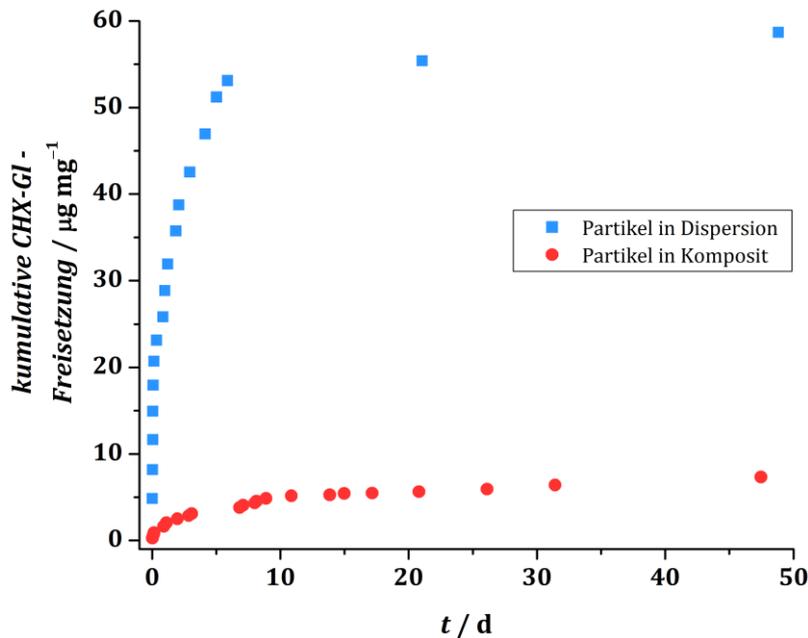


Abb. 56: Freisetzungsprofile von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln in Dispersion und in einem Komposit verarbeitet.

Die Freisetzungsprofile von Partikeln, die in Nanokompositen und in Hybridkompositen zu einem Gehalt von jeweils 10 wt% verarbeitet wurden, zeigen einen sehr ähnlichen Verlauf. Dies legt die Vermutung nahe, dass die zusätzlichen Makrofüllstoffe die Freisetzungskinetik nur zu einem geringen Teil beeinflussen (Abb. 57). Innerhalb der ersten 12 Tage wird eine größere Menge freigesetzt, was einem *initial burst release* gleichkommt. Mit fortschreitender Zeit verringert sich die Freisetzungsgeschwindigkeit, wobei auch nach 100 Tagen noch kein Plateau zu erkennen ist. Dies deutet auf eine langsame, noch nicht erschöpfte Wirkstoffabgabe über einen langen Zeitraum hin. Dies ist insbesondere für Langzeitanwendungen wünschenswert.

Der Vergleich der Freisetzungsprofile von Kompositen mit unterschiedlichen Füllstoffgehalten zeigt ein ähnlicher Kurvenverlauf. Bei höheren Füllstoffgehalten ist jedoch eine höhere CHX-GI-Freisetzung zu beobachten, was mit der insgesamt größeren Wirkstoffmenge erklärt werden kann. Das Abflachen der Freisetzungskurve des Komposits mit 5% Füllstoffgehalt weist darauf hin, dass

nach 120 Tagen nur noch geringe Mengen an CHX-Gl freigesetzt werden. Komposite mit Füllstoffgehalten von 10% und 20% weisen auch nach dieser Zeit noch keine erschöpfte Freisetzung auf (Abb. 58). Die Einbringung von CHX-Gl in eine Kompositmatrix verlangsamt die Freisetzungsgeschwindigkeit. Die Wirkstoffabgabe erfolgt somit über einen längeren Zeitraum. Ob die jeweils abgegebene Wirkstoffkonzentration hoch genug ist, um antibakterielle Eigenschaften aufzuweisen, bedarf jedoch weiterer Untersuchungen.

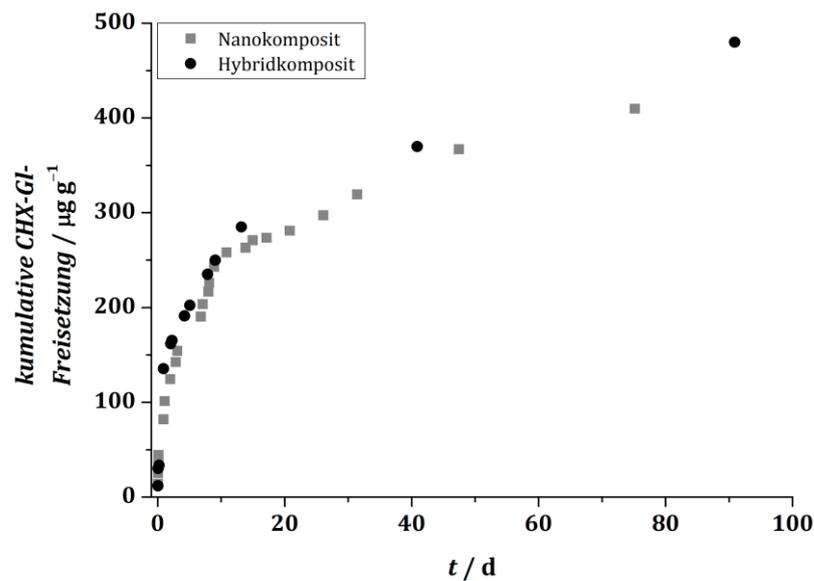


Abb. 57: Freisetzungspfade von CHX-Gl aus 1 g unterschiedlicher Komposite mit jeweils 10% mesoporesen Silica-Nanopartikeln als Füllstoffe.

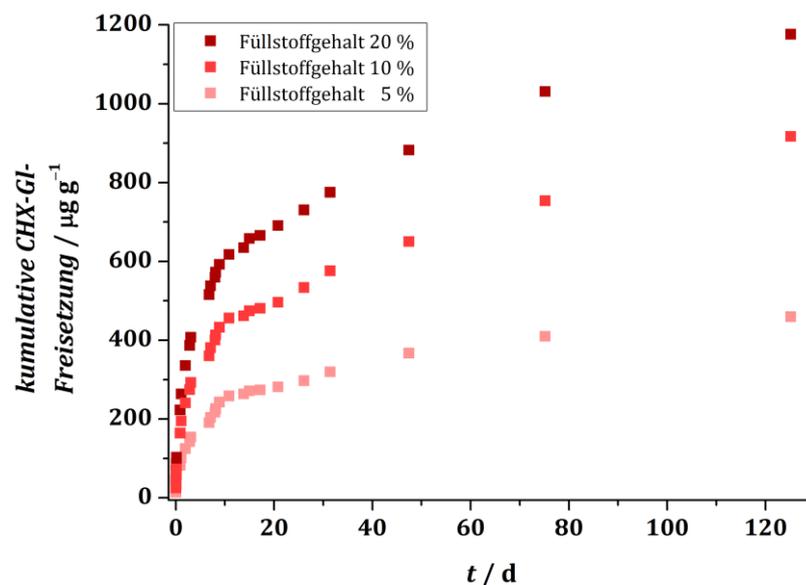


Abb. 58: Freisetzungspfade von CHX-Gl aus jeweils 1 g Hybridkomposit mit unterschiedlichen Gehalten an mesoporesen Silica-Nanopartikeln als Füllstoff.

5.3 *Stimulus-Response-Freisetzung*

Im folgenden Abschnitt wird die Beladung und pH-sensitive Freisetzung von CHX-Cl und CHX-Gl aus PVP-modifizierten mesoporösen Silica-Nanopartikel untersucht.

Zunächst werden die Partikel nach der Inkubation in salzsaurer CHX-Cl beziehungsweise CHX-Gl-Lösung thermogravimetrisch untersucht. Der CHX-Cl-Gehalt der jeweiligen Partikel beträgt lediglich 3 wt%. Der Gehalt an CHX-Gl macht hingegen ca. 24 wt% aus. Die gewichtsgemittelten molaren Massen ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$ beziehungsweise $160000 \text{ g mol}^{-1}$) des Polymers zeigen dabei keinen Einfluss auf die eingelagerte Wirkstoffmenge.

Des Weiteren wurde der Einfluss der Art der Säure in der CHX-Gl-Inkubationslösung untersucht. Die Inkubationslösungen wurden jeweils mit verdünnter Salzsäure (0.2 mol L^{-1}), konzentrierter Salzsäure und mit Gluconsäure (ca. 49%) auf etwa pH 3 angesäuert. Die eingelagerte Menge wurde mittels Thermogravimetrie (siehe Anhang, Abschnitt 8.4) untersucht. Die Partikel aus den Lösungen, welche mit verdünnter Salzsäure bzw. Gluconsäure angesäuert wurden, weisen einen Massenanteil von 24% CHX-Gl auf, während konzentrierte Salzsäure zu einen Massenanteil von nur 17% CHX-Gl führt. Dies ist vermutlich auf die Bildung von schwerlöslichem Chlorhexidin-Dihydrochlorid durch die hohe Chlorid-Anionen-Konzentration bei der Zugabe der konzentrierten Salzsäure zurückzuführen. Bei der Zugabe von verdünnter Salzsäure ist die lokale Konzentration anscheinend nicht ausreichend für eine Präzipitation von CHX-Cl. Das Löslichkeitsprodukt von CHX-Cl beträgt $2.1 \cdot 10^{-8} \text{ mol}^3 \text{ L}^{-3}$, in einer CHX-Lösung von 118 mmol L^{-1} kommt es theoretisch ab einer Chlorid-Konzentration von 0.4 mmol L^{-1} zur Präzipitation.^[205] Eine Salzsäure-Lösung mit pH 3 besitzt eine Chloridionen-Konzentration von 1 mmol L^{-1} , wodurch es zur Fällung von CHX-Cl kommen könnte. Allerdings ist das Löslichkeitsprodukt abhängig von weiteren Faktoren wie Temperatur und Ionenstärke, was eine starke Präzipitation von CHX-Cl in verdünnter Salzsäure verhindern könnte. In einer entsprechenden Lösung aus verdünnter Salzsäure und CHX-Gl ist auch nach mehreren Tagen mit bloßem Auge kein Niederschlag von CHX-Cl zu erkennen.

Die Freisetzung erfolgte in zwei unterschiedlichen Medien, um die pH-Wert-Abhängigkeit des Systems untersuchen zu können. Zum Einen wurde phosphatgepufferte Salzlösung (PBS, *phosphate buffered saline*) verwendet, eine für biologische Anwendungen häufig verwendete physiologische Lösung mit dem pH-Wert 7.4, welches sich isoosmotisch zum Blutplasma verhält. Zum anderen wurde eine Salzsäure-Lösung verwendet, die auf den pH-Wert 4 eingestellt war. Der Vergleich der Freisetzungskurven zeigt einen deutlichen Unterschied bezüglich der einzelnen Kurvenverläufe (Abb. 59). Bei neutralen pH-Werten ist die Freisetzung von geringen Mengen CHX-Cl zu beobachten, während in einem sauren FreisetzungsmEDIUM etwa um den Faktor 4 mehr CHX-Cl abgegeben wird (Abb. 59). Der gleiche Trend ist bei der Abgabe von CHX-GI zu erkennen, jedoch erfolgt hier ein sehr starker *initial burst release* zu Beginn der Freisetzung (Abb. 60). Dieser ist wahrscheinlich auf oberflächlich adsorbierten Wirkstoff aufgrund der höheren Konzentration der Inkubationslösung zu erklären. Da dieser Wirkstoff auf der Partikeloberfläche nicht durch die Polymerstränge zurückgehalten wird, erfolgt eine pH-unabhängige Freisetzung. Der Unterschied in den freigesetzten Mengen bei pH-Werten von 7.4 und 4 beträgt hier nur noch etwa 25%, was durch die Dominanz des *initial burst release* zu Beginn der kumulativen Freisetzung zu erklären sein könnte. Insgesamt konnte bei pH 4 etwa fünf Mal so viel CHX-GI freigesetzt werden wie bei den mit CHX-Cl beladenden Partikeln unter den gleichen Bedingungen.

Zusätzlich wurden die mit CHX-GI beladenden Partikel in einer Salzsäure-Lösung mit dem pH-Wert 5 freigesetzt. Das Freisetzungsprofil zeigt einen starken *initial burst release*. Die im betrachteten Zeitraum insgesamt freigesetzten Wirkstoffmengen liegen zwischen den Mengen der Freisetzung bei pH 7.4 und bei pH 4. Dies lässt den Schluss zu, dass die freigesetzte Wirkstoffmenge mit dem pH-Wert korreliert.

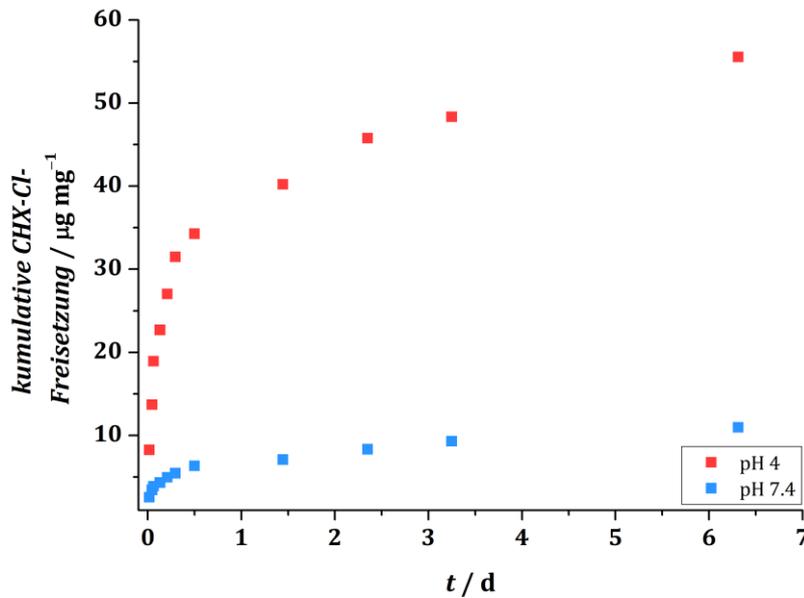


Abb. 59: Freisetzungsp Profile von CHX-Cl aus PVP ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$)-modifizierten Silica-Nanopartikeln bei unterschiedlichen pH-Werten.

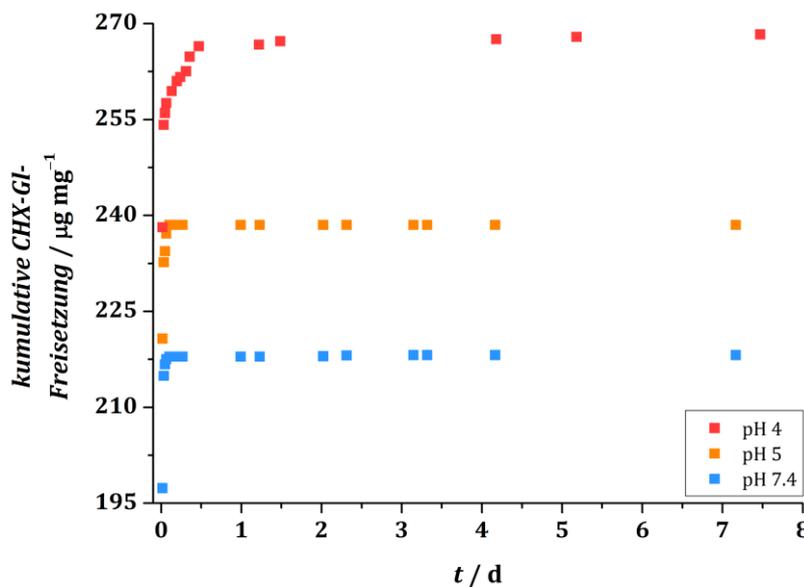


Abb. 60: Freisetzungsp Profile von CHX-Gl aus PVP ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$)-modifizierten Silica-Nanopartikeln bei unterschiedlichen pH-Werten.

Die Freisetzungsp Profile von CHX-Gl aus PVP ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$)-modifizierten Silica-Nanopartikeln bei unterschiedlichen pH-Werten weisen einen ähnlichen Verlauf auf (siehe Anhang, Abschnitt 8.2).

Bei neutralen Bedingungen scheinen die PVP-Stränge die Poren hinreichend zu blockieren. Die Menge an Wirkstoff, welcher durch die entropisch bedingte Bewegung der Polymerstränge aus den Poren extrahiert wird, scheint eher gering zu sein. In einem sauren Medium werden die Pyridin-Gruppen des PVP aufgrund ihrer basischen Eigenschaften protoniert. Durch die elektrostatische

Abstoßung richten sich die einzelnen Polymerstränge auf und geben die Porenöffnungen frei, so dass der Wirkstoff austreten kann. Die Freisetzung ist somit pH-Wert-abhängig.

Um zu untersuchen, ob das pH-sensitive *Stimulus-Response*-System die Porenöffnungen reversibel freigibt, wurden die beladenen Partikel nacheinander in unterschiedlichen Medien inkubiert. Zunächst wurden die Partikel in PBS mit dem pH-Wert 7.4 dispergiert, anschließend durch Zentrifugation von der Lösung abgetrennt und in einer Salzsäure-Lösung dispergiert, die auf den pH-Wert 4 eingestellt war. In der Folge wurden die Partikel im Wechsel inkubiert. Das Freisetzungsprofil (Abb. 61) zeigt nur eine sehr geringe Freisetzungsrates in PBS zu Beginn der Freisetzung. Nachdem die Partikel in ein saures Medium überführt wurden, steigt die Freisetzungsrates stark an, die Porenöffnungen scheinen freigegeben zu werden. Eine erneute Inkubation im neutralen Medium verringert die Freisetzungsrates erneut, während saures Medium sie im Anschluss wieder erhöht. Der Unterschied zwischen den Freisetzungsrates in neutraler und saurer Lösung ist zu Beginn der Freisetzung besonders stark. Im weiteren Verlauf nähern sich die Raten immer mehr aneinander an, da ein Großteil des Wirkstoffes bereits aus den Poren abgegeben wurde. Die jeweils freigesetzten Mengen durch die Porenöffnung und durch die Auswaschung aus der Polymerschicht werden so gering, dass sie nur noch schwer unterscheidbar sind. Zusammenfassend kann von einer reversiblen pH-sensitiven Freisetzung der PVP-modifizierten MPSNP gesprochen werden.

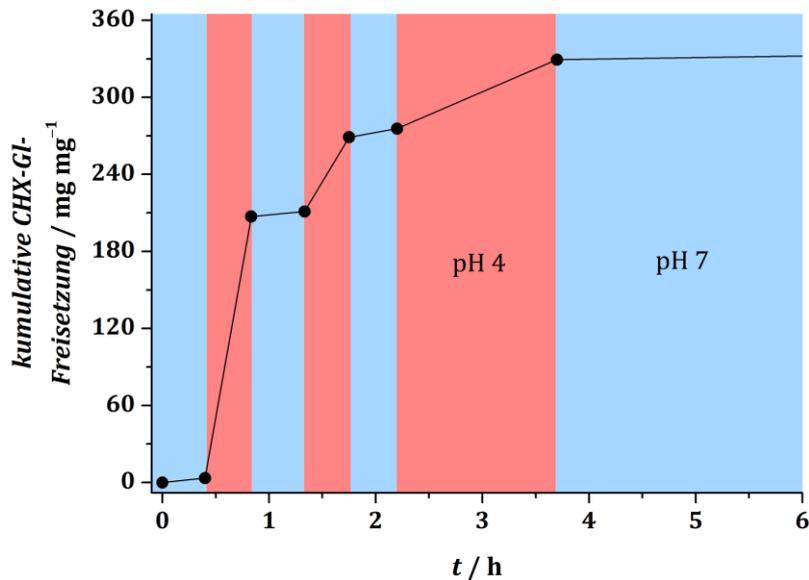


Abb. 61: Kumulative CHX-GI-Freisetzung bei unterschiedlichen pH-Werten (blaue Bereiche: pH 7.4, rote Bereiche: pH 4).

Die PVP-modifizierten, mit CHX-GI beladenen Silica-Nanopartikel bilden somit ein reversibles pH-abhängiges Freisetzungssystem. Für eine Freisetzung von hohen Wirkstoffmengen sind jedoch möglichst niedrige pH-Werte nötig. Im dentalen Bereich erfolgt eine vermehrte Säureproduktion durch bakterielle Infektionen eher im direkten Weichgewebekontakt. Dementsprechend ist der Einsatz der Partikel als Kompositfüllstoff zur Kavitätenrestauration eher nicht zu empfehlen. Der Gewebekontakt ist eher gering und die pH-Wert-Absenkung innerhalb des Komposits könnte verzögert oder in einem zu geringen Maße erfolgen. Die ausreichende Beweglichkeit der protonierten Polymerstränge in der Kompositmatrix ist zudem ungeklärt. Als Beschichtungsmaterial von Implantatoberflächen mit direktem Gewebekontakt könnte das *Stimulus-Response*-System aber eine hinreichende pH-Wert-Absenkung erfahren. Durch den eingeschränkten Kontakt zur Mundhöhle könnte zudem eine temporäre pH-Wert-Erniedrigung durch saure Getränke oder Speisen minimiert werden. Hierzu sind allerdings noch weitere Untersuchungen notwendig.

5.4 *In vitro*-Untersuchungen

Die Anwendung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln als Wirkstofffreisetzungssystem in der Biomedizin bedingt eine sehr gute Biokompatibilität bezüglich humaner Zellen und eine effektive Abtötung von Bakterien. Im folgenden Abschnitt werden unterschiedliche *in vitro*-Untersuchungen genutzt,

um die cytotoxischen und antibakteriellen Eigenschaften der Silica-Partikel, der Freisetzungssysteme und der Kompositmaterialien zu analysieren. Die Fehlerbalken geben dabei stets die Standardabweichung an.

5.4.1 Fibroblastenaktivität

Die Wirkung von modifizierten Partikeln mit und ohne Chlorhexidin-Beladung auf die metabolische Aktivität von humanen Gingivafibroblasten wurde mit Hilfe von MTT-Tests von JÖRN SCHAESKE in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover untersucht. Die metabolische Aktivität wird häufig mit der Zellviabilität gleich gesetzt, was jedoch nicht immer zutreffend ist. Sehr hohe Signale über 130% der Kontrolle deuten auf zellulären Stress hin. Bei gestressten Zellen kann die metabolische Aktivität hoch sein, während die Viabilität geringe Werte aufweist. Im Gegensatz dazu kann bei sehr dichtem Zellwuchs die metabolische Aktivität durch Kontaktinhibition abnehmen und so ein niedrigeres Signal erzeugen, obwohl eine hohe Viabilität der Zellen vorliegt.

Die Werte der metabolischen Aktivität von Zellen, welche mit den unterschiedlichen Silica-Partikeln inkubiert wurden, wurden stets auf die Werte einer Kontrollkultur ohne Partikelinkubation als Negativkontrolle normiert. Abb. 62 zeigt eine REM-Aufnahme solcher humanen Gingivafibroblasten-Zellen.

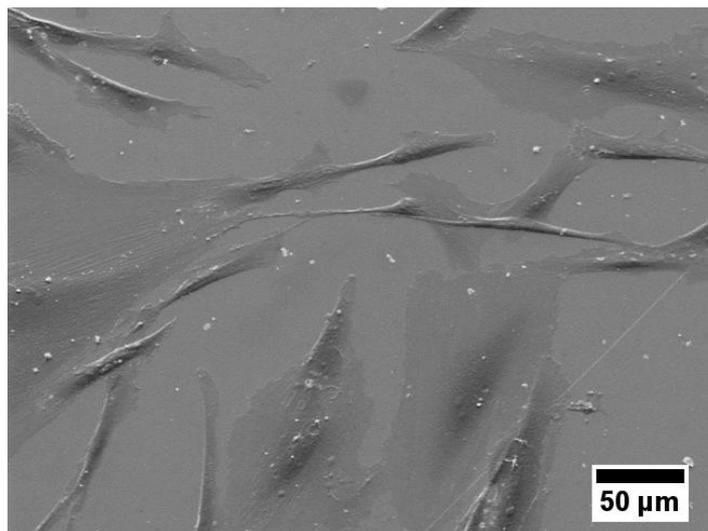


Abb. 62: REM-Aufnahme humaner Gingivafibroblasten-Zellen (JÖRN SCHAESKE, Medizinische Hochschule Hannover).

Es wurden methacrylat-modifizierte Silica-Nanopartikel untersucht, da diese in dentalen Kompositmaterialien verwendet werden sollen, und sulfonsäure-modifizierte Silica-Nanopartikel, da diese die größte Menge Chlorhexidin aufnehmen konnten. Es werden folgende Abkürzungen verwendet:

Silica:	unmodifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel
Silica-MMA:	methacrylat-modifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel
Silica-SO ₃ H:	sulfonsäure-modifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel
CHX-Cl:	Chlorhexidin-Dihydrochlorid
CHX-Gl:	Chlorhexidin-Digluconat
Silica+CHX-Cl:	unmodifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel mit CHX-Cl
Silica-MMA+CHX-Cl:	methacrylat-modifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel mit CHX-Cl
Silica-SO ₃ H+CHX-Cl:	sulfonsäure-modifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel mit CHX-Cl
Silica+CHX-Gl:	unmodifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel mit CHX-Gl
Silica-MMA+CHX-Gl:	methacrylat-modifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel mit CHX-Gl
Silica-SO ₃ H+CHX-Gl:	sulfonsäure-modifizierte mesoporöse Silica-Nanopartikel mit CHX-Gl

Zunächst lässt sich feststellen, dass calcinierte unmodifizierte Silica-Nanopartikel, die stets als Referenz zu den jeweiligen Partikeln untersucht wurden, die metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten nicht im großen Maße beeinflussen (Abb. 63). Selbst bei *in vitro*-Untersuchungen mit sehr hohen Konzentrationen von 200 µg mL⁻¹ ist keine nennenswerte Reduktion zu beobachten. Ein ähnliches Verhalten zeigen die sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikel. Diese weisen eine exzellente metabolische Aktivität auf, die sich auch bei hohen Konzentrationen im Bereich der Negativkontrolle befindet. Silica-Nanopartikel, die mit Methacrylat-Gruppen ausgestattet wurden, weisen bis zu einer Inkubationskonzentrationen von 200 µg mL⁻¹ eine Aktivität von über bzw. etwa 70% auf, was laut ISO-Norm 10993-5:2009^[206] als nicht cytotoxisch zu bewerten ist.

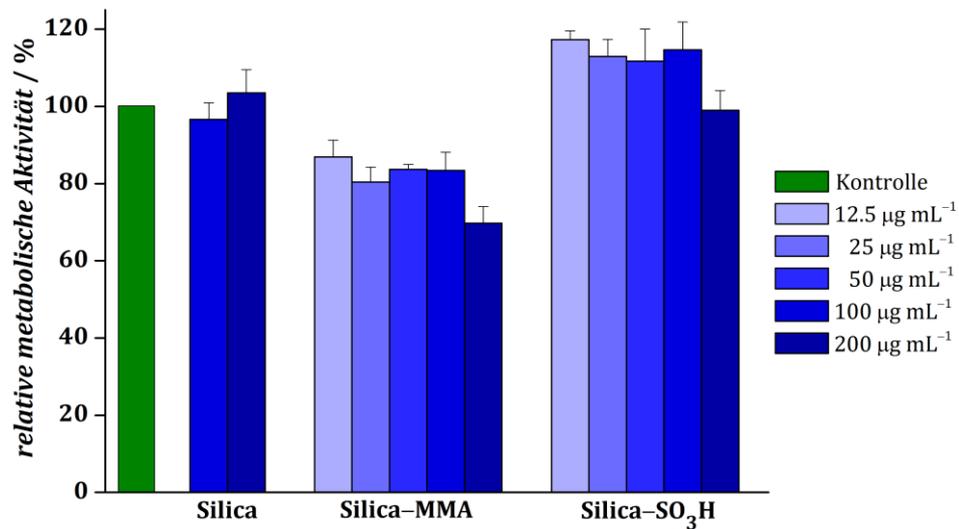


Abb. 63: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit unterschiedlich modifizierten Silica-Nanopartikeln inkubiert wurden.

Unmodifizierte Silica-Nanopartikel mit CHX-Cl-Beladung zeigen eine konzentrationsabhängige Reduktion der metabolischen Aktivität, was in Abb. 64 dargestellt ist. Höhere Konzentrationen bewirken eine höhere Reduktion, jedoch sind selbst die höchsten getesteten Konzentrationen noch in einem akzeptablen Bereich, in dem noch nicht von eindeutig cytotoxischen Eigenschaften gesprochen werden kann. Lediglich die höchste getestete Konzentration von $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ bewirkt Aktivitätswerte von unter 70%, was als potentiell cytotoxisch angesehen werden könnte. Methacrylat-modifizierte Partikel, die mit CHX-Cl beladen wurden, weisen eine metabolische Aktivität von 50 – 60% auf, die jedoch nicht konzentrationsabhängig ist. Dies deutet auf eine potentiell cytotoxische Wirkung hin. Diese Ergebnisse sind nicht eindeutig erklärbar, da weder die reinen Silica-MMA-Partikel, noch die unmodifizierten Partikel mit CHX-Cl eine ähnliche Reduktion aufweisen. Partikel mit Sulfonsäure-Gruppen und CHX-Cl-Beladung weisen hingegen eine ebenfalls sehr gute Aktivität auf, die selbst bei hohen Konzentrationen im Bereich der Positivkontrolle liegen. Die abgegebenen Mengen von CHX-Cl scheinen zu niedrig zu sein, um cytotoxische Effekte hervorzurufen.

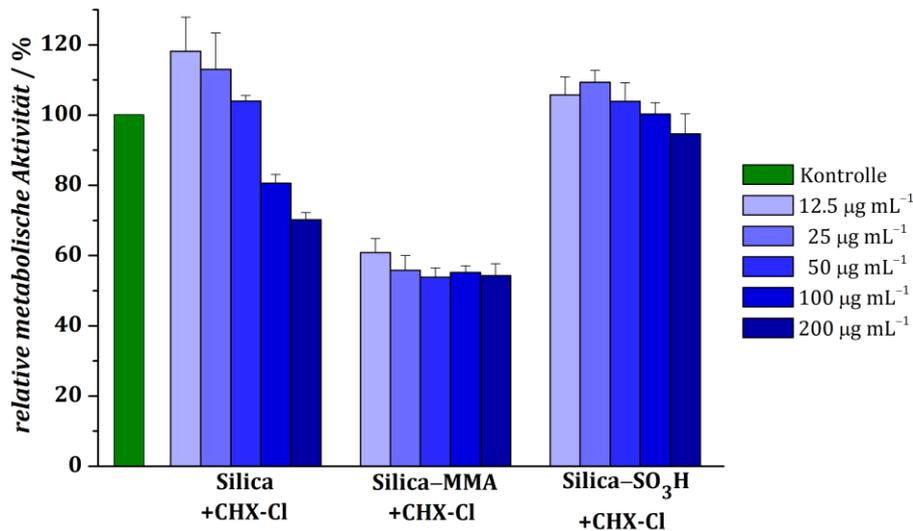


Abb. 64: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Beladung inkubiert wurden.

Die Partikel, welche CHX-GI enthalten, zeigen eine stark konzentrationsabhängige Reduktion der metabolische Aktivität (Abb. 65). Bis zu einer Konzentration von $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ wird die Fibroblastenaktivität von unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Partikeln nicht oder nur in geringen Maße beeinflusst. Höhere Konzentrationen bewirken eine Reduktion der Aktivität unter 50% der Aktivität der Kontrolle, wirken also cytotoxisch. Hier scheint die Menge an Chlorhexidin, die von den Partikeln abgegeben wird, so hoch zu sein, dass humane Zellen angegriffen werden. Methacrylat-modifizierte Partikel mit CHX-GI-Beladung zeigen hingegen erst ab Konzentrationen von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ eine cytotoxische Wirkung. Dies könnte auf die geringere eingelagerte Wirkstoffmenge zurückzuführen sein.

Das unterschiedliche Verhalten von Partikel mit CHX-Cl- und CHX-GI-Beladung ist damit zu erklären, dass die Partikel mit CHX-GI-Beladung eine weitaus größere Wirkstoffmenge enthalten. Aufgrund der hohen Löslichkeit von CHX-GI in Wasser kann eine CHX-GI-Inkubationslösung verwendet werden, welche im Vergleich zur CHX-Cl-Inkubationslösung um zwei Größenordnungen konzentrierter ist. Dadurch ist eine höhere Wirkstoffeinlagerung mit CHX-GI möglich

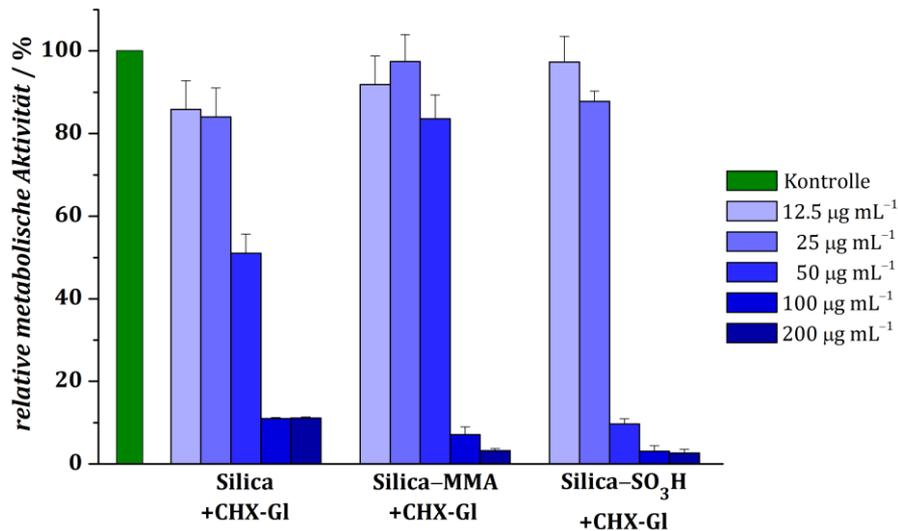


Abb. 65: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Beladung inkubiert wurden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Modifizierung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln mit Methacrylat- und Sulfonsäure-Gruppen gar nicht oder nur in einem geringen Maße zu einer Beeinträchtigung der metabolische Aktivität von humanen Gingivafibroblasten führt. Die Beladung mit CHX-Cl führt nicht zu eindeutig cytotoxischen Effekten, da die abgegebene Wirkstoffmenge wahrscheinlich zu niedrig ist. Die Beladung von CHX-Cl führt zu einer konzentrationsabhängigen Reduktion der metabolischen Aktivität. Ab Inkubationskonzentrationen von etwa $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ kommt es je nach Modifizierungsart zu stark cytotoxischen Effekten, geringere Konzentrationen weisen hingegen eine gute Biokompatibilität im getesteten System auf.

5.4.2 Bakterienviabilität

Um zu untersuchen, ob die unterschiedlichen Silica-Nanopartikel mit Chlorhexidin-Beladung als Wirkstofffreisetzungssysteme genutzt werden können, wurden ihre antibakteriellen Eigenschaften in Agarplattentests mit zwei unterschiedlichen Bakterienspezies, *Staphylococcus aureus* (Abb. 66a) und *Streptococcus mutans* (Abb. 66b), eruiert.

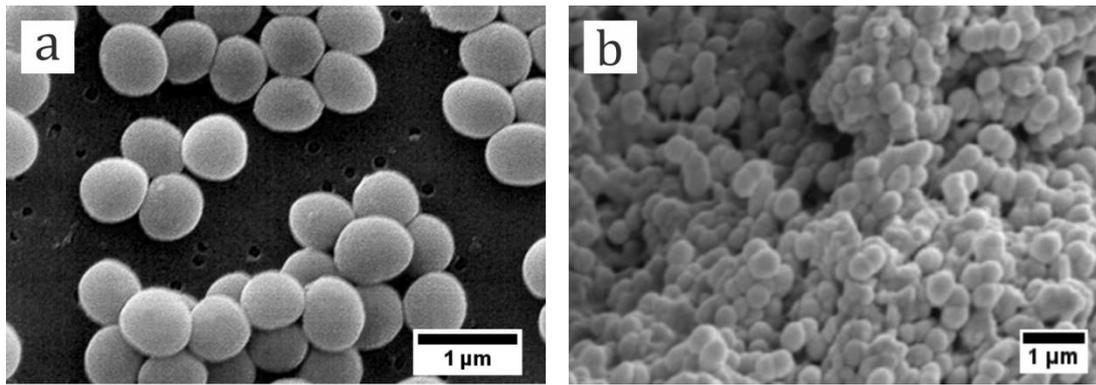


Abb. 66: REM-Aufnahmen von *S. aureus* (a, nach [207]) und *S. mutans* (b, nach [208]).

Die Agarplattentests wurden von KATHARINA DOLL in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. *S. mutans* spielt in der Implantologie bei der Bildung von Sekundärkaries am Rand von Füllungen eine Rolle, wohingegen *S. aureus* Entzündungen an der Kontaktstelle von Implantat und Gewebe hervorrufen kann. Die Auswertung erfolgte qualitativ durch die optische Entscheidung „Bewuchs“ oder „kein Bewuchs“. Die Unterscheidung war bei den untersuchten Konzentrationen stets eindeutig, ein teilweise vermindertes Wachstum wurde nicht beobachtet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst (für die Erläuterung der Abkürzungen siehe Abschnitt 5.4.1). Auch bei sehr hohen Konzentrationen von $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ zeigen unbeladene Silica-Partikel unabhängig von der Modifizierung keine antibakterielle Wirkung.

Tabelle 5: Ergebnisse der Agarplattentests von unbeladenen mesoporösen Silica-Nanopartikeln (+ = Bakterienwachstum, - = kein Bakterienwachstum).

<i>S. aureus</i>	Konzentration $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	12.5	25	50	100	200
Silica	+	+	+	+	+
Silica-MMA	+	+	+	+	+
Silica-SO ₃ H	+	+	+	+	+

<i>S. mutans</i>	Konzentration $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	12.5	25	50	100	200
Silica	+	+	+	+	+
Silica-MMA	+	+	+	+	+
Silica-SO ₃ H	+	+	+	+	+

Wird CHX-Cl in Silica-Nanopartikel eingebracht, so tritt bei *S. aureus* nur bei unmodifizierten und methacrylat-modifizierten Partikeln bei sehr hohen Konzentrationen von $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ eine Wachstumsinhibition ein (Tabelle 6a).

Bei *S. mutans* weisen unmodifizierte bei 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ und unmodifizierte Partikel ab 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ eine antibakterielle Wirkung auf (Tabelle 6b). Somit scheint *S. aureus* eine höhere Resistenz gegenüber CHX-Cl als *S. mutans* aufzuweisen.

Da die Menge von CHX-Cl in den Partikeln eher gering ist, werden höhere Partikelkonzentrationen benötigt, um eine antimikrobielle Wirkung hervorzurufen. Sulfonsäure-modifizierte Partikel scheinen keine Wirkung zu zeigen, was aufgrund der größeren Menge an aufgenommenen Wirkstoff verwunderlich ist. Durch die hohe elektrostatische Anziehung könnte CHX-Cl zu stark an die Partikeloberfläche gebunden sein und im untersuchten Zeitraum nur im geringen Maße abgegeben worden sein.

Tabelle 6a, b: Ergebnisse der Agarplattentests von mit CHX-Cl beladenen mesoporösen Silica-Nanopartikel (+ = Bakterienwachstum, - = kein Bakterienwachstum).

<i>S. aureus</i>	Konzentration $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	12.5	25	50	100	200
Silica+CHX-Cl	+	+	+	+	+
Silica-MMA+CHX-Cl	+	+	+	+	-
Silica-SO ₃ H+CHX-Cl	+	+	+	+	+

<i>S. mutans</i>	Konzentration $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	12.5	25	50	100	200
Silica+CHX-Cl	+	+	+	+	-
Silica-MMA+CHX-Cl	+	+	-	-	-
Silica-SO ₃ H+CHX-Cl	+	+	+	+	+

Chlorhexidin-Digluconat zeigt, eingelagert in sämtlichen untersuchten Silica-Nanopartikeln, eine antibakterielle Wirkung gegen *S. aureus* und *S. mutans* (Tabelle 7). Lediglich die methacrylat-modifizierte Partikel zeigen bei sehr geringen Konzentrationen von 12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ keine Wirksamkeit. Aufgrund der höheren Löslichkeit und der größeren eingelagerten Menge in den unterschiedlichen Silica-Partikeln scheint CHX-Gl eine bessere Wirkung gegen die untersuchten Bakterienstämme aufzuweisen. Innerhalb des Inkubationszeitraums von 24 h wird eine ausreichende Menge von CHX-Gl von der Partikeloberfläche und aus den Poren freigesetzt, um das bakterielle Wachstum zu inhibieren.

Tabelle 7a, b: Ergebnisse der Agarplattentests von mit CHX-Gl beladenen mesoporösen Silica-Nanopartikel (+ = Bakterienwachstum, - = kein Bakterienwachstum).

<i>S. aureus</i>	Konzentration $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	12.5	25	50	100	200
Silica+CHX-Gl	-	-	-	-	-
Silica-MMA+CHX-Gl	+	-	-	-	-
Silica-SO ₃ H+CHX-Gl	-	-	-	-	-

<i>S. mutans</i>	Konzentration $\mu\text{g mL}^{-1}$				
	12.5	25	50	100	200
Silica+CHX-Gl	-	-	-	-	-
Silica-MMA+CHX-Gl	-	-	-	-	-
Silica-SO ₃ H+CHX-Gl	-	-	-	-	-

Ein Vergleich der Agarplattentests mit denen der MTT-Test zeigt, dass die Partikel mit CHX-Cl-Beladung zwar eine annehmbare Biokompatibilität bezüglich der getesteten humanen Zellen aufweisen, jedoch nur eine unzureichende antibakterielle Wirkung gegenüber den getesteten Bakterien. Die Partikel, die mit CHX-Gl beladen wurden, weisen hingegen exzellente antibakterielle Eigenschaften über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich auf. Da diese Partikel erst ab Konzentrationen von etwa $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ cytotoxische Eigenschaften aufweisen, ist ein therapeutisches Fenster bei Inkubationskonzentrationen von 12.5 bis $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ vorhanden, im Falle der methacrylat-modifizierten Partikel verschiebt sich der Bereich auf 25 bis $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

5.4.3 Untersuchung des therapeutischen Fensters

Zur genaueren Untersuchung des therapeutischen Fensters wurden die MTT-Tests mit niedrigeren Konzentrationen zwischen 5 und $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ wiederholt (Abb. 67).

Der Effekt der Modifizierung scheint im hier untersuchten Konzentrationsbereich einen größeren Einfluss zu besitzen. Während unmodifizierte Partikel, die mit CHX-Gl beladen waren, erst ab Konzentrationen von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ eine Absenkung der metabolischen Aktivität unter 70% der Negativkontrolle bewirken, zeigen methacrylat-modifizierte Partikel über den gesamten Konzentrationsbereich Aktivitätswerte von ca. 70% . Letztere befinden sich somit im Übergangsbereich zu potentiell cytotoxischer Wirkung. Dies könnte eventuell auf eine unzureichende Dispersion der hydrophoben Partikel im

Zellkulturmedium zurückzuführen sein, wodurch sich Agglomerate bilden, die das Zellwachstum inhibieren könnten. Sulfonsäure-modifizierte Partikel hingegen führen bis zu einer Inkubationskonzentration von $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ zu vitalen Zellen, ab $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ reduziert sich die metabolische Aktivität auf ca. 60% und ab $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ist eine nahezu komplette Wachstumsinhibition zu beobachten. Dies ist wahrscheinlich auf die größere Wirkstoffmenge, die bei der Beladung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln aufgenommen wird, zurückzuführen. Unter Berücksichtigung der vorangegangenen Ergebnisse liegt der optimale Konzentrationsbereich zwischen 20 und $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, da hier eine antibakterielle Wirksamkeit gegeben ist, die metabolische Aktivität jedoch noch nicht signifikant eingeschränkt ist.

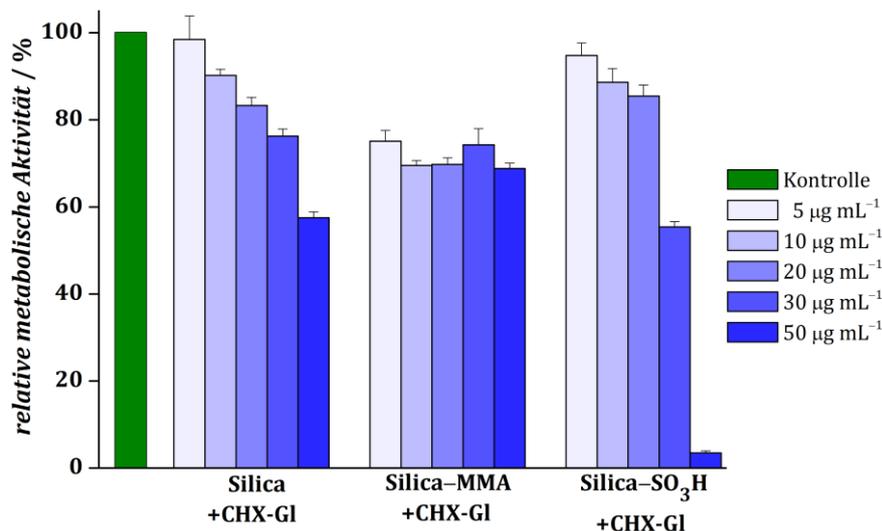


Abb. 67: Relative metabolische Aktivität von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Beladung inkubiert wurden.

Des Weiteren wurden in dem engeren Konzentrationsbereich LDH-Tests durchgeführt, die ebenfalls standardmäßig zur Untersuchung der Cytotoxizität von Nanopartikeln herangezogen werden. Deren Durchführung erfolgte von JÖRN SCHAESKE in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover. Die Ergebnisse sind in Abb. 68 dargestellt. Hierbei wird die Schädigung der Zellmembran in Abhängigkeit von der Konzentration untersucht. Die Ergebnisse korrelieren weitestgehend mit denen der MTT-Tests. Bis Konzentrationen von $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ ist lediglich eine vernachlässigbare Membranschädigung durch unmodifizierte und methacrylat-modifizierte Partikel zu beobachten, die auch bei

Konzentrationen von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ nur leicht ansteigt. Bei sulfonsäure-modifizierten Partikeln ist ein leichter Anstieg schon bei $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ zu beobachten, während höhere Konzentrationen eine hohe Membranschädigung bewirken, also cytotoxisch wirken.

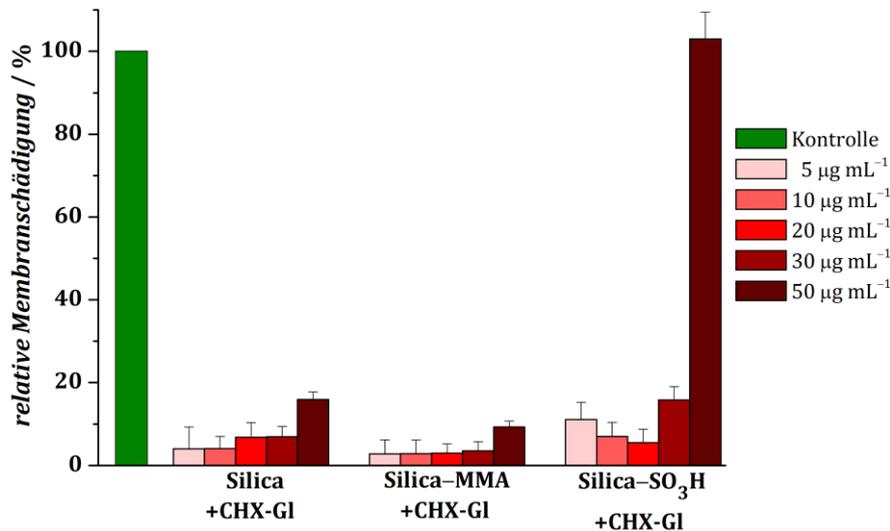


Abb. 68: Relative Membranschädigung von Gingivafibroblasten, die mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Beladung inkubiert wurden.

In dispergierter Form sollte zur Freisetzung von CHX-GI auf unmodifizierte oder sulfonsäure-modifizierte Partikel zurückgegriffen werden. Letztere sind in der Lage eine erhöhte Wirkstoffmenge einzulagern und abzugeben. Es ist ein therapeutisches Fenster im Konzentrationsbereich von 20 und $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ vorhanden, in dem eine ausreichende antibakterielle Wirkung vorhanden ist, aber keine cytotoxischen Effekte auf Gingivafibroblasten zu beobachten sind.

Methacrylat-modifizierte Partikel sind als Füllmaterial für dentale Komposite vorgesehen, liegen in der Anwendung also nicht in freier Form vor. Sollte die potentiell cytotoxische Wirkung dieser Partikel auf die Bildung von hydrophoben Partikelagglomeraten auf der Zelloberfläche zurückzuführen sein, könnte die Einbindung in ein Komposit diesen Effekt verhindern.

5.4.4 Wirkung auf Biofilme

In der Mundhöhle kommt es zur Zusammenlagerung mehrerer Bakterienzellen zu komplexen Biofilmen. Durch die Bildung einer extrazellulären Matrix werden die Bakterien vor antimikrobiell wirksamen Substanzen geschützt. Um die Wirkung der unterschiedlich modifizierten Silica-Nanopartikel mit CHX-GI-

Einlagerung auf die Bildung dieser bakteriellen Biofilme zu untersuchen, werden Bakteriensuspensionen von *S. aureus* und *S. mutans* mit den Partikeln versetzt und für 24 h inkubiert. Anschließend wird die metabolische Aktivität der Bakterien mittels Resazurin-Test untersucht. Die Untersuchungen wurden von KATHARINA DOLL in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. In Abb. 69 sind die entsprechenden Ergebnisse dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Biofilmbildung sowohl von *S. mutans* als auch von *S. aureus* bereits ab Konzentrationen von $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ vollständig gehemmt wird. Im Falle der unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Silica-Partikel tritt eine vollständige Hemmung bereits ab Konzentrationen von $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ein.

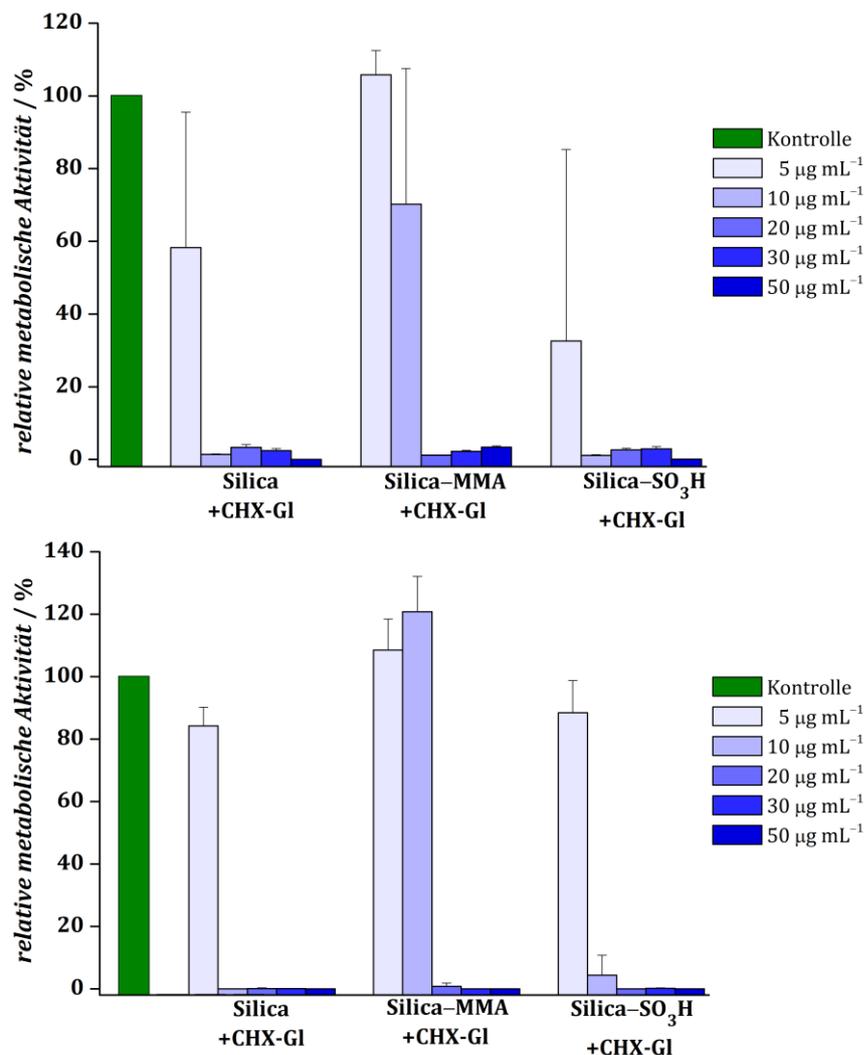


Abb. 69: Metabolische Aktivität von *S. mutans* (oben) und *S. aureus* (unten), die bei der Biofilmbildung mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Einlagerung inkubiert wurden.

Die Wirkung der jeweiligen Partikel auf reife Biofilme wurde ebenfalls untersucht. Hierfür werden zunächst Bakteriensuspensionen von *S. aureus* und *S. mutans* ohne Partikelzusatz bei 37 °C für 24 h inkubiert, um die Bildung entsprechender Biofilme zu ermöglichen. Anschließend werden die entsprechenden Partikel mittels Mediumwechsel hinzugegeben und für weitere 24 h bei 37 °C inkubiert. Die Auswertung erfolgte über den Resazurin-Test. Die Ergebnisse sind in Abb. 70 dargestellt. Es lässt sich feststellen, dass im betrachteten Konzentrationsbereich keine vollständige Hemmung der metabolischen Aktivität der bakteriellen Biofilme erfolgt. *S. aureus* scheint einen besonders stabilen Biofilm zu bilden, da hier selbst bei hohen Inkubationskonzentrationen von 50 µg mL⁻¹ lediglich eine geringe antibakterielle Wirkung zu beobachten ist. Methacrylat-modifizierte Partikel zeigen keinen Effekt. Im Falle von *S. mutans* ist zwar ebenfalls keine vollständige Hemmung zu beobachten, jedoch kann hier schon im Falle der unmodifizierten Silica-Partikel bei Konzentrationen von 30 µg mL⁻¹ eine Verringerung der metabolischen Aktivität auf ca. 50% der Negativkontrolle erreicht werden. Dies entspricht einer moderaten antibakteriellen Wirkung.^[209] Bei Konzentrationen von 50 µg mL⁻¹ sinken die Aktivitätswerte durch die Inkubation mit unmodifizierten und sulfonsäure-modifizierten Partikel auf Werte unterhalb von 30% der Kontrolle ab, was auf stark antibakterielle Eigenschaften hindeutet.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die unterschiedlichen Silica-Nanopartikel mit CHX-GI-Einlagerung eine sehr gute antibakterielle Wirkung bezüglich der Bildung von Biofilmen von *S. mutans* und *S. aureus* besitzen. Schon bei sehr geringen Konzentrationen tritt eine vollständige Hemmung der metabolischen Aktivität ein. Bei reifen Biofilmen reichen die untersuchten Konzentrationsbereiche nicht für eine vollständige Hemmung aus. Während *S. aureus* keine signifikante Reduktion der metabolischen Aktivität aufweist, tritt bei Biofilmen aus *S. mutans* eine starke antibakterielle Wirkung erst bei Konzentrationen von 50 µg mL⁻¹ ein. Dieser Konzentrationsbereich liegt jedoch außerhalb des therapeutischen Fensters, bei dem keine cytotoxische Wirkung auf humane Gingivafibroblasten zu beobachten ist.

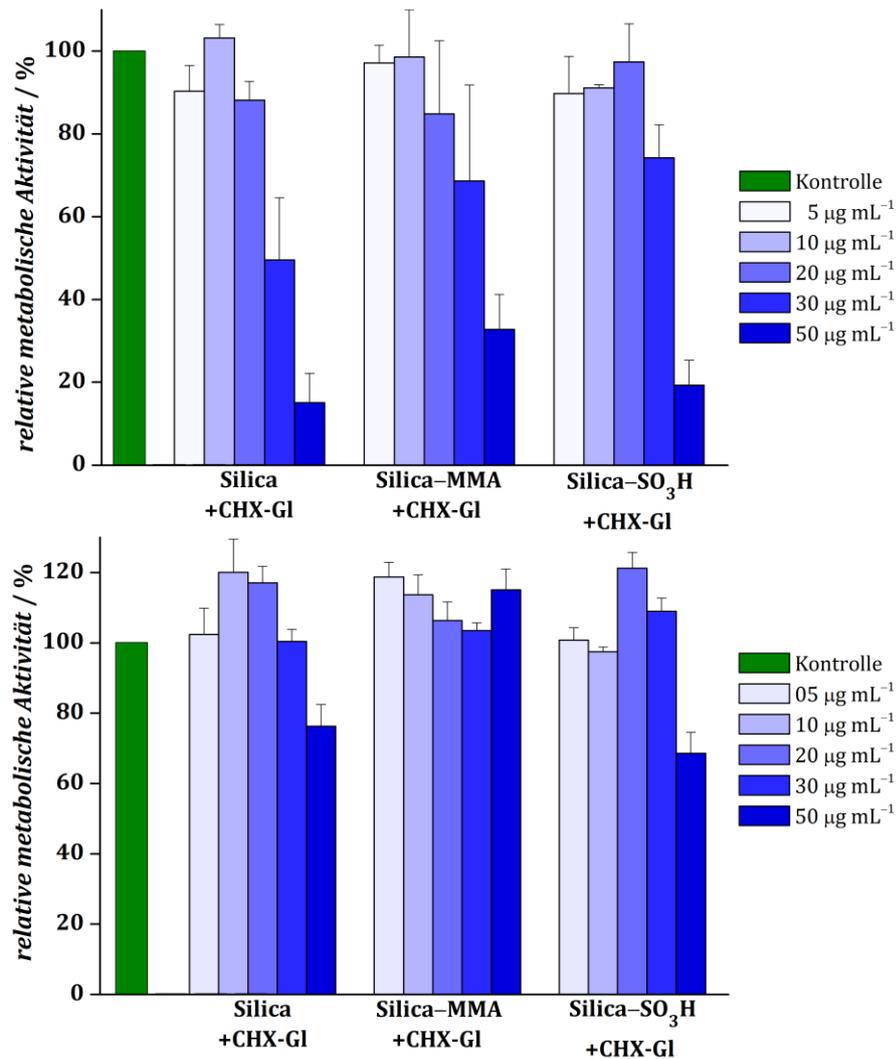


Abb. 70: Metabolische Aktivität von *S. mutans* (oben) und *S. aureus* (unten) in reifen Biofilmen nach der verzögerten Inkubation mit Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Einlagerung.

Eine geeignete Bekämpfung bestehender Biofilme scheint durch die Verwendung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Einlagerung eher nicht möglich zu sein. Da jedoch eine Hemmung der Biofilmbildung schon bei geringen Konzentrationen zu beobachten ist, könnten die untersuchten Partikel Einsatz in der Prävention finden. Ebenso anzudenken ist die Anwendung entsprechend beladener nanoporöser Silica-Filme auf Implantatoberflächen, die durch den direkten Kontakt mit den sich ansiedelnden Bakterien eine Biofilmbildung verhindern könnten.

5.4.5 Komposite

Um zu untersuchen, ob die methacrylat-modifizierte Silica-Nanopartikel mit CHX-GI-Beladung auch dann antibakterielle Eigenschaften aufweisen, wenn sie sich innerhalb eines Kompositmaterials befinden, werden entsprechende Nano-

und Hybridkomposite mit *S. aureus* inkubiert. Anschließend werden die Bakterienzellen einem *live/dead staining*, einer Färbemethode zur Unterscheidung von lebenden und toten Zellen, unterzogen und mittels Fluoreszenzspektroskopie untersucht. Die Tests wurden von MARLY DALTON und Dr. ANDREAS WINKEL in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. Die Negativ-Kontrolle, welche nur aus einem Träger aus Polystyrol besteht, zeigt die erwartete Mischung aus mehr lebenden als toten Zellen (Abb. 71).

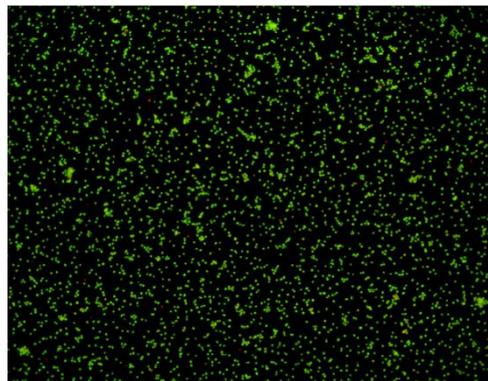


Abb. 71: CLSM-Aufnahmen der Lebend/Tod-Differenzierung von *S. aureus* auf Plastikkontrolle.

Bei der Messung der Komposite tritt allerdings eine starke Autofluoreszenz der Kompositoberfläche auf, die die Auswertung erschwert. Es werden Nanokomposite mit 10% Füllstoffgehalt untersucht sowie Hybridkomposite mit einem Gesamtfüllstoffgehalt von 50%; hier machen MPSNP mit CHX-GI jeweils 5, 10 und 20% der gesamten Füllstoffmasse aus. Alle getesteten Komposite zeigen eine antibakterielle Wirkung sowohl auf der Kompositoberfläche, was durch die starke Autofluoreszenz nur bedingt gezeigt werden kann (Abb. 72a, c), als auch in der Umgebung auf der Kunststoffplatte (Abb. 72b, d). Somit scheint es zu einer ausreichenden Freisetzung des Wirkstoffs aus den Füllstoffpartikeln in der Kompositmatrix zu kommen, da nicht nur unmittelbar auf der Oberfläche, sondern auch in der direkten Umgebung rot-gefärbte tote Zellen auftreten. Es werden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kompositen beobachtet, was darauf hindeutet, dass bereits geringe Füllstoffgehalte ausreichen, um eine bakterizide Wirkung zu erzeugen.

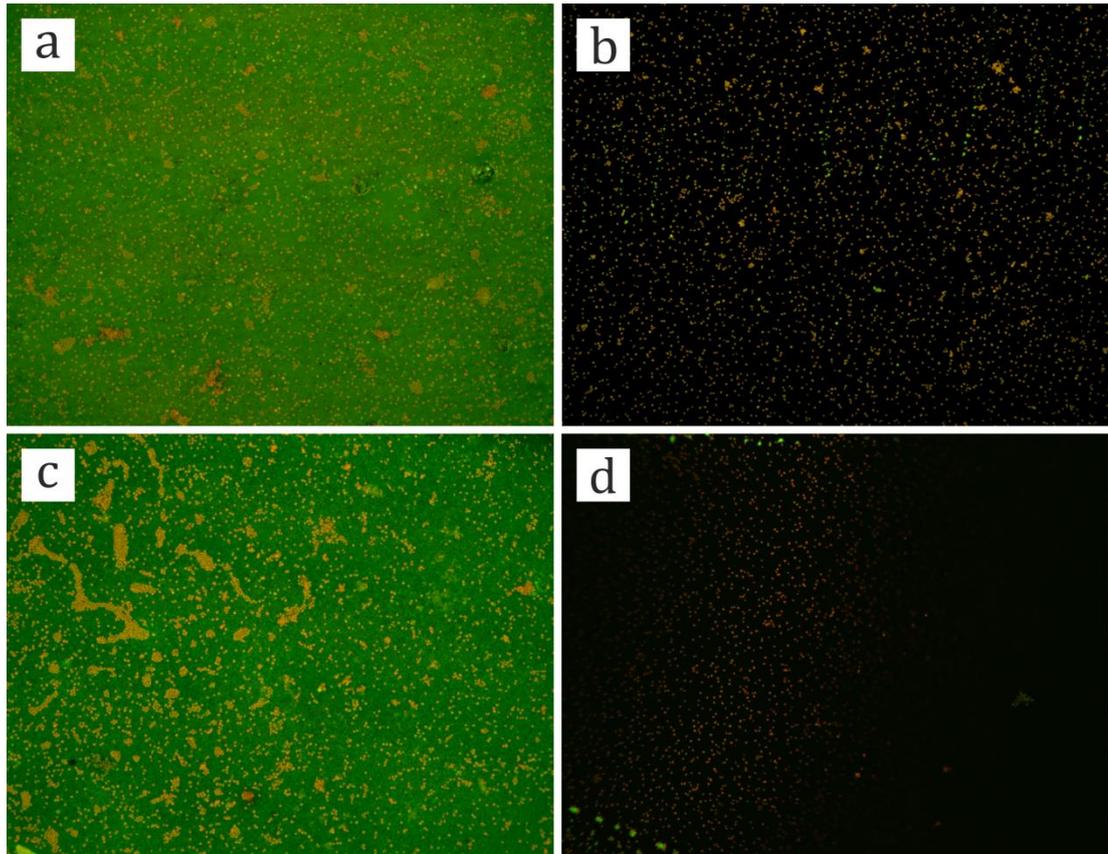


Abb. 72: CLSM-Aufnahmen der Lebend/Tod-Differenzierung von *S. aureus* auf Kompositen mit Füllstoffen mit CHX-GI-Beladung: a) Kompositoberfläche, 5 wt% Füllstoffgehalt; b) Plastikumgebung, 5 wt% Füllstoffgehalt; c) Kompositoberfläche, 20 wt% Füllstoffgehalt; d) Plastikumgebung, 20 wt% Füllstoffgehalt.

5.4.6 Stimulus-Response-System

Zur Untersuchung der Wirkung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Einlagerung werden zunächst Bakteriensuspensionen von *S. mutans* und *S. aureus* mit definierten Mengen an Partikeln für 24 h bei 37 °C inkubiert. Anschließend wird der pH-Wert der Suspension gemessen und die metabolische Aktivität der Zellen mit dem Resazurin-Test bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 73 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass Partikel ohne CHX-GI die metabolische Aktivität nicht negativ beeinflussen. Nach einer Inkubationszeit von 24 h beträgt der pH-Wert der Medien 5.5 im Falle von *S. mutans* und 6.0 im Falle von *S. aureus*. Dies ist durch die verstärkte Säurebildung durch die wachsende Anzahl an Bakterienzellen zu erklären. Werden PVP-modifizierte Silica-Nanopartikel mit CHX-GI-Einlagerung verwendet, so ist bereits ab geringen Konzentrationen von 5 bis 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ eine nahezu komplette Inhibition der metabolischen Aktivität zu beobachten. Die pH-Werte betragen jedoch 7.8 (*S. mutans*) beziehungsweise 7.3 (*S. aureus*), welche den pH-Werten

der jeweiligen Inkubationsmedien entsprechen. Dies deutet darauf hin, dass die Abgabe von CHX-GI nicht durch eine pH-sensitive Aktivierung des *Stimulus-Response-Systems* erfolgt. Um auszuschließen, dass oberflächlich adsorbierter Wirkstoff oder solcher, der sich möglicherweise in der Polymer-Corona befindet, für die antibakterielle Wirkung verantwortlich ist, werden die Partikel zweimal mit PBS gewaschen, um CHX-GI von der Oberfläche zu entfernen. Es erfolgt aber wiederum eine komplette Inhibierung der metabolischen Aktivität, bei *S. mutans* ab einer Konzentration von $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ und bei *S. aureus* ab einer Konzentration von $20 \mu\text{g mL}^{-1}$, ohne dass eine pH-Wert-Absenkung beobachtet werden konnte. Der pH-Wert der Medien beträgt auch hier 7.4.

Dies könnte darauf hindeuten, dass die zusätzlichen Waschschrte nicht ausreichen, um die komplette Menge von oberflächlich adsorbiertem oder in der Polymerschicht gelöstem Wirkstoff zu entfernen. Möglicherweise tritt auch aus den Poren bereits wieder Wirkstoff in die Polymerhülle über. Durch die entropisch bedingte kontinuierliche Bewegung der Polymerstränge könnte eine gewisse Menge an Wirkstoff auch bei neutralen pH-Werten freigesetzt werden und eine antibakterielle Wirkung zeigen. Dies bedarf jedoch weiterer Untersuchungen.

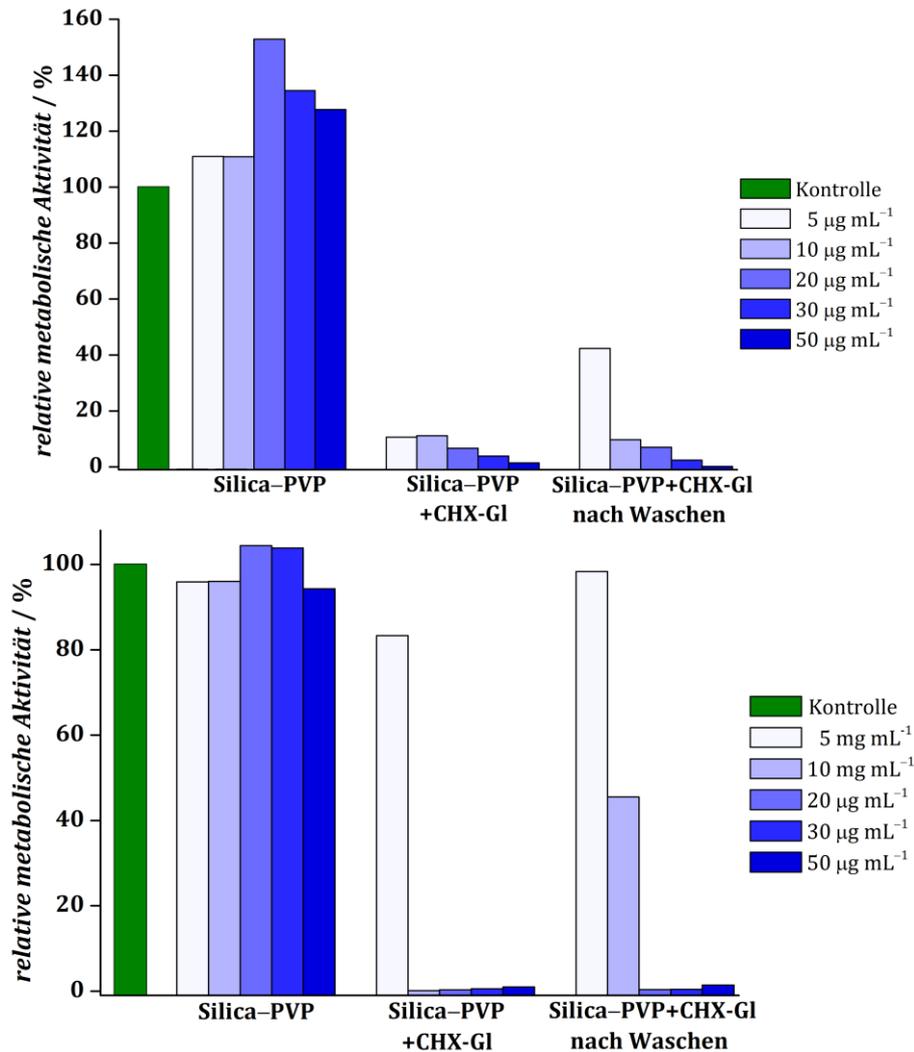


Abb. 73: Relative metabolische Aktivität von *S. mutans* (oben) und *S. aureus* (unten) nach der Inkubation von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit eingelagertem CHX-GI.

5.5 Charakterisierung inverser Silica-Opal-Strukturen

Zur Herstellung von hoch anisotropen Silica-Nanopartikeln, welche als Kompositfüllstoffe eingesetzt werden sollen, aus inversen Opal-Strukturen mittels eines *top-down*-Prozesses werden zunächst sphärische PMMA-Partikel als Template synthetisiert. Ihre Größe wurde mittels dynamischer Lichtstreuung und Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Durch Zentrifugation ordnen sich diese Sphären in einer kubisch dichtesten Kugelpackung, der sogenannten Opalstruktur, an.

Die REM-Aufnahmen (Abb. 74) zeigen sphärische Partikel, die eine geringe Größenverteilung zwischen ca. 200 und 400 nm aufweisen. Die Oberfläche des PMMA-Opals weist zwar eine große Anzahl von Defekten auf, jedoch erkennt man Bereiche mit einer regelmäßigen Anordnung der Partikel.

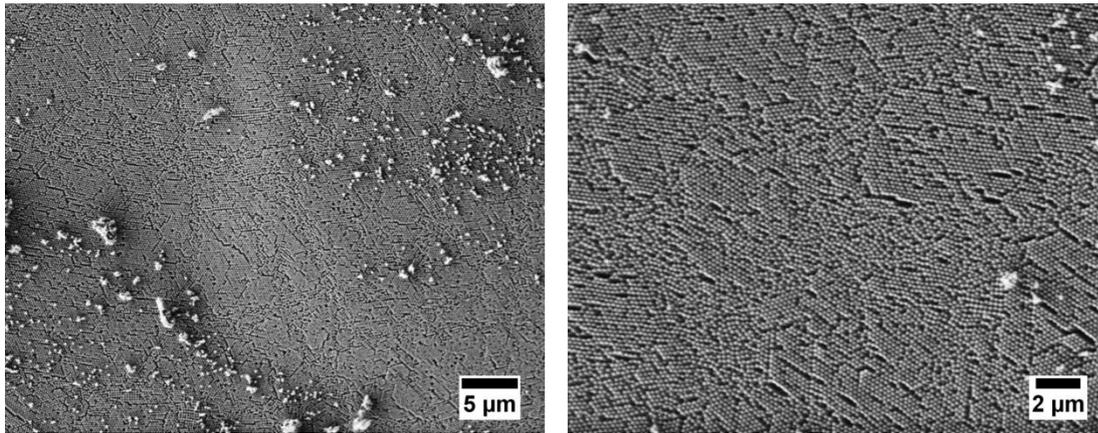


Abb. 74: REM-Aufnahmen von PMMA-Sphären in Opalstruktur (REM-PCI).

Diese Größenverteilung wird durch die dynamische Lichtstreuung bestätigt. Abb. 75 zeigt, dass der mittlere hydrodynamische Partikelradius etwa zwischen 300 und 500 nm liegt.

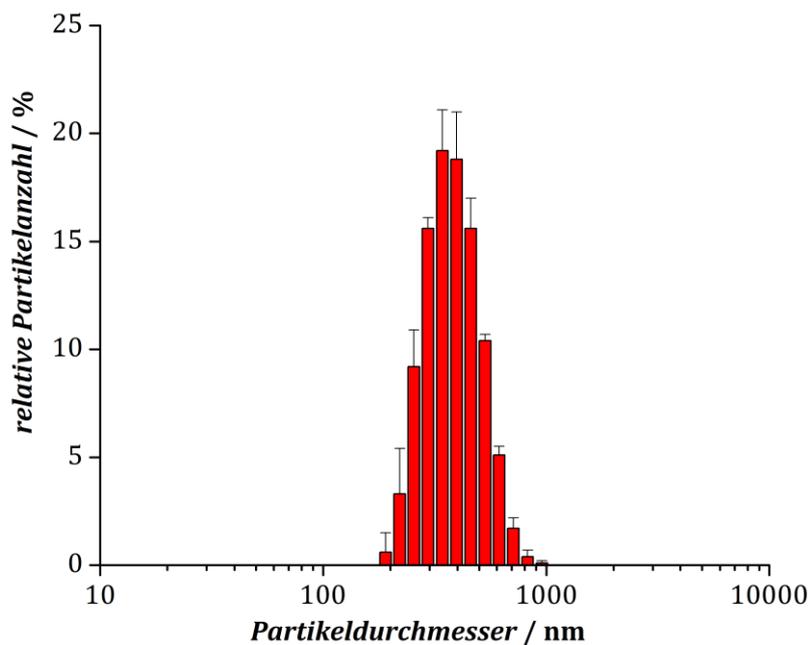


Abb. 75: DLS-Messung von PMMA-Sphären.

Ähnlich wie beim namensgebenden Mineral Opal, welches aus Silica-Sphären mit Größen im ungefähren Bereich der Lichtwellenlängen besteht, die in einer kubisch dichtesten Kugelpackung angeordnet sind, treten auch beim PMMA-Opal spezielle optische Effekte wie Interferenzfarben auf. Je nach Blickwinkel erscheint die Oberfläche des Feststoffs in einer anderen Farbe, was auf die Reflexion und Interferenz von sichtbarem Licht an der Opal-Struktur zurückzuführen ist.



Abb. 76: PMMA-Opalstücke, die aus unterschiedlichen Richtungen beleuchtet werden.

Nach der Infiltration und Kondensation der Silica-Vorstufe Tetraethoxysilan in die PMMA-Zwischenräume und anschließender Calcination entstehen inverse Silica-Opalstrukturen. Thermogravimetrische Untersuchungen zeigen, dass der organische Anteil im PMMA-Silica-Komposit ca. 94 Massenprozent ausmacht (siehe Anhang, Abschnitt 8.4). REM-Aufnahmen (Abb. 77) zeigen eine regelmäßige Anordnung der Poren, welche einen Durchmesser von etwa 225 nm besitzen. Die Poren der inversen Silica-Opal-Struktur weisen einen geringfügig kleineren Porenradius als die als Templat eingesetzten PMMA-Kügelchen auf, was durch die Kontraktion des Silica-Gerüsts von 10 – 20% während der Calcination erklärt werden kann.^[182] Stickstoff- oder Argonsorptionsanalysen können an diesen Strukturen aufgrund des zu großen Porendurchmessers nicht durchgeführt werden. Alternativ könnte Quecksilberporosimetrie als Analyseverfahren herangezogen werden. Da jedoch eher die verkleinerten Strukturen von Interesse sind, wurde darauf verzichtet.

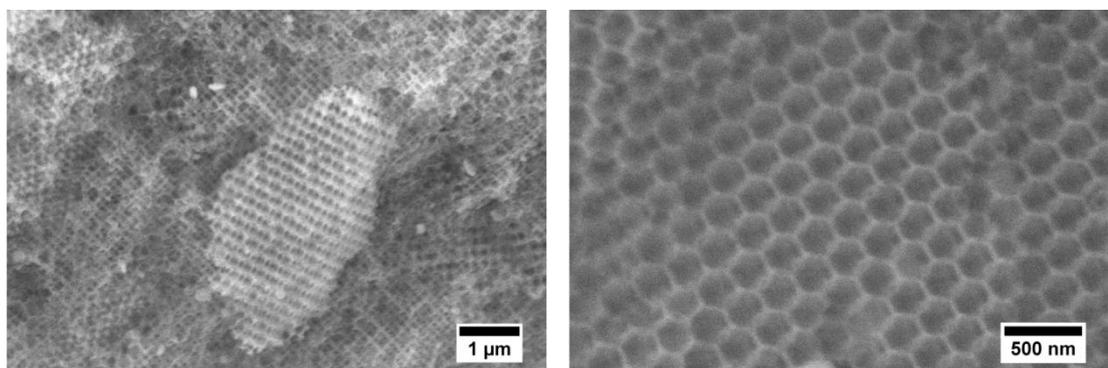


Abb. 77: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen (REM-ACI).

Makroskopisch ist auch bei den inversen Silica-Strukturen ein gewisses Maß an Opaleszenz zu beobachten (Abb. 78), jedoch nicht mit derselben Intensität und den gleichen Farbnuancen wie bei den PMMA-Opalen. Dies ist vermutlich durch die kleineren Porendurchmesser und der durch die Präparation bedingten inhomogeneren Oberfläche zu erklären.



Abb. 78: Inverse Silica-Opalstücke nach Calcination.

5.5.1 Vermahlung der inversen Silica-Opalstrukturen

Die Zerkleinerung der Silica-Opale erfolgt in einer Planetenkugelmühle in einem Mahlbecher und Mahlkugeln aus Zirkoniumdioxid, wobei die Probe nur etwa 10 wt% des Proben-Mahlkugel-Gemisches ausmacht. Der Einfluss von Mahldauer und Sonnenraddrehzahl auf die Partikelmorphologie wurde untersucht. Bei der höchsten wählbaren Drehzahl von 650 rpm reichten bereits kurze Vermahlzeiten aus, um die Struktur nahezu vollständig zu zerstören. REM-Aufnahmen zeigen, dass keine regelmäßigen Porenstrukturen, sondern unregelmäßig große, splitter- bzw. klumpenförmige Partikel vorliegen. Eine Erhöhung der Mahldauer führt dann zur weiteren Verkleinerung dieser Partikel (Abb. 79).

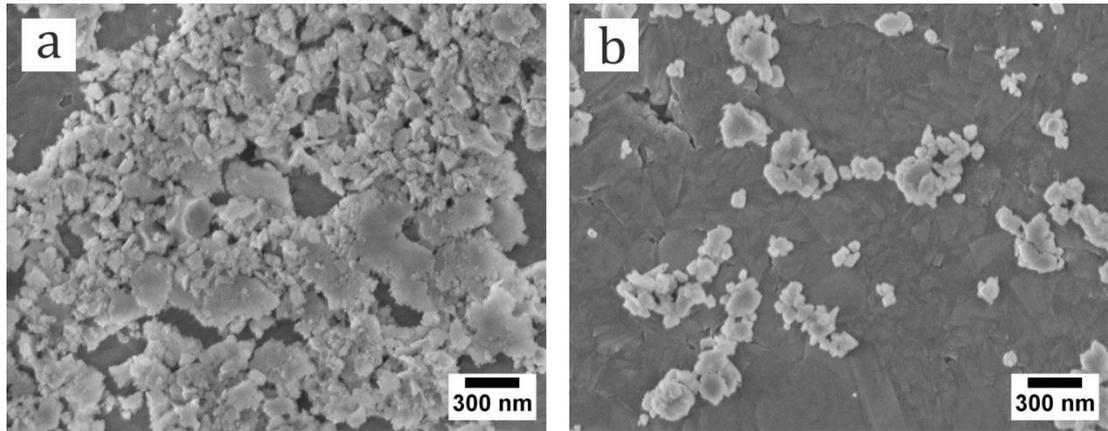


Abb. 79: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Vermahlung mit einer Drehzahl von 650 min^{-1} nach 3 min (a) und 210 min (b) (REM-PCI).

Bei einer Verringerung der Sonnenraddrehzahl auf 200 rpm bleibt die geordnete Struktur bei geringen Vermahlungszeiten teilweise erhalten (siehe Abb. 80a). Zusätzlich entstehen jedoch kleinere Partikel, die zwar eine sternähnliche Morphologie aufweisen, aber teilweise agglomeriert vorliegen (Abb. 80b). Mittlere Vermahlungszeiten von 60 min führen zu einer größeren Anzahl von sternförmigen Partikeln und zu einer zunehmenden Zerkleinerung der mikrometergroßen Strukturen und Aggregate. Zusätzlich treten nun jedoch in größerem Maße sphärische beziehungsweise splitterförmige Partikel mit uneinheitlicher Größenverteilung auf (Abb. 80c, d). Nach längerer Mahldauer von 12 h sind weder größere Einheiten der inversen Silica-Opalstruktur noch anisotrope Partikel zu erkennen, sondern lediglich agglomerierte unförmige Partikel, was auf den längeren Energieeintrag durch die Vermahlung zurückzuführen ist (Abb. 80e, f).

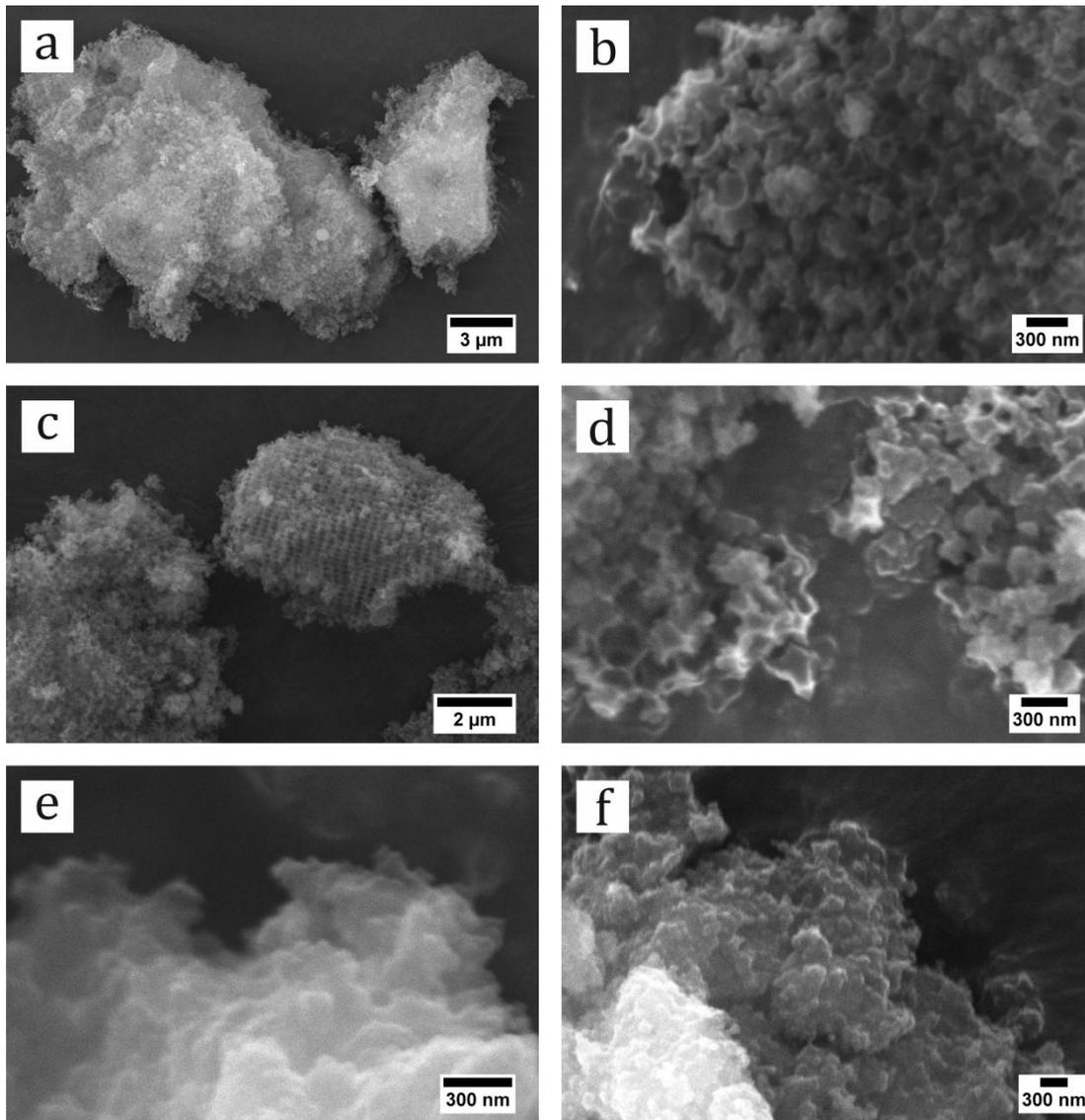


Abb. 80: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Vermahlung mit einer Drehzahl von 200 min^{-1} nach 3 min (a, b), 60 min (c, d) und 12 h (e, f) (REM-ACI).

Werden inverse Silica-Opalstrukturen mit einer geringen Drehzahl von 100 rpm für 3 min gemahlen, führt dies ebenfalls schon zur Bildung von vereinzelten sternenförmigen Partikeln, obgleich der Großteil der Probe noch aus größeren Strukturen besteht, die zum Teil noch eine regelmäßige Porenanordnung aufweisen (Abb. 81a, b). Letztere werden mit zunehmender Mahldauer weiter verkleinert (Abb. 81c, d). Bei längeren Vermahlungszeiten von 12 h scheint die sternenförmige Gestalt der anisotropen Partikel verloren zu gehen. Die „Zacken“ werden abgerundet und die Partikel neigen zu einer Agglomeration. Gleichzeitig sind jedoch auch nach 12 h Mahldauer noch mikrometergroße Partikel der ursprünglichen inversen Opalstruktur vorhanden, welche größere Defekte aufweisen (Abb. 81e, f).

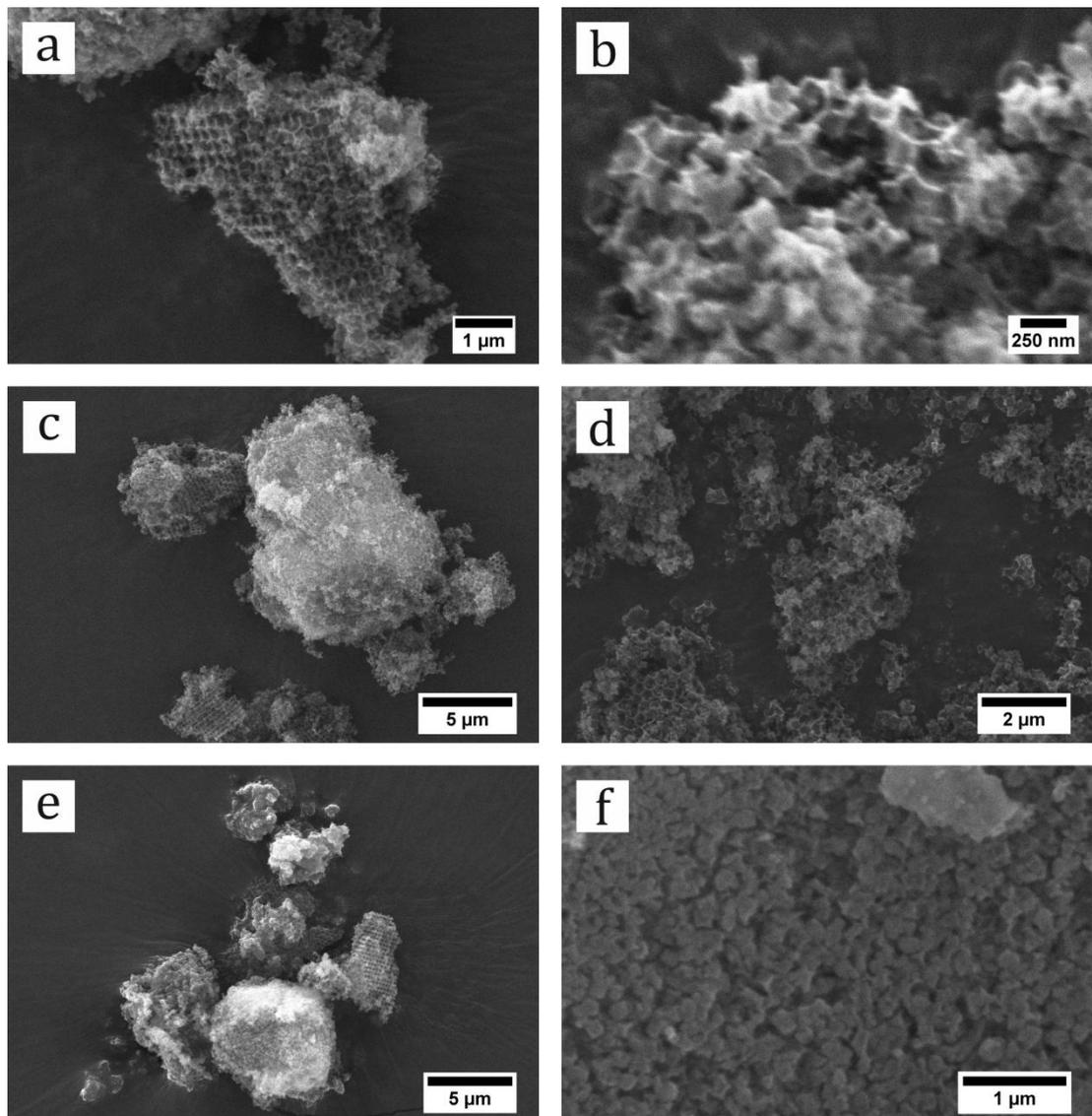


Abb. 81: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Vermahlung mit einer Drehzahl von 100 min^{-1} nach 3 min (a, b), 60 min (c, d) und 12 h (e, f) (REM-ACI).

Um eine größere Menge an hoch anisotropen Silica-Partikeln herzustellen, müssten die sternenförmigen Silica-Nanopartikeln von den inversen Opal-Strukturen separiert werden, bevor ihre Struktur durch den voranschreitenden Mahlprozess zerstört wird. Des Weiteren könnte durch Verwendung von größeren Mahlkugeln eine geringere Zerstörung der Partikel erreicht werden. Aufgrund der geringen Probenmenge je Mahlgang und der aufwendigen Isolation scheint es somit schwierig, durch Vermahlung eine zur Kompositpräparation ausreichende Menge an Silica-Nanopartikeln herzustellen.

5.5.2 Ultraschallbehandlung der inversen Silica-Opalstrukturen

Zur Ultraschallbehandlung werden die inversen Silica-Opalstrukturen in 15 mL Reinstwasser dispergiert und mit einem Ultraschalldesintegrator behandelt. Die Intensität und die Dauer wurden dabei variiert. Die Probe wurde jeweils durch ein Kunststoff-Analysesieb mit einer Maschengröße von 80 μm gespült, um größere Partikel zurückzuhalten und die Ergebnisse mit denen der Vermahlung vergleichbar zu machen.

Bei hohen Leistungen von 160 W sind weitaus kürzere Zeitabstände als bei der Vermahlung nötig, um die Probe zu zerkleinern. Bereits nach 5 min passen die Partikel vollständig durch die Maschen des Analysensiebs hindurch, besitzen also eine Partikelgröße kleiner als 80 μm . Die Partikeldispersion zeigt eine grünliche Färbung, was auf das Vorhandensein von hochgeordneten photonischen Kristallen hindeutet. Einzelne Silica-Partikel mit Sternmorphologie würden diesen Effekt nicht zeigen, da keine regelmäßige Porenstruktur mehr vorhanden wäre.



Abb. 82: Dispersion von inversen Silica-Opal-Partikeln nach der Ultraschallbehandlung.

REM-Aufnahmen zeigen, dass die inverse Opal-Struktur weitestgehend erhalten bleibt und zwar in größerem Maße als bei der Vermahlung. Diesbezüglich scheint die Ultraschallbehandlung ein schonenderer Prozess zu sein. Nach längerer Behandlungsdauer erfolgt eine Verkleinerung dieser größeren Partikel. Anisotrope Silica-Partikel mit Sternmorphologie sind außerdem zu erkennen, jedoch scheinen sie nicht einzeln, sondern zum Teil agglomeriert vorzuliegen. Die Zacken wirken auch hier bei großen Energieeinträgen etwas abgerundet (Abb. 83).

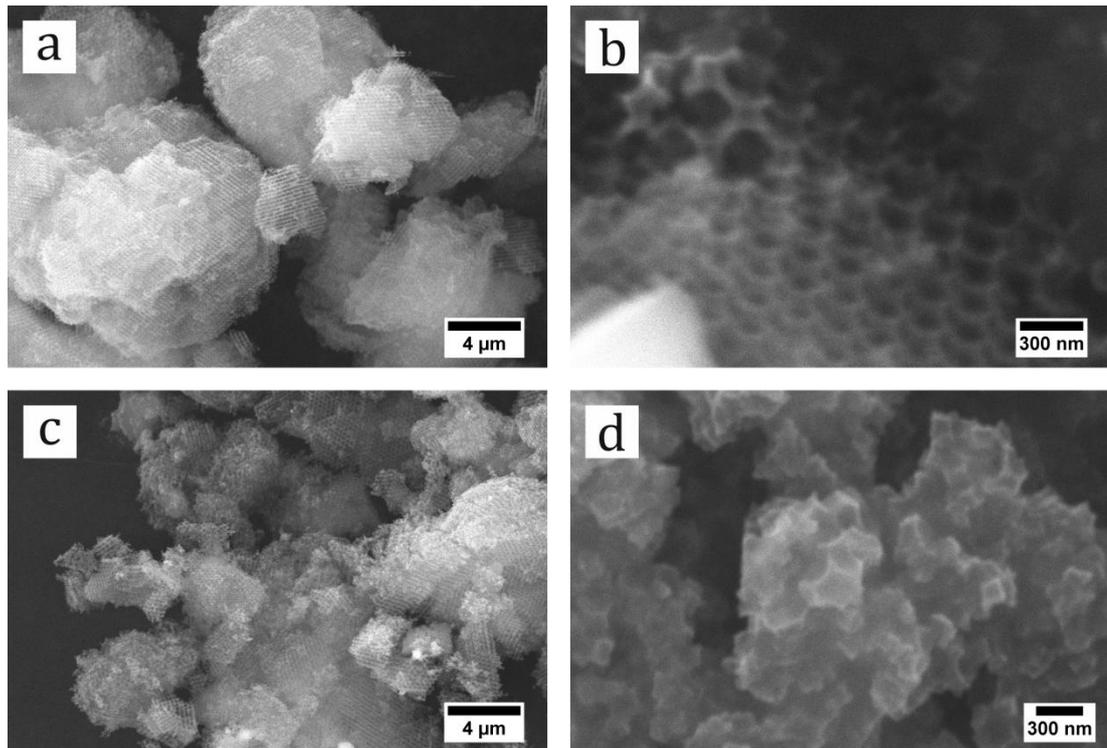


Abb. 83: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Ultraschallbehandlung mit einer Leistung von 160 W nach 0.5 min (a, b) und 5 min (c, d) (REM-ACI).

Geringere Leistungswerte von 100 beziehungsweise 40 W bewirken ebenfalls eine Zerkleinerung der inversen Silica-Opalpartikel unter 80 µm, dieser Prozess benötigt hier 10 min. Die größeren Partikel scheinen eine weitestgehend intakte inverse Silica-Opalstruktur zu besitzen, während die kleinen Partikel die gewünschte sternartige Morphologie aufweisen, aber noch in größeren Agglomeraten vorliegen. Abb. 84 zeigt repräsentative REM-Aufnahmen nach einer Dauer von 0.5 und 8 min. Geringere Leistungen scheinen die Zacken der Partikel dabei weniger stark zu beschädigen, da ihre Struktur definierter ausgeprägt zu sein scheint.

Die Behandlung der Opal-Strukturen mit Ultraschall besitzt gegenüber der Vermahlung somit einige Vorteile: die Präparation ist einfacher, der Zeitaufwand geringer und die auf einmal zu behandelnde Menge kann erhöht werden. Die Methode ist kostensparender, die Partikel werden schonender behandelt und eine Separation der Probe von den Mahlkugeln ist nicht notwendig. Da für die Präparation der Kompositmaterialien eine große Masse an Füllstoff benötigt wird, wird zur Herstellung der anisotropen Füllstoffe das Ultraschallverfahren genutzt.

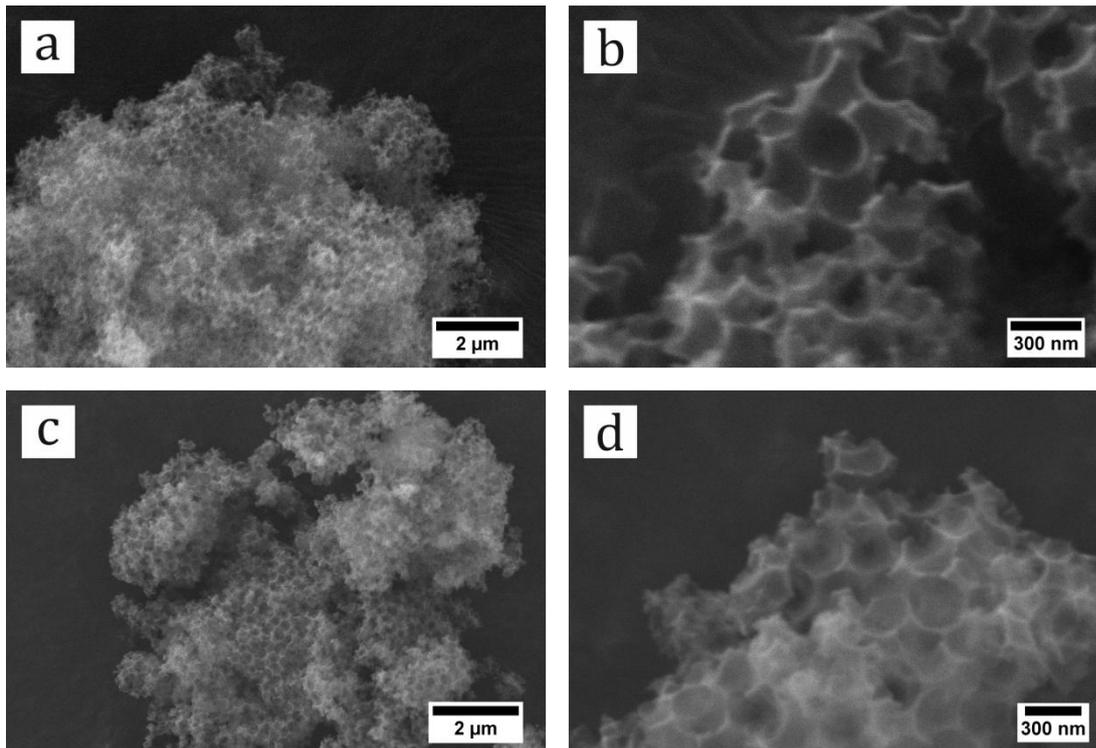


Abb. 84: REM-Aufnahmen von inversen Silica-Opalstrukturen nach Ultraschallbehandlung mit einer Leistung von 40 W nach 0.5 min (oben) und 8 min (unten) (REM-ACI).

5.6 Mechanische Eigenschaften von Kompositmaterialien

In diesem Abschnitt werden die mechanischen und physiko-chemischen Eigenschaften von Kompositmaterialien mit unterschiedlichen Füllstoffen untersucht. Als Referenzfüllstoff wird Aerosil® OX 50 verwendet. Dabei handelt es sich um nichtporöse Silica-Nanopartikel mit sphärischer Morphologie und einem Partikeldurchmesser von ca. 40 nm, welche in industriellen Kompositmaterialien Anwendung finden. Aerosil® OX 50 ist eine eingetragene Marke der Firma Evonik Industries AG und wird im Folgenden zur Förderung der Lesbarkeit als Aerosil OX 50 bezeichnet. Des Weiteren werden unmodifizierte Silica-Fasern sowie methacrylat-modifizierte Silica-Fasern und -Sphären untersucht. Alle Komposite wurden von NICO TIMPE im Institut für Technische Chemie der Technischen Universität Braunschweig hergestellt. In Abb. 85 sind beispielhaft einige Komposit-Prüfkörper dargestellt. Ein länglicher Prüfkörper für die Drei-Punkt-Biegeprüfung ist mit einem Pfeil markiert.



Abb. 85: Komposit-Prüfkörper für mechanische Untersuchungen; Markierung: Prüfkörper für Drei-Punkt-Biegeprüfung.^[17]

5.6.1 Komplexe Viskosität

Die Verarbeitbarkeit der Monomermischungen von dentalen Kompositmaterialien hängt in großem Maße von ihrer Viskosität ab. Eine zu hohe Viskosität erschwert die Einbringung in die Zahnkavität und behindert die Beweglichkeit der Füllstoffe, was zu einer Reduktion der Reaktivität der Doppelbindungen auf der Oberfläche der modifizierten Silica-Partikel führt. Bei der Untersuchung der unterschiedlichen Monomer-Füllstoff-Mischungen war ein größerer Verlustmodul im Vergleich zum Speichermodul zu beobachten, was auf einen hohen viskosen Anteil der Mischungen hindeutet. Die Untersuchungen wurden von NICO TIMPE im Institut für Technische Chemie der Technischen Universität Braunschweig durchgeführt.

Abb. 86 zeigt die komplexen Viskositäten unterschiedlicher Monomer-Füllstoff-Mischungen in Abhängigkeit vom Füllstoffgehalt. Die Mischungen, die lediglich Nanofüllstoffe enthalten, zeigen bis zu Füllstoffgehalten von 3 wt% keine signifikante Erhöhung der Viskosität im Vergleich zur Mischung ohne Füllstoffe (ca. 3 Pa s). Zwischen 5 und 10 wt% ist jedoch ein starker Viskositätsanstieg der Mischungen mit unmodifizierten Silica-Fasern zu beobachten. Die Mischungen für die Hybridkomposite mit einem Gesamtfüllstoffgehalt von 50 wt% weisen im Falle der methacrylat-modifizierten Partikel einen ähnlichen Verlauf auf, auch hier wird im betrachteten Bereich bis zu einem Füllstoffbereich von 20 wt% die Viskosität nicht wesentlich erhöht. Die unmodifizierten Partikel, also der Referenzfüllstoff Aerosil OX 50 und die Silica-Fasern, zeigen ab einem Füllstoffgehalt von 5 wt% eine Erhöhung der komplexen Viskosität bis zu

Werten von 200 Pa s. Bei Füllstoffgehalten über 20 wt% war eine Einbringung dieser Partikel nicht mehr möglich, da keine homogene Mischung der Füllstoffe in der organischen Matrix mehr hergestellt werden konnte.

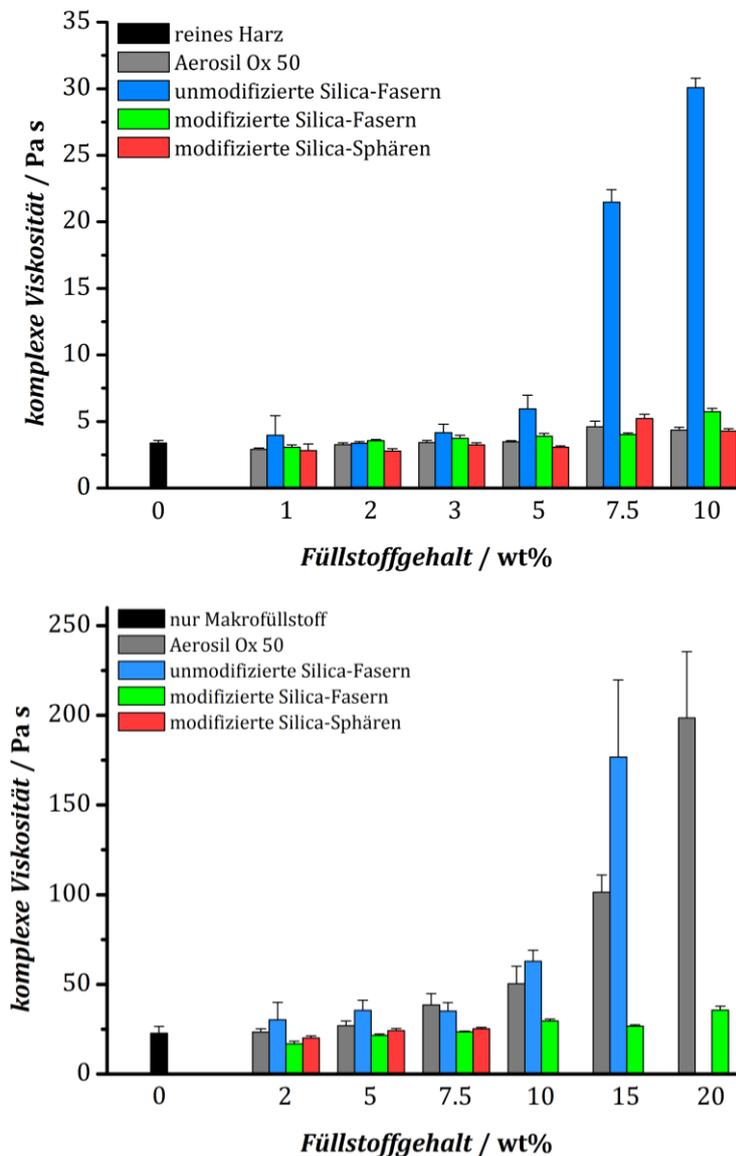


Abb. 86: Komplexe Viskositäten der Monomermischungen von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (Gesamtfüllstoffgehalt 50 wt%, unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen.

Modifizierte Partikel beeinflussen die Viskosität der Monomermischungen im betrachteten Bereich nicht signifikant wesentlich, unmodifizierte Silica-Fasern führen hingegen bei höheren Füllstoffgehalten zu einer Viskositätssteigerung. Aerosil OX 50-Partikel zeigen diese Erhöhung nur bei Hybridkompositmischungen, was wahrscheinlich auf die zusätzlichen Makrofüller zurückzuführen ist.

5.6.2 Biegefestigkeit

Die mechanischen Eigenschaften von dentalen Kompositmaterialien sind ein kritischer Faktor bezüglich ihrer Anwendung als restauratives Füllungsmaterial oder als Befestigungskomposit für dentale Implantate. Zwei Faktoren, die eine große Rolle dabei spielen, sind die Biegefestigkeit σ und der E -Modul. In diesem Abschnitt werden Nanokomposite und Hybridkomposite untersucht, die mit unterschiedlichen mesoporösen Silica-Füllstoffen hergestellt wurden. Die Messungen wurden von NICO TIMPE in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. Abb. 87 oben zeigt die Biegefestigkeit von Nanokomposit mit unterschiedlichen Füllstoffen in Abhängigkeit vom Füllstoffgehalt. Durch die Zugabe des Referenzfüllstoffs kann mit steigendem Füllstoffgehalt eine kontinuierliche Erhöhung der Biegefestigkeit bis ca. 100 MPa erreicht werden, was gegenüber dem reinen Harz (ca. 70 MPa) eine Verbesserung um ca. 30 MPa ausmacht. Werden unmodifizierte anisotrope Silica-Fasern als Füllstoffe verwendet, so werden bei sehr niedrigen Füllstoffgehalten von 3 wt% schon Biegefestigkeiten von ca. 110 MPa erreicht. Diese Verbesserung der mechanischen Eigenschaften könnte auf Überbrückungseffekte der anisotropen Silica-Fasern zurückzuführen sein. Bei steigenden Füllstoffgehalten über 5 wt% nimmt dieser Effekt jedoch stetig ab, bis die Werte sogar unter denen des reinen Harzes liegen. Diese Ergebnisse könnten mit der zunehmenden Agglomeration der anisotropen Füllstoffe erklärt werden, die zu einer Verringerung der mechanischen Eigenschaften führt. Die Oberfläche von Silica-Nanopartikeln weist eine hohe Dichte an hydrophilen Silanol-Gruppen auf. Da die Polymer-Matrix hingegen aus hydrophoben organischen Molekülen besteht, kommt es aufgrund repulsiver Wechselwirkungen zu einer Agglomeration der hydrophilen Partikel in der hydrophoben Matrix. Bei niedrigen Füllstoffgehalten liegen die Füllstoffe homogener in der Polymermatrix vor, bei höheren Gehalten nimmt die Bildung von Agglomeraten zu. Werden die Silica-Fasern mit Methacrylat-Gruppen modifiziert, verzögert dies die Reduktion der Biegefestigkeit bei höheren Füllstoffgehalten. Hier liegen die Biegefestigkeiten bei einem Füllstoffgehalt von 5 wt% noch bei ca. 95 MPa und fallen im betrachteten Bereich nicht unter 75 MPa ab. Durch die Modifizierung mit

hydrophoben Methacrylat-Gruppen wird nicht nur die Dispersion der Füllstoffe im Komposit verbessert, sie führt auch zu kovalenten Bindungen zwischen anorganischer und organischer Matrix.^[45,46] Basierend auf diesen Ergebnissen wurden mesoporöse Silica-Nanopartikel mit sphärischer Morphologie untersucht, welche einen ähnlichen Partikeldurchmesser wie die Referenzpartikel besitzen, im Gegensatz zu diesen jedoch methacrylat-modifiziert wurden. Schon ab niedrigen Füllstoffgehalten von 2 wt% weisen diese hohe Biegefestigkeiten von ca. 115 MPa auf, die im untersuchten Bereich konstant bleiben. Diese Partikel scheinen durch ihre hydrophobe Modifizierung eine gute Dispergierbarkeit in der organischen Matrix aufzuweisen. Während sich faserförmige Partikel aufgrund ihrer Morphologie ineinander verschlaufen oder verhaken können, scheinen sphärische Partikel eine niedrigere Agglomerationstendenz zu besitzen.

Des Weiteren wurden Hybridkomposite mit einem Gesamtfüllstoffgehalt von 50 wt% untersucht. In Abb. 87 rechts sind deren Biegefestigkeiten in Abhängigkeit vom Nanofüllstoffgehalt bezogen auf die jeweilige Gesamtfüllstoffmasse dargestellt. Die unmodifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Fasern scheinen keine verstärkende Wirkung auf die Biegefestigkeit zu haben. Die Biegefestigkeiten liegen im Bereich der Komposite, die nur Makrofüllstoff enthalten (79 MPa). Lediglich bei sehr geringen Füllstoffgehalten von 2 wt% ist ein positiver Effekt von unmodifizierten Silica-Fasern zu vermuten, hier steigt die Biegefestigkeit auf ca. 95 MPa an. Vermutlich führt die zusätzliche Einbringung von Makrofüllstoffen in das System zu einer zunehmenden Agglomeration der Silica-Partikel, so dass keine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften eintritt. Werden hingegen modifizierte Silica-Sphären verwendet, können über den gesamten betrachteten Bereich konstant hohe Biegefestigkeiten erreicht werden, was sich erneut durch die bessere Dispergierbarkeit erklären lassen könnte. Der höchste Wert von etwa 97 MPa wird bei einem Nanofüllstoffgehalt von 2 wt% erreicht.

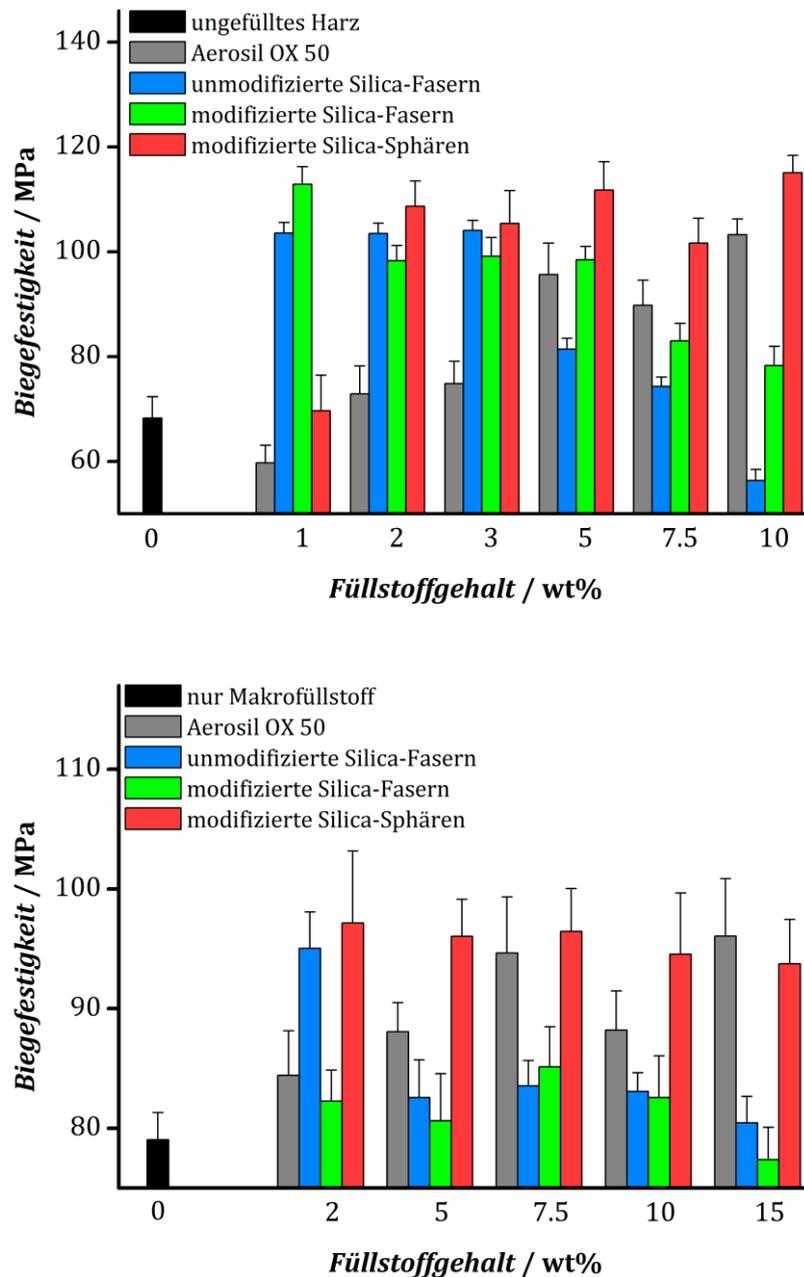


Abb. 87: Biegefestigkeiten von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen

Zudem wurden Kompositmaterialien mit zerkleinerten inversen Silica-Opalstrukturen, im Folgenden als „Silica-Sterne“ bezeichnet, als Füllstoffpartikel hergestellt. Die Partikel wurden zuvor mit einer Methacrylat-Modifizierung ausgestattet. Die Biegefestigkeiten der Nano- und Hybridkomposite (Gesamtfüllstoffgehalt 60 wt%) sind in Abb. 87 dargestellt. Es zeigt sich, dass die anisotropen sternenförmigen Partikel bis zu einem Füllstoffgehalt von 5 wt% höhere Biegefestigkeiten als das reine Harz (ca. 70 MPa) aufweisen. Der höchste Wert liegt bei 98 MPa bei einem Gehalt von 2 wt%. Im Vergleich mit dem Referenzfüllstoff Aerosil OX 50 lässt sich jedoch keine Verbesserung der

Biegefestigkeit bewirken. Die Werte der Nanokomposite sind bei geringen Gehalten von Silica-Sternen noch vergleichbar mit der Referenz, bei Gehalten über 3 wt% ist jedoch eine Verschlechterung der Werte bis unter die Werte des reinen Harzes zu beobachten. Bei den Hybridkompositen liegen die Biegefestigkeiten im gesamten betrachteten Füllstoffbereich unterhalb der Werte des reinen Makrofüllstoffs (115 MPa) und des Referenzsystems. Bei einem Füllstoffgehalt von 2 wt% beträgt die Biegefestigkeit der Komposite mit Referenzfüllstoff 118 MPa, während die Silica-Sterne lediglich zu Werten von 100 MPa führen. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Ultraschallbehandlung nicht ausschließlich zu sternenförmigen Silica-Nanopartikeln führt, sondern zusätzlich mikrometergroße Bereiche der intakten inversen Silica-Opalstruktur vorhanden sind (siehe Abschnitt 5.5.2). Diese Partikel haben anscheinend den gleichen Effekt wie größere Partikelagglomerate und könnten zu einer Verschlechterung der mechanischen Eigenschaften führen.

Die Biegefestigkeiten der unterschiedlichen Kompositmaterialien konnten somit im Vergleich zum Referenzsystem lediglich bei sehr kleinen Füllstoffgehalten durch die faserförmigen Silica-Partikeln verbessert werden. Hier scheinen die Überbrückungseffekte der anisotropen Füllstoffe einen positiven Einfluss auszuüben. Bei höheren Füllstoffgehalten weisen modifizierte mesoporöse Silica-Sphären hohe Biegefestigkeiten auf, die bei Hybridkompositen im Bereich des Referenzsystems liegen, bei Nanokompositen diese Werte sogar übersteigen. Der Einsatz zerkleinerter inverser Opalstrukturen führt zu keiner Verbesserung der Biegefestigkeiten im Vergleich zum Referenzsystem.

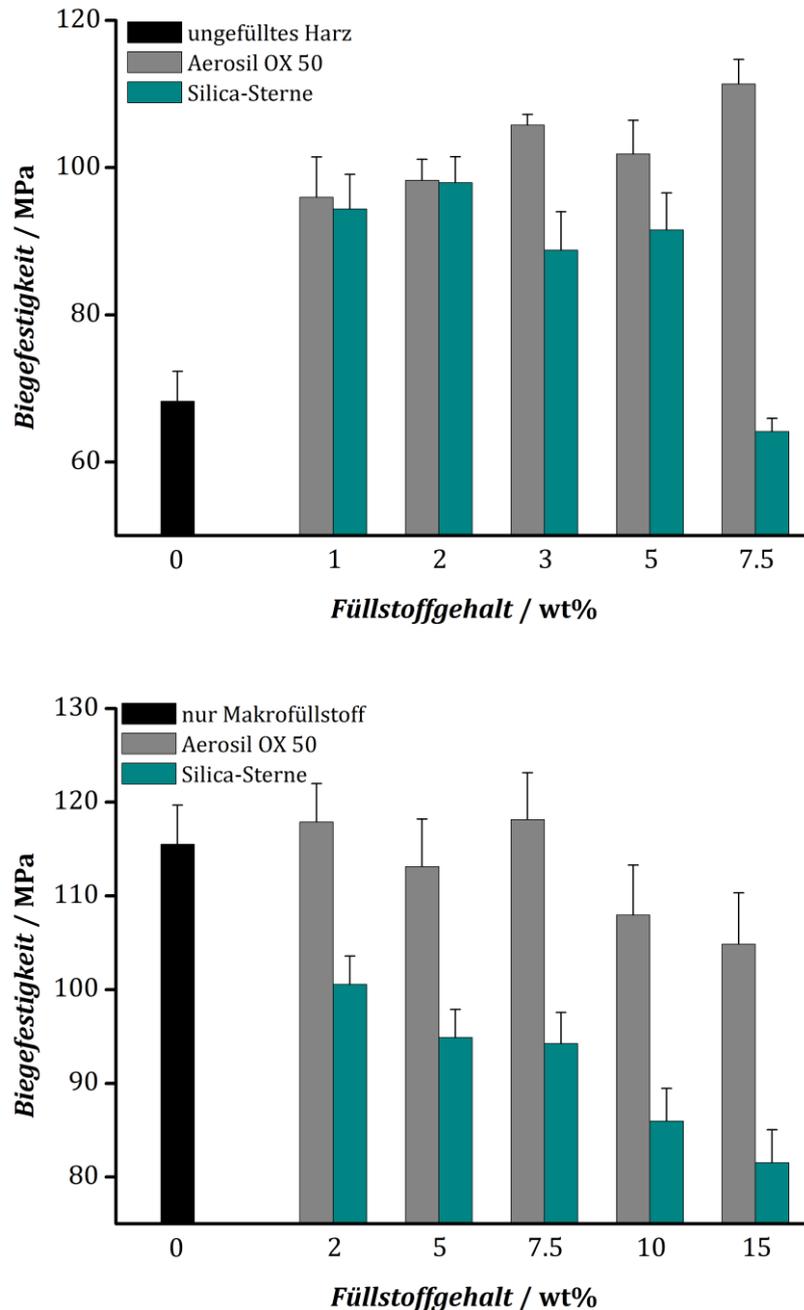


Abb. 88: Biegefestigkeiten von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen.

5.6.3 *E*-Modul

Ein weiterer wichtiger Materialkennwert ist der *E*-Modul, der ein Maß für die Steifigkeit des Komposits darstellt. Die Messungen der *E*-Modul-Werte wurden von NICO TIMPE in der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover durchgeführt. Abb. 89 oben zeigt, dass mit steigenden Füllstoffgehalten die *E*-Moduln der Nanokomposite tendenziell ansteigen. Im Vergleich zum ungefüllten Harz (2370 MPa) können durch die Einbringung des Referenzfüllstoffs oder der

unmodifizierten Silica-Fasern in Nanokomposite die *E*-Modul-Werte jedoch nur zu einem geringen Teil verbessert werden. Bei Füllstoffgehalten von 10 wt% bewirkt die Referenz Werte von 2370 MPa und Silica-Fasern Werte von 2570 MPa. Die modifizierten Silica-Sphären und -Fasern zeigen hingegen einen deutlichen Anstieg der *E*-Moduln. Bei Füllstoffgehalten von 10 wt% zeigen die Kompositmaterialien Werte von 3130 MPa für die Silica-Sphären und 3089 MPa für die Silica-Fasern. Die Füllstoffmorphologie scheint hierbei eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Hybridkomposite zeigen ein anderes Verhalten bezüglich des Füllstoffgehalts auf. Unmodifizierte Partikel, wie der Referenzfüllstoff Aerosil OX 50 und die unbehandelten Silica-Fasern, bewirken keine wesentliche Verbesserung des *E*-Moduls im Vergleich zum Harz, welches nur Makrofüllstoff enthält (4985 MPa). Werden hingegen geringe Füllstoffgehalte von modifizierten Füllstoffen verwendet, führt dies zu einer Verbesserung des *E*-Modul. Mesoporöse Silica-Sphären bewirken hierbei eine etwas größere Steifigkeit als die Silica-Fasern. Bei einem Füllstoffgehalt von 5 wt% zeigen Komposite mit Silica-Sphären Werte von 5720 MPa, während Komposite mit Silica-Fasern Werte von 5470 MPa erzielen. Wird der Füllstoffgehalt jedoch weiter erhöht, führt dies zu einer Reduktion der *E*-Modul-Werte.

Bei Nanokompositen, die mit den modifizierten sternenförmigen Silica-Partikeln als Füllstoff hergestellt wurden, ist eine Verbesserung der *E*-Modul-Werte bei niedrigen Füllstoffgehalten im Vergleich mit dem Referenzfüllstoff zu beobachten (Abb. 90). Bei Füllstoffgehalten von 2 wt% werden Werte von 2810 MPa erreicht, während Komposite mit der Referenz lediglich *E*-Moduln von 2335 MPa aufweisen. Ab Füllstoffgehalten von 5 wt% liegen die Werte der Silica-Stern-Komposite unter denen der Referenz. In Hybridkompositen weisen die Komposite mit Silica-Sternen im betrachteten Bereich geringere *E*-Modul-Werte als die Referenzkomposite auf. Ab Füllstoffgehalten von 5 wt% liegen die Werte sogar im Bereich der Komposite, die lediglich Makrofüllstoff enthalten (6000 MPa).

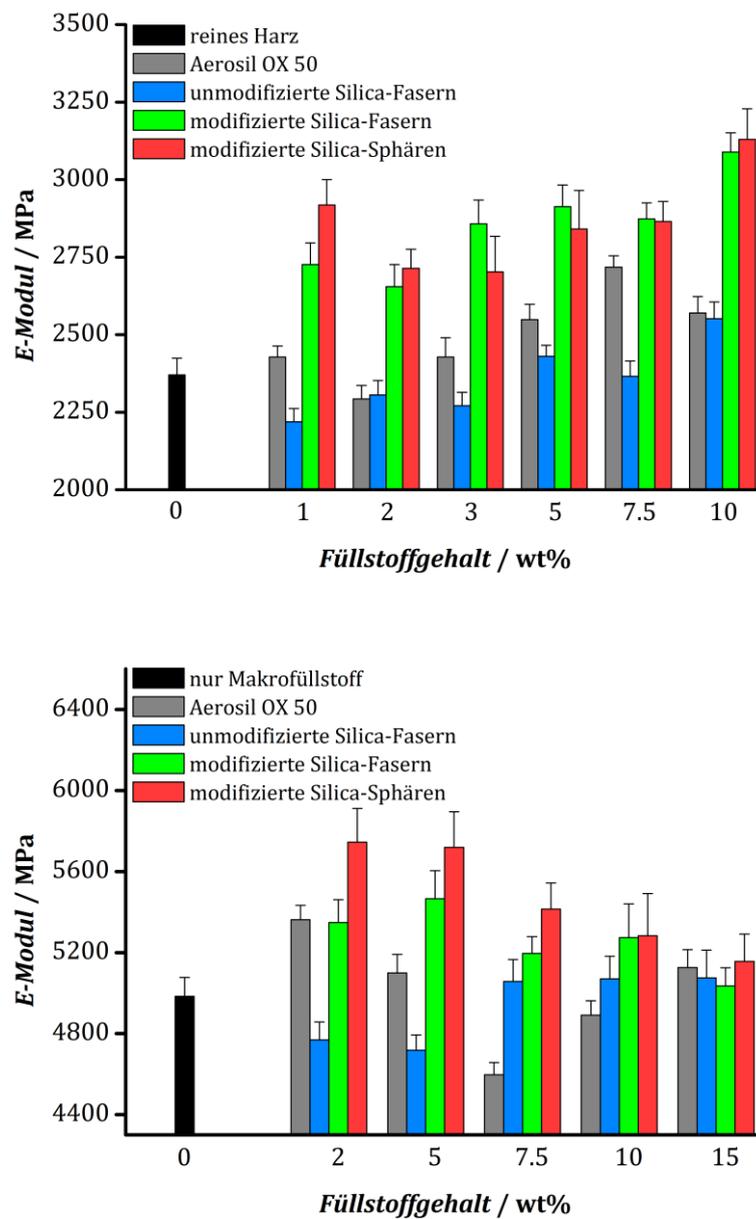


Abb. 89: *E*-Moduln von Nanokompositen (oben) und Hybridkompositen (unten) mit unterschiedlichen Füllstoffen.

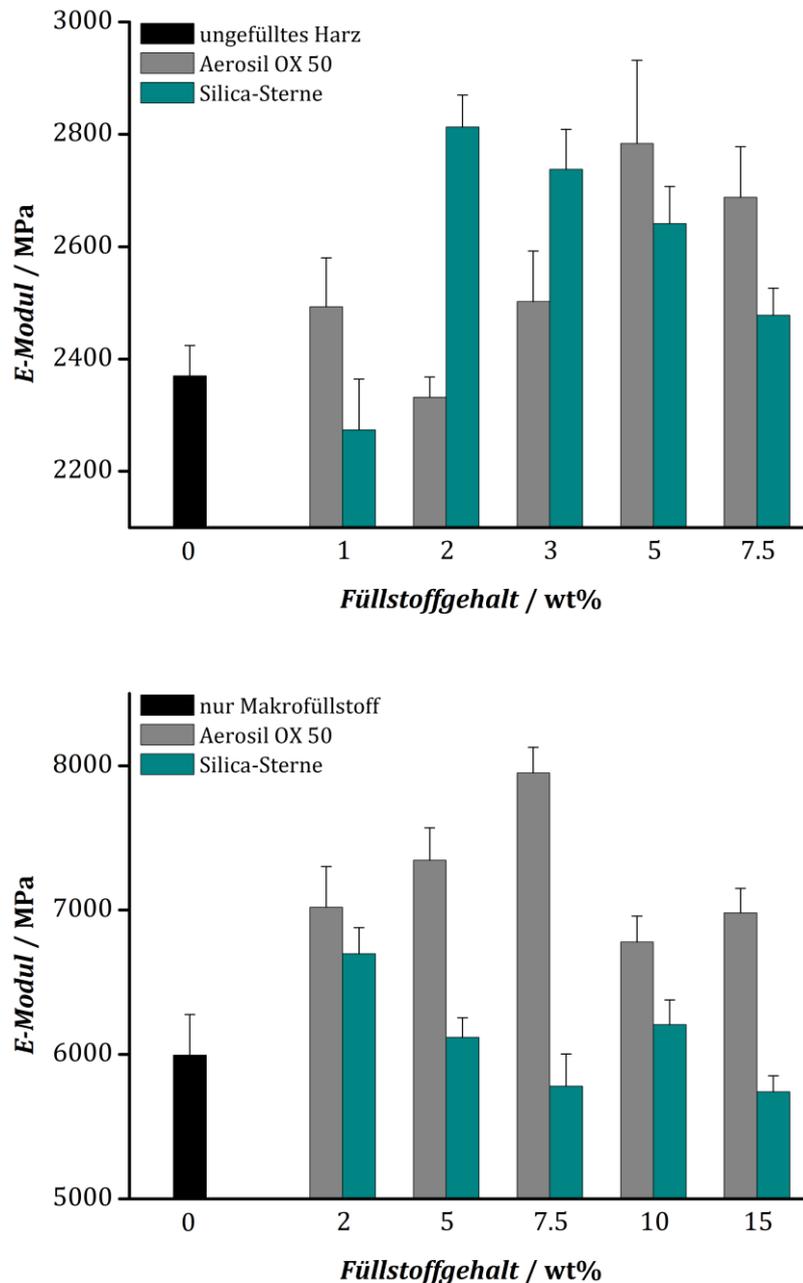


Abb. 90: E -Moduln von Nanokompositen (links) und Hybridkompositen (rechts) mit unterschiedlichen Füllstoffen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Partikelmorphologie einen geringen Einfluss auf die E -Moduln der unterschiedlichen Kompositmaterialien zu haben scheint. Die Modifizierung mit Metharcylyat-Gruppen hingegen führt zu positiven Ergebnissen. Hybridkomposite zeigen lediglich bei geringen Füllstoffgehalten von modifizierten Silica-Fasern und -Sphären bessere E -Modul-Werte als das Referenzsystem. Bei Nanokompositen hingegen zeigen die modifizierten Partikel über den gesamten betrachteten Füllstoffbereich verbesserte Werte. Die anisotrope Morphologie der sternenförmigen

Füllstoffpartikel scheint hingegen auch hier nicht den gewünschten Effekt zu zeigen. Für eine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften sollte die mittlere Partikelgröße weiter verkleinert werden, wie zum Beispiel durch eine längere Ultraschallbehandlung bei geringen Leistungen. Dadurch könnte der Füllstoff homogener verteilt werden, was zu einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften führen könnte.

5.6.4 Füllstoffdispersion

Zur Überprüfung dieser Hypothesen wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Bruchkanten verschiedener Nanokomposite gemacht. Zusätzlich wurde die Füllstoffdispersion mit Hilfe von EDX-Mapping untersucht. Der Materialbereich, der durch den Elektronenstrahl angeregt wird, ist in der Regel größer als die Raumgröße der eingelagerten Silica-Nanopartikel. Deshalb können einzelne Partikel zwar nicht dargestellt werden, größere Partikelagglomerate hingegen werden detektiert.

Abb. 91a-d zeigt repräsentative REM-Aufnahmen von Bruchkanten der unterschiedlichen Komposite mit einem hohen Füllstoffgehalt von 10 wt%. Bei den Kompositmaterialien, die mit dem Referenzfüllstoff Aerosil OX 50 hergestellt wurden, sind keine Partikelagglomerate zu erkennen. Werden modifizierte Silica-Sphären als Füllstoff genutzt, sind eine große Anzahl kleinerer scharf voneinander abgegrenzte Bereiche zu erkennen, die einzeln verteilt vorliegen. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um Partikelagglomerate. Bei Kompositen mit modifizierten Silica-Fasern als Füller sind größere Agglomerate zu beobachten, welche jedoch ebenfalls noch voneinander abgegrenzt vorliegen. Die Verwendung von unmodifizierten Silica-Fasern führt zu sehr großen Agglomerat-Bereichen, die teilweise Kontaktflächen untereinander aufweisen.

Diese Ergebnisse könnten mit den unterschiedlichen Partikeloberflächen erklärt werden. Im Fall von Aerosil OX 50 könnte im Vergleich zu den Partikeln, die durch Sol-Gel-Prozesse hergestellt wurden, eine geringere Konzentration an hydrophilen Silanol-Gruppen auf der Oberfläche vorhanden sein. Aerosil-Partikel werden durch Flammenpyrolyse bei hohen Temperaturen hergestellt, welche zu einer erhöhten Kondensation der Silanol-Gruppen und damit zu weniger hydrophilen Siloxan-Gruppen führen könnte. Dies könnte die gute

Dispersion in der Polymermatrix bedingen. Silica-Partikel mit Methacrylat-Modifizierung scheinen eine mittlere Dispergierbarkeit in der Polymermatrix zu besitzen. Unmodifizierte Partikel hingegen scheinen als große Agglomerate vorzuliegen, was an der hohen Konzentration an hydrophilen Silanol-Gruppen auf der Oberfläche liegen könnte.

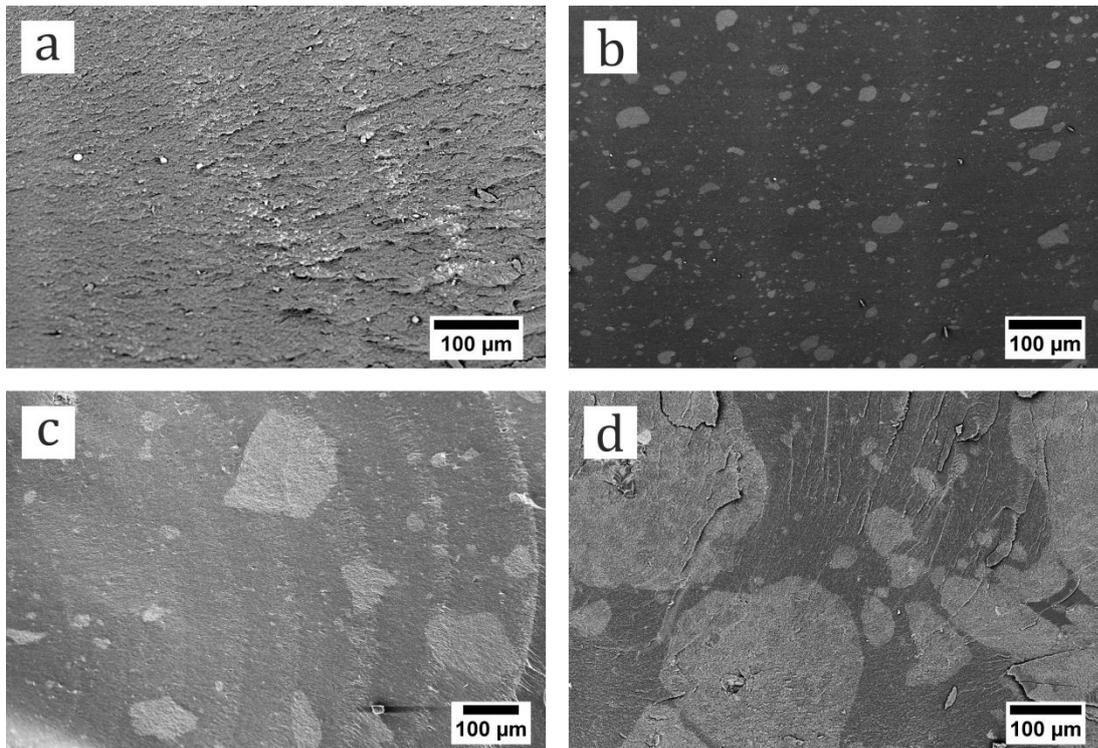


Abb. 91: REM-Aufnahmen von Bruchkanten von Nanokompositen, die mit jeweils 10 wt% Füllstoffgehalt hergestellt wurden: a) Aerosil OX 50, b) modifizierte Silica-Sphären, c) modifizierte Silica-Fasern, d) unmodifizierte Silica-Fasern.

EDX-Aufnahmen (Abb. 92), welche mit einer Beschleunigungsspannung von 10 kV aufgenommen wurden, zeigen eine hohe Konzentration von Silicium und Sauerstoff in diesen Bereichen, was darauf hindeutet, dass es sich hierbei wahrscheinlich um Silica-Partikel handelt, die sich zu Agglomeraten zusammengelagert haben. Eine erhöhte Konzentration von Kohlenstoff wird außerhalb der Bereiche detektiert, was auf die organische Polymermatrix hindeutet.

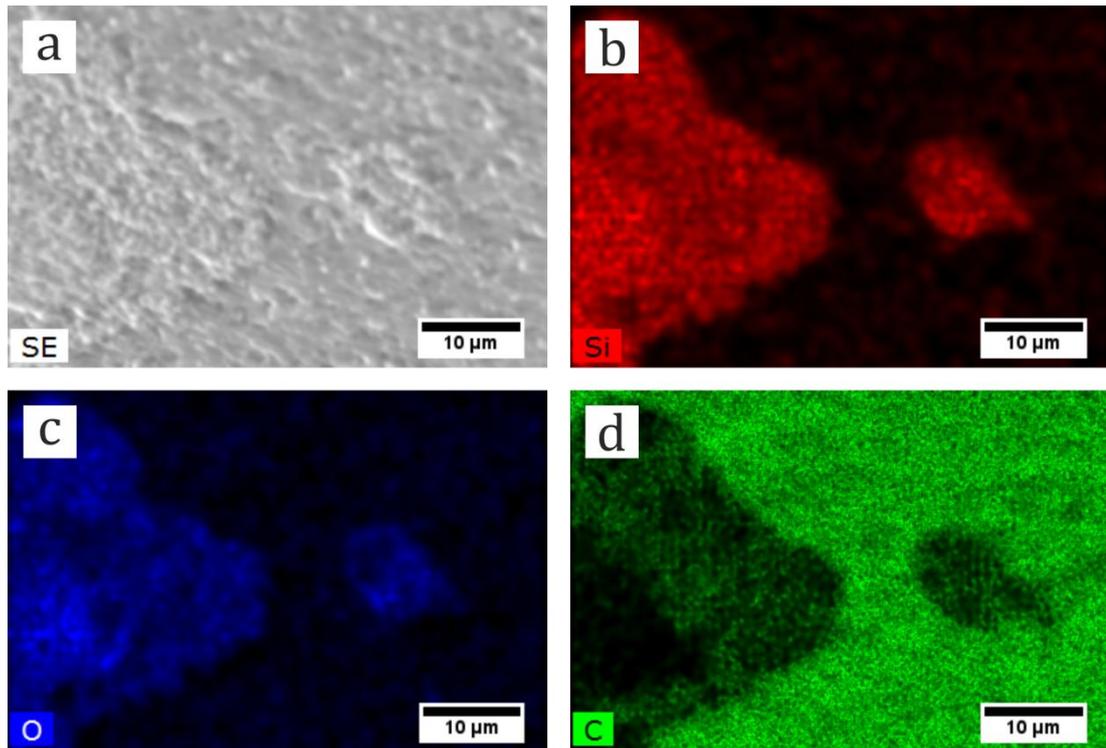


Abb. 92: EDX-Aufnahme der abgegrenzten Bereiche; a) REM-Aufnahme, b) Silicium-Signal, c) Sauerstoff-Signal, d) Kohlenstoff-Signal.

Die Größe der Aggregate korreliert mit der Reduktion der mechanischen Eigenschaften. Eine zunehmende Agglomeration der Silica-Füllstoffe in der Polymermatrix wirkt sich negativ auf die mechanischen Eigenschaften der Kompositmaterialien aus.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Modifizierung der Füllstoffe mit Methacrylat-Gruppen eine entscheidende Verbesserung der Dispergierbarkeit in der organischen Matrix sowie direkte kovalente Bindungen zwischen Silica-Partikeln und Polymer bewirkt. Bei niedrigen Füllstoffgehalten ist eine deutliche Verbesserung der Biegefestigkeiten der Komposite zu erkennen, die mit Silica-Fasern hergestellt wurden, was vermutlich auf Überbrückungseffekte zurückzuführen ist. Bei höheren Füllstoffgehalten bilden sich zunehmend Partikelagglomerate, was zu einer Verschlechterung der mechanischen Eigenschaften führt. Mesoporöse Silica-Nanosphären mit Methacrylat-Modifizierung hingegen weisen eine bessere Dispergierbarkeit auf und bewirken auch noch bei hohen Füllstoffgehalten gute Biegefestigkeitswerte. Hinsichtlich des *E*-Moduls tritt der positive Effekt der anisotropen Füllstoffe in den Hintergrund. Komposite mit modifizierten Partikeln weisen ungeachtet der

Füllstoffmorphologie bessere Werte auf als Komposite mit unmodifizierten Partikeln.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war die Herstellung und Charakterisierung von Silica-Nanopartikeln als Füllstoffe für dentale Kompositmaterialien. Durch die Einlagerung von antimikrobiellen Substanzen in das Porensystem der Füllstoffpartikel sollten diese Komposite mit antibakteriellen Eigenschaften ausgestattet werden, um eine potentielle Biofilmbildung zu reduzieren und daraus folgende Sekundärkaries zu verhindern. Die Oberfläche der Silica-Partikel sollte mit unterschiedlichen Gruppen modifiziert werden, um die eingelagerte Wirkstoffmenge zu erhöhen, die Freisetzungskinetik zu steuern sowie eine bessere Dispergierbarkeit und Vernetzbarkeit in der Kompositmatrix zu erreichen. Ferner sollte ein pH-sensitives *Stimulus-Response*-System entwickelt werden, welches eine reversible Wirkstofffreisetzung ermöglicht. Bei physiologischen, also näherungsweise neutralen, pH-Werten verbleibt der Wirkstoff in den Poren und bildet somit ein Reservoir. Bei niedrigeren pH-Werten, welche beispielsweise während einer Infektion durch bestimmte Bakterien verursacht werden, sollten die eingelagerten Wirkstoffe freigesetzt werden und der Infektionsbekämpfung dienen.

Zur Herstellung der mesoporösen Silica-Nanopartikel (MPSNP) über die Sol-Gel-Route wurde Cetyltrimoniumbromid als strukturdirigierendes Agens genutzt. Es konnten sphärische Silica-Nanopartikel mit einem mittleren Partikeldurchmesser von ca. 40 nm hergestellt werden. Durch die Variation der Syntheseparameter, wie Temperatur, Konzentration, pH-Wert und die Zugabe von 3-Mercaptopropyltrimethoxysilan als co-strukturdirigierendes Agens konnten Silica-Fasern hergestellt werden. Hierbei handelte es sich um hoch anisotrope Nanopartikel mit einem Partikeldurchmesser von 70 bis 100 nm und einer Partikellänge von teilweise mehreren Mikrometern. Sorptionsuntersuchungen zeigten, dass sowohl die sphärischen als auch die faserförmigen Silica-Nanopartikel eine hohe spezifische Oberfläche, ein großes Porenvolumen und mittlere Porendurchmesser im unteren Mesoporenbereich besaßen. Die Silica-Sphären wiesen eine BET-Oberfläche von $730 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, ein Porenvolumen von $0.60 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ und einen mittleren Porendurchmesser von ca. 3.5 nm auf. Im Falle der Silica-Fasern betrug die BET-Oberfläche $980 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, das

Porenvolumen $0.65 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ und der mittlere Porendurchmesser 2.8 nm. Durch den Einsatz von verschiedenen Trimethoxyorganosilanen war es möglich, die Silica-Partikeloberfläche mittels *Postgrafting* erfolgreich mit Methacrylat-, Thiol-, Sulfonsäure- und Amino-Gruppen auszustatten.

Zur Herstellung eines antimikrobiell wirksamen Freisetzungssystems wurden Chlorhexidin-Dihydrochlorid (CHX-Cl) und Chlorhexidin-Digluconat (CHX-Gl) in die jeweiligen Partikel eingelagert. Silica-Nanopartikel, welche mit anionischen Sulfonsäure-Gruppen modifiziert waren, konnten größere Mengen des kationischen Wirkstoffs im Vergleich zu unmodifizierten Partikeln aufnehmen. Zudem erfolgte die Abgabe von Chlorhexidin langsamer. Partikel mit einer kationischen Amino-Modifizierung hingegen zeigten eine geringere Einlagerungsmenge und eine schnelle Wirkstoffabgabe. Methacrylat-modifizierte Silica-Nanopartikel nahmen in etwa vergleichbare Mengen an Wirkstoff wie unmodifizierte Partikel auf. Die Freisetzung erfolgte jedoch langsamer. Somit konnte sowohl die Menge als auch die Freisetzungskinetik von Chlorhexidin aus Silica-Nanopartikeln gezielt durch die Variation der Partikelmodifizierungen gesteuert werden.

In vitro-Untersuchungen zeigten, dass unmodifizierte und sulfonsäure-modifizierte Silica-Nanopartikel keine wesentliche Reduktion der metabolischen Aktivität von humanen Gingivafibroblasten-Zellen verursachten. Lediglich methacrylat-modifizierte Partikel zeigten leicht erniedrigte Werte. Durch die Beladung der Partikel mit CHX-Cl konnte selbst bei hohen Inkubationskonzentrationen keine nennenswerte Reduktion der Zellaktivität nachgewiesen werden. Die eingelagerte Wirkstoffmenge war zu gering. MPSNP, welche mit CHX-Gl beladen wurden, zeigten hingegen eine konzentrationsabhängige Verringerung der metabolischen Zellaktivität sowie eine konzentrationsabhängige Zellmembranschädigung. Die eingelagerte Wirkstoffmenge war hier wesentlich größer, so dass ab einer Partikelkonzentration von ca. $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ eine so große Menge an CHX-Gl freigesetzt wurde, dass cytotoxische Effekte zu beobachten waren.

Des Weiteren wurde die Wirkung der Partikel auf die im oralen Bereich relevanten, pathogenen Bakterien *Streptococcus mutans* und *Staphylococcus aureus* untersucht. Silica-Nanopartikel ohne Wirkstoffeinlagerung zeigten keine antibakterielle Wirkung. Bei Silica-Partikeln mit CHX-Cl-Einlagerung wurde nur

bei sehr hohen Partikelkonzentrationen eine antibakterielle Wirkung festgestellt, was auf die geringe eingelagerte Wirkstoffmenge zurückzuführen ist. Partikel mit dem Wirkstoff CHX-GI zeigten hingegen eine konzentrationsabhängige Wirksamkeit gegen *S. mutans* und *S. aureus*. Durch die im Vergleich zu CHX-Cl höhere eingelagerte Menge an CHX-GI reichen hier bereits geringere Konzentrationen an Partikeln aus, um eine therapeutisch wirksame Menge an CHX-GI abzugeben. Es konnte ein therapeutisches Fenster bei Inkubationskonzentrationen von 20 bis 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ermittelt werden, in dem eine antibakterielle Wirksamkeit vorhanden war, aber noch keine cytotoxischen Effekte gegenüber Gingivafibroblasten auftraten. Eine ausreichende Wirksamkeit gegenüber bestehenden Biofilmen konnte in diesem Konzentrationsbereich nicht erreicht werden, jedoch wurde die Bildung von bakteriellen Biofilmen nahezu vollständig inhibiert.

Auch nach der Einbringung von Silica-Nanopartikeln, welche mit CHX-GI beladen waren, in die Polymermatrix von dentalen Kompositmaterialien war eine Freisetzung des Wirkstoffs nachweisbar. Hierbei wiesen Nanokomposite, welche lediglich Nanofüllstoffe enthielten, und Hybridkomposite, welche zusätzlich mit Makrofüllstoffen gefüllt waren, keine wesentlichen Unterschiede auf. Im Vergleich zu dispergierten Silica-Partikeln war jedoch eine verringerte Freisetzungsgeschwindigkeit aus den Kompositmaterialien zu beobachten. Die umgebende Polymermatrix wirkt hierbei als eine Diffusionsbarriere bei der Freisetzung des Wirkstoffs aus den Partikeln. Die Abgabe an das umgebende Medium erfolgt somit verzögert, was insbesondere im Bezug auf eine Langzeitanwendung von Interesse ist. Die antibakteriellen Eigenschaften dieser Komposite konnten aufgrund einer starken Autofluoreszenz der Materialien nur bedingt ausgewertet werden, jedoch wurde bereits bei geringen Füllstoffgehalten eine antimikrobielle Wirkung gegenüber Bakterien beobachtet. Es müssen jedoch noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden. Zudem ist eine Charakterisierung der Komposite bezüglich cytotoxischer Wirkung auf humane Zellen notwendig. Um den Gehalt an Chlorhexidin in den MPSNP zu erhöhen, könnte eine selektive Modifizierung der inneren Porenoberfläche mit Sulfonsäure-Gruppen erfolgen. Die äußere Partikeloberfläche hingegen könnte mit Methacrylat-Gruppen modifiziert

werden, um eine ausreichende Dispergierbarkeit und Vernetzung mit der Polymermatrix zu ermöglichen.

Zur Herstellung eines pH-sensitiven Stimulus-Response-Systems wurde unter Verwendung von BMPM, einem Bismaleimid-Linker, Polyvinylpyridin (PVP) mit unterschiedlichen Molmassen an amino-modifizierte Silica-Nanopartikel gebunden. Zeta-Potential-Analysen zeigten, dass der isoelektrische Punkt dieser PVP-modifizierten Partikel im Bereich von ca. pH 7-8 liegt. Bei physiologischen Bedingungen sollten die Polymerstränge daher die Porenöffnungen verschließen. Bei der Verringerung des pH-Wertes wurden die Polymerstränge in zunehmendem Maße protoniert. Durch die repulsiven Wechselwirkungen der positiv geladenen Pyridinium-Gruppen richteten sich die Polymerstränge auf und gaben die Porenöffnungen frei.

Durch Inkubation in einer angesäuerten Wirkstofflösung konnte Chlorhexidin erfolgreich in die Partikel eingelagert werden. Die Verwendung von Chlorhexidin-Gluconat und Gluconsäure als Protonendonator führte zu einer höheren Menge an eingelagertem Wirkstoff als der Einsatz von Salzsäure und Chlorhexidin-Dihydrochlorid. Die molare Masse des Polymers hat hingegen keine Auswirkungen auf die eingelagerte Wirkstoffmenge. Bei der Einlagerung von CHX-Cl zeigte sich eine klare pH-Abhängigkeit der Freisetzung. Bei einem pH-Wert von 4 wurde eine etwa viermal so große Wirkstoffmenge im betrachteten Zeitraum abgeben, als bei einem pH-Wert von 7.4. Ein ähnliches Verhalten wurde bei Partikeln mit CHX-Gl-Beladung beobachtet, wobei bereits zu Beginn der Freisetzung ein Großteil des Wirkstoffs durch einen *initial burst release* abgegeben wurde. Durch die im Vergleich zu CHX-Cl hohe Konzentration an CHX-Gl in der Inkubationslösung kommt es hier wahrscheinlich zu einer vermehrten Adsorption des Wirkstoffs an die äußere Polymerschicht auf der Partikeloberfläche. Obgleich die insgesamt freigesetzte Menge bei niedrigeren pH-Werten ansteigt, ist der Unterschied weniger stark ausgeprägt, als bei der Beladung mit CHX-Cl, was auf die zusätzliche, oberflächlich adsorbierte Wirkstoffmenge zurückzuführen sein könnte. Durch zusätzliche Waschschrte in einem Medium mit einem neutralen pH-Wert, wie zum Beispiel PBS, könnte zusätzliches CHX-Gl von der Partikeloberfläche entfernt werden, ohne Wirkstoff aus den Poren freizusetzen.

Durch den sequentiellen Wechsel von Freisetzungsmethoden mit unterschiedlichen pH-Werten konnte gezeigt werden, dass die pH-sensitive Freisetzung reversibel erfolgt. Nach Inkubation in einem neutralen Medium wurde eine geringere Menge an Chlorhexidin freigesetzt als nach Inkubation in einem sauren Medium. Somit wurde erfolgreich ein pH-sensitives *Stimulus-Response*-System entwickelt, das im Stande ist, den Wirkstoff Chlorhexidin reversibel abzugeben.

In vitro-Untersuchungen zeigten, dass PVP-modifizierte Silica-Nanopartikel keine Hemmung der metabolischen Aktivität von *S. mutans* und *S. aureus* verursachen. Durch die Beladung dieser Partikel mit CHX-Gl ließ sich jedoch eine vollständige Aktivitätshemmung schon bei neutralen pH-Werten beobachten. Auch nach mehreren Waschschritten trat dieser Effekt auf. Ob diese Aktivitätshemmung auf Restmengen von oberflächlich adsorbiertem Wirkstoff oder auf der ungewollten Freisetzung von CHX-Gl aus den Poren zurückzuführen ist, bedarf weiterer Untersuchungen.

Eine genauere Einstellung des pH-Wertes, der zur Protonierung der Polymerstränge benötigt wird, könnte über unterschiedliche Substituenten erfolgen. Dadurch wäre eine Veränderung der pK_B -Werte möglich, so dass der Übergangsbereich vom deprotonierten bzw. verschlossenen in den protonierten bzw. geöffneten Zustand gezielt variiert werden könnte.

Da eine höhere Freisetzung bei niedrigeren pH-Werten erfolgte, ist eine Anwendung der PVP-modifizierten Silica-Nanopartikel als Kompositfüllstoff eher nicht zu empfehlen, da eine pH-Wert-Absenkung innerhalb der Polymermatrix verzögert oder nur unzureichend erfolgen könnte. Die ausreichende Beweglichkeit der PVP-Stränge ist ebenfalls fraglich. Als Implantatbeschichtung mit direktem Gewebekontakt könnte das *Stimulus-Response*-System hingegen eine ausreichende pH-Wert-Erniedrigung erfahren, um eine hinreichende Wirkstoffmenge freizusetzen. Hierzu sind jedoch weitere Untersuchungen nötig.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war eine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften der Kompositmaterialien durch den Einsatz von anisotropen Füllstoffen. Dabei sollten sowohl *bottom-up*-Prozesse als auch *top-down*-Prozesse genutzt werden.

Durch die Verwendung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln mit faserförmigen und sphärischen Morphologien als Füllstoffe konnten die mechanischen Eigenschaften von Kompositmaterialien verbessert werden. Anisotrope Silica-Fasern führten bei niedrigen Füllstoffgehalten zu einer Erhöhung der Biegefestigkeitswerte im Vergleich zu sphärischen Füllstoffen. Ein essentieller Faktor war dabei die Modifizierung der unterschiedlichen Silica-Nanopartikeln mit polymerisierbaren Methacrylat-Gruppen. Dadurch wurde die Viskosität der Monomer-Füller-Mischung verringert, was zu einer verbesserten Handhabung führte und höhere Füllstoffgehalte erlaubte. Eine erhöhte Dispergierbarkeit der Füllstoffe innerhalb der Kompositmatrix konnte beobachtet werden. Die Komposite mit modifizierten Silica-Füllstoffen zeigten bei höheren Füllstoffgehalten verbesserte Biegefestigkeitswerte verglichen mit unmodifizierten Partikeln. Mesoporöse Silica-Sphären mit Methacrylat-Modifizierung zeigten sogar über nahezu den gesamten betrachteten Füllstoffbereich bessere Biegefestigkeitswerte als das Referenzsystem aus dichten Silica-Sphären ohne Modifizierung.

Hinsichtlich des *E*-Moduls konnte kein verstärkender Effekt der anisotropen Silica-Fasern nachgewiesen werden. Durch die Modifizierung mit Methacrylat-Gruppen konnte jedoch eine deutliche Verbesserung der *E*-Modul-Werte der jeweiligen Komposite im Vergleich zu unmodifizierten Silica-Partikeln erreicht werden.

Die Herstellung von inversen Silica-Opal-Strukturen über Polymertemplate war ebenfalls erfolgreich. Die Zerkleinerung mittels Vermahlung in einer Planetenkugelmühle lieferte eine inhomogene Größenverteilung und eine teilweise erhebliche Zerstörung der Struktur. Durch die Behandlung mit Ultraschall bei niedrigen Leistungswerten konnte hingegen eine schonendere Methode mit einer höheren Ausbeute etabliert werden. Es wurden hoch anisotrope Silica-Nanopartikel erhalten, die eine „sternenförmige“ Morphologie besaßen, zum Teil jedoch noch in der ursprünglichen Struktur vorlagen. Durch die Einbringung dieser zerkleinerten Partikel in Kompositmaterialien wurde jedoch keine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften erreicht. Eine weitere Zerkleinerung der inversen Silica-Strukturen mittels längerer Ultraschallbehandlungsdauer bei geringeren Leistungen könnte hingegen zu einer homogenen Partikelgestalt und somit zu besseren mechanischen

Eigenschaften der jeweiligen Kompositen führen. Eine weitere Möglichkeit, die Dispersion der Füllstoffe innerhalb der Matrix und damit auch die mechanischen Werte zu verbessern, könnte die Verwendung von mechanischen Mischern sein, welche auch industriell zur Herstellung von Kompositmaterialien genutzt werden.

7 Literatur

- [1] R. H. Selwitz, A. I. Ismail, N. B. Pitts, *Lancet* **2007**, *369*, 51–59.
- [2] *Implantatversorgung – Die Rolle Der DGI in Wissenschaft Und Praxis, Presse-Mitteilung Der Deutschen Gesellschaft Für Implantologie*, **2010**.
- [3] M. Kömpf, *SCHOTT Solut.* **2007**, *2*, 16–18.
- [4] M. Tian, Y. Gao, Y. Liu, Y. Liao, N. E. Hedin, H. Fong, *Dent. Mater.* **2008**, *24*, 235–243.
- [5] J. W. Nicholson, *The Chemistry of Medical and Dental Materials*, The Royal Society Of Chemistry, Cambridge, **2002**.
- [6] R. G. Craig, J. M. Powers, J. C. Wataha, *Zahnärztliche Werkstoffe*, Elsevier, München, **2006**.
- [7] G. Schmalz, D. Arenholt-Bindslev, *Biokompatibilität Zahnärztlicher Werkstoffe*, Elsevier, München, **2005**.
- [8] N. Moszner, U. Salz, *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 535–576.
- [9] K. D. Jandt, B. W. Sigusch, *Dent. Mater.* **2009**, *25*, 1001–1006.
- [10] M.-H. Chen, *J. Dent. Res.* **2010**, *89*, 549–560.
- [11] I. M. Barszczewska-Rybarek, *Dent. Mater.* **2009**, *25*, 1082–1089.
- [12] N. Ilie, R. Hickel, K. Kunzelmann, *Dtsch. Zahnärztl. Z.* **2005**, *60*, 321–334.
- [13] A. Faltermeier, in *Medizintechnik Life Sci. Eng.* (Eds.: E. Wintermantel, S.-W. Ha), Springer, Berlin, Heidelberg, **2008**, pp. 1467–1489.
- [14] S. Klapdohr, N. Moszner, *Monatshefte für Chemie - Chem. Mon.* **2004**, *136*, 21–45.
- [15] M. M. Karabela, I. D. Sideridou, *Dent. Mater.* **2011**, *27*, 825–835.
- [16] R. Marxkors, H. Meiners, *Taschenbuch Der Zahnärztlichen Werkstoffkunde*, Carl Hanser Verlag, München, Wien, **1993**.
- [17] “Bilder Teilprojekt D12 - Dentale Keramiken und Komposite, SFB 599,” can be found under http://sfb599.de/index.php?id=forschung_d12_bilder, **2014**.
- [18] C. G. Jones, *Periodontol. 2000* **1997**, *15*, 55–62.
- [19] D. Leung, D. A. Spratt, J. Pratten, K. Gulabivala, N. J. Mordan, A. M. Young, *Biomaterials* **2005**, *26*, 7145–7153.

- [20] M. R. Carrilho, R. M. Carvalho, E. N. Sousa, J. Nicolau, L. Breschi, A. Mazzoni, L. Tjäderhane, F. R. Tay, K. Agee, D. H. Pashley, *Dent. Mater.* **2010**, *26*, 779–785.
- [21] R. Liu, P. Liao, J. Liu, P. Feng, *Langmuir* **2011**, 3095–3099.
- [22] L. Zhang, Y. Gao, Q. Chen, M. Tian, H. Fong, *J. Mater. Sci.* **2010**, *45*, 2521–2524.
- [23] V. Ravindranath, M. Gosz, E. De Santiago, J. L. Drummond, S. Mostovoy, *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* **2007**, *80*, 226–235.
- [24] T. J. Brunner, P. Wick, P. Manser, P. Spohn, R. N. Grass, L. K. Limbach, A. Bruinink, W. J. Stark, *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 4374–4381.
- [25] F. Tang, L. Li, D. Chen, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 1504–1534.
- [26] O.V., *Therapy* **2011**, *8*, 157–160.
- [27] T. Asefa, Z. Tao, *Chem. Res. Toxicol.* **2012**, *25*, 2265–2284.
- [28] Q. He, Z. Zhang, F. Gao, Y. Li, J. Shi, *Small* **2011**, *7*, 271–280.
- [29] J. Lu, M. Liong, Z. Li, J. I. Zink, F. Tamanoi, *Small* **2010**, *6*, 1794–1805.
- [30] E. C. Dengler, J. Liu, A. Kerwin, S. Torres, C. M. Olcott, B. N. Bowman, L. Armijo, K. Gentry, J. Wilkerson, J. Wallace, et al., *J. Control. Release* **2013**, *168*, 209–24.
- [31] F. Rambaud, K. Vallé, S. Thibaud, B. Julián-López, C. Sanchez, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 2896–2905.
- [32] S. Sowmya, J. D. Bumgardener, K. P. Chennazhi, S. V. Nair, R. Jayakumar, *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 1748–1772.
- [33] J. S. Nield-Gehrig, D. E. Willmann, in *Found. Periodontics Dent. Hyg.*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, **2003**, pp. 67–73.
- [34] E. Verraedt, A. Braem, A. Chaudhari, K. Thevissen, E. Adams, L. Van Mellaert, B. P. a Cammue, J. Duyck, J. Anné, J. Vleugels, et al., *Int. J. Pharm.* **2011**, *419*, 28–32.
- [35] M. T. Madigan, J. M. Martinko, *Brock Mikrobiologie*, Addison-Wesley Verlag, **2009**.
- [36] A. Lee, H.-L. Wang, *Implant Dent.* **2010**, *19*, 387–393.
- [37] A. Kovtun, D. Kozlova, K. Ganesan, C. Biewald, N. Seipold, P. Gaengler, W. H. Arnold, M. Epple, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 870–875.

- [38] A. U. J. Yap, H. K. Lee, R. Sabapathy, *Dent. Mater.* **2000**, *16*, 172–179.
- [39] J. Durner, B. Glasl, J. Zaspel, K. H. Kunzelmann, R. Hickel, F. X. Reichl, *Dent. Mater.* **2010**, *26*, e197–204.
- [40] A. Franz, F. König, M. Anglmayer, X. Rausch-Fan, G. Gille, W.-D. Rausch, T. Lucas, W. Sperr, A. Schedle, *Dent. Mater.* **2003**, *19*, 382–392.
- [41] L. Shajii, J. Paul Santerre, *Biomaterials* **1999**, *20*, 1897–1908.
- [42] B. W. Sigusch, A. Völpel, I. Braun, A. Uhl, K. D. Jandt, *Dent. Mater.* **2007**, *23*, 1342–1348.
- [43] M. Jurczyk, *Bionanomaterials for Dental Applications*, Pan Stanford Publishing, Singapore, **2013**.
- [44] M. Irie, K. Suzuki, D. . Watts, *Dent. Mater.* **2002**, *18*, 203–210.
- [45] M. M. Karabela, I. D. Sideridou, *Dent. Mater.* **2008**, *24*, 1631–16319.
- [46] T. Nihei, A. Dabanoglu, T. Teranaka, S. Kurata, K. Ohashi, Y. Kondo, N. Yoshino, R. Hickel, K.-H. Kunzelmann, *Dent. Mater.* **2008**, *24*, 760–764.
- [47] G. Willems, P. Lambrechts, M. Braem, J. P. Celis, G. Vanherle, *Dent. Mater.* **1992**, *8*, 310–319.
- [48] D. J. Callaghan, A. Vaziri, H. Nayeb-Hashemi, *Dent. Mater.* **2006**, *22*, 84–93.
- [49] C. C. M. van Heumen, C. M. Kreulen, E. M. Bronkhorst, E. Lesaffre, N. H. J. Creugers, *Dent. Mater.* **2008**, *24*, 1435–1443.
- [50] S. R. Dyer, J. A. Sorensen, L. V. J. Lassila, P. K. Vallittu, *Dent. Mater.* **2005**, *21*, 1104–1110.
- [51] W. R. Krause, S. H. Park, R. A. Straup, *J. Biomed. Mater. Res.* **1989**, *23*, 1195–1211.
- [52] A. Tezvergil, L. V. J. Lassila, P. K. Vallittu, *Dent. Mater.* **2006**, *22*, 610–616.
- [53] K. F. Leinfelder, S. C. Bayne, E. J. Swift, *J. Esthet. Dent.* **1999**, *11*, 234–249.
- [54] H. C. W. Skinner, M. Ross, C. Frondel, *Asbestos and Other Fibrous Materials*, Oxford University Press, New York, **1988**.
- [55] H. Chen, J. Zhao, *Adsorption* **2009**, *15*, 381–389.
- [56] R. Bégin, S. Massé, M. Rola-Pleszczynski, M. Geoffroy, M. Martel, Y. Desmarais, P. Sébastien, *Environ. Res.* **1987**, *42*, 328–339.

- [57] M. Perderiset, L. S. Etienne, J. Bignon, M. C. Jaurand, *Toxicol. Lett.* **1989**, *47*, 303–309.
- [58] R. P. F. Schins, *Inhal. Toxicol.* **2002**, *14*, 57–78.
- [59] X. Huang, L. Li, T. Liu, N. Hao, H. Liu, D. Chen, F. Tang, *ACS Nano* **2011**, *5*, 5390–9.
- [60] X. Huang, X. Teng, D. Chen, F. Tang, J. He, *Biomaterials* **2010**, *31*, 438–448.
- [61] N. Buchtová, G. Réthoré, C. Boyer, J. Guicheux, F. Rambaud, K. Vallé, P. Belleville, C. Sanchez, O. Chauvet, P. Weiss, et al., *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2013**, *24*, 1875–1884.
- [62] B. G. Trewyn, J. A. Nieweg, Y. Zhao, V. S.-Y. Lin, *Chem. Eng. J.* **2008**, *137*, 23–29.
- [63] H. Lüthy, C. P. Marinello, W. Höland, in *Medizintechnik Life Sci. Eng.* (Eds.: E. Wintermantel, S.-W. Ha), Springer, Berlin, Heidelberg, **2008**.
- [64] DIN EN ISO 4049:2010-03, Zahnheilkunde - Polymerbasierende Restaurationsmaterialien (ISO 4049:2009), **2010**.
- [65] C. Kresge, M. Leonowicz, W. Roth, J. Vartuli, J. Beck, *Nature* **1992**, *359*, 710–712.
- [66] T. Yanagisawa, T. Shimizu, K. Kuroda, C. Kato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, *63*, 988–992.
- [67] G. Kickelbick, *Small* **2005**, *1*, 168–170.
- [68] J. Rouquerol, D. Avnir, C. W. Fairbridge, D. H. Everett, J. M. Haynes, N. Pernicone, J. D. F. Ramsay, K. S. W. Sing, K. K. Unger, *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 1739–1758.
- [69] P. T. Tanev, T. J. Pinnavaia, *Science* **1995**, *267*, 865–867.
- [70] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Fröba, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *118*, 3290–3328.
- [71] C. J. Brinker, Y. Lu, A. Sellinger, H. Fan, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 579–585.
- [72] Z. Li, J. C. Barnes, A. Bosoy, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2590–2605.
- [73] M.-H. Kim, H.-K. Na, Y.-K. Kim, S.-R. Ryoo, H. S. Cho, K. E. Lee, H. Jeon, R. Ryoo, D.-H. Min, *ACS Nano* **2011**, *5*, 3568–3576.
- [74] M. Grün, K. K. Unger, A. Matsumoto, K. Tsutsumi, *Microporous Mesoporous Mater.* **1999**, *27*, 207–216.

- [75] C. E. Fowler, D. Khushalani, B. Lebeau, S. Mann, *Adv. Mater.* **2001**, *13*, 649–652.
- [76] S. Sadasivan, D. Khushalani, S. Mann, *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 1023–1029.
- [77] Q. Cai, Z. Luo, W. Pang, Y. Fan, X. Chen, F. Cui, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 258–263.
- [78] K. Suzuki, K. Ikari, H. Imai, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 462–263.
- [79] J. Kobler, K. Möller, T. Bein, *ACS Nano* **2008**, *2*, 791–799.
- [80] Z.-A. Qiao, L. Zhang, M. Guo, Y. Liu, Q. Huo, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 3823–3829.
- [81] J. Wang, C. Tsung, R. C. Hayward, Y. Wu, G. D. Stucky, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *44*, 332–336.
- [82] S. Huh, J. W. Wiench, J. Yoo, M. Pruski, V. S.-Y. Lin, *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 4247–4256.
- [83] T. Delclos, C. Aimé, E. Pouget, A. Brizard, I. Huc, M.-H. Delville, R. Oda, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 1929–1935.
- [84] L. Yang, P. Zou, C. Pan, *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 1843–1849.
- [85] S.-Y. Chen, C.-Y. Tang, W.-T. Chuang, J.-J. Lee, Y.-L. Tsai, J. C. C. Chan, C.-Y. Lin, Y.-C. Liu, S. Cheng, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 3906–3916.
- [86] N. Nuraje, K. Su, H. Matsui, *New J. Chem.* **2007**, *31*, 1895.
- [87] R. Atluri, Z. Bacsik, N. Hedin, A. E. Garcia-Bennett, *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, *133*, 27–35.
- [88] P. Schmidt-Winkel, W. W. Lukens, P. Yang, D. I. Margolese, J. S. Lettow, J. Y. Ying, G. D. Stucky, *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 686–696.
- [89] H. Zhao, Y. Li, R. Liu, F. Zhao, Y. Hu, *Mater. Lett.* **2008**, *62*, 3401–3403.
- [90] T. Sen, G. J. T. Tiddy, J. L. Casci, M. W. Anderson, *Microporous Mesoporous Mater.* **2005**, *78*, 255–263.
- [91] S. Yang, L. Zhao, C. Yu, X. Zhou, J. Tang, P. Yuan, D. Chen, D. Zhao, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10460–10466.
- [92] A. Vinu, K. Z. Hossain, K. Ariga, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2005**, *5*, 347–371.
- [93] N. H. N. Kamarudin, A. A. Jalil, S. Triwahyono, N. F. M. Salleh, A. H. Karim, R. R. Mukti, B. H. Hameed, A. Ahmad, *Microporous Mesoporous Mater.* **2013**, *180*, 235–241.

- [94] D. K. Schwartz, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2001**, *52*, 107–137.
- [95] T. Vallant, H. Brunner, U. Mayer, H. Hoffmann, T. Leitner, R. Resch, G. Friedbacher, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 7190–7197.
- [96] J. A. Howarter, J. P. Youngblood, *Langmuir* **2006**, *22*, 11142–11147.
- [97] M. E. McGovern, K. M. R. Kallury, M. Thompson, *Langmuir* **1994**, *10*, 3607–3614.
- [98] F. de Juan, E. Ruiz-Hitzky, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 430–432.
- [99] J. M. Rosenholm, A. Duchanoy, M. Lindén, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 1126–1133.
- [100] C. Hom, J. Lu, M. Liong, H. Luo, Z. Li, J. I. Zink, F. Tamanoi, *Small* **2010**, *6*, 1185–1190.
- [101] M. Vallet-Regi, A. Rámila, R. P. del Real, J. Pérez-Pariante, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 308–311.
- [102] T. Limnell, H. A. Santos, E. Mäkilä, T. Heikkilä, J. Salonen, D. Y. Murzin, N. Kumar, T. Laaksonen, L. Peltonen, J. Hirvonen, *J. Pharm. Sci.* **2011**, *100*, 3294–3306.
- [103] Q. He, J. Shi, F. Chen, M. Zhu, L. Zhang, *Biomaterials* **2010**, *31*, 3335–3346.
- [104] B. Díaz, C. Sánchez-Espinel, M. Arruebo, J. Faro, E. de Miguel, S. Magadán, C. Yagüe, R. Fernández-Pacheco, M. R. Ibarra, J. Santamaría, et al., *Small* **2008**, *4*, 2025–2034.
- [105] V. Cauda, C. Argyo, T. Bein, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 8693–8699.
- [106] V. Cauda, A. Schlossbauer, T. Bein, *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, *132*, 60–71.
- [107] Y.-S. Lin, N. Abadeer, C. L. Haynes, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 532–534.
- [108] J. Lu, M. Liong, J. I. Zink, F. Tamanoi, *Small* **2007**, *3*, 1341–1346.
- [109] V. Cebrián, C. Yagüe, M. Arruebo, F. M. Martín-Saavedra, J. Santamaría, N. Vilaboa, *J. Nanoparticle Res.* **2011**, *13*, 4097–4108.
- [110] F. M. Muggia, *Clin. Cancer Res.* **1999**, *5*, 7–8.
- [111] M.-C. Estévez, M. B. O'Donoghue, X. Chen, W. Tan, *Nano Res.* **2010**, *2*, 448–461.

- [112] C. E. Ashley, E. C. Carnes, G. K. Phillips, D. Padilla, P. N. Durfee, P. A. Brown, T. N. Hanna, J. Liu, B. Phillips, M. B. Carter, et al., *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 389–397.
- [113] J. M. Rosenholm, E. Peuhu, L. T. Bate-Eya, J. E. Eriksson, C. Sahlgren, M. Lindén, *Small* **2010**, *6*, 1234–1241.
- [114] M. Benezra, O. Penate-Medina, P. B. Zanzonico, D. Schaer, H. Ow, A. Burns, E. DeStanchina, V. Longo, E. Herz, S. Iyer, et al., *J. Clin. Invest.* **2011**, *121*, 2768–2780.
- [115] D. S. Karaman, D. Desai, R. Senthilkumar, E. M. Johansson, N. Rått, M. Odén, J. E. Eriksson, C. Sahlgren, D. M. Toivola, J. M. Rosenholm, *Nanoscale Res. Lett.* **2012**, *7*, 358–372.
- [116] C. Gaillard, P. Adumeau, J.-L. Canet, A. Gautier, D. Boyer, C. Beaudoin, C. Hesling, L. Morel, R. Mahiou, *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 4306–4312.
- [117] Q. Zhang, X. Wang, P.-Z. Li, K. T. Nguyen, X.-J. Wang, Z. Luo, H. Zhang, N. S. Tan, Y. Zhao, *Adv. Funct. Mater.* **2014**, *24*, 2450–2461.
- [118] Z. Tao, B. Toms, J. Goodisman, T. Asefa, *ACS Nano* **2010**, *4*, 789–794.
- [119] Y. Hu, J. Wang, Z. Zhi, T. Jiang, S. Wang, *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *363*, 410–417.
- [120] C. Weiping, Z. Lide, *J. Phys. Condens. Matter* **1997**, *9*, 7257–7267.
- [121] M. Rai, A. Yadav, A. Gade, *Biotechnol. Adv.* **2009**, *27*, 76–83.
- [122] D. R. Radu, C.-Y. Lai, K. Jeftinija, E. W. Rowe, S. Jeftinija, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13216–13217.
- [123] T. Xia, M. Kovoichich, M. Liong, H. Meng, S. Kabehie, S. George, J. I. Zink, A. E. Nel, *ACS Nano* **2009**, *3*, 3273–3286.
- [124] T.-H. Kim, M. Kim, M. Eltohamy, Y.-R. Yun, J.-H. Jang, H.-W. Kim, *J. Biomed. Mater. Res. A* **2013**, *101*, 1651–1660.
- [125] C. Yagüe, M. Moros, V. Grazú, M. Arruebo, J. Santamaría, *Chem. Eng. J.* **2008**, *137*, 45–53.
- [126] A. Neumann, A. Christel, C. Kasper, P. Behrens, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 24222–24232.
- [127] V. Cauda, L. Mühlstein, B. Onida, T. Bein, *Microporous Mesoporous Mater.* **2009**, *118*, 435–442.
- [128] C.-H. Lee, L.-W. Lo, C.-Y. Mou, C.-S. Yang, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 3283–3292.

- [129] N. Ehlert, M. Badar, A. Christel, S. J. Lohmeier, T. Lüßenhop, M. Stieve, T. Lenarz, P. P. Müller, P. Behrens, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 752–760.
- [130] B. Chang, J. Guo, C. Liu, J. Qian, W. Yang, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 9941–9947.
- [131] J. Anderson, J. Rosenholm, M. Linden, in *Top. Multifunct. Biomater. Devices* (Ed.: N. Ashammakhi), **2008**.
- [132] M. Vallet-Regí, F. Balas, D. Arcos, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7548–7558.
- [133] S. Chen, I. Darby, *Aust. Dent. J.* **2003**, *48*, 212–220.
- [134] M. W. Ambrogio, C. R. Thomas, Y.-L. Zhao, J. I. Zink, J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44*, 903–913.
- [135] S. Angelos, M. Liong, E. Choi, J. I. Zink, *Chem. Eng. J.* **2008**, *137*, 4–13.
- [136] Y.-W. Yang, *Medchemcomm* **2011**, *2*, 1033–1049.
- [137] M. R. Aguilar, C. Elvira, A. Gallardo, B. Vázquez, J. S. Román, in *Top. Tissue Eng. Vol.3* (Eds.: N. Ashammakhi, R. Reis, E. Chiellini), **2007**.
- [138] J. F. Mano, *Adv. Eng. Mater.* **2008**, *10*, 515–527.
- [139] J.-H. Xu, F.-P. Gao, L.-L. Li, H. L. Ma, Y.-S. Fan, W. Liu, S.-S. Guo, X.-Z. Zhao, H. Wang, *Microporous Mesoporous Mater.* **2013**, *182*, 165–172.
- [140] C.-H. Lee, S.-H. Cheng, I.-P. Huang, J. S. Souris, C.-S. Yang, C.-Y. Mou, L.-W. Lo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *122*, 8390–8395.
- [141] Y. Zhao, B. G. Trewyn, I. I. Slowing, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8398–8400.
- [142] E. Aznar, R. Villalonga, C. Giménez, F. Sancenón, M. D. Marcos, R. Martínez-Máñez, P. Díez, J. M. Pingarrón, P. Amorós, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 6391–6393.
- [143] T. Miyata, N. Asami, T. Uragami, *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2009**, *47*, 2144–2157.
- [144] X. Chen, X. Cheng, A. H. Soeriyadi, S. M. Sagnella, X. Lu, J. A. Scott, S. B. Lowe, M. Kavallaris, J. J. Gooding, *Biomater. Sci.* **2014**, *2*, 121–130.
- [145] J. L. Vivero-Escoto, I. I. Slowing, C.-W. Wu, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3462–2463.
- [146] Q. Gan, X. Lu, Y. Yuan, J. Qian, H. Zhou, X. Lu, J. Shi, C. Liu, *Biomaterials* **2011**, *32*, 1932–1942.

- [147] X. F. Zhang, S. Mansouri, L. Clime, H. Q. Ly, L. 'H. Yahia, T. Veres, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 14450–14457.
- [148] A. Schlossbauer, C. Dohmen, D. Schaffert, E. Wagner, T. Bein, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6828–6830.
- [149] Z. Luo, K. Cai, Y. Hu, B. Zhang, D. Xu, *Adv. Healthc. Mater.* **2012**, *1*, 321–325.
- [150] I. Schomburg, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *121*, 4719–4738.
- [151] C. Park, K. Oh, S. C. Lee, C. Kim, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1455–1457.
- [152] L. Du, S. Liao, H. A. Khatib, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15136–15142.
- [153] H. Meng, M. Xue, T. Xia, Y.-L. Zhao, F. Tamanoi, J. F. Stoddart, J. I. Zink, A. E. Nel, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12690–12697.
- [154] S. Angelos, Y.-W. Yang, K. Patel, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2222–2226.
- [155] S. Angelos, N. M. Khashab, Y.-W. Yang, A. Trabolsi, H. A. Khatib, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12912–12914.
- [156] P. Kovačik, Z. Kremláčková, F. Štěpánek, *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, *159*, 119–125.
- [157] C. R. Thomas, D. P. Ferris, J.-H. Lee, E. Choi, M. H. Cho, E. S. Kim, J. F. Stoddart, J.-S. Shin, J. Cheon, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10623–10625.
- [158] G. Martelli, H. R. Zope, M. Bròvia Capell, A. Kros, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9932–9934.
- [159] J. Lee, J. Park, K. Singha, W. J. Kim, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1545–1547.
- [160] T. M. Guardado-Alvarez, L. Sudha Devi, M. M. Russell, B. J. Schwartz, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14000–14003.
- [161] Q. Lin, Q. Huang, C. Li, C. Bao, Z. Liu, F. Li, L. Zhu, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10645–10647.
- [162] N. Ž. Knežević, B. G. Trewyn, V. S.-Y. Lin, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2817–2819.
- [163] S. A. Mackowiak, A. Schmidt, V. Weiss, C. Argyo, C. von Schirnding, T. Bein, C. Bräuchle, *Nano Lett.* **2013**, *13*, 2576–2583.
- [164] J. Lu, E. Choi, F. Tamanoi, J. I. Zink, *Small* **2008**, *4*, 421–426.

- [165] L. Chen, Z. Zheng, J. Wang, X. Wang, *Microporous Mesoporous Mater.* **2014**, *185*, 7–15.
- [166] J. Geng, M. Li, L. Wu, C. Chen, X. Qu, *Adv. Healthc. Mater.* **2012**, *1*, 332–336.
- [167] M. Moritsuka, Y. Kitasako, M. F. Burrow, M. Ikeda, J. Tagami, *Aust. Dent. J.* **2006**, *51*, 170–174.
- [168] B. Xia, S.-J. Xiao, D.-J. Guo, J. Wang, J. Chao, H.-B. Liu, J. Pei, Y.-Q. Chen, Y.-C. Tang, J.-N. Liu, *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 570–578.
- [169] A. Thakur, R. K. Wanchoo, in *Int. Conf. Agric. Environ. Biol. Sci.*, Phuket, **2012**.
- [170] E. Yan, Y. Ding, C. Chen, R. Li, Y. Hu, X. Jiang, *Chem. Commun.* **2009**, 2718–2720.
- [171] A. Popat, J. Liu, G. Q. Lu, S. Z. Qiao, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 11173–11178.
- [172] M. Nerurkar, G. Zentner, J. Rytting, *J. Control. release* **1995**, *33*, 357–363.
- [173] A. Rushton, *J. Clin. Periodontol.* **1977**, *4*, 73–79.
- [174] S. Pal, E. J. Yoon, Y. K. Tak, E. C. Choi, J. M. Song, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16147–16155.
- [175] G. McDonnell, A. D. Russell, *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, *12*, 147–179.
- [176] A. Nicolay, *Am. J. Anal. Chem.* **2011**, *02*, 422–428.
- [177] P. Gilbert, A. J. Mcbain, *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 189–208.
- [178] R. Odore, V. Colombatti Valle, G. Re, *Vet. Res. Commun.* **2000**, *24*, 229–238.
- [179] R. F. Menegon, L. Blau, N. S. Janzantti, A. C. Pizzolitto, **2011**, *100*, 3130–3138.
- [180] R. C. Schroden, M. Al-Daous, C. F. Blanford, A. Stein, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 3305–3315.
- [181] A. Mekis, J. C. Chen, I. Kurland, S. Fan, P. R. Villeneuve, J. D. Joannopoulos, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3787–3790.
- [182] G. I. N. Waterhouse, M. R. Waterland, *Polyhedron* **2007**, *26*, 356–368.
- [183] G. Beckers, *Labortechnik* **2011**, *49*, 42–44.
- [184] “Nassmahlen und Mikrofeinmahlen mit Ultraschall (26.06.2014),” can be found under http://www.hielscher.com/de/mill_01.htm, **2014**.

- [185] C.-Y. Chiu, A. S. T. Chiang, K.-J. Chao, *Microporous Mesoporous Mater.* **2006**, *91*, 244–253.
- [186] S. Brunauer, P. H. Emmett, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 309–319.
- [187] E. P. Barrett, L. G. Joyner, P. P. Halenda, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 373–380.
- [188] A. J. Smith, D. Robertson, M. K. Tang, M. S. Jackson, D. MacKenzie, J. Bagg, *Br. Dent. J.* **2003**, *195*, 701–703.
- [189] J. R. Morones, J. L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J. B. Kouri, J. T. Ramírez, M. J. Yacaman, *Nanotechnology* **2005**, *16*, 2346–2353.
- [190] L. Braydich-Stolle, S. Hussain, J. J. Schlager, M.-C. Hofmann, *Toxicol. Sci.* **2005**, *88*, 412–419.
- [191] G. Wang, J. Zhang, A. H. Dewilde, A. K. Pal, D. Bello, J. M. Therrien, S. J. Braunhut, K. a Marx, *Toxicology* **2012**, *299*, 99–111.
- [192] F. Peng, E. M. V Hoek, R. Damoiseaux, *J. Biomol. Screen.* **2010**, *15*, 748–754.
- [193] R. Marschall, I. Bannat, J. Caro, M. Wark, *Microporous Mesoporous Mater.* **2007**, *99*, 190–196.
- [194] M. Sadakane, C. Takahashi, N. Kato, H. Ogihara, Y. Nodasaka, Y. Doi, Y. Hinatsu, W. Ueda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2007**, *80*, 677–685.
- [195] B. T. Holland, C. F. Blanford, T. Do, A. Stein, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 795–805.
- [196] S. P. Samuel, S. Li, I. Mukherjee, Y. Guo, A. C. Patel, G. Baran, Y. Wei, *Dent. Mater.* **2009**, *25*, 296–301.
- [197] H. Fullriede, Herstellung von Nanoskaligen Silica-Partikeln Mit Anisotroper Gestalt Durch Tensidgesteuerte Synthesen, Diplomarbeit, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2010**.
- [198] S. Williams, Entwicklung Multifunktional Modifizierter Silica-Nanopartikel Und Deren Kompositmaterialien Für Anwendungen in Der Nervenregeneration, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2013**.
- [199] D. Klank, *Quantachrome Partikelwelt* **2011**, *13*, 6–9.
- [200] M. Colilla, I. Izquierdo-Barba, S. Sánchez-Salcedo, J. L. G. Fierro, J. L. Hueso, M. Vallet-Regí, *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 6459–6466.

- [201] M. Xie, H. Shi, Z. Li, H. Shen, K. Ma, B. Li, S. Shen, Y. Jin, *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **2013**, *110*, 138–147.
- [202] S. Pal, E. J. Yoon, Y. K. Tak, E. C. Choi, J. M. Song, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16147–16155.
- [203] E. M. G. Raso, M. E. Cortes, K. I. Teixeira, M. B. Franco, N. D. S. Mohallem, R. D. Sinisterra, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2009**, *67*, 159–168.
- [204] G. Andermann, M. O. Buhler, M. Erhart, *J. Pharm. Sci.* **1980**, *69*, 215–217.
- [205] P. Zeng, A. Rao, T. S. Wiedmann, W. Bowles, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2009**, *35*, 172–176.
- [206] DIN EN ISO 10993-5:2009-10, Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 5: Prüfungen Auf In-Vitro-Zytotoxizität (ISO 10993-5:2009), **2009**.
- [207] M. J. Arduino, “Staphylococcus aureus VISA 2,” can be found under <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=11157>, **2014**.
- [208] D. de S. V. Barbieri, V. A. Vicente, F. C. Fraiz, O. J. Lavoranti, T. I. E. Svidzinski, R. L. Pinheiro, *Brazilian J. Microbiol.* **2007**, *38*, 624–631.
- [209] F. Heravi, M. Ramezani, M. Poosti, M. Hosseini, A. Shajiei, F. Ahrari, *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects* **2013**, *7*, 192–198.

8 Anhang

8.1 Chemikalienverzeichnis

Name	Hersteller	Reinheit	CAS-Nummer
1,1'-(Methylendi-4,1-phenylen)bismaleimid	Sigma-Aldrich	95%	13676-54-5
1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en	Sigma-Aldrich	≥99.0%	6674-22-2
3-Aminopropyltrimethoxysilan	Sigma-Aldrich	97%	13822-56-5
3-Mercaptopropyltrimethoxysilan	Sigma-Aldrich	95.0%	4420-74-0
3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan	Sigma-Aldrich	98.0%	2530-85-0
Benzalkoniumchlorid	Sigma-Aldrich	≥95.0%	63449-41-2
Cetyltrimethylammoniumbromid	Sigma-Aldrich	96.0%	57-09-0
Chlorhexidin-Digluconat	Sigma-Aldrich	20%	18472-51-0
Chlorhexidin-Dihydrochlorid	Sigma-Aldrich	98%	3697-42-5
D-Gluconsäure	Sigma-Aldrich	49-53%	526-95-4
Diethanolamin	Sigma-Aldrich		111-42-2
Ethanol	Merck	99%	64-17-5
Kaliumperoxodisulfat	Sigma-Aldrich		7727-21-1
Methylmethacrylat	Sigma-Aldrich	99%	80-62-6
Natriumhydroxid-Lösung			1310-73-2
Poly-(4-vinylpyridin), $M_w \approx 160000$	Sigma-Aldrich	-	25232-41-1
Poly-(4-vinylpyridin), $M_w \approx 60000$	Sigma-Aldrich	-	25232-41-1
Salzsäure	Sigma-Aldrich	37.0%	7647-01-0
Tetraethoxysilan	Sigma-Aldrich	≥99.0%	78-10-4
Toluol	Sigma-Aldrich	≥99.5%	108-88-3
Wasserstoffperoxid	Sigma-Aldrich	35.0%	7722-84-1

8.2 Freisetzungsprofile

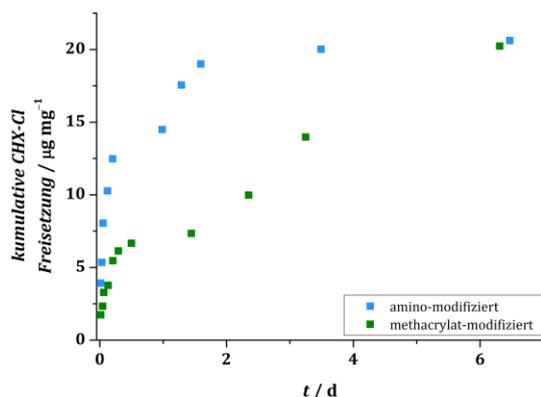


Abb. 93: Freisetzungsprofile von CHX-Cl aus amino-modifizierten und methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln

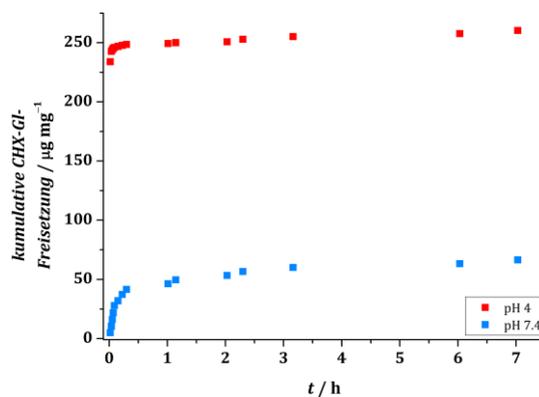


Abb. 94: Freisetzungsprofile von CHX-Gl aus PVP ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$)-modifizierten Silica-Nanopartikeln bei unterschiedlichen pH-Werten.

8.3 Sorptionsmessungen, IR-Messungen

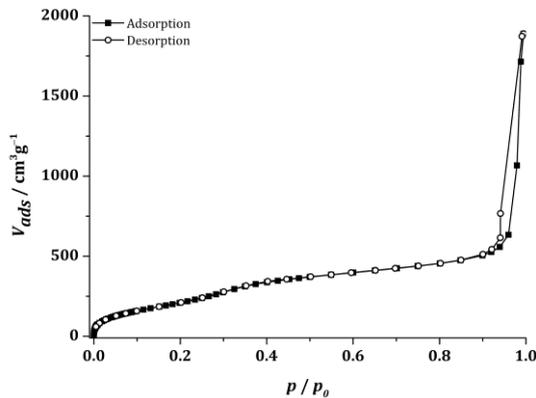


Abb. 95: Argon-Adsorptions- und Desorptionsisothermen von sphärischen Silica-Nanopartikeln.

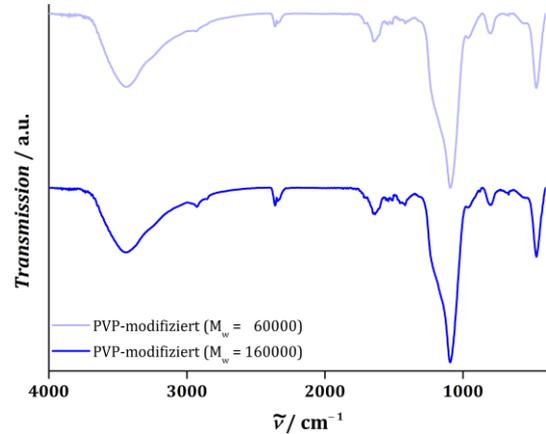


Abb. 96: IR-Spektren von Silica-Nanopartikeln, welche mit PVP unterschiedlicher molarer Massen modifiziert wurden.

8.4 Thermogravimetrische Messungen

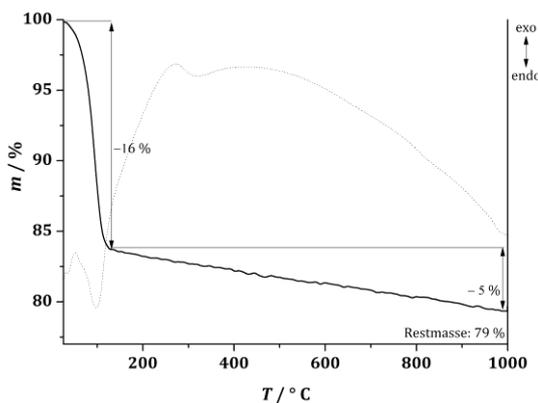


Abb. 97: TG-Messung von Silica-Nanopartikeln.

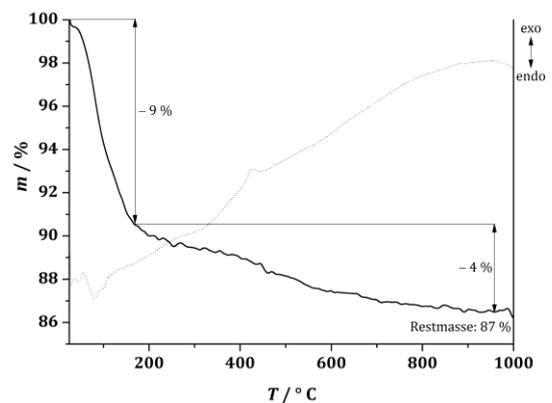


Abb. 98: TG-Messung von Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.

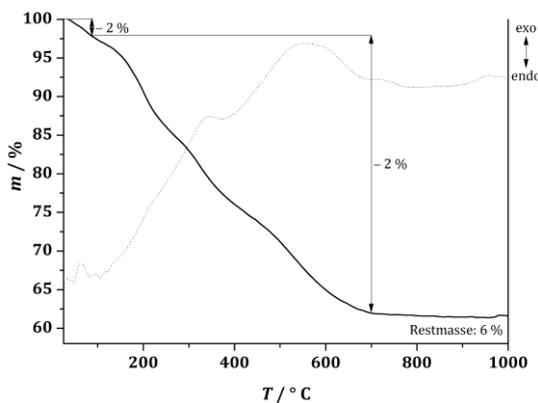


Abb. 99: TG-Messung von Silica-Nanopartikeln mit CHX-GI-Einlagerung.

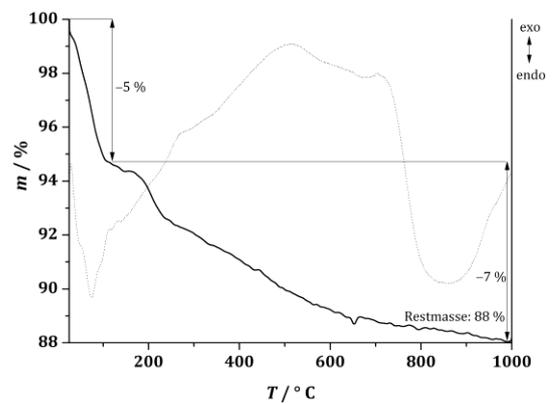


Abb. 100: TG-Messung von unmodifizierten Silica-Partikeln mit CHX-GI-Einlagerung nach einer Freisetzungsdauer von 7 d.

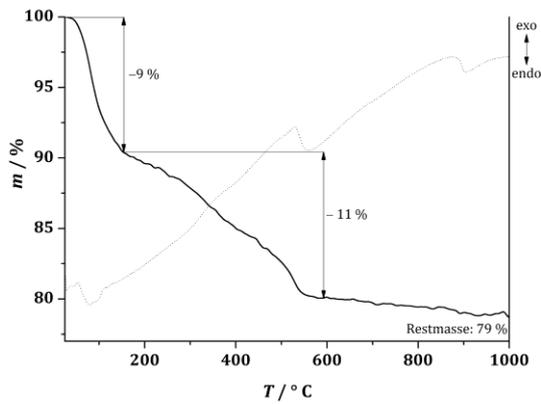


Abb. 101: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

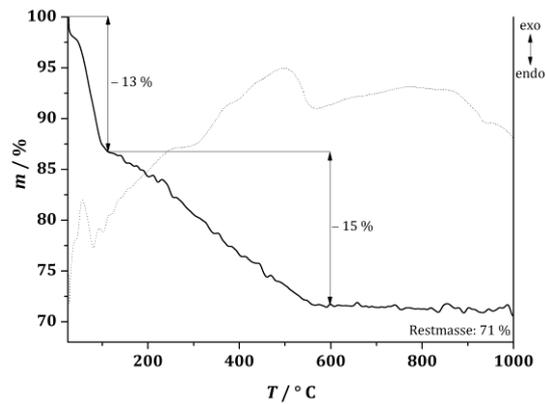


Abb. 102: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.

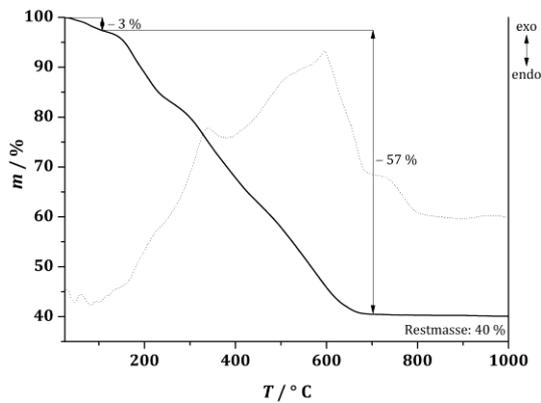


Abb. 103: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Gl-Einlagerung.

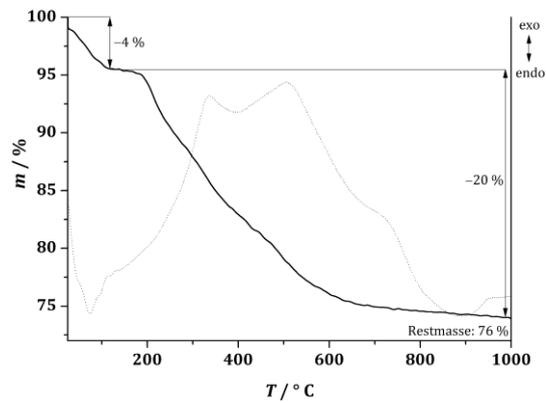


Abb. 104: TG-Messung von sulfonsäure-modifizierten Silica-Partikeln mit CHX-Gl-Einlagerung nach einer Freisetzungsdauer von 7 d.

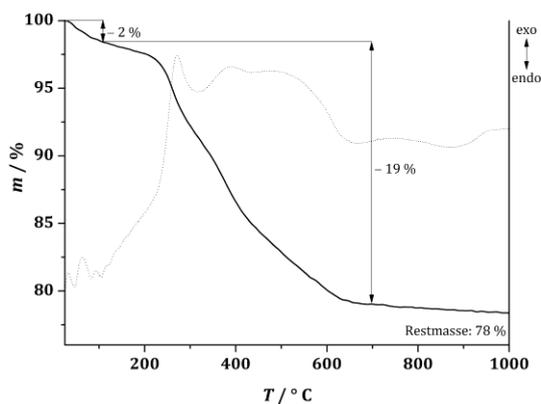


Abb. 105: TG-Messung von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

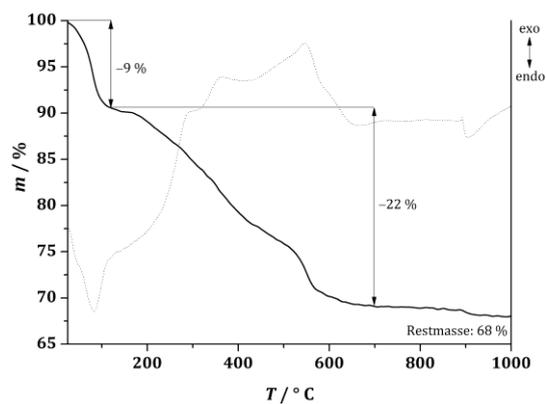


Abb. 106: TG-Messung von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.

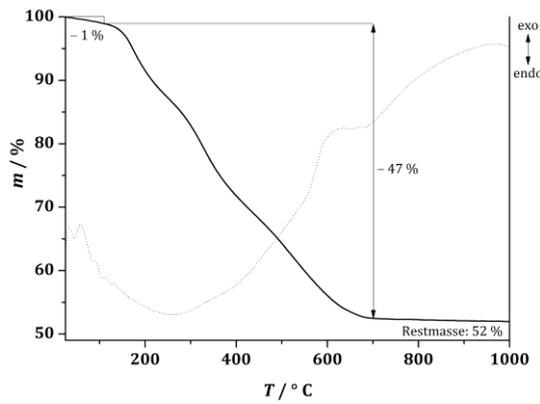


Abb. 107: TG-Messung von methacrylat-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Gl-Einlagerung.

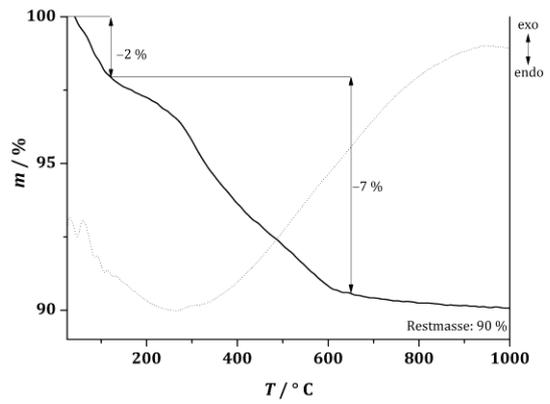


Abb. 108: TG-Messung von amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln.

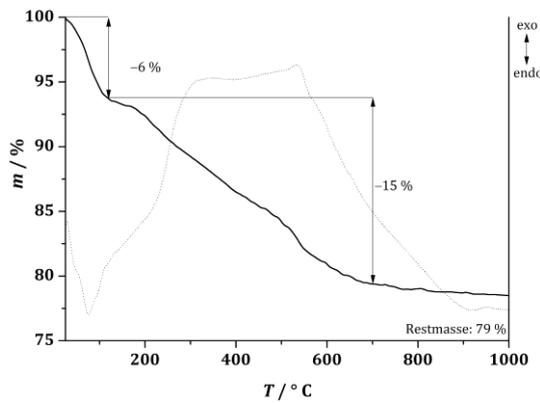


Abb. 109: TG-Messung von amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Cl-Einlagerung.

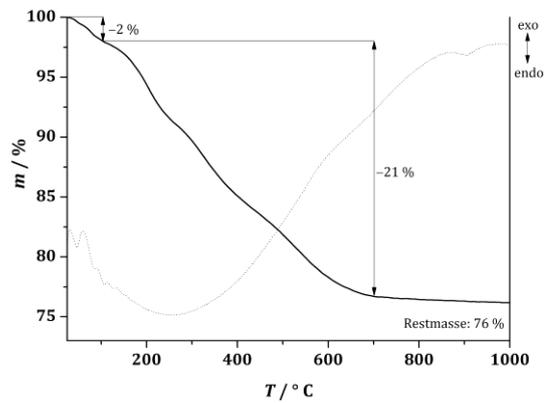


Abb. 110: TG-Messung von amino-modifizierten Silica-Nanopartikeln mit CHX-Gl-Einlagerung.

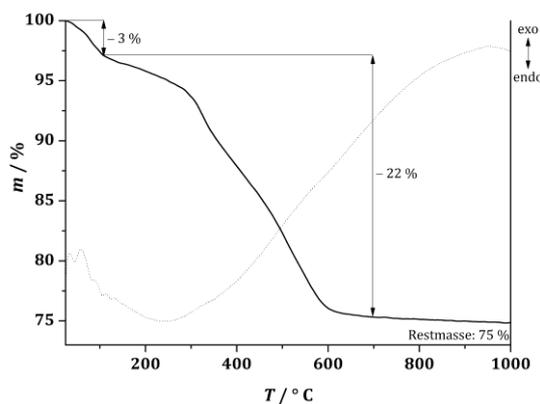


Abb. 111: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$).

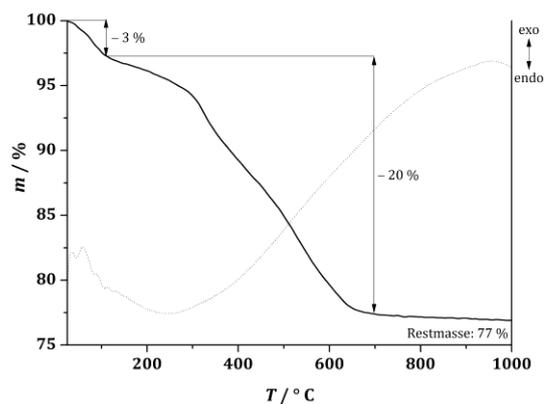


Abb. 112: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$).

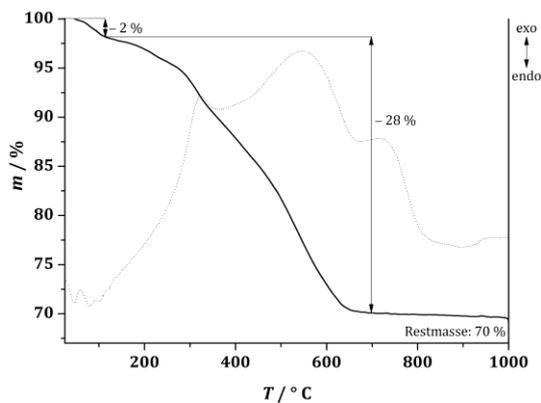


Abb. 113: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Cl-Einlagerung.

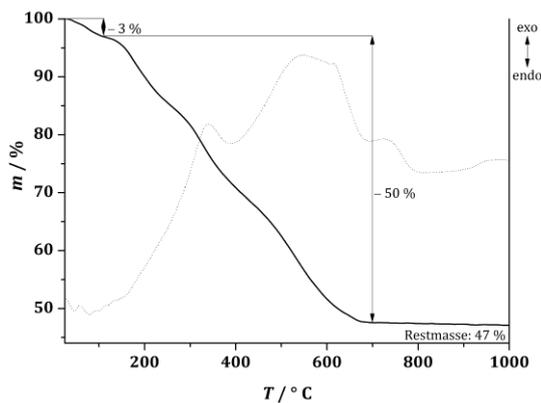


Abb. 114: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in verdünnter Salzsäure.

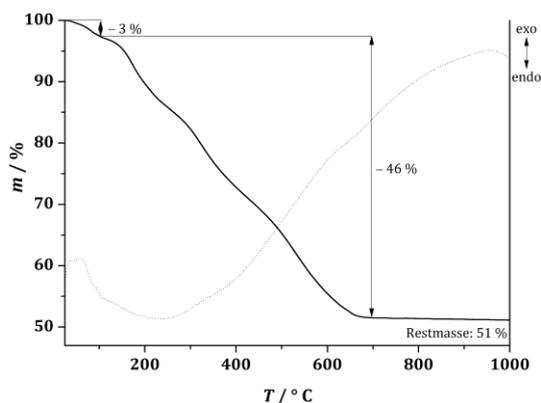


Abb. 115: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in Gluconsäure.

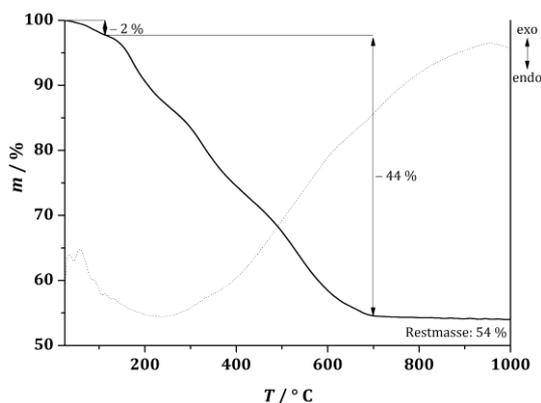


Abb. 116: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 60000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in Gluconsäure.

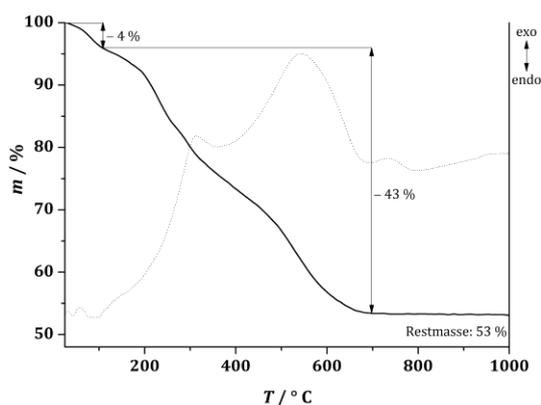


Abb. 117: TG-Messung von PVP-modifizierten Silica-Nanopartikeln ($M_w = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) mit CHX-Gl-Einlagerung in konzentrierter Salzsäure.

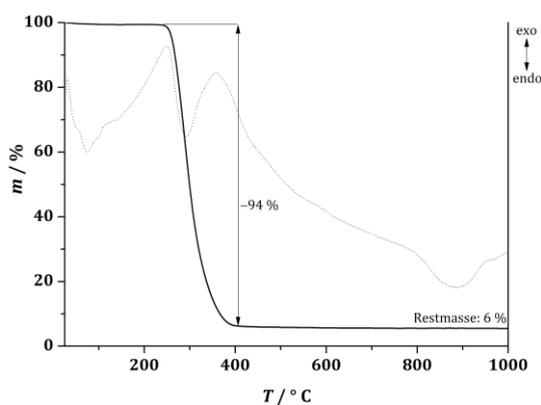


Abb. 118: TG-Messung von PMMA-Sphären in einer inversen Silica-Opalstruktur.

8.5 Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge

Begutachtete Veröffentlichungen

N. Timpe, H. Fullriede, L. Borchers, M. Stiesch, P. Behrens, H. Menzel, *BioNanoMat.* **2014**, *15*, 89-99.

J. Wadwa, Y. Chu, N. Nguyen, T. Henson, A. Figueroa, R. Llanos, M. L. Ackland, A. Michalczyk, H. Fullriede, G. Brennan, J. F. B. Mercer, M. C. Linder, *Physiol. Rep.* **2014**, *2*, 1-11.

Nicht begutachtete Veröffentlichungen

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens, *Biomed. Tech.* **2013**, *58*.

T. Lüßenhop, H. Fullriede, S. Kittel, S. Grade, I. Rahim, P.P. Müller, M. Stiesch, C. Vogt, P. Behrens, *Bionanomaterials* **2012**, *13*, 86.

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens, *Biomaterialien* **2011**, *12*, 94.

J. Wadwa, N. Nguyen, H. Fullriede, G. Brennan, T. Henso, A. Figueroa, R. Llanos, J. F. B. Mercer, D. Freestone, A. Michalczyk, L. Ackland, M. C. Linder, *FASEB J.* **2011**, *25*, 290.5.

Vorträge

Silica nanoparticles with anisotropic shape as fillers for dental composite materials

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
European Conference on Composite Materials, 2012, Venedig

Posterbeiträge

Triggered Release of Chlorhexidine from Nanoporous Silica Nanoparticles as fillers in Dental Composites

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, S. Grade, K. Doll, J. Schaeske, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
Tagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (DGBMT) 2014, Hannover

New nanofillers and antibacterial concepts for dental composites

N. Timpe, H. Fullriede, L. Borchers, M. Stiesch, P. Behrens, H. Menzel
Tagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (DGBMT) 2014, Hannover

Differently Functionalized Silica Nanoparticles – Cytocompatibility and Antimicrobial Effect

K. Doll, J. Schaeske, H. Fullriede, S. N. Stumpp, A. Winkel, P. Behrens, M. Stiesch
Tagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (DGBMT) 2014, Hannover

Mesoporous Silica Nanoparticles with a pH-Sensitive Stimulus-Response System for Controlled Drug Delivery

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, S. Grade, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
Deutsche Zeolith-Tagung 2014, Paderborn

Silver Release and Antimicrobial Properties of Silver Silica Composite Films and Nanofibers

T. Lüßenhop, H. Fullriede, S. Kittel, S. Grade, I. Rahim, P.P. Muller, M. Stiesch, C. Vogt, P. Behrens
European Nanoporous Materials Institute of Excellence (ENMIX) 2013, Hannover

Antibacterial Silica Nanoparticles with pH-Sensitive Release Properties as Fillers for Dental Composite Materials

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
Dreiländertagung der Deutschen, Schweizerischen und Österreichischen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (BMT) 2013, Graz

Nanoporous Silica Nanoparticles with Different Morphologies as Fillers for Dental Composite Materials

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
European Symposium on Biomaterials and Related Areas (Euro BioMat) 2013, Weimar

New fillers and antibacterial concepts for resin based dental composites

N. Timpe, H. Fullriede, L. Borchers, M. Stiesch, P. Behrens, H. Menzel
European Polymer Congress EPF 2013, Pisa

Silver release and antimicrobial properties of silver silica composite films and nanofibers

H. Fullriede, T. Lüßenhop, S. Kittel, S. Grade, M. Badar, P. P. Müller, M. Stiesch, C. Vogt, P. Behrens
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), 2012, Hamburg

Mesoporous silica nanoparticles with anisotropic shape as fillers for dental composite materials

N. Timpe, H. Fullriede, L. Borchers, M. Stiesch, P. Behrens, H. Menzel
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), 2012, Hamburg

Mesoporous Silica Nanoparticles with Anisotropic Shape as Fillers for Dental Composite Materials

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
Deutsche Zeolith-Tagung 2012, Magdeburg

Anisotropic silica nanoparticles as fillers for dental composite materials

N. Timpe, H. Fullriede, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), 2011,
Gießen

Nanoscale Silica Fillers with Anisotropic Shape for Dental Composites

H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens
Hybrid Materials Conference 2011, Straßburg

The role of the copper pump, MNK, in copper transport in mice during pregnancy

H. Fullriede, G. A. Brennan, M. C. Linder
American Chemical Society (ACS) National Meeting & Exposition 2009,
Washington, D.C.

8.6 Lebenslauf

Name	Hendrik Fullriede
Geburtstag	09.05.1985
Geburtsort	Sulingen
seit 10/2010	<p>Promotion zum Dr. rer. nat. in Chemie</p> <p>in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Peter Behrens im Institut für Anorganische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover</p> <p>mit dem Thema: „Silica-Nanopartikel mit speziellen Eigenschaften für die Herstellung dentaler Kompositmaterialien“</p>
10/2005-08/2010	<p>Studium im Fach Chemie (Diplom) an der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover</p> <p>Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Peter Behrens im Institut für Anorganische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover</p> <p>mit dem Thema: „Herstellung von nanoskaligen Silica-Partikeln mit anisotroper Gestalt durch tensidgesteuerte Synthesen“</p>
07/2004-05/2005	<p>Zivildienst auf der Neurologischen Intensivstation des Klinikums Minden/Westfalen</p>
10/1991-06/2004	<p>Schulbildung</p> <p>Abitur 2004 am Gymnasium Stolzenau</p>