

# Biomaterialien für Implantate im Ohrbereich

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover  
zu Erlangung des Grades

**Doktorin der Naturwissenschaften**  
**(Dr. rer. nat.)**

genehmigte Dissertation

von

Tanja Heemeier, M. Sc.

geboren am 17.10.1984 in Minden

2016

Referent: Prof. Dr. Peter Behrens

Korreferent: Prof. Dr. Peter Paul Müller

Tag der Promotion: 27.05.2016

---

# Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Peter Behrens, der mir die Anfertigung dieser Arbeit im Rahmen interdisziplinärer Kooperationen ermöglicht hat. Vielen Dank für die gute Betreuung und wertvollen Anregungen sowie für die Möglichkeit meine Arbeiten auf verschiedenen Konferenzen präsentieren zu dürfen.

Herrn Professor Dr. Peter Paul Müller danke ich für die Übernahme des Korreferats und die gute Zusammenarbeit im Teilprojekt D1 des SFB 599. Bei Herrn Professor Dr. Thomas Scheper bedanke ich mich für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Ich möchte mich bei allen Mitgliedern des Teilprojektes D1 im SFB 599 für die sehr gute Kooperation und die fachlichen Diskussionen bedanken. Vielen Dank an Dr. Nils Prenzler und Susanne Bradel für viele interessante Erkenntnisse über die Ohrstrukturen. Dr. Mohammad Imran Rahim und Dr. Bushra Rais danke ich für die Durchführung von *in vitro*-Untersuchungen. Dr. Silke Besdo danke ich für die Durchführung zahlreicher Zugprüfversuche, Hilfen bei der Auswertung und Korrekturen hinsichtlich der Siliconeigenschaften. Ich möchte mich bei Dr. Gudrun Brandes für die Unterstützung und hilfreichen Anregungen und Diskussionen zum Thema Silber bedanken.

Besonders bedanken möchte ich mich zudem bei Dr. Franziska Duda für eine sehr gute Zusammenarbeit sowie viele konstruktive Diskussionen. Vielen Dank auch dafür, dass du mich immer verstanden und mir mit motivierenden und aufbauenden Worten zur Seite gestanden hast.

Den Mitgliedern des Projekts A2.9 des Exzellenzclusters “Hearing4all” danke ich für eine sehr gute Kooperation. Jennifer Schulze danke ich dabei für die Durchführung von *in vitro*-Untersuchungen und die vielen fachlichen Diskussionen und Hilfen zur Auswertung der Zelltests.

Professor Dr. Cornelia Blume und Dr. Antonina Lavrentieva gilt mein Dank hinsichtlich der Kooperation zur Durchführung von *in vitro*-Untersuchungen an Siliconen.

PhD Pooyan Aliuos danke ich für die Unterstützung bei der Untersuchung meiner Siliconproben am Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskop.

Claudia Schulze und Petra Zoch danke ich für die Durchführung der CS-Messungen.

Dem gesamten Arbeitskreis Behrens und auch den mittlerweile ehemaligen Mitgliedern danke ich für eine Zeit in einer angenehmen Arbeitsatmosphäre, in der Hilfsbereitschaft untereinander sehr geschätzt wird. Außerdem bedanke ich mich für die vielen Gespräche und fachlichen Diskussionen, die zu neuen Denkanstößen führten. Insbesondere gilt diesbezüglich auch der Dank meinem Laborkollegen Philipp Abendroth, mit dem es mir eine Freude war das Labor zu teilen. Bedanken möchte ich mich auch bei unseren Computerexperten

Dr. Hans-Christoph Schwarz, Thomas Asche und Dr. Sebastian Lilienthal für diverse Hilfen bei Computerproblemen. Des Weiteren möchte ich Dr. Hans-Christoph Schwarz für die Anfertigung von konfokalmikroskopischen Aufnahmen und Hilfen bezüglich der Fotografie danken. Dr. Gesa Zahn, Dr. Hendrik Fullriede, Dr. Maria Schweinefuß, Dr. Nina Ehlert, Sergej Springer, Katharina Nolte und Dennes Nettelroth danke ich für das Anfertigen von REM-Aufnahmen. Nadeschda Schmidt danke ich für die Probenpräparation für TEM-Untersuchungen und Alexandra Satalov für die Anfertigung der TEM-Aufnahmen. Für die Durchführung der TG-Messungen bedanke ich mich bei Sergej Springer und Katharina Nolte. Bei Jann Lippke, Natalja Wendt und Nadeschda Schmidt möchte ich mich für die Sorptionsmessungen und Hilfen bei der Auswertung bedanken. Außerdem gilt mein Dank Songül Noyun für die Unterstützung bei Partikel-Synthesen und Aufräumaktionen im Biolabor.

Meinen HiWinen Mandy Jahns, Le Anh Ma und Karen Besecke, meinem Bachelorand Aaron Hung Bui und meinen Forschungspraktikanten Hendrik Schulze und Thea Heinemeyer danke ich für zahlreiche Synthesen und Charakterisierungen. Bei meinen Masteranden Nadeschda Schmidt und Marvin Peter möchte ich mich ebenfalls bedanken, da mit ihren Arbeiten grundlegende Erkenntnisse gewonnen wurden.

Ich danke den Korrekturlesern Janina Willkomm, Philipp Abendroth, Dr. Marcel Jestremski, Dr. Nina Ehlert und Dr. Hendrik Fullriede für die Zeit, die sie sich genommen haben. Meinem Cousin Dennis Heemeier möchte ich ebenfalls dafür danken, dass er spontan das nicht-fachliche Korrigieren übernommen hat.

Abschließend bedanke ich mich ganz herzlich bei meiner Familie und meinem Freund Marcel Jestremski dafür, dass sie mich immer unterstützt und an mich geglaubt haben, dass sie mich immer wieder motiviert, aber auch für Abwechslung gesorgt haben.

---

# Kurzzusammenfassung

Die Forschung an Biomaterialien ist für eine stetige Weiterentwicklung von medizinischen Implantaten von großer Bedeutung. Dies gilt auch für das große Forschungsgebiet der Hörprothesen, die aufgrund der Empfindlichkeit und Komplexität der Ohrfunktion großes Potential für Verbesserungen bieten. In Deutschland leben etwa 15 Millionen Menschen mit einer Hörminderung, was die Relevanz dieses Themas verdeutlicht. Diese Dissertation beschäftigt sich mit der Entwicklung und Optimierung verschiedener Biomaterialien für Implantate im Ohrbereich. Die Herstellung und Charakterisierung von antibakteriellen Beschichtungen auf Bioverit®II für Mittelohrprothesen war dabei ein Schwerpunkt. Als antibakterielle Beschichtungen dienten durch Tauchzieh-Verfahren hergestellte nanoporöse und dichte Schichten aus amorphem Siliciumdioxid (Silica), die Silbernanopartikel enthalten. Dabei unterschieden sich die Partikeldurchmesser sowie das Silberfreisetzungsverhalten für die dichten und nanoporösen Beschichtungen. Überraschend war hier die Beobachtung, dass die dichten Silber-Silica-Beschichtungen deutlich größere Mengen an Silber freisetzen. Bei Degradationsuntersuchungen unter nachgeahmten physiologischen Bedingungen wurde bei der dichten Beschichtung eine kontinuierliche Abnahme der Durchmesser der Silbernanopartikel festgestellt, während die Größen der Partikel in der nanoporösen Schicht konstant blieben. Diese Ergebnisse unterstützten die Beobachtungen aus den Freisetzungsexperimenten. *In vitro*-Untersuchungen bestätigten eine gute Cytokompatibilität für beide Beschichtungen und eine erfolgreiche initiale antibakterielle Wirksamkeit für die dichte Silber-Silica-Beschichtung gegen *Pseudomonas aeruginosa*.

Ein weiterer Fokus dieser Arbeit war die Entwicklung eines Silicons mit nanoporösen Silica-Nanopartikeln als Füllstoff. Solche modifizierten Silicone können im Ohrbereich Verwendung finden als Siliconkissen für Mittelohrprothesen oder als Ummantelung von Cochlea-Elektroden. Für die Inkorporation in das Silicon wurden die Partikel mittels *post-grafting*-Methoden modifiziert und anschließend in das medizinische Silicon Silpuran® 2430 eingearbeitet. Durch die Modifizierung der Partikel mit Vinylmethyl- und Trimethylgruppen wurde eine homogene Verteilung im Silicon und eine Verstärkung des Polymernetzwerkes erreicht. Mit steigendem Partikelgehalt wird dabei die Festigkeit des Silicons erhöht, sodass die mechanischen Eigenschaften für verschiedene Anwendungen einstellbar sind. Die Cytokompatibilität dieser Silicone wurde in *in vitro*-Untersuchungen bestätigt. Die Silicone mit dem neuartigen Füllstoff wurden als Freisetzungssystem für den neuroprotektiven Wirkstoff Rolipram verwendet. Eine erfolgreiche Freisetzung von Rolipram wurde aus nanoporösen Silica-Nanopartikeln erreicht, welche zuvor mit 4-Methoxyphenylgruppen modifiziert wurden. Noch wichtiger ist, dass auch nach einer Einarbeitung der Partikel in Silicon eine erfolgreiche Freisetzung beobachtet werden konnte. Anhand von *in vitro*-Untersuchungen wurden die modifizierten Partikel als cytocompatibel bewertet. Erste Zellkulturuntersuchungen mit Spiralganglienneuronen hinsichtlich der neuroprotektiven Wirksamkeit der Rolipram-beladenen Partikel ergaben eine Erhöhung der Überlebensrate, welche durch einen Zusatz des Wachstumsfaktors BDNF weiter gesteigert werden konnte. Eine Hydrophilierung der Siliconoberfläche mit Silica-Partikeln für eine verbesserte Zelladhäsion war unter Anwendung verschiedener Beschichtungsstrategien aufgrund der bekannten *hydrophobic recovery*-Effekte von Siliconen nicht möglich.

**Stichworte:** antibakterielle Beschichtungen, nanoporöse Silica-Nanopartikel, Silicon, Wirkstofffreisetzungssysteme, Rolipram.



---

# Abstract

The research on biomaterials is of utmost importance for a continuous development of medical implants. About 15 million people suffer from hearing loss in Germany, showing the relevance of further research on auditory prostheses. This thesis is concerned with the development and optimisation of different biomaterials for implants in the ear.

One focus of this work was on the fabrication and characterisation of two different antibacterial silver-silica coatings on Bioverit®II for middle ear prostheses. Nanoporous and dense silica coatings were prepared by dip-coating and silver nanoparticles were successfully integrated into both types of coatings. The particle diameters as well as the silver release behaviour differed for the two coatings. Surprisingly, the dense silver-silica coating released considerably larger amounts of silver. In degradation experiments under emulated physiological conditions a continuous decrease of the particle diameter in the dense coating was observed, whereas the sizes of silver nanoparticles in the nanoporous coating remained constant. This finding supported the results of the release experiments. Finally, *in vitro* studies showed a good cytocompatibility for both coatings and an effective initial antibacterial activity for the dense silver-silica coating against *Pseudomonas aeruginosa*. Another focus of this thesis was on the development of silicones using nanoporous silica nanoparticles as filler material. Such modified silicones could find applications as a silicone pad as part of a middle ear prosthesis or as a silicone sheath for cochlear electrodes. The particles were modified by post-grafting methods and incorporated into the medical silicone Silpuran® 2430. Via a modification with vinyl dimethyl and trimethyl groups, a homogeneous distribution of the particles in the silicone and a reinforcement of the polymer network was achieved. Varying the particle contents led to a change in the mechanical properties, allowing an adjustment for the desired application. The cytocompatibility of these silicones was confirmed in *in vitro* studies.

These silicones with the novel filler material were examined as a release system for the neuroprotective drug rolipram. Rolipram was successfully released from 4-methoxyphenyl-modified nanoporous silica nanoparticles even after incorporation of these particles into silicone. Based on *in vitro* studies, the modified particles were classified as cytocompatible. Preliminary tests on the neuroprotective effect of rolipram-loaded particles on spiral ganglion neurons showed an increase in survival rate, which could be further increased by addition of the growth factor BDNF.

For better cell adhesion on silicones, it was attempted to create a hydrophilic surface by coating with silica particles. Even by using various coating strategies a hydrophilisation was not possible, most likely due to the well-known hydrophobic recovery effects of silicones.

**Keywords:** antibacterial coatings, nanoporous silica nanoparticles, silicone, drug release system, rolipram.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Allgemeine Grundlagen</b>	<b>6</b>
2.1	Das Ohr und die Physiologie des Hörens . . . . .	6
2.1.1	Die Anatomie des Ohres . . . . .	6
2.1.2	Die Physiologie des Hörens . . . . .	8
2.2	Implantate im Ohrbereich . . . . .	9
2.2.1	Die Mittelohrprothese . . . . .	10
2.2.2	Das Cochlea-Implantat . . . . .	15
2.3	Silber zur antibakteriellen Ausrüstung von Implantaten . . . . .	19
2.3.1	Implantatgebundene Biofilmbildung . . . . .	19
2.3.2	Silber als antibakterieller Wirkstoff in der Medizin . . . . .	20
2.3.3	Wirkungsweise von Silber auf biologische Systeme . . . . .	21
2.3.4	Diskussion zur toxikologischen Beurteilung von Silber . . . . .	22
2.4	Neuroprotektive Wirkstoffe . . . . .	23
2.4.1	BDNF . . . . .	24
2.4.2	Rolipram . . . . .	25
2.5	Silica-Nanopartikel und -Beschichtungen . . . . .	27
2.5.1	Synthese von Stöber-Partikeln . . . . .	27
2.5.2	Synthese von nanoporösen Silica-Materialien . . . . .	28
2.5.3	Oberflächenmodifizierung und fluoreszierende Kern-Schale-Nanopartikel . . . . .	30
2.5.4	Überblick über biomedizinische Anwendungen von nanoporösen Silica-Materialien . . . . .	32
2.6	Silicone und ihre Anwendung in der Biomedizin . . . . .	34
2.6.1	Aufbau und Eigenschaften von Siliconen . . . . .	35
2.6.2	Überblick über biomedizinische Anwendungen von Siliconen . . . . .	43
2.6.3	Die Bedeutung der Füllstoffe . . . . .	45
2.6.4	Strategien zur Oberflächenmodifizierung von Siliconen . . . . .	48
2.6.5	Das Trommelfellkissen aus Silicon . . . . .	50
2.6.6	Silicon für die Cochlea-Elektrode . . . . .	51
<b>3</b>	<b>Analytische Methoden</b>	<b>54</b>
3.1	Rasterelektronenmikroskopie . . . . .	54
3.2	Transmissionselektronenmikroskopie . . . . .	54

3.3	Röntgen-Diffraktometrie . . . . .	55
3.4	Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie . . . . .	55
3.5	Physisorption . . . . .	55
3.6	Thermogravimetrie . . . . .	56
3.7	Kohlenstoff-Analyse . . . . .	56
3.8	Infrarotspektroskopie . . . . .	56
3.9	Photometrie . . . . .	56
3.10	Fluoreszenzspektroskopie . . . . .	57
3.11	Dynamische Lichtstreuung . . . . .	57
3.12	Ellipsometrie . . . . .	57
3.13	Kontaktwinkelmessungen . . . . .	58
3.14	Rheologie . . . . .	58
3.15	Zugprüfung . . . . .	61
3.16	Konfokalmikroskopie . . . . .	62
3.17	Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie . . . . .	62
3.18	<i>In vitro</i> -Untersuchungen . . . . .	63
3.18.1	Cytokompatibilität . . . . .	63
3.18.2	<i>In vitro</i> -Untersuchung des neuroprotektiven Effekts von Rolipram- beladenen 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica- Nanopartikeln . . . . .	66
3.18.3	Antibakterielle Untersuchung von Silber-Silica-Beschichtungen . . .	67
<b>4</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>69</b>
4.1	Silber-Silica-Beschichtungen auf Bioverit®II-Substraten . . . . .	69
4.1.1	Substratreinigung und Vorbereitung . . . . .	69
4.1.2	Präparation von nanoporösen Silber-Silica-Beschichtungen . . . . .	70
4.1.3	Präparation von dichten Silber-Silica-Beschichtungen . . . . .	70
4.1.4	Silberfreisetzungs- und Degradationsexperimente . . . . .	71
4.2	Herstellung und Verarbeitung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln als Füllstoff für Silicon . . . . .	71
4.2.1	Synthese von nanoporösen Silica-Nanopartikeln . . . . .	72
4.2.2	Modifizierung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln . . . . .	72
4.2.3	Synthese von fluoreszierenden Kern-Schale-Nanopartikeln (CeF <sub>3</sub> :Tb <sup>3+</sup> @NPSNPs) . . . . .	73
4.2.4	Stabilitätsuntersuchungen an Vinyl/Trimethyl-modifizierten nano- porösen Silica-Nanopartikeln . . . . .	75
4.2.5	Einarbeitung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln in Silicon . . .	75

---

4.3	Methoden zur Hydrophilierung von Siliconoberflächen . . . . .	77
4.3.1	Synthese von Stöber-Partikeln . . . . .	77
4.3.2	Sprühbeschichtung . . . . .	77
4.3.3	Beschichtung in Nanopartikel-Suspensionen während der Vernetzung	77
4.3.4	Überschichtung mit Suspensionen . . . . .	78
4.3.5	<i>In situ</i> -Beschichtung . . . . .	78
4.3.6	Beschichtung durch Aufpressen von Partikeln . . . . .	78
4.4	Roliprameinlagerung und Freisetzung . . . . .	79
4.4.1	Freisetzung aus Silicon . . . . .	79
4.4.2	Freisetzung aus 4-Methoxyphenyl- und Vinyl/Trimethyl- modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln . . . . .	79
4.4.3	Freisetzung aus 4-Methoxyphenyl- und Vinyl/Trimethyl- modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln in Silicon . . . . .	80
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>81</b>
5.1	Antibakterielle Ausrüstung von Bioverit®II mit Silber-Silica-Beschichtungen	81
5.1.1	Charakterisierung der Silber-Silica-Beschichtungen . . . . .	81
5.1.2	Silberfreisetzung . . . . .	88
5.1.3	Degradationsstudie . . . . .	90
5.1.4	<i>In vitro</i> -Untersuchungen . . . . .	93
5.1.5	Zusammenfassung . . . . .	98
5.2	Modifizierte nanoporöse Silica-Nanopartikel als Füllstoffmaterial für Silicon	101
5.2.1	Charakterisierung der nanoporösen Silica-Nanopartikel . . . . .	101
5.2.2	Qualität und Verarbeitbarkeit der unvernetzten Siliconmischungen .	105
5.2.3	Charakterisierung der vernetzten Silicone . . . . .	107
5.2.4	Einfluss von lösungsmittelbehandelten Vinyl/Trimethyl- modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln auf die Ei- genschaften von Silicon . . . . .	118
5.2.5	Fluoreszierende CeF <sub>3</sub> :Tb <sup>3+</sup> @NPSNPs als Füllstoff . . . . .	122
5.2.6	<i>In vitro</i> -Cytokompatibilität von Silicon mit nanoporösen Silica- Nanopartikeln als Füllstoff . . . . .	129
5.2.7	Zusammenfassung . . . . .	134
5.3	Entwicklung einer hydrophilen Siliconoberfläche . . . . .	137
5.3.1	Charakterisierung der Silica-Partikel . . . . .	137
5.3.2	Beschichtungen auf Silicon . . . . .	139
5.3.3	Zusammenfassung . . . . .	148

---

5.4	Entwicklung eines Freisetzungssystems für den neuroprotektiven Wirkstoff Rolipram . . . . .	150
5.4.1	Charakterisierung von 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln . . . . .	150
5.4.2	Freisetzung von Rolipram . . . . .	152
5.4.3	<i>In vitro</i> -Cytokompatibilität von 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln . . . . .	161
5.4.4	Neuroprotektive Wirkung von Rolipram-beladenen 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln auf Spiralganglienneuronen . . . . .	162
5.4.5	Zusammenfassung . . . . .	165
<b>6</b>	<b>Fazit und Ausblick</b>	<b>167</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>176</b>
	<b>Anhang</b>	<b>193</b>

# Abkürzungsverzeichnis

°	Grad
$\alpha$ -MEM	engl.: <i>minimum essential medium</i> ( $\alpha$ -modification)
Å	Ångström
A	Fläche
$A_m$	Bruchdehnung
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
anisotr.	anisotrop
a.u.	beliebige Einheit, engl.: <i>arbitrary unit</i>
BDNF	engl.: <i>brain-derived neurotrophic factor</i>
BET	BRUNAUER, EMMET und TELLER
BJH	BARRETT, JOYNA und HALENDA
BMP	engl.: <i>bone morphogenetic protein</i>
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat, engl. <i>cyclic adenosine monophosphate</i>
CFSE	Carboxyfluoresceindiacetatsuccinimidylester
CI	Cochlea-Implantat
cm	Zentimeter
CMC	kritische Mizellbildungskonzentration, engl.: <i>critical micelle concentration</i>
CREB	engl.: <i>cAMP-responsive element-binding protein</i>
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
CTB	CellTiter-Blue®
$\delta$	Verlustwinkel
d	Tage
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DEA	Diethanolamin
DEG	Diethylenglykol
DFT	Dichtefunktional-Theorie

---

d.h.	das heißt
DIN	Deutsches Institut für Normung e.V.
DLS	dynamische Lichtstreuung
DMEM	engl.: <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure, engl.: <i>desoxyribonucleic acid</i>
rad	Radiant
$\tan\delta$	Verlustfaktor
$\epsilon$	Dehnung
EISA	verdampfungsinduzierte Selbstorganisation, engl.: <i>evaporation-induced self-assembly</i>
<i>E</i> -Modul	Elastizitätsmodul
<i>et al.</i>	und andere, lat.: <i>et alii</i>
EtOH	Ethanol
<i>F</i>	Kraft
<i>L</i>	Länge
FCS	Fötales Kälberserum, engl.: <i>fetal calf serum</i>
FDA	U.S.-Bundesbehörde zur Überwachung von Nahrungs- und Arzneimitteln, engl.: <i>U.S. Food and Drug Administration</i>
$\gamma$	Deformation
$\gamma_A$	Sinusamplitude der Deformation
G	Erdbeschleunigung
$G^*$	komplexer Schubmodul
$G'$	Speichermodul
$G''$	Verlustmodul
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
Gl.	Gleichung
h	Stunde
hAD-MSCs	mesenchymale Stammzellen aus humanem Fettgewebe, engl.: <i>human adipose-derived mesenchymal stem cells</i>
HBSS	engl.: <i>Hank's Balanced Salt Solution</i>
HEMA	2-Hydroxyethylmethacrylat

---

HTV	Hochtemperaturvulkanisat, engl.: <i>high temperature vulcanizing</i>
Hz	Hertz
IR	Infrarot
ISO	internationale Standardorganisation, engl.: <i>international organization for standardization</i>
J	Kopplungskonstante
K	Kelvin
kDa	Kilodalton
kN	Kilonewton
$\lambda$	Wellenlänge
$L_0$	Ursprungslänge
LB	engl.: <i>lysogeny broth</i>
LDH	engl.: <i>layered double hydroxide</i>
Lit.	Literatur
LSR	Flüssigsiliconkautschuk, engl.: <i>liquid silicone rubber</i>
$\mu\text{S}$	Mikrosiemens
MBC	minimale bakterizide Konzentration, engl.: <i>minimum bactericidal concentration</i>
MCM	<i>Mobil Composition of Mater</i>
MIC	minimale inhibierende Konzentration, engl.: <i>minimum inhibitory concentration</i>
min	Minuten
mL	Milliliter
mm	Millimeter
N	Newton
NP	Nanopartikel
NPSNP-MeOPh	4-Methoxyphenyl-modifizierte nanoporöse Silica-Nanopartikel
NPSNP-OH	unmodifizierte nanoporöse Silica-Nanopartikel
NPSNP-Vi,Me	Vinyl/Trimethyl-modifizierte nanoporöse Silica-Nanopartikel
NPSNPs	nanoporöse Silica-Nanopartikel (allgemein)
OD	optische Dichte
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung, engl.: <i>phosphate buffered saline</i>

---

PDMS	Polydimethylsiloxan
PORP	engl.: <i>partial ossicular chain reconstructive prosthesis</i>
ppb	Teile pro Milliarde, engl.: <i>parts per billion</i>
ppm	Teile pro Million, engl.: <i>parts per million</i>
PSA	druckempfindliches Haftsilicon, engl.: <i>pressure sensitive adhesive</i>
$R_m$	Zugfestigkeit
REM	Rasterelektronenmikroskopie
rpm	Umdrehungen pro Minute, engl.: <i>rounds per minute</i>
RT	Raumtemperatur
RTV	Raumtemperaturvulkanisat, engl.: <i>room temperature vulcanizing silicone rubber</i>
$\sigma$	Spannung
s	Sekunde
SBF	simulierte Körperflüssigkeit, engl.: <i>simulated body fluid</i>
SDA	strukturdirigierendes Agens
SFB	Sonderforschungsbereich
SGNs	Spiralganglienneuronen
SiH	Wasserstofffunktionelles Polysiloxan
siRNA	kleine eingreifende Ribonukleinsäure, engl.: <i>small interfering ribonucleic acid</i>
SiVi	Vinylfunktionelles Polysiloxan
sphär.	sphärisch
$\tau$	Schubspannung
$\tau_A$	Sinusamplitude der Schubspannung
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEOS	Tetraethylorthosilicat
TG	Thermogravimetrie
TMOS	Tetramethylorthosilicat
TORP	engl.: <i>total ossicular chain reconstructive prosthesis</i>
u.a.	unter anderem
unvern.	unvernetzt
Vern.	Vernetzung

vgl.	vergleiche
Vol%	Volumenprozent
Wdh.	Wiederholungen
wt%	Gewichtsprozent
z.B.	zum Beispiel



# 1 Einleitung

Das Hörorgan ist das empfindlichste Sinnesorgan des Menschen und gleichzeitig das wichtigste für die Kommunikation mit anderen Menschen. Die Sprachentwicklung und damit die Fähigkeit, verbal zu kommunizieren, wird hauptsächlich über das Hören geprägt, wodurch die Bedeutung eines gesunden Ohres verdeutlicht wird.<sup>[1]</sup> Eine Hörminderung oder sogar Taubheit kann im schlimmsten Fall, bei einer ungenügenden Kommunikationsfähigkeit zur Ausgrenzung und Isolation von der Gesellschaft führen.

Allein in Deutschland leben 15 Millionen Menschen mit einer deutlichen Hörminderung.<sup>[2]</sup> Seit dem Jahr 2011 stieg dabei die Zahl an Hörgeräteträgern ab einem Alter von 14 Jahren von 1.5 Millionen auf 1.9 Millionen im Jahr 2014.<sup>[3]</sup> Diese Zunahme spiegelt sich ebenfalls in der Entwicklung der jährlichen Absatzmenge von Hörgeräten in Deutschland in den Jahren 2000 bis 2014 wider, welche von 526 000 auf 1 200 000 Hörgeräte anstieg.<sup>[4]</sup> Diese Zunahme ist vor allem eine Folge des demographischen Wandels, welcher zu einer Erhöhung der Anzahl an Menschen mit Altersschwerhörigkeiten führt. Die Zahlen verdeutlichen die Notwendigkeit Hörgeräte und Hörprothesen stets auf dem Stand der aktuellen Forschung zu halten, um diese gegebenenfalls weiter zu verbessern und bestmögliche Höreindrücke für den Patienten zu ermöglichen. Im Fokus dieser Dissertation steht deshalb zum einen die Optimierung einer Mittelohrprothese, welche einem Patienten nach Verlust der Gehörknöchelchenkette implantiert wird, zum anderen wird die Cochlea-Elektrode eines Cochlea-Implantats weiterentwickelt, welches die Situation bei einer Innenohrschwerhörigkeit oder -taubheit deutlich verbessert.

Ein häufiges Problem bei einer Versorgung mit Implantaten ist die Besiedelung der Implantatoberfläche mit Bakterien, welche Biofilme ausbilden und für Infektionen, gefolgt von Implantatverlusten und Revisionsoperationen, verantwortlich sein können. Gegenstand der aktuellen Forschung in unserem Arbeitskreis ist die Entwicklung von lokalen Freisetzungssystemen für Antibiotika und Antiseptika, um Bakterien direkt am Infektionsort zu bekämpfen. Im Teilprojekt D1 des Sonderforschungsbereiches 599 wurde intensiv an Beschichtungen von Mittelohrprothesen, die aus der Glasglimmerkeramik Bioverit®II bestehen, geforscht. Solche Implantate dienen zur Rekonstruktion der Verbindung zwischen Trommelfell und Innenohr (s. Abb. 1.1). Es wurden nanoporöse Silica-Beschichtungen auf Bioverit®II hergestellt, die biokompatibel sind und aufgrund ihres großen spezifischen Porenraumes als Wirkstoffdepot dienen können. Auf dieser Basis wurde ein lokales Freisetzungssystem für das Antibiotikum Ciprofloxacin etabliert, dessen Wirksamkeit in Bakterienkulturexperimenten und in Tierversuchen nachgewiesen wurde.<sup>[5-9]</sup> Hierbei lag der Schwerpunkt auf der schnellen Bekämpfung einer akuten Infektion.

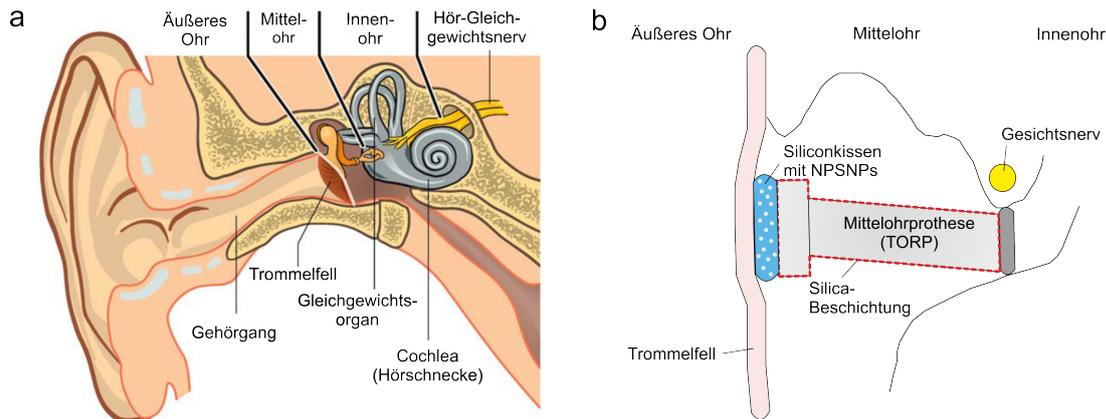


Abb. 1.1: a) Übersicht der Strukturen eines gesunden Ohres nach Lit. [1] und b) schematische Darstellung einer Mittelohrprothese mit einer Silica-Beschichtung und einem Siliconkissen zwischen dem Trommelfell und der Mittelohrprothese.

Da Mittelohrprothesen üblicherweise in ein infiziertes Gewebe implantiert werden, ist eine gleichzeitige Antibiotikabehandlung notwendig, die heutzutage in der Regel systemisch durchgeführt wird.<sup>[10]</sup> Allerdings ist das luftgefüllte, nicht von Flüssigkeiten durchströmte Mittelohr für systemische Therapien nur schwer zugänglich. Deshalb und aufgrund der zunehmenden Bildung von Antibiotikaresistenzen gegen Bakterien ist die Entwicklung alternativer Behandlungsmethoden erstrebenswert.<sup>[11]</sup> Als antibakteriell und antimikrobiell wirkender Stoff bietet sich hierfür Silber an, welches effizient verschiedene Bakterien und Pilze bekämpfen kann.<sup>[12–17]</sup> Silbernanopartikel können unter geeigneten Umständen Silberionen in einer geeigneten Konzentration freisetzen und so eine mittel- bzw. auch langfristige Bakterienbekämpfung ermöglichen. In vorherigen Arbeiten in unserer Gruppe wurden Silber-Silica-Beschichtungen auf der Basis von nanoporösem Silica sowie dichtem Silica auf Glassubstraten entwickelt.<sup>[18]</sup> Die Herstellung der nanoporösen Silber-Silica-Schicht erfolgt in zwei Schritten, wobei zunächst die poröse Silica-Schicht hergestellt und im zweiten Schritt mit einer Silbernitratlösung inkubiert wird. Eine anschließende Calcination führt zur Reduktion der Silberionen zu Silbernanopartikeln. Im Falle des dichten Beschichtungstyps erfolgt die Einlagerung der Silberionen in die Silicamatrix simultan in einem Schritt. Im Anschluss wird die Beschichtung calciniert, um organische Bestandteile zu entfernen und im gleichen Schritt Silbernanopartikel zu bilden. In der vorliegenden Arbeit werden sowohl die nanoporöse als auch die dichte Silber-Silica-Beschichtung eingehend charakterisiert, wobei der Schwerpunkt auf der Untersuchung des Freisetzungs- und Degradationsverhalten des Silbers liegt. *In vitro*-Untersuchungen sollen zudem Aufschluss über die Cytokompatibilität und die antibakterielle Wirksamkeit dieser Beschichtungen auf Bioverit® II geben. Eine nachfolgend durchgeführte, bereits in der Literatur beschriebene *in vivo*-Studie zur Biokompatibilität am gesunden Kaninchenohr ergab hierfür bereits positive Ergebnisse.<sup>[19]</sup>

Die Fixierung der Mittelohrprothese und der Schutz des Trommelfells stellen ebenfalls wichtige Techniken mit großem Optimierungsbedarf dar. Die Mittelohrprothese wird ohne direkte Fixierung auf Spannung zwischen das Trommelfell und die Fußplatte des Steigbügelknochens eingestellt. Um das Risiko von Dislokationen und eine Beschädigung des Trommelfells bis hin zum Durchtritt der Prothesen zu minimieren, hat sich die Platzierung einer dem Patienten an einer anderen Körperstelle entnommenen Knorpelscheibe zwischen dem Prothesenteller und dem Trommelfell etabliert.<sup>[20,21]</sup> In Untersuchungen wurde jedoch eine fortwährende Degeneration einer solchen Knorpelscheibe festgestellt, wodurch die Fixierung nicht dauerhaft gewährleistet wird.<sup>[22]</sup> Zudem verändern sich im Laufe der Degeneration die mechanischen Eigenschaften des Knorpels, was zu einer Verschlechterung der Schallübertragung auf das Innenohr führen kann. Diese Umstände haben uns initiiert, ein künstliches Substitut zu entwickeln (s. Abb. 1.1b). Als Basismaterial hierfür boten sich Siliconelastomere aufgrund ihrer einstellbaren mechanischen Eigenschaften sowie ihrer Langzeitstabilitäten und ihrer Bioinertheit an.<sup>[23,24]</sup> Die Anpassung der mechanischen Eigenschaften solcher Silicone erfolgt dabei u.a. durch den Zusatz verschiedener Gehalte an Füllstoffen, wie pyrogenes oder gefälltes Silica. Durch die Ausbildung eines Füllstoffnetzwerkes im Polymerkomposit und starker Wechselwirkungen zwischen den Silicafüllstoffpartikeln und den Siloxanketten des Polymers wird eine Verstärkung und Festigung des Silicons erreicht.<sup>[25,26]</sup> Ein Schwerpunkt in dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Siliconelastomers unter Verwendung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln (NPSNPs) als Füllstoffmaterial. Die Partikel können dabei aufgrund ihrer großen spezifischen Oberfläche von etwa  $1\,000\text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , einem Porenanteil von 50%, Poren mit Durchmessern von ca. 3 nm und einer exzellenten Biokompatibilität als Wirtmaterial für Wirkstoffe genutzt werden.<sup>[27-29]</sup> Durch den Einschluss von mit Wirkstoffen beladenen NPSNPs ließe sich ein neuartiges Freisetzungssystem für Silicone in biomedizinischen Anwendungen realisieren. Im Rahmen dieser Arbeit sollte zunächst eine Methode zur Einarbeitung solcher NPSNPs in Siliconpolymere entwickelt werden. Dazu wurden die NPSNPs durch hydrophobe organische Gruppen wie Trimethyl- und Vinyldimethylgruppen modifiziert, bevor sie in das medizinische Silicon Silpuran<sup>®</sup> 2430 (WACKER CHEMIE AG) eingearbeitet wurden. Die eingehende Charakterisierung der Mischungen, insbesondere hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften, und eine Cytokompatibilitätsstudie sind Teil dieser Dissertation.

Silicon wird auch in Cochlea-Implantaten als Biomaterial verwendet (s. Abb. 1.2). Hier fungiert es insbesondere als elektrisch isolierende Ummantelung, wobei die für die Stimulation der Hörnervenzellen dienenden Platinkontakte ausgespart werden. Silicon weist dabei eine hohe Flexibilität auf, die für die operative Einführung der Elektrode in die Cochlea des Innenohres wichtig ist.

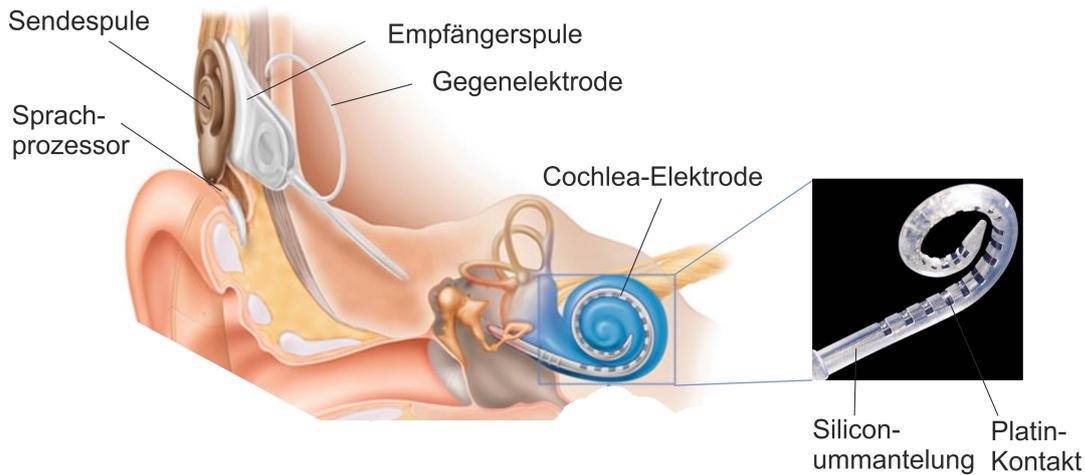


Abb. 1.2: Übersichtsdarstellung eines Cochlea-Implantats und Vergrößerung der Cochlea-Elektrode nach Lit. [30,31].

Eine Verbesserung des Implantats ist hier u.a. hinsichtlich der Biointegration, der Einheilung und der Hörqualität gewünscht. Für den Höreindruck ist vor allen Dingen die Anzahl und Aktivität der Spiralganglienneuronen (SGNs) im Innenohr von zentraler Bedeutung. Dementsprechend ist auch die Distanz zwischen den Elektrodenkontakten und den SGNs relevant, welche je nach Position der Elektrode variieren kann.<sup>[32,33]</sup> Die Implantation einer Cochlea-Elektrode ist bei einer Innenohrschwerhörigkeit angezeigt, die meist mit einer Fehlfunktion oder dem Verlust der Haarzellen im Innenohr verbunden ist. Diese geht häufig einher mit einer Degeneration der SGNs.<sup>[34]</sup> Ziel eines im Exzellenzcluster “Hearing4all” durchgeführten Projekts (Projekt A2.9) ist es, das Überleben der SGNs und das Wachstum ihrer Dendriten zu fördern. Hierfür ist eine Freisetzung von neuroprotektiven Wirkstoffen wie Rolipram und BDNF (engl.: *brain-derived neurotrophic factor*), einem Protein, aus den Elektrodenmaterialien Platin (Kontakte) bzw. Silicon (Ummantelung) geplant. Beide Wirkstoffe lieferten bereits in verschiedenen Studien vielversprechende Ergebnisse.<sup>[33,35,36]</sup> In Abb. 1.3 sind verschiedene Strategien aufgezeigt, welche für die Freisetzung von Rolipram bzw. BDNF aus Silicon genutzt werden können. Die vorliegende Arbeit befasst sich dabei mit der Freisetzung von Rolipram aus Silicon, wobei als Freisetzungssystem die Kombination aus NPSNPs in Silicon untersucht wird (s. Abb. 1.3, Strategie 1). Zunächst wird die Rolipramfreisetzung aus NPSNPs, die auf zwei unterschiedliche Arten modifiziert wurden, getestet. Anschließend werden solche beladenen NPSNPs in das Siliconpolymer eingearbeitet. Das Komposit wird dann ebenfalls hinsichtlich des Freisetzungsverhaltens untersucht. Des Weiteren sollen Cytokompatibilitätsuntersuchungen sowie eine Evaluierung der neuroprotektiven Wirkung auf SGNs erfolgen.

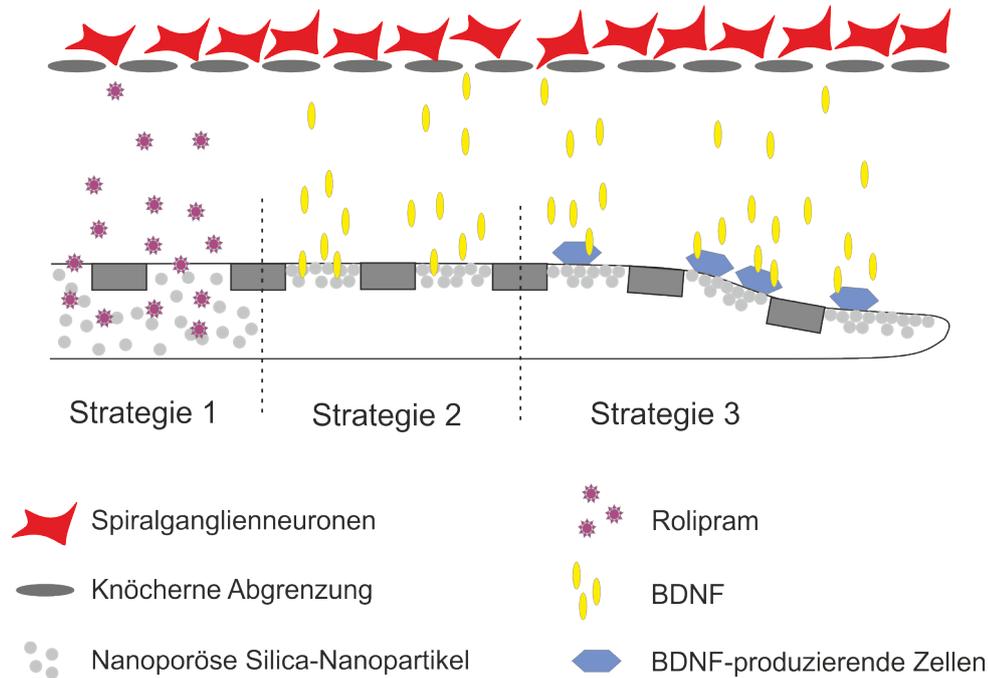


Abb. 1.3: Schematische Darstellung einer Cochlea-Elektrode im Querschnitt mit Modifizierungsstrategien für die Freisetzung von neuroprotektiven Wirkstoffen aus der Siliconummantelung.

Ein weiterer Ansatz, den Siliconteil für eine Freisetzung von neuroprotektiven Wirkstoffen zu nutzen, ist die Besiedelung der Siliconoberfläche mit (genetisch modifizierten) Zellen, welche Wachstumsfaktoren produzieren und freisetzen können (s. Abb. 1.3, Strategie 3).<sup>[36]</sup> Um das hydrophobe Silicon attraktiver für Zellen zu gestalten, ist eine Hydrophilierung der Siliconoberfläche notwendig, welche durch eine Beschichtung mit hydrophilen Silica-Partikeln erzielt werden soll. In Zukunft ließe sich somit ein komplexes System mit einer Rolipramfreisetzung aus den NPSNPs im Siliconinneren und einer BDNF-Freisetzung durch BDNF-produzierende Fibroblasten von der Siliconoberfläche herstellen (s. Abb. 1.3, Kombination aus Strategie 1 und 3). Dies wäre eine geeignete Kombination, da eine gleichzeitige Anwesenheit von Rolipram und BDNF die Überlebensrate der SGNs deutlich erhöhen kann.<sup>[35]</sup> Die in Abb. 1.3 dargestellte Strategie 2, welche nicht Gegenstand der vorliegenden Dissertation ist, beschreibt die Freisetzung von BDNF aus NPSNPs. Die Partikel sollten hierfür nahe der Siliconoberfläche konzentriert sein, um einen möglichst kurzen Diffusionsweg für die großen Proteinmoleküle zu schaffen.

## 2 Allgemeine Grundlagen

In diesem Kapitel werden die Grundlagen dargelegt, die für das Verständnis der vorliegenden Forschungsarbeit von Bedeutung sind. Es wird auf die Anatomie des Ohres, die Entstehung eines Höreindrucks und die medizinische Versorgung des Ohres mit einer Mittelohrprothese und einem Cochlea-Implantat bei Hörverlusten eingegangen. Des Weiteren werden verschiedene Wirkstoffe und Materialien vorgestellt, die zu einer Verbesserung der genannten Implantate beitragen sollen.

### 2.1 Das Ohr und die Physiologie des Hörens

Die Kommunikation mittels Sprache und Hören stellt für den Menschen die wichtigste Fähigkeit für den Kontakt mit anderen Menschen und somit für das soziale Leben dar. Die Funktion des Ohres ist dabei von besonderer Bedeutung, da hierüber auch die Sprachentwicklung erfolgt. Neben dem Hören ist dieses Sinnesorgan für unseren Gleichgewichtssinn verantwortlich, sodass ein gesundes Ohr noch mehr an Bedeutung gewinnt.

#### 2.1.1 Die Anatomie des Ohres

Die Anatomie des Ohres ist sehr komplex und wird in verschiedene Bereiche aufgeteilt. Eine erste Einteilung erfolgt in den peripheren und den zentralen Teil. Der periphere Teil umfasst das Außenohr, das Mittelohr, das Innenohr und den VIII. Hirnnerv (*Nervus vestibulocochlearis*), welcher sich in den Hörnerv und in den Gleichgewichtsnerv aufteilt. Der zentrale Teil des Ohres beinhaltet die Hörbahnen, welche für die Reizverarbeitung zuständig sind, die Vestibularbahnen, welche für den Gleichgewichtssinn bedeutend sind, und die zentralen Teile des Gesichtsnervs (*Nervus facialis*), die sich bis ins Innenohr erstrecken.<sup>[30]</sup>

Das Außenohr, das Mittelohr und das Innenohr (s. Abb. 2.1) sind zunächst für die Verarbeitung von Tönen, Geräuschen und Sprache verantwortlich, sodass anschließend eine Weiterverarbeitung zu einem Höreindruck im zentralen Teil erfolgen kann.

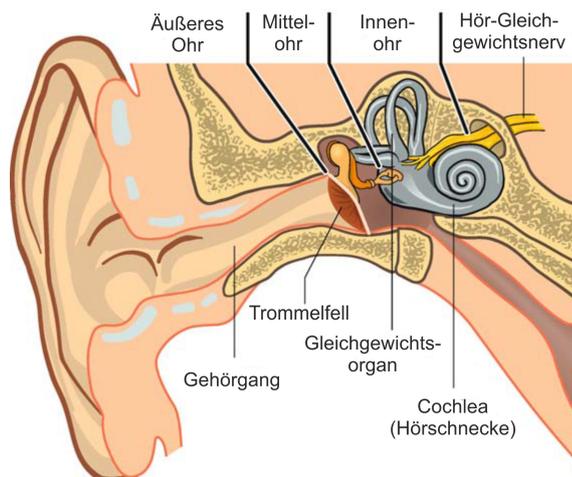


Abb. 2.1: Übersicht des Außen-, Mittel- und Innenohres nach Lit. [1].

Das Außenohr mit der Ohrmuschel und dem äußeren Gehörgang besteht größtenteils aus Knorpel. Nur der innere Teil des Gehörgangs ist knöchern begrenzt. Am Ende des äußeren Gehörgangs befindet sich das trichterförmige Trommelfell, nach welchem das Mittelohr beginnt. Das Mittelohr beinhaltet die Gehörknöchelchenkette in der luftgefüllten Paukenhöhle. Die Paukenhöhle ist über die Ohrtrumpete mit dem Nasenrachenraum verbunden, wodurch ein Druckausgleich zwischen dem Mittelohr und dem Nasenrachenraum möglich ist. Ein Druckausgleich ist wichtig, um ein Schwingen des Trommelfells bei auftretenden Schwankungen des Luftdrucks zu ermöglichen und diese Bewegungen auf das Mittelohr übertragen zu können. Die Gehörknöchelchenkette, bestehend aus den drei kleinen, schleimhautüberzogenen Knochen Hammer, Amboss und Steigbügel, ist direkt mit dem Trommelfell verbunden und beweglich am ovalen Fenster verankert (s. Abb. 2.2).

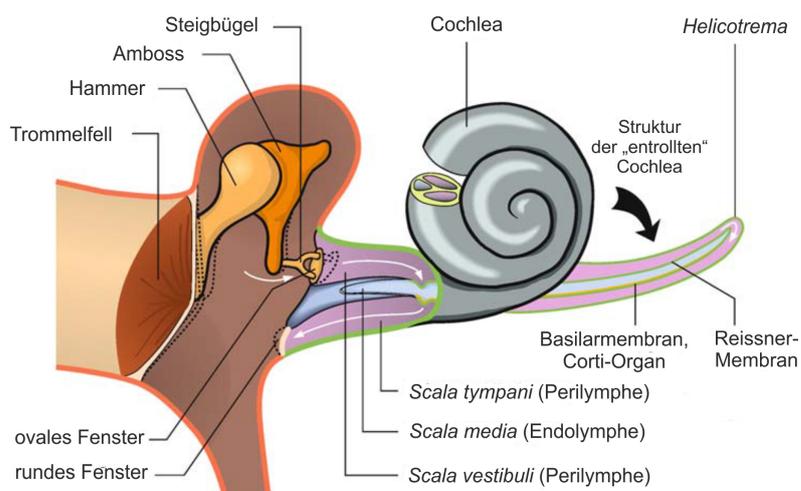


Abb. 2.2: Vergrößerte Darstellung des Mittelohres und der Cochlea nach Lit. [1].

Der Hammer und der Steigbügel sind über Muskeln mit der Wand der Paukenhöhle verbunden, um die Schallübertragung in Abhängigkeit der Amplitude und Frequenz zu regulieren. Die Muskeln können kontrahieren und den Steigbügel sowie den Amboss gegeneinander verkippen, um eine Verringerung des Schalldruckpegels und dadurch einen Selbstschutz des Ohres vor langanhaltenden großen Amplituden zu erzielen.<sup>[30,37]</sup>

Hinter dem ovalen Fenster schließt sich das mit Flüssigkeit gefüllte Innenohr an. Dieses besteht zum einen aus der Cochlea, die auch als Hörschnecke bezeichnet wird und sich zweieinhalb Mal um die eigene Achse windet, und zum anderen aus dem vestibulären Labyrinth, welches für den Gleichgewichtssinn verantwortlich ist.<sup>[1,30]</sup>

Die Cochlea ist in drei Kompartimente eingeteilt, die *Scala tympani* und die *Scala vestibuli*, welche mit Perilymphe gefüllt sind, sowie die *Scala media (Ductus cochlearis)*, in welcher sich Endolymphe befindet (s. Abb. 2.3a). Der *Ductus cochlearis* enthält die Sinneszellen, die Haarzellen, welche sich in eine Reihe innere und drei Reihen äußere Haarzellen aufteilen (s. Abb. 2.3b). Die Haarzellen stehen über Synapsen mit den Dendriten der Spiralganglienneuronen (SGNs) in Kontakt, die bis zum *Ganglion spirale cochleae* reichen. Die Axone der SGNs bündeln sich und bilden den Hörnerv (*N. cochlearis*) (s. Abb. 2.3a). Von hier aus werden die Reize an die Hörbahnen des zentralen Teils weitergeleitet und im Gehirn zur Sinneswahrnehmung verarbeitet.<sup>[30,34]</sup>

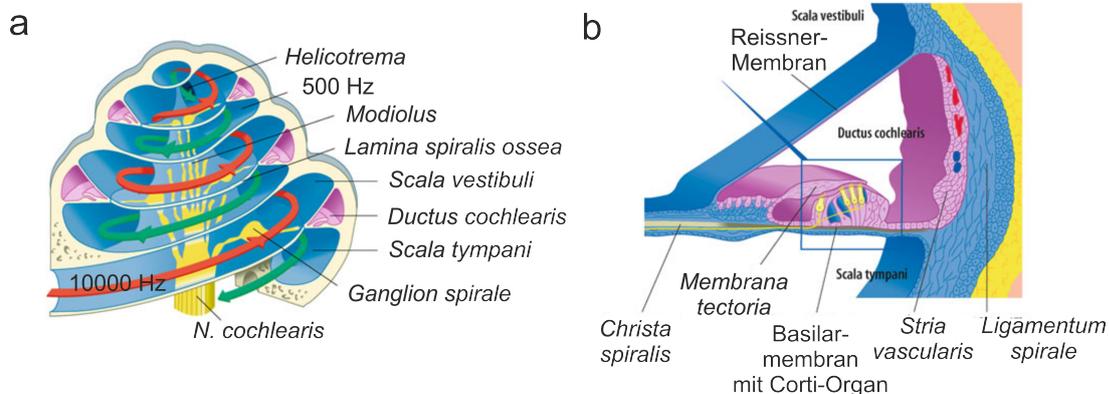


Abb. 2.3: a) Querschnitt der Cochlea mit Verlaufsrichtungen der Perilymphe und b) Vergrößerung des *Ductus cochlearis* nach Lit. [30].

## 2.1.2 Die Physiologie des Hörens

Mit der Aufnahme einer Schallwelle durch das Außenohr beginnt die Informationsverarbeitung, aus der final ein Höreindruck für den Menschen entsteht. Das menschliche Ohr bzw. das Hörorgan ist in der Lage, Schallwellen im Frequenzbereich von 20 Hz bis 16 000 Hz in Reize umzuwandeln, sodass der Mensch verschiedene Tonhöhen unterscheiden kann.<sup>[33,38]</sup>

Schallwellen in Form von periodischen Luftdruckschwankungen werden von der Ohrmuschel aufgenommen und durch den äußeren Gehörgang zum Trommelfell geleitet, welches daraufhin in Schwingung versetzt wird. Diese Schwingung wird direkt auf die Gehörknöchelchenkette im Mittelohr übertragen. Durch die Umwandlung der Luftdruckschwankungen in mechanische Schwingungen wird die Impedanz (Schallwiderstand) für die Übertragung vom luftbefüllten Mittelohr auf das flüssigkeitgefüllte Innenohr angepasst. Diese Anpassung ist notwendig, um möglichst wenig Schallenergie durch Reflektion an der Flüssigkeit (Perilymphe) zu verlieren. Die Hebelwirkung der Gehörknöchelchenkette und die Übertragung und Erhöhung des Drucks von dem flächenmäßig großen Trommelfell auf die kleine Steigbügelfußplatte verstärkt die Schwingungsübertragung auf das Innenohr zusätzlich. Durch eine Volumenverschiebung der Perilymphe entsteht eine Wanderwelle, die sich durch die Cochlea fortsetzt. An der Stelle, an der die Wanderwelle ihr Maximum erreicht und zusammenbricht, entspricht sie einer bestimmten Frequenz und reizt die dort befindlichen Haarzellen (s. Abb. 2.3b).<sup>[30,38,39]</sup>

In dem Moment, in dem es zur Verschiebung und Reizung der Sinneshaare kommt, wird mechanische Energie zunächst in chemische Signale umgewandelt. Die Sinneszellen der Haarzellen werden aufgrund der Schwingungen der Tektorialmembran ausgelenkt und erfahren eine Änderung des Membranpotentials, welches auch Sensorpotential genannt wird. Dieses Sensorpotential entsteht durch Öffnung von Kaliumkanälen und dem Fließen von Ionen aus der kaliumreichen Endolymphe des *Ductus cochlearis* in das kaliumarme Zytoplasma der Haarzellen. Infolge dieses Prozesses kommt es zu einer Membrandepolarisation was dazu führt, dass Calciumkanäle geöffnet werden und Calciumionen aus der Perilymphe in die Haarzelle einströmen. Die Calciumionen bewirken ihrerseits eine Freisetzung des Neurotransmitters Glutamat in den synaptischen Spalt, welcher an die SGNs weitergeleitet wird und im Hörnerv zu Aktionspotentialen führt. Insgesamt wird dann von mechanoelektrischer Transduktion gesprochen. Die Weiterverarbeitung der Reize zum Höreindruck und dem richtungsabhängigen Hören findet dann in der zentralen Hörbahn und dem Gehirn statt.<sup>[1,30,39]</sup>

## 2.2 Implantate im Ohrbereich

Es existieren verschiedene Gründe, warum die Versorgung des Ohres mit Implantaten notwendig sein kann. Ursachen hierfür können eine angeborene Taubheit, aber auch Infektionen oder hohe Lärmexpositionen sein. Die Schwerhörigkeit kann sowohl im Mittelohr als auch im Innenohr oder im zentralen Hörsystem begründet sein. Je nach Erkrankung lassen sich für den Patienten heutzutage gute Hörergebnisse mit dem Einsatz von Implantaten erzielen, wobei häufig Störgeräusche oder viele gleichzeitig auftretende Stimmen noch nicht

gut unterschieden werden können. Die Tatsache, überhaupt wieder etwas hören zu können, ist jedoch immens wichtig für den Patienten, um am sozialen Leben teilnehmen zu können.

### 2.2.1 Die Mittelohrprothese

Ein gesundes Ohr und intakte, unbeschädigte Ohrstrukturen sind Voraussetzungen für ein gutes Hörvermögen. Ist die Funktion des Mittelohres gestört, dann ist eine Schallweiterleitung nicht mehr möglich und der Patient leidet an einer Schallleitungsschwerhörigkeit. Besonders kritisch ist der Verlust der Gehörknöchelchenkette infolge einer chronischen Mittelohrentzündung (*Otitis media*) oder eines Cholesteatoms. Sowohl akute als auch chronische Mittelohrentzündungen werden häufig durch bakterielle Erreger ausgelöst. Als häufig auftretende Bakterien werden *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermidis* genannt.<sup>[10]</sup> Die chronische *Otitis media* tritt häufig auch bei langwierigen frühkindlichen Tubenventilationsstörungen und immer wiederkehrenden Infektionen auf.<sup>[30]</sup>

Cholesteatome sind wuchernde Epithelmassen der Mittelohrschleimhaut (*Mucosa*), die mit einer Bakterienbesiedlung verbunden sind und zu einer Infektion führen. Die Infektion kann auf die Gehörknöchelchen übergehen und auch das Cholesteatom kann sich geschwulstartig auf den Knöchelchen ausbreiten, sodass diese zerstört werden. Zudem besteht die Gefahr eines Vordringens des Cholesteatoms bis zum Gehirn. Die Heilung einer solchen Erkrankung ist nur durch eine operative Entfernung mit einer begleitenden Antibiotikabehandlung, z.B. mit dem Antibiotikum Ciprofloxacin, möglich.<sup>[10]</sup> In einer Operation werden das Cholesteatom und die angegriffenen Knochenstrukturen entfernt und zur Überbrückung der defekten Gehörknöchelchenkette wird eine Mittelohrprothese implantiert (s. Abb. 2.4).

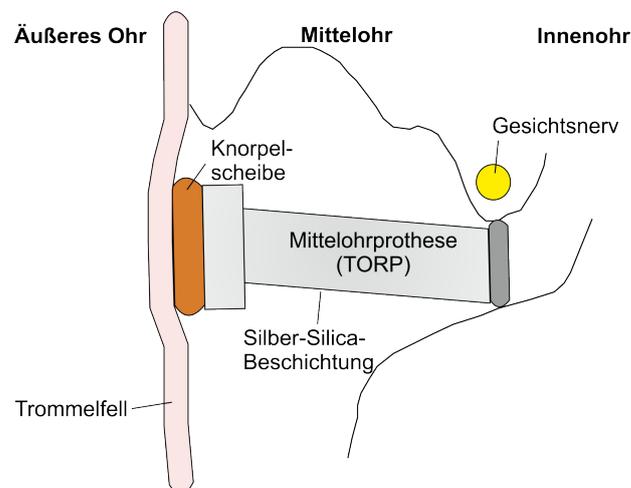


Abb. 2.4: Schematische Darstellung einer Mittelohrprothese (TORP) zwischen Trommelfell und ovalem Fenster zur Überbrückung der defekten Gehörknöchelchenkette.

Sind nur der Hammer und der Amboss beschädigt, wird eine Prothese implantiert, die nur diese Teile ersetzt. Es wird dann von einer *partial ossicular chain reconstructive prosthesis* (PORP) gesprochen. Eine vollständige Überbrückung zwischen dem Trommelfell und dem Innenohr bzw. der Steigbügel Fußplatte erfolgt mit einer *total ossicular chain reconstructive prosthesis* (TORP). Abb. 2.5 zeigt zwei verschiedene Prothesentypen im operierten Mittelohr. <sup>[30,40]</sup>

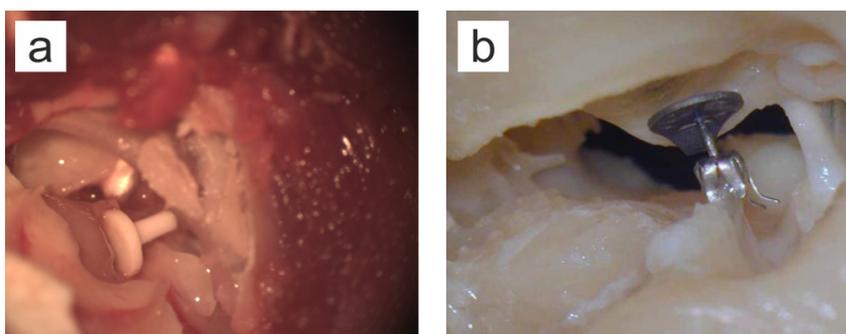


Abb. 2.5: a) Bioverit®II-TORP in der mit Schleimhaut ausgekleideten *Bulla tympanica* eines Kaninchens (Foto: Dr. Franziska Duda). b) Titan-PORP mit Ankopplung an den Hammergriff. <sup>[41]</sup>

Das Material, aus dem eine Mittelohrprothese gefertigt wird, muss einigen Ansprüchen genügen. Eine optimale Schallweiterleitung ist dabei von besonderem Interesse und wird durch die Verwendung eines steifen Materials erreicht. Eine gute Biokompatibilität und Stabilität muss ebenfalls gewährleistet sein. Verwendete Materialien für alloplastische Prothesen sind deshalb Titan, Gold und Biokeramiken. Titan ist ein besonders leichtes Material mit einer guten Bioverträglichkeit und guten mechanischen Eigenschaften, weshalb es sich in vielen Bereichen als Implantatmaterial etabliert hat. <sup>[42]</sup> Die Verwendung von Biokeramiken beschränkt sich hauptsächlich auf Hydroxylapatit und Biogläser. Hydroxylapatit und Komposite mit organischen Materialien wie Chitosan sind dem eigentlichen Knochen sehr stark nachempfunden, zeigen aber häufig keine ausreichende Stabilität. <sup>[43]</sup> Eine Verbesserung der Hydroxylapatit-Prothesen wurde von Goldenberg und Driver in einer Studie über 5 Jahre angestrebt, in der Hybridimplantate, bestehend aus einem Prothesenteller aus Hydroxylapatit und einem Schaft aus dem Kunststoff Plastipore®, Fluoroplastic oder Teflon, untersucht wurden. <sup>[44]</sup> Die Ergebnisse gaben Hinweise auf ein vielversprechendes Implantatmaterial. Die Glasglimmerkeramik Bioverit®II, welche auch in dieser Arbeit verwendet wurde, wird häufig für Mittelohrprothesen genutzt. Die Vorteile dieses Materials sind die mögliche Implantation in infiziertes Gewebe, die Inhibierung des Wachstums bestimmter gram-negativer Bakterien und die große modifizierbare Oberfläche. <sup>[45,46]</sup>

## Verbesserung von Mittelohrprothesen

Eines der Hauptprobleme bei der Implantation einer Mittelohrprothese ist deren mögliche Dislokation und ein damit einhergehender Schallübertragungsverlust von 50-60 dB.<sup>[47]</sup> Eine Verbesserung der Prothesen hinsichtlich einer zuverlässigen Fixierung wurde deshalb von verschiedenen Forschern angestrebt und untersucht. Die Gruppe um Beutner entwickelte z.B. einen Knorpel-”Schuh” für eine Titan-Prothese, der so zugeschnitten wurde, dass er in die Nische des ovalen Fensters eingesetzt werden kann.<sup>[47]</sup> Auf der Seite des Knorpels, die zum Mittelohr gewandt ist, befindet sich eine kleine Ausbuchtung für die Steigbügel Fußplatte bzw. den Prothesenschaft, sodass die Prothese zumindest in Kurzzeituntersuchungen erfolgreich stabilisiert werden konnte. Neudert *et al.* untersuchten modifizierte Titan-TORPs hinsichtlich einer Osseointegration, d.h. einer knöchernen Einheilung der Steigbügel Fußplatte, und wollten damit eine Fixierung der Prothese erzielen.<sup>[48]</sup> Die TORPs wurden mit einer Kollagenmatrix Typ I bzw. II ausgestattet und mit dem knochenmorphogenetischen Protein BMP4 (engl.: *bone morphogenetic protein*) oder dem transformierenden Wachstumsfaktor TGF- $\beta$  (engl.: *transforming growth factor*) immobilisiert. Diese Proteine sollten die Osteoblastenaktivität und Differenzierung an der Steigbügel Fußplatte stimulieren, um eine knöcherne Fixierung zu generieren. Eine erfolgreiche Osseointegration wurde jedoch lediglich an zwei von acht Versuchstieren beobachtet.<sup>[48]</sup>

Innerhalb des Sonderforschungsbereichs (SFB) 599 “Biomedizintechnik” wurden verschiedene Optimierungsversuche für Bioverit<sup>®</sup>II-TORPs vorgenommen. Ein Schwerpunkt war die Fixierung der Prothesen. Lensing *et al.* untersuchten TORPs aus einer Magnesiumlegierung, um die Osseointegration der Prothese im Bereich der Steigbügel Fußplatte zu steigern.<sup>[49]</sup> Es ist bekannt, dass Magnesium osteoinduktiv und osteokonduktiv wirken kann.<sup>[50,51]</sup> Die Gruppe verzeichnete eine positive Knochenbildung, jedoch erfolgte die Korrosion des Magnesiums zu schnell, um als TORP Anwendung zu finden. Ein weiterer Ansatz von Ehlert *et al.* war eine Beschichtung der Prothese mit nanoporösem Silica und eine Anbindung von BMP2 über eine Amino-Modifizierung.<sup>[52]</sup> Diese Anbindung erfolgte nur am Fußpunkt der Prothese, um eine knöcherne Fixierung an der Fußplatte des Stapes zu erzielen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen vielversprechende Ergebnisse für weitere Untersuchungen.<sup>[9]</sup> Die Beschichtung von Bioverit<sup>®</sup>II mit einer Dünnschicht aus nanoporösem Silica wurde intensiv von Forschern im SFB 599 in *in vitro*- und *in vivo*-Experimenten evaluiert.<sup>[5-7,9,43]</sup> Hier konnte eine Ausbildung von *Mucosa* nach 28 Tagen in einem *in vivo*-Experiment gezeigt werden.<sup>[43]</sup> Die Bedeckung mit *Mucosa* war für beschichtete Bioverit<sup>®</sup>II-Prothesen im Vergleich zu unbeschichteten verstärkt und die Ossifikation leicht reduziert. Eine Ossifikation ist lediglich am Fußpunkt der Prothese erwünscht, um eine lokale unterstützende Fixierung der Prothese zu bewirken. Hingegen würde eine

Ossifikation der gesamten Prothese an verbliebenen Ohrknöchelchen die Schwingfähigkeit der Prothese und damit die Schallweiterleitung erheblich einschränken.

Die nanoporöse Silica-Beschichtung hat zudem den Vorteil, dass sie aufgrund ihrer porösen Struktur als lokales Freisetzungssystem für Wirkstoffe genutzt werden kann. Eine Rekonstruktionsoperation des Mittelohrs wird stets mit einer systemischen Antibiotikabehandlung kombiniert. Hierbei ist eine hochkonzentrierte Gabe des Antibiotikums, meist handelt es sich um Ciprofloxacin, notwendig, um eine erfolgreiche Heilung zu gewährleisten.<sup>[10]</sup> Da es sich bei dem Mittelohr um einen luftgefüllten, nicht von Flüssigkeit durchströmten Raum handelt, stellt dieser eine schwierige Situation für den Wirkstofftransport bei einer systemischen Therapie dar. Aus diesem Grund muss eine große Menge an Antibiotikum zur Verfügung gestellt werden, damit eine ausreichende Dosis den Infektionsort erreicht und dort eine effektive Bakterienbekämpfung gewährleistet ist. Ein Großteil des Medikaments wird somit wirkungslos für die zu bekämpfenden Bakterien in andere, gesunde Bereiche des Organismus transportiert. Dies hat häufig eine Vielzahl von Nebenwirkungen zur Folge. Für eine lokale Behandlung am Infektionsort wären weitaus geringere Konzentrationen ausreichend, da das Antibiotikum direkt an Ort und Stelle wirkt und nicht über den gesamten Organismus zum Zielort transportiert werden muss. In diesem Fall stellt das Mittelohr wiederum eine besonders geeignete Umgebung für eine solche lokale Behandlung dar, da aufgrund des luftgefüllten Raums nur ein geringer Abtransport des Antibiotikums in umliegendes Gewebe zu erwarten ist. Eine Beschichtung mit einer lokalen Antibiotikaabgabe stellt zudem generell eine gute Möglichkeit dar, um einer Neuinfektion nach einer Operation entgegenzuwirken, da hier ein erhöhtes Risiko für bakterielle Infektionen besteht. In Arbeiten von Ehlert *et al.* wurde ein Freisetzungssystem für Ciprofloxacin auf der Basis einer nanoporösen Silica-Schicht auf Bioverit®II etabliert.<sup>[8]</sup> Eine Modifizierung der Silica-Schicht mit Sulfonat-Gruppen führte dabei zu einer erhöhten Beladungskapazität für das Antibiotikum und eine Freisetzung mit einem *burst release*. *In vivo*-Untersuchungen zeigten, dass diese Beschichtung bakterielle Infektionen im Mittelohr bekämpfen kann und damit großes Potential für den Einsatz im menschlichen Mittelohr bietet.<sup>[7]</sup> Des Weiteren entwickelten Ehlert *et al.* Freisetzungssysteme für Ciprofloxacin, welche für Langzeitfreisetzungen genutzt werden können.<sup>[53]</sup> Hierfür wurde Bioverit®II ebenfalls mit nanoporösem Silica beschichtet und anschließend mit Sulfonatgruppen modifiziert. Nach der Beladung mit Ciprofloxacin wurde zum einen eine zusätzliche hydrophobe Schicht aus Bis(trimethoxysilyl)hexan aufgebracht und zum anderen wurde diese hydrophobe Beschichtung nochmals mit Dioctyltetramethyldisilazan modifiziert. Beide zusätzlichen Beschichtungen führten erfolgreich zu einer verzögerten Freisetzung von Ciprofloxacin mit einer Reduzierung des *burst release*.<sup>[53]</sup> In einer *in vivo*-Studie am infizierten Mittelohr im Kaninchenmodell wurden die Wirksamkeiten der

kurz- und langfristigen Ciprofloxacinfreisetzungen verglichen.<sup>[54]</sup> Hierin zeigten Hesse *et al.*, dass für eine effektive Bakterienbekämpfung eine hohe initiale Antibiotikadosis notwendig ist, welche nur mit der kurzfristigen Freisetzung mit einem *burst release* erreicht wurde.

Ebenso erwiesen sich Beschichtungen von Bioverit®II-Prothesen mit LDH-Nanopartikeln (engl.: *layered double hydroxides*) als Möglichkeit, Ciprofloxacin lokal freizusetzen. Duda und Kieke *et al.* konnten die gute Biokompatibilität eines Mg-Al-CO<sub>3</sub>-LDH in gesunden Kaninchenohren zeigen.<sup>[55]</sup> Hesse *et al.* verwendeten den Mg-Al-SO<sub>4</sub>-LDH und imprägnierten diesen mit Ciprofloxacin.<sup>[56]</sup> Die Arbeitsgruppe konnte erste Erfolge hinsichtlich der Bekämpfung von *Pseudomonas aeruginosa* in einem infizierten Kaninchenmodell beobachten.

Des Weiteren ist eine Ausstattung der TORP mit einer antibakteriellen Beschichtung auf Basis von Silber möglich. Zur Verhinderung und Minderung der bakteriellen Reinfektion nach der Operation wurde innerhalb dieser Arbeit die Freisetzung von Silber als Alternative zu Antibiotika aus Silica-Dünnschichten untersucht. Die Beschichtung auf Bioverit®II und das Degradationsverhalten wurden hierbei eingehend erforscht. Eine Biokompatibilitätsstudie am gesunden Kaninchenohr ergab für die verwendete Materialkombination positive Ergebnisse.<sup>[19]</sup>

Eine weitere Möglichkeit, die Mittelohrprothese zu verbessern, gilt dem Schutz des Trommelfells, einer dünnen empfindlichen Membran. Um einen Durchtritt der hartkantigen Prothesen durch das Trommelfell zu vermeiden, platzieren Ärzte während der Operation ein Knorpelstück des Patienten zwischen dem Prothesenteller und dem Trommelfell. Dieses Knorpelstück wird dem *Tragus*, der Knorpelmasse an der Ohrmuschel vor dem äußeren Gehörgang, entnommen. Diese Methode wurde schon in den sechziger Jahren angewandt und wird bis heute durchgeführt.<sup>[20]</sup> Der Einschub eines solchen Knorpels führt zudem zu einer etwas verbesserten Fixierung der Prothese. Ein positiver Effekt durch die Verwendung des Knorpels wurde von Kobayashi *et al.* an Hydroxylapatit-Prothesen bestätigt.<sup>[21]</sup> Der Nachteil eines solchen Knorpels ist die fortwährende Degeneration und die damit einhergehenden Verschlechterungen der mechanischen Eigenschaften und der Fixierung.<sup>[22]</sup> Innerhalb der vorliegenden Dissertation sollte ein Silicon entwickelt werden, welches als Siliconkissen die Verwendung der Knorpelscheibe ersetzen kann und einheitliche Eigenschaften und Bedingungen für jeden Patienten bietet.

Ausführlichere Erläuterungen zu der antibakteriellen Ausrüstung von Implantaten mit Silber sowie zur Entwicklung des Siliconkissens werden in den Abschnitten 2.3 bzw. 2.6.5 gegeben.

## 2.2.2 Das Cochlea-Implantat

Eine Schwerhörigkeit oder vollständige Ertaubung tritt häufig aufgrund einer gestörten Innenohrfunktion auf. Diese kann sowohl angeboren oder eine Folge von Hirnhautentzündungen oder hohen Lärmexpositionen sein. Ein teilweiser Hörverlust liegt vor, wenn nur die äußeren Haarzellen beschädigt sind. Sind jedoch zusätzlich die inneren Haarzellen betroffen, kommt es zu einer hochgradigen Schwerhörigkeit oder vollständigen sensorischen Taubheit, wie es bei 95% der Patienten der Fall ist.<sup>[33]</sup> Eine Reizweiterleitung ist mit beschädigten oder fehlenden Haarzellen nicht mehr möglich, da die Schallwellen nicht in Aktionspotentiale umgewandelt werden können. Ein Verlust der Haarsinneszellen ist irreparabel. Eine Versorgung mit einer elektronischen Hörprothese, dem Cochlea-Implantat (CI), kann dem Patienten zu einer Wiedererlangung eines Höreindrucks verhelfen, da eine direkte elektrische Reizung der Spiralganglienneuronen und folglich des intakten Hörnervs erzielt wird. Die Anzahl an Implantationen pro Jahr beläuft sich derzeit alleine in Deutschland auf ca. 3 000.<sup>[57]</sup> Derartige Implantationen sind bereits bei Babys möglich.<sup>[58]</sup> Der Aufbau eines Cochlea-Implantats unterteilt sich in einen externen Teil mit einem Sprachprozessor und einer Sendespule sowie einen internen Teil, der aus einer Empfängerspule und der Elektrode besteht (s. Abb. 2.6). Der Sprachprozessor wird hinter dem Ohr getragen und die Sendespule wird seitlich am Hinterkopf fixiert. Für die Empfängerspule wird häufig ein Teil des Schädelknochens abgetragen und das Empfangsmodul darin eingelassen, sodass dieses von außen durch die Haut kaum sichtbar ist. Die flexible Elektrode wird sehr vorsichtig in die *Scala tympani* der Cochlea des Patienten eingeschoben. Sie besteht aus bis zu 22 Platin-Kontakten, die über teflonbeschichtete Platin-Iridium-Drähte mit der Elektronik des Empfangsmoduls verbunden sind. Die Elektrode ist unter Aussparung der Kontakte mit elektrisch isolierendem Silicon ummantelt.

Der Hörprozess mit einem CI beginnt mit der Aufnahme des Schalls über ein Mikrofon am externen Teil des Implantates. Die empfangenen Signale werden mit dem Sprachprozessor weiterverarbeitet. Die verarbeiteten Informationen werden anschließend transkutan über Radiowellen oder Induktion auf die Empfängerspule des internen Teils übertragen und dort dekodiert. Die elektrischen Impulse werden den entsprechenden Elektrodenkontakten zugeleitet. Da die Elektrode in die *Scala tympani* eingeschoben wird, befinden sich die Kontakte in der Nähe der SGNs oder den Dendriten dieser. Die elektrischen Impulse verursachen letztendlich ein Aktionspotential in den zugehörigen Ganglienzellen, das, wie im gesunden Innenohr, an die zentrale Hörbahn weitergeleitet und im Gehirn zu einem Höreindruck verarbeitet wird.

Aufgrund der begrenzten Anzahl an Elektroden, die nur wenige Bereiche in der Cochlea stimulieren können, ist das Sprach-, aber vor allem das Ton- und Geräuschverständnis

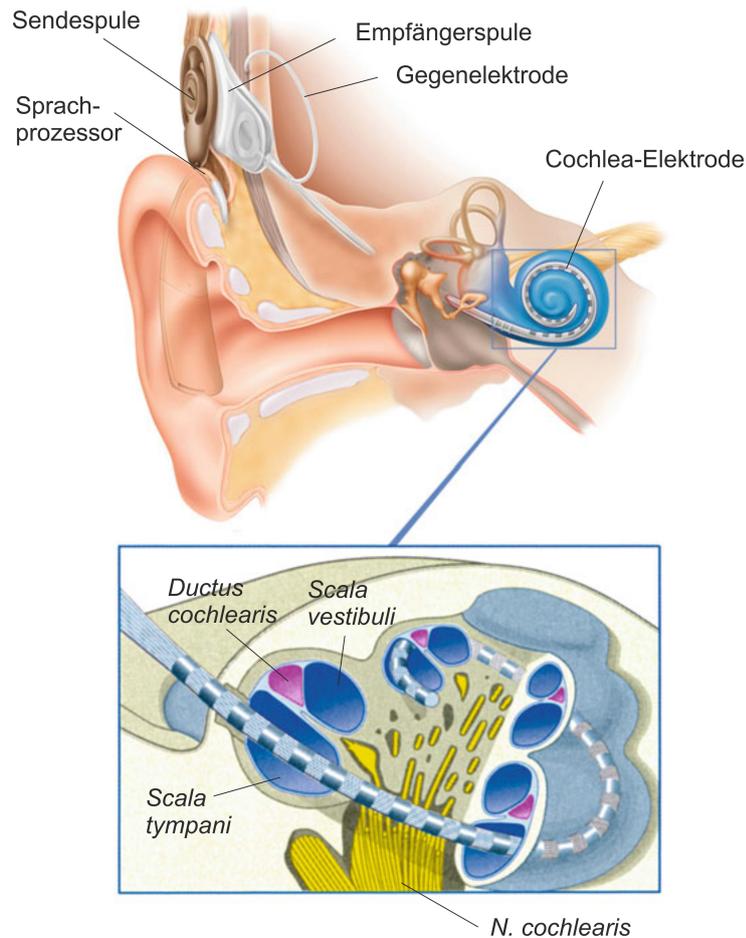


Abb. 2.6: Aufbau einer Cochlea-Elektrode nach Lit. [30].

deutlich eingeschränkt. Zudem ist zu berücksichtigen, dass mit einer Cochlea-Elektrode nur eineinhalb Windungen der Cochlea erreichbar sind, die menschliche Gehörschnecke aber aus zweieinhalb Windungen besteht. Eine Stimulation der niedrigen Frequenzbereiche ist somit meist nicht möglich.

### Verbesserung der Cochlea-Elektrode

Trotz jahrzehntelanger Weiterentwicklungen des CI ist eine fortwährende Verbesserung des Implantats erstrebenswert und notwendig, um eine noch bessere Hörqualität für Patienten zu erzielen.

Das CI bietet in seinen verschiedenen Bauteilen diverse Optimierungsmöglichkeiten, wovon an dieser Stelle nur eine Auswahl mit dem Schwerpunkt auf der Elektrode und die umgebenden Strukturen aufgezeigt wird. Dennoch ist die Verbesserung von z.B. dem Sprachprozessor und dem Empfänger nicht weniger von Bedeutung. Zwei interdisziplinäre Forschungsprojekte, die sich eingehend mit dieser Thematik befassen sind der Sonder-

forschungsbereich 599 und der Exzellenzcluster “Hearing4all” innerhalb derer auch die vorliegende Arbeit entstand.

Einen wesentlichen Optimierungsbedarf gibt es hinsichtlich des Elektroden-Nerven-Kontaktes und damit der Positionierung der Elektrode in der Gehörschnecke. Optimal ist eine geringe Distanz der Elektrodenkontakte zu den Spiralganglienneuronen (SGNs), welche jedoch mit den heutigen Materialien und Implantationstechniken nicht an jeder Stelle in der Cochlea gegeben ist. Es gibt Bereiche, in denen die Elektrode weiter entfernt von den Neuronen und dem *Modiolus* liegt als an anderen Stellen. Der Abstand zwischen der Elektrode und den SGNs kann an einigen Stellen bis zu 2.3 mm betragen (s. Abb. 2.7).<sup>[32,59]</sup>

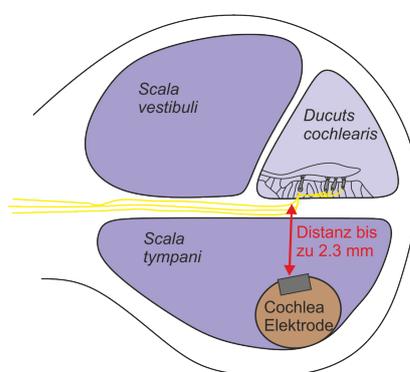


Abb. 2.7: Schematische Darstellung des Querschnitt eines Schneckengangs mit der Position einer Cochlea-Elektrode in der *Scala tympani*.

Der Nachteil dabei ist, dass größere elektrische Ströme notwendig sind, um eine Stimulation der SGNs zu erzielen. Hierdurch werden die elektrischen Signale stark gestreut und auch benachbarte Bereiche erfahren Reize, sodass eine verminderte Hörqualität resultiert. Stieghorst *et al.* entwickelten in ersten Versuchen eine Elektrode, die zusätzlich zum Silicon ein Hydrogel enthält, welches durch Wasser- bzw. Perilymphaufnahme zu quellen beginnt und eine eigenständige Windung des Elektrodenendes verursacht.<sup>[60]</sup> Ein weiterer Ansatz zur Überbrückung der großen Distanzen zwischen der Elektrode und den Nerven ist die Unterstützung eines gerichteten Wachstums von Dendriten der Neuronen. Dieses wurde von Reich *et al.* durch Mikrostrukturierungen von Platin- und Siliconoberflächen mittels Femtosekunden-Laserablation für SGNs, welche auf den strukturierten Materialien kultiviert wurden, erreicht.<sup>[61]</sup> Besser an die reale Situation angepasst wäre ein Implantat, das neuroprotektive Wirkstoffe (z.B. NGF, engl.: *nerve growth factor*) freisetzt und so auf der Strecke Elektrode–Neuron einen entsprechenden Konzentrationsgradienten aufbaut. Ein weiteres Problem stellt die eintretende Degeneration der SGNs durch fehlende innere Haarzellen dar.<sup>[34]</sup> Abb. 2.8 zeigt den Degenerationsprozess beginnend mit dem Normalzustand in einem gesunden Innenohr bei Anwesenheit der Haarzellen (s. Abb. 2.8a) bis

hin zur Rückbildung der Dendriten aufgrund eines Verlusts der Haarzellen (s. Abb. 2.8b) und einem teilweisen Verlust der SGNs bei einer fortgeschrittenen Schädigung (s. Abb. 2.8c). Je geringer die Anzahl an SGNs ist, desto schlechter ist die Reizweiterleitung und -verarbeitung. In Anbetracht dieser Zusammenhänge wird deutlich, wie ausschlaggebend das Überleben der Neuronen für ein gutes Hörvermögen mit einem CI ist.

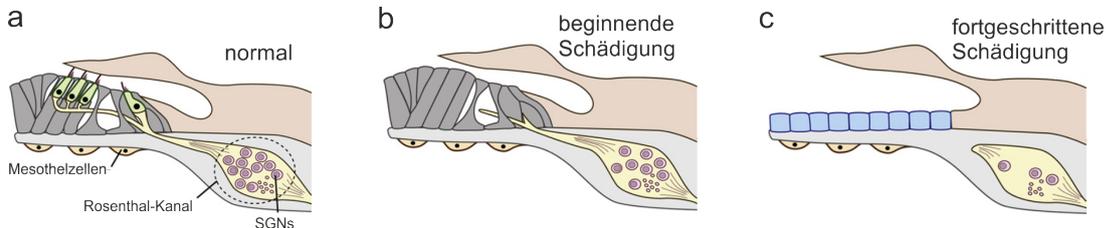


Abb. 2.8: Verlauf der Degeneration von SGNs ausgehend vom gesunden Innenohr (normal) bis hin zu einer fortgeschrittenen Schädigung nach Lit. [34].

Aus diesem Grund beschäftigen sich viele Wissenschaftler mit der Protektion und Regeneration der SGNs durch den Einsatz von neuroprotektiven Wirkstoffen. Dazu gehören zum einen *small molecule drugs* wie Rolipram oder Wachstumsfaktoren wie das schon genannte NGF und auch BDNF (engl.: *brain-derived neurotrophic factor*) (s. Abschnitt 2.4). Für Rolipram wurden in dieser Arbeit Freisetzungssysteme entwickelt. Im Rahmen des Exzellenzclusters “Hearing4all” wurden in unserer Arbeitsgruppe Strategien verfolgt, die größtenteils auf einer Modifizierung von Platin und Silicon beruhen.

Eine Funktionalisierung auf biologischer Basis kann durch Besiedelung der Materialien mit Zellen erfolgen, die neuroprotektive Wirkstoffe freisetzen. Eine solche Untersuchung wurde von Warnecke *et al.* durchgeführt, in der sie BDNF-produzierende murine Fibroblasten (NIH 3T3) auf einer dreidimensionalen Siliconoberfläche über verschiedene Zeiträume kultivierten.<sup>[36]</sup> In dieser Studie wurde eine Erhöhung der Zellzahl um das Fünffache und nach 14 Tagen eine Steigerung der BDNF-Expression um das 23-fache beobachtet. Diese *in vitro*-Untersuchung war vielversprechend für weiterführende Experimente.

Eine andere Möglichkeit ist die Anbindung der neuroprotektiven Wirkstoffe an chemisch modifizierte Oberflächen. Experimente hinsichtlich einer Freisetzung von BDNF aus einem solchen System sind Gegenstand der aktuellen Forschung im Exzellenzcluster “Hearing4all” innerhalb unserer Arbeitsgruppe. Die chemische Modifizierung der Elektrodenmaterialien bietet eine Vielzahl von Möglichkeiten, um diese einerseits in ihrer Biokompatibilität weiter zu verbessern und andererseits, um Freisetzungssysteme für neuroprotektive Wirkstoffe zu schaffen. Hinsichtlich der Verbesserung der Elektrodenkontakte wird z.B. daran geforscht, poröses Platin als Freisetzungssystem für Rolipram und BDNF herzustellen.

Die Optimierung der Siliconummantelung, welche sowohl hinsichtlich der Oberfläche als auch des Volumens den größten Teil der Elektrode einnimmt, war Ziel dieser Arbeit und wird ausführlicher in Abschnitt 2.6.6 erläutert.

## 2.3 Silber zur antibakteriellen Ausrüstung von Implantaten

Die Behandlung von Erkrankungen durch den Einsatz von Implantaten ist heutzutage in den verschiedensten medizinischen Bereichen möglich. Das Risiko, welches jede Versorgung mit Implantaten jedoch in sich birgt, ist eine Infektion, die entweder schon vorher vorhanden ist, bei der Implantation eingebracht wird oder erst nach einer gewissen - teilweise sehr langen (Jahren) - Lagerzeit auftritt. Implantate sind häufig einem großen bakteriellen Infektionsrisiko ausgesetzt, sodass eine Reduzierung der bakteriellen Besiedelung in hohem Maße erwünscht ist, um die Anzahl an Komplikationen und Revisionen zu minimieren.

### 2.3.1 Implantatgebundene Biofilmbildung

Die Hauptursache für Infektionen ist die Bildung von Biofilmen an der Implantatoberfläche, welche durch Bakterien hervorgerufen werden. Die Bakterien werden entweder während der Implantation in das offene Gewebe eingetragen oder sie befinden sich schon in Form einer Bakteriämie im Blut des Patienten.<sup>[62]</sup> Diese Bakterien konkurrieren mit den Zellen um eine Besiedelung der Implantatoberfläche. Abhängig vom Bakterientyp ergeben sich unterschiedliche Eigenschaften der Biofilme.<sup>[62-65]</sup>

Ein Biofilm ist ein Zusammenschluss von aggregierten Bakterien auf einer Oberfläche, der sich durch eine selbst gebildete extrazelluläre Biopolymermatrix vor Einwirkungen von außen schützt. In diesem eingekapselten Verbund vermehren sich die Bakterien ungehindert und sind nahezu resistent gegenüber Desinfektionsmitteln, antimikrobiellen Agenzien und Phagozytose.<sup>[62,63]</sup>

Die Entstehung eines Biofilms gliedert sich in vier Schritte und startet mit der passiven Adsorption von Bakterien an die Materialoberfläche. Im zweiten Schritt, einem aktiven Prozess, akkumulieren die Bakterien zu mehrschichtigen stark adhärierenden Lagen. Der dritte Schritt beschreibt die Reifung und Kolonisierung der Bakterien sowie die Ausbildung einer bakterientypischen extrazellulären Matrix. Im vierten Schritt lösen sich schließlich einige Bakterien aus der Verbundmatrix heraus und verstreuen sich weiter auf der Materialoberfläche. Sie durchlaufen erneut die vier Schritte, um möglichst die gesamte Fläche mit einem Biofilm zu überlagern.<sup>[62,63,65]</sup>

Um die Biofilmbildung von Anfang an zu verhindern, werden verschiedene Strategien untersucht. Bakterien soll hierbei die Besiedelung des Implantatmaterials erschwert bzw. diese vollständig verhindert werden. Hierfür werden z.B. Beschichtungen mit hydrophilen Polymeren wie Poly(ethylenglycol), welche anti-adhäsive Eigenschaften besitzen oder Beschichtungen mit antimikrobiellen und bakteriziden Materialien und Substanzen verwendet.<sup>[64]</sup> Für die antibakterielle Ausstattung von Mittelohrimplantaten auf Basis von Bioverit®II wurden innerhalb dieser Arbeit Silber-Silica-Beschichtungen untersucht und die antibakterielle Wirksamkeit des freigesetzten Silbers *in vitro* evaluiert (s. Abb. 2.9).

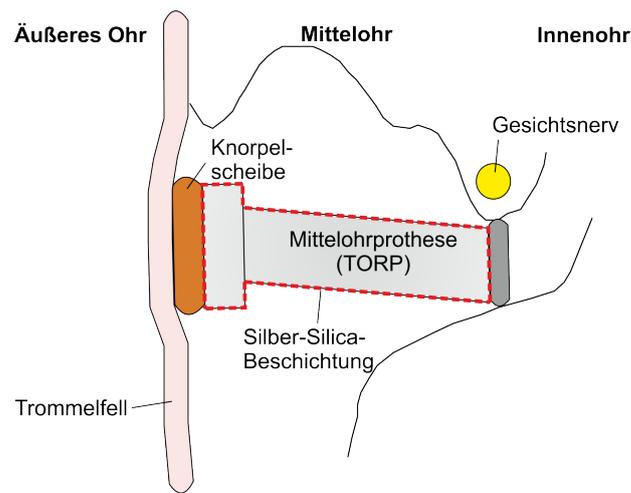


Abb. 2.9: Schematische Darstellung einer Mittelohrprothese mit einer Silber-Silica-Beschichtung.

### 2.3.2 Silber als antibakterieller Wirkstoff in der Medizin

Mit den zahlreichen Behandlungen von bakteriellen Erkrankungen durch Antibiotikagaben entwickelten sich zunehmend Bakterien mit Antibiotikaresistenzen.<sup>[11,66]</sup> Seit Bekanntwerden dieser Problematik kam die Verwendung von Silber als Alternative zur Bekämpfung von bakteriellen Infektionen erneut in den Fokus von Wissenschaftlern, nachdem dieses nach Einführung der Antibiotika in den 1940er Jahren in Vergessenheit geraten war.<sup>[67]</sup> Seit etwa den 1970er / 1980er Jahren ist bekannt, dass Silber antimikrobiell und antibakteriell auf eine Vielzahl von Bakterien und Pilzen wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* wirkt und somit die Biofilmbildung verhindern kann.<sup>[12–17,68–70]</sup> Einer der Gründe, warum Silber für die Bekämpfung von Bakterien in Vergessenheit geriet ist, dass keine geeignete Dosierungsform zur Verfügung stand. Mit der Verwendung von metallischem Silber und Silbersalzen ist die Einstellung einer geeigneten Balance zwischen antibakterieller Wirksamkeit und Cytotoxizität nicht möglich, welche erst mit der Entwicklung von Nanopartikeln ab etwa den 90er Jahren erreicht wurde.

Silbernanopartikel sind dabei ähnlich handhabbar wie Salze. Sie können in verschiedene Matrices eingebettet werden, haben aber den Vorteil, dass die Silberionen nicht direkt und in hohen Konzentrationen verfügbar sind, sondern diese effektive Spezies erst gebildet werden muss. Silbernanopartikel sind daher vergleichbar mit einem Silberionendepot. Hierbei kann die freigesetzte Silberionenkonzentration über die Nanopartikelgröße, -form und -oberfläche reguliert werden.<sup>[66]</sup> Silbernanopartikeln mit Durchmessern bis zu 10 nm wird dabei, aufgrund einer bevorzugten Interaktion mit einigen Bakterien, eine besonders effektive Wirkung zugesprochen.<sup>[12,71]</sup>

Silber, als antibakterielles Agens findet in verschiedenen Bereichen, aber vor allem in Medizinprodukten, Anwendung.<sup>[72,73]</sup> Im Folgenden sollen ausgewählte Beispiele einen Eindruck über die aktuelle Forschung bezüglich dieser Thematik geben. Bosetti *et al.* beschichteten z.B. orthopädische *Fixateurs externes* mit Silber, um eine mikrobielle Kolonisation an der empfindlichen Grenze zwischen Schraube und Gewebe zu verhindern.<sup>[73]</sup> In einer Studie von Badiou *et al.* wurden mit Silber beschichtete Polypropylen-Netze für die Behandlung von Leistenbrüchen untersucht und als antibakteriell wirksam bestätigt.<sup>[74]</sup> Eine Untersuchung von Karchmer *et al.* an silberbeschichteten Blasenkathetern zeigte eine erfolgreiche Reduktion des Infektionsrisikos.<sup>[75]</sup> Ein weiteres Beispiel für silberbeschichtete Implantatmaterialien sind Titanschrauben, die von Secinti *et al.* entwickelt wurden und der Bildung von Biofilmen entgegenwirken konnten.<sup>[76]</sup> In der Literatur sind weitere zahlreiche Untersuchungen beschrieben, in denen Silberverbindungen in unterschiedlichen Matrices wie Silica, Zeolithen und Polymeren eingebettet wurden und als antibakterielles Material fungieren sollen.<sup>[17,77–81]</sup>

### 2.3.3 Wirkungsweise von Silber auf biologische Systeme

Der Prozess und Mechanismus, der für eine toxische Wirkung von Silber auf Bakterien verantwortlich ist, ist bis heute nicht vollständig geklärt. Bekannt ist, dass nicht Silbernanopartikel an sich toxisch sind, sondern vielmehr die an der Oberfläche ablaufenden Prozesse und freigesetzten Silberionen die Toxizität verursachen.<sup>[82–85]</sup> Zudem ist die toxische Wirkung stark von der Silberionen-Quelle und den Eigenschaften der Bakterien abhängig.<sup>[12,15,16,86–89]</sup> Es gibt verschiedene Vorschläge für mögliche Wirkungsmechanismen, wobei ein Vorschlag die Bindung von Silberionen an Thiolgruppen von Enzymen und DNA der Bakterien beschreibt. Durch die Anbindung werden ihre Funktionen unterbunden und die Bakterien sterben ab.<sup>[90]</sup> Eine weitere Möglichkeit ist die Anbindung der Silberionen an die Membranoberfläche der Bakterien, wodurch Teile der Membran zerstört und durchlässig werden. Die Zelle stirbt ab, da Zellbestandteile nach außen abfließen, aber auch Silbernanopartikel ins Zellinnere vordringen und dort weitere Schädigungen verursachen

können.<sup>[91]</sup> Ein dritter Mechanismus wurde von Kim *et al.* postuliert und beschreibt den Zelltod durch oxidativen Stress, der durch freie Radikale an der aktiven Oberfläche der Silbernanopartikel ausgelöst wird.<sup>[86]</sup>

Es ist allerdings auch zu erwähnen, dass einige Studien zu Resistenzen von Bakterien gegenüber Silber vorliegen.<sup>[92–95]</sup> Diese silberresistenten Bakterien wurden in medizinischen Umgebungen, aber auch in sehr silberreichen Gebieten, wie z.B. Silberminen, gefunden.<sup>[96–99]</sup> Es muss deshalb beachtet werden, dass die exzessive Verwendung von Silber, z.B. im täglichen Leben in Kosmetikprodukten und Textilien, die Bildung von Resistenzen ebenfalls fördern könnte.

### 2.3.4 Diskussion zur toxikologischen Beurteilung von Silber

Eine definierte Aussage über antibakteriell wirksame, aber auch cytotoxische Silberionenkonzentrationen ist auf Grundlage der Vielzahl an meist nicht miteinander vergleichbaren Studien schwer möglich.<sup>[66,100]</sup> Es liegen keine einheitlichen Versuchsparameter vor, sodass die Effekte vieler verschiedener Silberspezies auf unterschiedlichste biologische Systeme getestet werden. Bekannt ist jedoch, dass die antibakterielle Wirksamkeit, aber auch die Cytotoxizität stark von den betrachteten Bakterienstämmen, Zelllinien und Zellmedien abhängig ist.<sup>[101]</sup>

Hinsichtlich unterschiedlicher Silberionen-Quellen führten Egger *et al.* eine Studie durch, in der sie die antimikrobielle Aktivität gegen verschiedene Bakterien und Pilze untersuchten.<sup>[17]</sup> Sie verglichen Silber-Silica-haltiges Polystyren, einen Silber-Zeolithen und reines Silbernitrat. Die MIC (minimale inhibierende Konzentration, engl.: *minimum inhibitory concentration*) für Silbernitrat variierte zwischen  $2.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  Ag und  $19.8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  Ag, für das Silber-Silica-Komposit zwischen  $12.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  Ag und  $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  Ag und für den Silber-Zeolithen zwischen  $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  Ag und  $12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  Ag, je nach Mikrobe und Silberspezies.<sup>[17]</sup> Diese Schwankungen zeigen deutlich, wie wichtig vergleichbare Systeme für eine definierte Aussage sind. Aus diesen Untersuchungen resultiert, dass für jede Zellart eine eigene Untersuchung durchgeführt werden müsste. Zudem sind die Ergebnisse von antibakteriellen und cytotoxischen Tests nicht nur von der verwendeten Spezies abhängig, sondern auch von der eingesetzten Testmethode, d.h. von der Zelldichte und dem Kultivierungsmedium, wie Greulich *et al.* herausfanden.<sup>[101]</sup>

Chernousova und Epple haben die Daten diverser Studien aufgearbeitet und miteinander verglichen. Hieraus leitet sich die Annahme ab, dass sowohl eine antibakteriell effektive, aber auch eine auf cytokompatibler Ebene sichere Silberionenkonzentration bei  $0.01$ - $0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  liegen könnte.<sup>[66]</sup> In einer Untersuchung fanden Greulich *et al.* eine minimale bakterizide Konzentration (MBC, engl.: *minimum bactericidal concentration*) für Silberionen

von 0.5 - 7.5 ppm für *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli*. Eine relative Zellviabilität von 100% für humane mesenchymale Stammzellen lag jedoch nur in einem Bereich von 0.5 - 1.5 ppm Silber.<sup>[101]</sup> Dieses Ergebnis zeigt, dass das therapeutische Fenster für eine antibakteriell wirksame, aber gleichzeitig cytotokompatible Konzentration sehr klein sein kann. Die Gruppe um Chambers *et al.* stellte hingegen eine sehr viel geringere antibakteriell wirksame Konzentration von 40 ppb vor.<sup>[102]</sup> Wan *et al.* und Ghani *et al.* zeigten, dass Plasmakonzentrationen von mehr als 300 ppb Silber (bezogen auf feuchtes Gewebe) zu Nebeneffekten wie Argyrose, Leukopenie sowie Leber- und Nierenschäden führen kann<sup>[79,103]</sup>, während Tweden *et al.* keine cytotoxischen Effekte an Fibroblasten *in vitro* bis 1 200 ppb Silber (feuchtes oder trockenes Gewebe unbekannt) feststellen konnten.<sup>[104]</sup> All diese Studien mit unterschiedlich angegebenen antibakteriell effektiven und gleichzeitig cytotokompatiblen Silberionenkonzentrationsbereichen bestätigen, dass eine konkrete Aussage hierzu nicht getroffen werden kann.

## 2.4 Neuroprotektive Wirkstoffe

Der Begriff Neuroprotektion beschreibt die Fähigkeit Nervenzellen und -fasern vor einer Degeneration und dem vollständigen Absterben zu schützen. Mit dem Einsatz von neuroprotektiven Agenzien können Verläufe von neurodegenerativen Erkrankungen wie z.B. Alzheimer und Parkinson verlangsamt und Verletzungen des Nervensystems behandelt werden.<sup>[105,106]</sup> Eine Degeneration der Nervenzellen wird auch bei peripheren Hörstörungen durch Verlust der Haarzellen beobachtet. Mit zunehmender Dauer der Schwerhörigkeit oder Taubheit nimmt auch die Degeneration der Spiralganglienneuronen zu. Für einen guten Hörerfolg mit einem CI ist das Überleben dieser Zellen allerdings von großer Bedeutung.<sup>[34,36]</sup>

Im Nervensystem dienen verschiedene Wachstums- und weitere stimulierende Faktoren der Regulation von Prozessen, welche die Proliferation, das Wachstum und Überleben sowie die synaptischen Verbindungen von Neuronen fördern.<sup>[107]</sup> Sollen diese Prozesse von außen verstärkt werden, um Krankheiten zu behandeln, muss beachtet werden, dass extern zugeführte Neuroprotektiva nicht oder nur eingeschränkt die Blut-Hirn-Schranke passieren können und somit nicht an den gewünschten Ort gelangen. Um diese Problematik zu umgehen, können kleine Moleküle eingesetzt werden, welche unter Umständen die Blut-Hirn-Schranke passieren und am Zielort neuroprotektive Effekte erzeugen können.<sup>[108]</sup> Verschiedene intrinsische neuroprotektive Wirkstoffe können von Targetzellen der Neuronen produziert und bereitgestellt werden. Diese werden zum Zellkörper transportiert und initiieren dort komplexe Vorgänge, die dem Überleben der Zellen dienen sollen. Die

intrinsischen neuroprotektiven Faktoren werden in unterschiedliche Mechanismen unterteilt, sodass sich eine Vielzahl verschiedener Gruppen ergibt.<sup>[109]</sup>

In der Forschung werden verschiedene neuroprotektive Wirkstoffe untersucht und die Wirkung einer externen Gabe in Tierversuchen und klinischen Studien evaluiert. In den folgenden Unterabschnitten werden die Neuroprotektiva BDNF und Rolipram näher beschrieben. Beide Agenzien sollen das Überleben der Spiralganglienneuronen im Innenohr fördern.

### 2.4.1 BDNF

Der Wachstumsfaktor BDNF (engl.: *brain-derived neurotrophic factor*) wurde 1980 von Barde *et al.* erstmals entdeckt und untersucht.<sup>[110]</sup> Sie fanden heraus, dass eine Homologie zu dem bereits bekannten NGF (engl.: *nerve growth factor*) besteht und definierten die Familie der Neurotrophine.<sup>[110,111]</sup>

BDNF wird aus dem Vorläuferprotein pro-BDNF durch Spaltung mit einer Protease erhalten.<sup>[110]</sup> BDNF (13 kDa) wird vornehmlich von Neuronen im zentralen Nervensystem im präfrontalen Cortex und Hippocampus exprimiert.<sup>[110,112,113]</sup> Dort ist es auch das am stärksten verbreitete Neurotrophin. Es wirkt auf Zellen des zentralen und peripheren Nervensystems und zeigte Langzeiteffekte auf das Überleben von Neuronen und Differenzierungen.<sup>[112]</sup>

BDNF ist ein basisches, vorwiegend dimeres Protein mit einem isoelektrischen Punkt bei pH 10.<sup>[110–112]</sup> Das Homodimer besteht aus zwei Monomeren, die jeweils aus sieben  $\beta$ -Strängen aufgebaut sind (s. Abb. 2.10). Diese wiederum sind über drei Haarnadelschleifen und einer längeren Schleife verbunden und enthalten drei Disulfidbrücken. Die Monomere sind parallel angeordnet und werden ausschließlich über nichtkovalente, größtenteils hydrophobe Wechselwirkungen zusammen gehalten.<sup>[111]</sup> Eine Ausbildung von Oligomeren, z.B. Tetramere und Hexamere, ist außerdem möglich.<sup>[114]</sup>

BDNF verbessert das Überleben von Spiralganglienneuronen, indem es Neuronen gegen Sauerstoff- und Glucose-Mangel, oxidative Zerstörung, Stress des endoplasmatischen Reticulums und Neurotoxizität schützt.<sup>[36,109]</sup> Zudem wird durch BDNF die Ausbildung von Synapsen gefördert, welche für die Gedächtnisbildung im Hippocampus bedeutend sind.<sup>[110]</sup> Der protektive Effekt wird hauptsächlich durch die Aktivierung des Tyrosinkinase-Rezeptors B verursacht, zu welchem das BDNF eine starke Affinität aufweist. Infolge der Aktivierung wird eine Vielzahl an intrazellulären Kaskaden initiiert, die am Überleben, dem Wachstum und der Differenzierung von Nervenzellen beteiligt sind.<sup>[36,112]</sup>

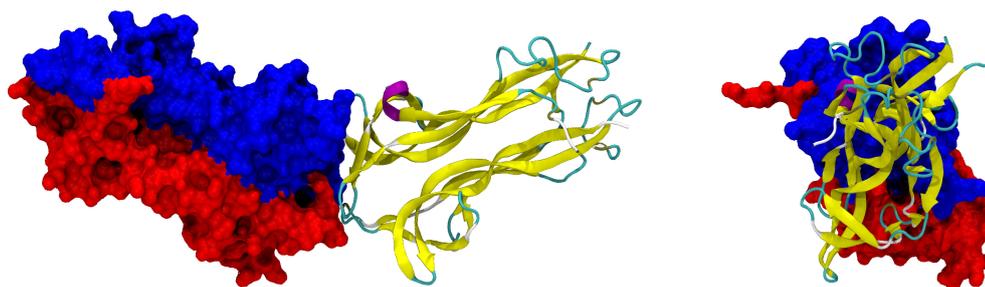


Abb. 2.10: BDNF-Tetramer als Oberflächen- und Bändermodell aus zwei Perspektiven nach Lit. [115].

## 2.4.2 Rolipram

Der Wirkstoff Rolipram wurde ursprünglich für die Behandlung von Depressionen entwickelt, zeigt aber außerdem entzündungshemmende Wirkung und steht aktuell aufgrund seiner neuroprotektiven Effekte im Fokus der Wissenschaft.<sup>[108,116–118]</sup> Rolipram wurde bisher nicht zugelassen, da die benötigten Mengen zur Behandlung von Depressionen zu starken Nebenwirkungen führten.<sup>[119]</sup> Für einen Einsatz als Neuroprotektivum können jedoch deutlich geringe Mengen wirksam sein, wie z.B. eine Studie von Kranz *et al.* zeigt.<sup>[35]</sup> Rolipram inhibiert spezifisch die Phosphodiesterase 4 und erhöht den intrazellulären cAMP-Spiegel (zyklisches Adenosinmonophosphat, engl.: *cyclic adenosine monophosphate*). Eine Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels aktiviert die cAMP-abhängige Proteinkinase A und das cAMP-*responsive element-binding protein* (CREB), ein Transkriptionsfaktor, welcher durch Phosphorylierung eine Reihe von zellulären Funktionen reguliert (s. Abb. 2.11).<sup>[108,116,117,120,121]</sup> Dieser Mechanismus führt zu neuroprotektiven Effekten und begünstigt somit die axonale Regeneration, indem die Expression von Wachstumsfaktoren wie BDNF erhöht wird.<sup>[108,117]</sup>

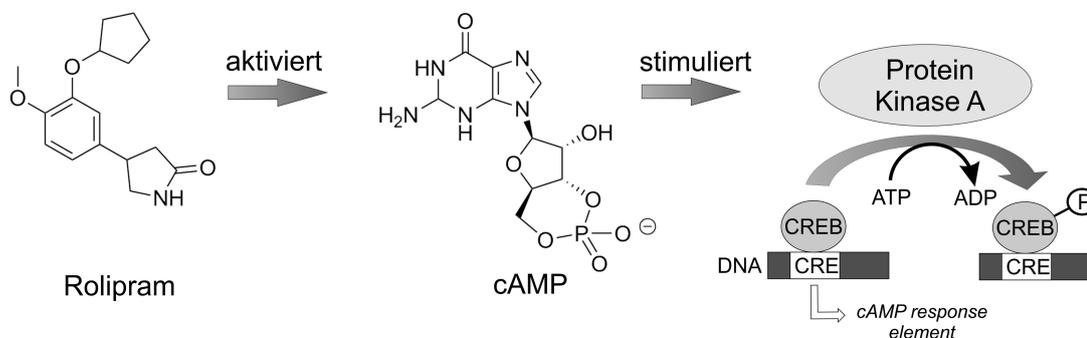


Abb. 2.11: Aktivierung von cAMP und CREB durch Rolipram nach Lit. [122].

Eine externe systemische Behandlung mit dem Wachstumsfaktor BDNF ist nicht möglich, da dieser nicht die Blut-Hirn-Schranke passieren kann. Der Einsatz von Rolipram kann

in diesem Fall Abhilfe schaffen, da es hierzu fähig ist und durch die Aktivierung der intrazellulären cAMP die Expression von BDNF reguliert wird.<sup>[108,121]</sup> Auf diese Weise ließen sich z.B. die Ausmaße von Rückenmarksverletzungen und die Degeneration von SGNs reduzieren.<sup>[35,116,121]</sup>

Häufig wird der alleinige Einsatz von Rolipram kontrovers diskutiert, da einige Forscher berichten, einen Aktivator für einen signifikanten Anstieg der Überlebensrate von Neuronen zu benötigen.<sup>[108,120]</sup> Kranz *et al.* untersuchten in einer *in vitro*-Studie die neuroprotektive Wirkung von Rolipram auf SGNs und verglichen zusätzlich eine Kombinationsgabe von Rolipram und BDNF.<sup>[35]</sup> Die Kombination resultierte in einer signifikant höheren SGNs-Überlebensrate als die alleinige Gabe von Rolipram. Costa *et al.* konnten jedoch an rückenmarksverletzten Ratten zeigen, dass eine zweiwöchige Gabe von  $3.18 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Rolipram pro Tag zu positiven Effekten und damit zu einer neurologischen Besserung acht Wochen postoperativ führte.<sup>[121]</sup>

Rolipram wird zudem aufgrund der Inhibierung des proinflammatorischen Zytokins  $\text{TNF-}\alpha$  eine entzündungshemmende Wirkung zugesprochen, welche für eine Behandlung und Vorbeugung von Infektionen genutzt werden kann.<sup>[117,118,121,123]</sup>

Der antidepressive Effekt von Rolipram wurde erstmals 1983 nachgewiesen.<sup>[118]</sup> Eine Hypothese für die Wirkung ist ein Anstieg des Noradrenalinumsatzes und Veränderungen in zentralen Synapsen. Dies führt zu einer schnellen antidepressiven Aktivität und einer Verbesserung des Krankheitsbildes.<sup>[118]</sup> Bei der Behandlung von Depressionen in einer Phase II-Studie mit Dosen von 0.75-3 mg Rolipram pro Tag wurde bei einigen Patienten eine Besserung, bei anderen jedoch eine Verschlechterung beobachtet.<sup>[118,124]</sup> Eine eindeutig bessere Alternative zu herkömmlichen Präparaten konnte somit nicht gezeigt werden. Zudem werden als Nebenwirkungen von Rolipram häufig starke Übelkeit und Erbrechen beschrieben, sodass sich dieser Wirkstoff nur bedingt als alternatives Antidepressivum eignet. Klinische Studien wurden aufgrund dieser und weiterer Nebenwirkungen in den USA eingestellt, sodass Rolipram nie zugelassen wurde.<sup>[118,125]</sup> Eine Studie an Ratten, die täglich über zwei Wochen  $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  bzw.  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Rolipram bekamen, ergab starke toxische Effekte für die mittlere und die hohe Konzentration.<sup>[126]</sup> Alle Tiere, die  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Rolipram bekamen mussten bereits nach fünf Tagen euthanasiert werden. Tiere, denen eine Dosis von  $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  bzw.  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  verabreicht wurde, zeigten histopathologische Veränderungen. Es wurden Muskel- und Leberdegenerationen sowie Schädigungen der Blutgefäße beobachtet.<sup>[126]</sup>

## 2.5 Silica-Nanopartikel und -Beschichtungen

Silica-Materialien werden in zahlreichen, sehr unterschiedlichen Bereichen eingesetzt, wobei die Medizin und die Polymerchemie im Hinblick auf diese Arbeit hervorzuheben sind. In diesen Gebieten sind sie z.B. für Wirkstofffreisetzungen oder als Füllstoffmaterial in Polymeren, wie Silicone geeignet. Silica (amorphes Siliciumdioxid) wird, je nach Verwendungszweck, in verschiedenen Morphologien, Partikelgrößen und Porositäten hergestellt. Die wohl bekanntesten Vertreter der Silica-Materialien sind die Stöber-Partikel, deren Synthese von Werner Stöber etabliert wurde (s. Abschnitt 2.5.1). Stöber *et al.* beschäftigten sich mit der Herstellung von monodispersen sphärischen Silica-Partikeln mit einstellbaren Durchmessern von 50 nm bis 2  $\mu\text{m}$ . Sie legten damit auch die Basis für Silica-Nanopartikel mit kleineren Durchmessern.<sup>[127]</sup>

Mit der erfolgreichen Synthese von mesoporösem Silica durch Yanagasawi *et al.* sowie der MOBIL OIL CORPORATION in Form des MCM-41 (*Mobil Composition of Mater*) in den 1990er Jahren, wurde ein Material vorgestellt, welches den Grundstein für die Herstellung weiterer poröser Silica-Materialien legte.<sup>[128,129]</sup> Diese Materialien zeichnen sich durch große spezifische Oberflächen, große Porenvolumina und regulierbare Porenweitenverteilungen aus.<sup>[130]</sup> Neben der Synthese von mesoporösen Silica-Partikeln ist außerdem die Herstellung von mesoporösen Dünnschichten auf verschiedenen Substraten möglich.<sup>[131,132]</sup> Nach der IUPAC-Nomenklatur definiert die Bezeichnung "mesoporös" Porendurchmesser im Bereich zwischen 2 nm und 50 nm.<sup>[133]</sup> Die Porengrößen liegen im Nanometerbereich, sodass auch die Bezeichnung "nanoporös" Gültigkeit findet und im Folgenden weiter verwendet wird.

### 2.5.1 Synthese von Stöber-Partikeln

Die kontrollierte Synthese von sphärischen Silica-Partikeln mit einheitlichen Partikeldurchmessern wurde ausführlich in den 1970er Jahren von Stöber *et al.* in einer Versuchsreihe mit variierenden Parametern untersucht.<sup>[127]</sup> Die Synthesen erfolgten unter Verwendung von Tetraalkylsilicaten, einem Alkohol oder Alkoholgemisch und Wasser. Als Katalysator wurde eine gesättigte Ammoniaklösung in einem Alkohol oder als Ammoniumhydroxid zugesetzt. Es wurde gezeigt, dass der Zusatz der Base notwendig ist, um sphärische Partikel zu erzeugen.<sup>[127]</sup> Die resultierenden Partikelgrößen werden durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Dabei spielt zum einen die Wahl des Alkohols eine Rolle, wobei niedrige Alkohole wie Methanol zu kleineren Partikeln führen als höhere Alkohole wie *n*-Butanol. Letztere führen zudem zu einer größeren Partikelgrößenverteilung. Zum anderen ist die Konzentration des Wassers und des Ammoniaks von Bedeutung, wie aus Abb. 2.12 ersichtlich wird. Hohe Ammoniakkonzentrationen führen demnach bevorzugt zu Partikeln

mit einem großen Durchmesser. Die Konzentration des Tetraalkylsilicats scheint indes keinen Einfluss zu haben.<sup>[127]</sup>

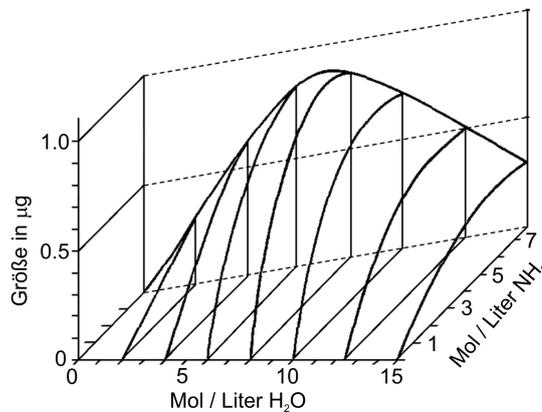


Abb. 2.12: Einfluss der Wasser- und Ammoniakkonzentration auf die Partikelgröße bei Verwendung von  $0.28 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tetraethylorthosilicat in Ethanol nach Lit. [127].

Die Synthese der Stöber-Partikel erfolgt häufig mit einem System aus Tetraethylorthosilicat (TEOS), Methanol oder Ethanol, Wasser und Ammoniumhydroxid in veränderbaren Anteilen.<sup>[134–137]</sup> Für die Entstehung des Produktes sind zwei grundlegende Reaktionen von Bedeutung, die Hydrolyse des Tetraalkylorthosilicats und die anschließende Kondensation zu einem amorphen Silica-Netzwerk.

## 2.5.2 Synthese von nanoporösen Silica-Materialien

Mit der Synthese des MCM-41 wurde der Grundstein für eine Reihe von nanoporösen Silica-Materialien gelegt. Wie auch für die Stöber-Synthese wird für poröse Silica-Materialien eine Silica-Quelle wie TEOS, ein Alkohol, Wasser und basische Bedingungen benötigt. Unter Zusatz eines strukturdirektierenden Agens (SDA), wie z.B. einem Tensid, kann das Porensystem der Silica-Materialien kontrollierbar eingestellt werden. Die Porengröße wird dabei durch die Kettenlänge des Tensids vorgegeben und die Art des Porensystems ist abhängig von der ausgebildeten lyotropen Phase des Tensids (s. Abb. 2.13). Im Verlaufe der Reaktion kondensiert die Silica-Phase um die lyotrope Phase, sodass ein geordnetes System aus beiden Phasen gebildet wird. Nach einer anschließenden Calcination zur Entfernung des SDAs, wird schließlich das Porensystem ausgebildet und das Netzwerk stabilisiert.<sup>[129,130]</sup>

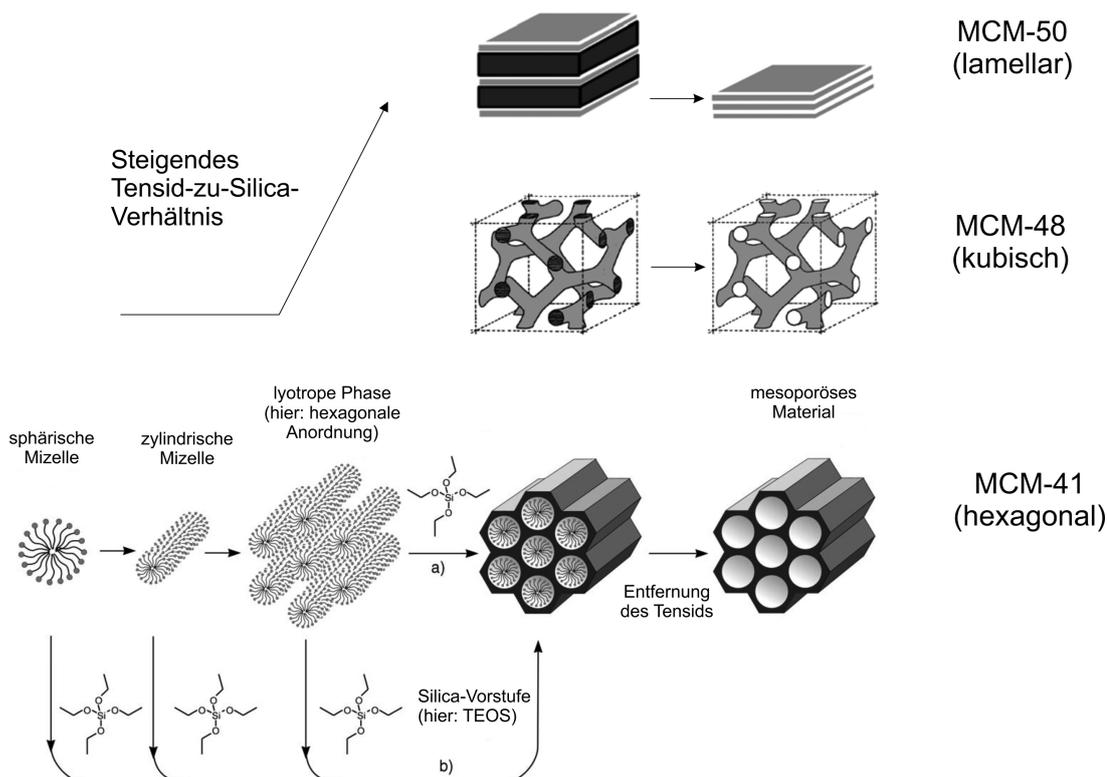


Abb. 2.13: Mechanismen zur Bildung von nanoporösen Materialien mit hexagonalem, kubischem und lamellarem Porensystem: a) echter Flüssigkristall-Templat-Mechanismus und b) kooperativer Flüssigkristall-Templat-Mechanismus nach Lit. [138,139].

Der für die Reaktion am häufigsten zugrunde gelegte Mechanismus wird als echter Flüssigkristall-Templat-Mechanismus bezeichnet (s. Abb. 2.13). Dieser beschreibt die Ausbildung einer flüssigkristallinen lyotropen Phase des SDAs bei ausreichend hoch vorliegenden Konzentrationen. Dabei erfolgt nach Erreichen der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC, engl.: *critical micelle concentration*) zunächst die Ausbildung von sphärischen Mizellen. Diese ordnen sich nach weiterer Überschreitung der CMC und abhängig von der Temperatur, der Konzentration und dem Lösungsmittel zu größeren Aggregaten, den lyotropen Phasen, mit kubischer, hexagonaler oder lamellarer Struktur, an. Erst nach Ausbildung dieser Phase bildet sich in einem Sol-Gel-Prozess durch Hydrolyse und Kondensation die Silica-Phase.<sup>[130,140,141]</sup>

Die Einstellung der Partikelgrößen kann, wie auch bei den Stöber-Partikeln, über die Wahl und Konzentration der Reaktanden erfolgen. Einfluss auf die Partikelgröße hat zudem die Art der Base. Als Alternativen zu Ammoniak bieten sich die organischen Basen Diethanolamin und Triethanolamin an.<sup>[142–144]</sup> Die Kontrolle der Morphologie erfolgt durch Additive, welche die Wachstumsrichtung der Partikel beeinflussen. Hierfür werden in der Literatur verschiedene Möglichkeiten und Mechanismen postuliert.<sup>[145–149]</sup> Für die Synthese von anisotropem MCM-41 wird der Reaktionslösung 3-Mercaptopropyltriethoxysilan

zugesetzt. Durch die negative Ladung dieses Moleküls kommt es zu repulsiven Wechselwirkungen mit den negativ geladenen zylindrisch angeordneten Mizellen und folglich zu einer Hemmung des seitlichen Wachstums und einer bevorzugten Wachstumsrichtung an den Zylinderenden.<sup>[145]</sup>

Für die Herstellung von nanoporösen Silica-Dünnschichten wird vornehmlich das Tauchzieh-Verfahren angewandt, aber auch Rotations- oder Sprühbeschichtungen sind möglich. Die Herstellung der Filme erfolgt meist unter sauren wässrig-ethanolischen Bedingungen und unter Verwendung von Tetraethylorthosilicat sowie einem SDA. Als SDA dienen u.a. ionische Tenside wie Cetyltrimethylammoniumbromid, aber auch nicht-ionische Block-Copolymere wie Pluronic<sup>®</sup> F127 und P123.<sup>[132]</sup> Bei dem Tauchzieh-Verfahren wird das Substrat in eine Lösung der zuvor genannten Komponenten getaucht und mit einer definierten Geschwindigkeit wieder herausgezogen. Die erzeugte Schichtdicke ist dabei u.a. von der Umgebungstemperatur, der Luftfeuchtigkeit, der Viskosität der Lösung und der Ziehgeschwindigkeit abhängig.<sup>[131]</sup> Die Ausbildung der nanoporösen Silica-Dünnschicht verläuft nach dem EISA-Prozess (engl.: *evaporation-induced self assembly*). Wichtig für diese Methode ist eine Reaktionslösung mit einer Tensidkonzentration, die unterhalb der CMC liegt. Im Verlauf des Ziehprozesses verdunstet das Lösungsmittel an der Grenzfläche, wodurch es zur Aufkonzentrierung aller anderen Reaktionsbestandteile auf dem Substrat kommt. Infolgedessen wird nun die CMC erreicht und es kommt zu einer Selbstorganisation der Mizellen unter Bildung von lyotropen Phasen und der Kondensation der anorganischen Silica-Phase.<sup>[132,150]</sup> Wie auch bei der Herstellung der nanoporösen Silica-Nanopartikel schließt sich hier eine Calcination zur Entfernung des SDAs und Verfestigung des Silica-Netzwerkes an.

### 2.5.3 Oberflächenmodifizierung und fluoreszierende Kern-Schale-Nanopartikel

Die Modifizierung der Oberfläche von Silica-Nanopartikeln ist eine vielfältig genutzte Methode, um die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Partikel für bestimmte Anwendungen zu verändern und gezielt von resultierenden Wechselwirkungen zu profitieren. Durch die reaktiven Silanolgruppen auf der Silicaoberfläche lassen sich organische funktionelle Gruppen sehr einfach chemisch über Silylierungsreaktionen anbinden, welche dann ggf. für weitere Post-Modifizierungen, z.B. Protein-Immobilisierungen zur Verfügung stehen können.<sup>[52,151]</sup> Modifizierte Silica-Materialien finden u.a. Anwendung in der Chromatographie, der Katalyse, als Füllstoffe in Polymeren und in der Wirkstofffreisetzung.<sup>[8,144]</sup> Es werden generell zwei Methoden zur Oberflächenmodifizierung unterschieden. Hierbei handelt es sich zum einen um die Co-Kondensation und zum anderen um *postgrafting*. Bei

der Modifizierung unter Verwendung der Co-Kondensationsreaktion wird das Trialkoxyorganosilan in einem Schritt (*in situ*) während der Bildung des Silica-Materials umgesetzt, wohingegen bei der *postgrafting*-Methode die funktionellen Gruppen in einem zweiten Reaktionsschritt an das isolierte Silica-Material angebunden werden.<sup>[152]</sup> Beide Methoden beinhalten sowohl Vor- als auch Nachteile. Modifizierungen durch Co-Kondensation weisen funktionelle Gruppen im gesamten nanoporösen Silica-Material auf, während beim *postgrafting* durch sterische Hinderung und Blockierung der Poren möglicherweise nur die Oberflächen der äußeren Poren modifiziert werden. Der entscheidende Nachteil der Co-Kondensation ist die Einschränkung hinsichtlich der Entfernung des SDAs, da organische Gruppen in den meisten Fällen durch eine Calcination zersetzt werden. Die Entfernung des SDAs ist zwar auch durch eine Extraktion möglich, jedoch bleibt häufig ein Restanteil in der Struktur zurück. Im Hinblick auf biomedizinische Anwendungen ist diese Methode deshalb nicht empfehlenswert, da die meisten Tenside schon in sehr geringen Mengen cytotoxisch wirken.<sup>[27]</sup> In diesen Fällen ist die *postgrafting*-Methode der Co-Kondensation vorzuziehen. Beim *postgrafting* muss jedoch beachtet werden, dass ein geringer, aber auch ein zu hoher Wassergehalt in der Reaktionslösung zu negativen Effekten führen kann, wenn Alkoxyorganosilane für die Reaktion verwendet werden. Ein zu geringer Wasseranteil resultiert möglicherweise in einer unvollständigen Ausbildung einer Monoschicht. Hingegen führt ein zu großer Anteil nach der Hydrolyse zu übermäßigen Kondensationen zwischen den Alkoxyorganosilanen, was die Ausbildung von Multischichten auf der Silicaoberfläche fördert. Diese Multischichten haben zur Folge, dass die Partikeloberfläche abgeschirmt wird und auch die Poren nicht mehr zugänglich sind. Toluol stellt, je nach Reinheitsgrad, einen geeigneten Wassergehalt bereit, weshalb es häufig als Lösungsmittel für Silylierungsreaktionen mit Alkoxyorganosilanen eingesetzt wird.<sup>[153]</sup>

Eine Markierung von Silica-Nanopartikeln durch eine Oberflächenmodifizierung mit fluoreszierenden organischen Farbstoffen ist eine einfache Möglichkeit, um Partikel in biologischen Systemen zu verfolgen und nachzuweisen. Dies ist vor allem für Untersuchungen von Partikelakkumulationen im Körper von Interesse. Nachteile dieser Oberflächenmodifizierung können jedoch Degradationen durch Hydrolyse und Auflösungsprozesse des Silicas, geringe Fluoreszenzlebensdauern und das Ausbleichen des Farbstoffs sein, sodass eine Detektion häufig zeitlich begrenzt ist.<sup>[154]</sup> Ein weiterer Nachteil ist, dass durch die Anbindung der fluoreszierenden Farbstoffe nur eine eingeschränkte zusätzliche Anbindung weiterer funktioneller Gruppen möglich ist.

Eine Alternative zu einer Oberflächenmodifizierung stellen in diesem Fall fluoreszierende Kern-Schale-Nanopartikel dar, wie sie von Kong *et al.* beschrieben wurden.<sup>[154]</sup> Als geeignetes Material für biologische fluoreszierende Marker wird hier grün fluoreszierendes Terbium(III)-dotiertes Cerfluorid vorgestellt, welches eine hohe chemische Sta-

bilität und hohe Quantenausbeuten aufweist.<sup>[154,155]</sup> Die ca. 10 nm großen kristallinen  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Nanopartikel werden mit einer Schicht aus Silica ausgestattet, um fluoreszierende  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Silica-Nanopartikel zu erhalten. Mit diesen Kern-Schale-Nanopartikeln ist es nun möglich Oberflächenmodifizierungen vorzunehmen, um gewünschte chemische oder physikalische Eigenschaften zu erzielen oder Biomoleküle für medizinische Zwecke anzubinden.<sup>[154]</sup> Das Absorptionsspektrum von  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Nanopartikeln weist insgesamt vier Absorptionsbanden mit dem intensivsten Absorptionsmaximum bei 248 nm auf, welche durch Elektronenübergänge vom Grundzustand des Cer(III)-Ions auf die verschiedenen 5d-Zustände erzeugt wird. Durch eine Anregung mit einer Wellenlänge von 250 nm wird ein Teil der Strahlung von Cer(III)-Ionen mit einer Wellenlänge von 320 nm (5d – 4f) emittiert, wodurch erneut der Grundzustand eingenommen wird. Der Großteil der Cer(III)-Ionen überträgt jedoch seine Energie auf das Terbium(III)-Ion, welches Strahlung durch  $^5\text{D}_4 - ^7\text{F}_j$ -Übergänge ( $J = 6 - 3$ ) (f – f) emittiert. Die Hauptemissionslinie bei 542 nm ist dem  $^5\text{D}_4 - ^7\text{F}_5$ -Übergang zuzuordnen und entspricht der starken grünen Fluoreszenz.<sup>[155]</sup>

#### 2.5.4 Überblick über biomedizinische Anwendungen von nanoporösen Silica-Materialien

Nanoporöse Silica-Nanopartikel (NPSNPs) und -Beschichtungen bieten aufgrund ihrer großen spezifischen Oberfläche, einstellbaren Partikel- und Porengrößen und der Möglichkeit zur Oberflächenmodifizierung großes Potential als Wirtmaterial für die lokale Freisetzung von pharmazeutischen Wirkstoffen und Biomolekülen. Das Ziel solcher Systeme ist eine verbesserte Bioverfügbarkeit bei gleichzeitig reduzierten Nebenwirkungen durch geringere benötigte Wirkstoffmengen.<sup>[29]</sup> Für Wirkstofffreisetzungen werden die Partikel oder Beschichtungen üblicherweise mit Lösungen des gewünschten Wirkstoffs inkubiert und dieser adsorptiv gebunden. Die Freisetzungsuntersuchungen erfolgen dann häufig in körperähnlichen Medien wie SBF (simulierte Körperflüssigkeit, engl. *simulated body fluid*) oder PBS (phosphatgepufferte Salzlösung, engl.: *phosphate buffered saline*). Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der nanoporösen Silica-Materialien müssen entsprechend der gewünschten Anwendung angepasst werden, um optimale Wechselwirkungen mit Wirkstoffmolekülen, Zellen, Gewebe sowie optimale Stabilitäten der Partikel und Dispersionen, Aufnahme in Zellen und Verweilzeiten im Blutkreislauf zu erzielen.<sup>[8,29,156–158]</sup>

NPSNPs und Beschichtungen wurden in diversen *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen getestet und als generell cyto- und biokompatibel bewertet.<sup>[5–7,9,19,27–29]</sup> Es ist allerdings zu berücksichtigen, dass jede neu entwickelte Partikelmodifizierung für sich an unterschiedlichen biologischen Systemen getestet werden muss, da diese zu unvorhergesehenen Wechselwirkungen führen können.<sup>[28,29]</sup> Die ersten Silica-Nanopartikel, die von der FDA

(engl.: *U.S. Food and Drug Administration*, U.S.-Bundesbehörde zur Überwachung von Nahrungs- und Arzneimitteln) für eine klinische Phase I-Studie zugelassen wurden, sind die in der Tumorbehandlung eingesetzten und für diagnostische Zwecke verwendeten “C-dots” (Cornell dots).<sup>[29,159,160]</sup> Hierbei handelt es sich um 6 nm große Kern-Schale-Nanopartikel mit einem fluoreszierenden Silica-Kern, dessen Oberfläche mit Poly(ethylenglycol) sowie einem Peptid zur molekularen Erkennung und Iod<sup>124</sup> als Marker ausgestattet ist.<sup>[160]</sup>

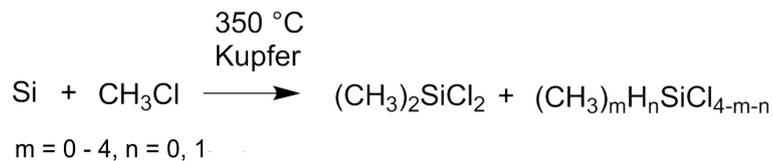
Nanoporöse Silica-Materialien können mit verschiedensten organischen und anorganischen Wirkstoffen beladen werden. Neben organischen Wirkstoffen wie Antibiotika und Entzündungshemmern können auch Silbernanopartikel eingelagert werden, welche antibakterielle Effekte aufweisen (vgl. Abschnitt 5.1 und 5.4).<sup>[8,52,161,162]</sup> Die Einlagerung oder Oberflächenadsorption von Enzymen sowie DNA- und siRNA-Molekülen ist ebenfalls denkbar.<sup>[163]</sup> Wird eine verlangsamte Freisetzung gewünscht, kann diese z.B. durch Beschichtung der Oberfläche mit hydrophoben Gruppen, Polymeren, Oligonukleotiden und Doppellipidschichten erreicht werden.<sup>[8,158,164]</sup>

Ein großer Forschungsbereich ist auch die Entwicklung von multifunktionalen Silica-Nanopartikeln. Es werden verschiedene Möglichkeiten beschrieben, Partikel mit unterschiedlichen Funktionen auszustatten. Zum Beispiel kann ein magnetischer Eisenoxid-Kern genutzt werden, um Partikel mit einem äußeren Magnetfeld in definierte Körperregionen zu lenken. Eine Schale aus nanoporösem Silica hält dann einen für die Behandlung notwendigen Wirkstoff bereit und setzt diesen vor Ort frei.<sup>[156,159,164,165]</sup> Dieses System wird vor allem in der Tumorthherapie untersucht, da auf diese Weise toxische Wirkstoffe nur am Zielort freigesetzt und Nebenwirkungen reduziert werden.<sup>[166]</sup> Eine Freisetzung von Biomolekülen, die aufgrund ihrer Größe vorzugsweise an der Partikeloberfläche über elektrostatische Wechselwirkungen adsorbieren, könnten eine Therapie zusätzlich unterstützen.<sup>[164]</sup> Auf diese Weise lassen sich sehr komplexe Wirkstoffsysteme mit verschiedenen Funktionen aufbauen. Eine Ausstattung der Nanopartikel mit einem fluoreszierenden Marker, wie er in Kapitel 2.5.3 beschrieben wurde, ist von Interesse, um die Partikel im Körper zu verfolgen und Akkumulationen im Organismus ausfindig zu machen.

## 2.6 Silicone und ihre Anwendung in der Biomedizin

Mit dem Begriff Silicone wird die Stoffklasse der Polysiloxane bezeichnet, welche aus der Hydrolyse und anschließenden Kondensation von Alkylchlorsilanen oder durch Ringöffnungspolymerisation hervorgehen (s. Abb. 2.14, Synthese von Polydimethylsiloxan).

### Müller-Rochow-Synthese



### Synthese von Polydimethylsiloxan

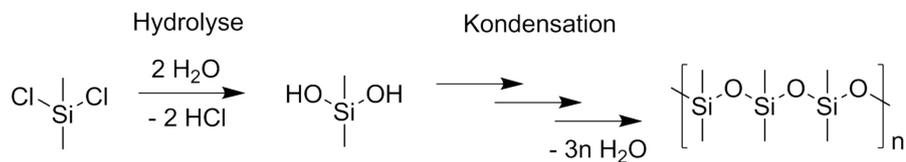


Abb. 2.14: Vereinfachte Darstellung der Müller-Rochow-Synthese zur Herstellung von Methylchlorsilanen und die anschließende Hydrolyse und Kondensation zu Polydimethylsiloxan nach Lit. [23].

Die Synthese von Siliconen ist prinzipiell seit Beginn des 20. Jahrhunderts möglich, als es Kipping gelang über eine Grignard-Reaktion Ethylchlorsilan herzustellen. Größeres Interesse wurde der Silicon-Herstellung jedoch erst um 1940 entgegengebracht, als es erstmals zu elektrischen Isolationszwecken diente. Gegen Ende des Zweiten Weltkrieges wurde die industrielle Fertigung von Siliconen auch in Deutschland vorangetrieben und stetig weiterentwickelt.<sup>[23,167]</sup> Im Jahr 1947 begann die Produktion von Methylchlorsilanen nach dem Müller-Rochow-Verfahren, sodass die Herstellung der benötigten Edukte nun auch in großem Maßstab möglich war (s. Abb. 2.14, Müller-Rochow-Synthese). Ausgehend von pulverförmigem Silicium und Chlormethan entstehen in Anwesenheit eines Kupferkatalysators bei 350 °C das Hauptprodukt Dichlordimethylsilan und weitere Chlorsilane als Nebenprodukte.

Aufgrund ihrer speziellen Eigenschaften sind Silicone vielfältig einsetzbar und aus zahlreichen Anwendungen nicht mehr wegzudenken. Gerade im Bereich der Pflegemittel und im Gesundheitswesen finden Silicone eine Vielzahl an Einsatzmöglichkeiten. Zu nennen sind hier die Kosmetik, Reinigungs- und Pflegemittel, Nahrungsmittel und vor allem medizinische Produkte wie Implantatmaterialien. Letzteren wird eine große Aufmerksamkeit entgegengebracht, da eine stetige Weiterentwicklung der Produkte zu einer Verbesserung der medizinischen Versorgung führt.<sup>[23,24,168]</sup>

## 2.6.1 Aufbau und Eigenschaften von Siliconen

### Strukturelle, chemische und physikalische Eigenschaften

Das Grundgerüst der Silicone, auch als Poly(diorganosiloxane) bezeichnet, besteht aus Ketten mit alternierenden Silicium- und Sauerstoffatomen. Die freien Valenzen der Siliciumatome werden durch organische Reste abgesättigt, bei denen es sich meist um Methylgruppen handelt. Es sind auch Substituenten wie Phenyl-, Vinyl- und Fluoral kylgruppen sowie Wasserstoff möglich, durch deren Verwendung die Eigenschaften der Silicone verändert werden können. Diese werden zudem durch die Art der Struktureinheit bestimmt. Zu unterscheiden sind mono- (M), di- (D), tri- (T), und tetrafunktionelle (Q) Struktureinheiten, je nach Anzahl der organischen Reste am vierwertigen Siliciumatom (s. Abb. 2.15).

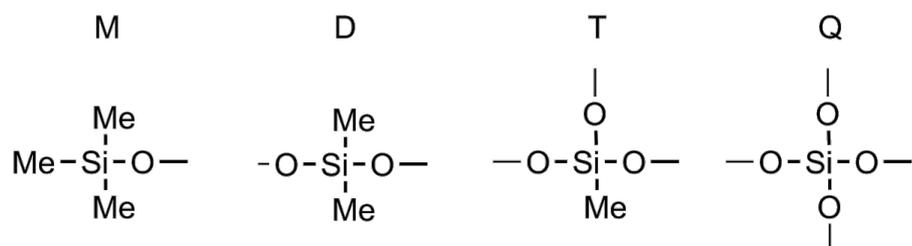


Abb. 2.15: Struktureinheiten der Silicone.

Durch die Kombination verschiedener Struktureinheiten lassen sich die Eigenschaften der Poly(diorganosiloxane) individuell einstellen. Silicone, welche ausschließlich aus D- und M-Einheiten aufgebaut sind, weisen einen linearen Aufbau auf und werden als Siliconöle bezeichnet. Sie werden meist durch Hydrolyse von Dichlordimethylsilan hergestellt und enthalten Endgruppen aus Triorganosiloxanen. Verzweigte Silicone werden durch die Kombination von M-, D-, und T-Einheiten erhalten und als Siliconelastomere bezeichnet, da sie im vernetzten Zustand viskoelastisches Verhalten aufweisen. Hochvernetztes Silicone, die hauptsächlich T- und Q-Einheiten enthalten, werden als Siliconharze klassifiziert.<sup>[23,168–170]</sup> Silicone sind aufgrund der hohen Bindungsenergie der Si–O-Bindung (424–495 kJ·mol<sup>-1</sup>), einhergehend mit einer kurzen Bindungslänge von 1.65 Å und der starken Abschirmung der Siloxankette durch unpolare und unreaktive organische Reste chemisch inert. Eine C–O-Bindung zum Vergleich weist eine Bindungsenergie von nur ca. 357 kJ·mol<sup>-1</sup> und eine Si–C-Bindung eine solche von etwa 318 kJ·mol<sup>-1</sup> auf.<sup>[24,169]</sup> Geringe Wechselwirkungen zwischen den helixartigen Siloxanketten und die freie Drehbarkeit von Methylgruppen erklären die niedrige Glasübergangstemperatur von Polydimethylsiloxanen (PDMS) von –120 °C. Außerdem setzen Kristallisationsvorgänge, bei denen es zu einem sprunghaften Härteanstieg und dem Verlust der elastomeren Eigenschaften kommt, erst bei sehr

niedrigen Temperaturen ein.<sup>[23,24,170–173]</sup> Für eine weitere Herabsetzung der Kristallisationstemperatur auf bis zu  $-140\text{ °C}$  werden Methylgruppen teilweise durch Ethyl-, Propyl-, Trifluorpropyl- oder Phenylgruppen substituiert und die Symmetrie der Siloxankette gestört. Von Bedeutung sind diese Tieftemperatur-Silicone z.B. in der Raum- und Luftfahrt sowie in der Automobilindustrie.<sup>[23,24,172]</sup> Die Beständigkeit gegenüber hohen Temperaturen ist ebenfalls mit der hohen Bindungsenergie zu begründen. Bis zu einer Temperatur von  $150\text{ °C}$  kann der Erhalt aller Funktionalitäten garantiert werden. Zur Erhöhung der thermischen Beständigkeit, bis ca.  $250\text{ °C}$  über einen Zeitraum von zwei bis drei Wochen, werden den Siliconen Hitzestabilisatoren wie rotes Eisenoxid, Ruße, Cer- und Palladiumverbindungen oder Bariumzirkonat zugesetzt.<sup>[23,171]</sup>

Eine weitere charakteristische Eigenschaft, die sich aus dem strukturellen Aufbau der Silicone ergibt, ist eine geringe spezifische Oberflächenenergie. Diese wird durch die nahezu freie Beweglichkeit der Methylgruppen, die Abschirmung der partiell ionischen Siloxankette und die geringen intramolekularen Kräfte verursacht. Nutzen findet diese Eigenschaft z.B. im Dentalbereich als Abformmasse, im Formenbau und aufgrund der zusätzlichen ausgezeichneten Isolatoreigenschaft von Siliconen auch im Hochspannungsbereich. Aber auch für die Anwendung als Biomaterial ist die Oberflächenenergie ein wichtiger Aspekt. Materialien mit geringen Oberflächenenergien, d.h. hydrophobe Materialien, zeigen keine nennenswerten Wechselwirkungen mit umliegendem Gewebe sowie anderen Strukturen, weshalb sie biokompatibel und bioinert sind.<sup>[24,170,173]</sup>

Silicone sind sehr beständig gegenüber einer Vielzahl von Chemikalien. Behandlungen mit konzentrierten Säuren oder Laugen führen allerdings zu starken Beschädigungen. Werden Silicone apolaren Lösungsmitteln ausgesetzt, zeigen sie ein reversibles Quellverhalten. Die Beständigkeit gegenüber UV-Strahlung ist sehr gut, sodass eine Sterilisation von Proben für den medizinischen Gebrauch möglich ist. Außerdem weisen Silicone größtenteils Beständigkeiten gegenüber  $\gamma$ -, Röntgen- und Elektronenstrahlung auf.<sup>[23]</sup>

Die Medizin sowie die Textilindustrie profitieren von der guten Gasdurchlässigkeit der Silicone. Diese erklärt sich durch geringe intramolekulare Wechselwirkungen der Polymerketten und der damit verbundenen hohen Kettenflexibilität sowie dem großen freien Volumen. Die Permeation ist besonders ausgeprägt für Sauerstoff und Wasserdampf. Eine Substitution der kleinen Methylgruppen durch große Reste wie Phenyl vermindert die Durchlässigkeit merklich, während höhere Vernetzungsgrade und Füllstoffgehalte kaum Einfluss haben.<sup>[23]</sup>

Im Bereich der elastomeren Eigenschaften sind die Silicone denen der organischen Elastomere unterlegen. Es werden Reißfestigkeiten bis ca.  $15\text{ MPa}$  (Naturkautschuk:  $32\text{ MPa}$ ) und Weiterreißwiderstände bis  $55\text{ MPa}$  erreicht. Unterschiede in der Reißfestigkeit, Bruchdehnung und Shore A-Härte, welche eine Kennzahl für die Werkstoffhärte darstellt und in

direkter Beziehung zur Eindringtiefe eine Körpers steht, werden durch unterschiedliche Produktklassen und Vernetzungssysteme verursacht.<sup>[23,24,174]</sup> Hierbei spielen vor allem auch die Polymerisationsgrade und die Füllstoffgehalte eine große Rolle, aber auch die Kettenlängen und damit die Viskosität sind beeinflussende Faktoren. Der Polymerisationsgrad beschreibt die Anzahl der Grundbausteine pro Polymermolekül. Mathematisch ergibt sich dieser aus dem Quotienten der Molmasse des Makromoleküls und der Molmasse des Grundbausteins. Je höher der Polymerisationsgrad ist, desto fester ist das Material.<sup>[175]</sup>

### Produktklassen der Siliconelastomere

Eine Unterteilung der Siliconelastomere erfolgt in die drei Produktklassen HTV- (Hochtemperaturvulkanisat, engl.: *high temperature vulcanizing*), LSR- (Flüssigsiliconkautschuk, engl.: *liquid silicone rubber*) und RTV-Materialien (Raumtemperaturvulkanisat, engl.: *room temperature vulcanizing silicone rubber*).<sup>[23]</sup> Eine vergleichende Auflistung aller Eigenschaften der einzelnen Produktklassen ist in Tab. 2.1 dargestellt.

Tab. 2.1: Tabellarische Zusammenfassung der Eigenschaften von HTV-, LSR- und RTV-Siliconen.<sup>[23,171,172]</sup>

	HTV	LSR	RTV
Konsistenz <sub>unvern.</sub>	weich bis festpastös	flüssig bis gießbar	gießbar bis knetbar
Vernetzungstyp	Addition / Radikalisch	Addition	Addition / Kondensation
Temperatur <sub>vern.</sub> / °C	170 - 230	170	RT
Polymerisationsgrad	5000 - 10000	600 - 1800	100 - 800
Füllstoffgehalt / wt%	≤ 45	≤ 30	≤ 22
Reißfestigkeit / MPa	15	5 - 10	0.5 - 6

HTV-Silicone sind im unvernetzten Zustand weich bis fest-pastös und bestehen aus Polysiloxanen mit Vinylgruppen, die sowohl endständig als auch kettenständig enthalten sind. Die Vernetzung erfolgt bei erhöhten Temperaturen von 170- 230 °C radikalisch peroxid-induziert oder durch Additionsreaktionen. Aufgrund der hohen Polymerisationsgrade von 5 000 bis 10 000 zeichnen sich diese Materialien durch die besten Reißfestigkeiten unter den Siliconelastomeren mit bis zu 15 MPa aus. HTV-Materialien können einen Massenanteil von 45% pyrogenem oder gefälltem Silica enthalten. Pyrogenes Silica wird durch Flammenpyrolyse bei Temperaturen oberhalb von 1 500 °C hergestellt, während gefälltes Silica durch Fällungsreaktionen bei Temperaturen < 100 °C gebildet wird. Für die Verarbeitung von hochviskosen unvernetzten Massen werden Walzen, Extruder und Formpressen verwendet.<sup>[23,171]</sup>

LSR-Silicone werden aufgrund der flüssigen und damit pumpbaren Konsistenz bevorzugt im Spritzgussverfahren verarbeitet. Hierdurch wird ein höherer Automatisierungsgrad und damit eine höhere Produktivität als mit HTV-Materialien erzielt. LSR-Polymere bestehen hauptsächlich aus kurzkettigen linearen Polysiloxanen mit vinylendständigen Ketten, die über Additionsreaktionen vernetzen. Bis zur vollständigen Befüllung der Formen wird die Temperatur des Polymers möglichst gering gehalten und anschließend auf ca. 170 °C erhöht, um eine schnelle Vernetzung innerhalb weniger Sekunden zu bewirken. Der mittlere Polymerisationsgrad liegt bei 600 bis 1 800 und Füllstoffe können mit einem Massenanteil bis maximal 30% zugesetzt werden. Beide Größen liegen unterhalb derer der HTV-Materialien, was dazu führt, dass auch die mechanischen Festigkeitswerte der LSR-Materialien niedriger sind. Die Reißfestigkeiten liegen zwischen 5 MPa und 10 MPa. Vorteile dieser Produktklasse sind jedoch eine sehr gute Hitzestabilität, Kälteflexibilität, nahezu gleichbleibende mechano-elastische Eigenschaften über einen breiten Temperaturbereich und die physiologische Unbedenklichkeit.<sup>[23,171]</sup>

Die bei Raumtemperatur vernetzenden RTV-Materialien können sowohl über Kondensations- als auch über Additionsreaktionen hergestellt werden. Die Polysiloxane enthalten hierfür endständige hydrolysierbare Gruppen bzw. Vinylgruppen. Im Falle der Kondensationsreaktion wird zwischen RTV-1 und RTV-2-Systemen unterschieden, je nachdem, ob 1- oder 2-Komponenten-Systeme verwendet werden. Die Konsistenz der unvernetzten Massen lässt sich von gießbar bis knetbar einstellen und kann somit dem gewünschten Verarbeitungsverfahren angepasst werden. RTV-Materialien weisen niedrigere Polymerisationsgrade von 100 bis 800 auf und enthalten Füllstoffe mit einem Massenanteil von bis zu 22%. Sie weisen damit die niedrigsten Festigkeitseigenschaften innerhalb der drei Produktklassen auf. Es werden Reißfestigkeiten von 0.5 - 6 MPa erreicht. Vor allem die additionsvernetzenden RTV-2-Materialien zeichnen sich durch einfache Verarbeitbarkeit, gut einstellbare Verarbeitungszeiten, hohe Dauerelastizität, eine besonders geringe Schrumpfung und physiologische Unbedenklichkeit aus. Mit RTV-2-Systemen lassen sich außerdem Siliconschäume mit hoher Flammenwidrigkeit und füllstofffreie Silicongele mit sehr geringen  $E$ -Moduln von < 5 kPa (vgl. Siliconelastomere: 1-10 MPa) herstellen.<sup>[23,171,172]</sup>

## Vernetzungssysteme

Die Vernetzung der Siliconpolymere kann, je nach Produktklasse und funktioneller Vernetzergruppe, nach drei verschiedenen Reaktionstypen erfolgen. Durch peroxid-induzierte radikalische Vernetzung werden ausschließlich HTV-Massen vernetzt. Die Additionsvernetzung wurde ursprünglich nur für RTV-Materialien genutzt, später auch für die Vernetzung von LSR- und immer häufiger für HTV-Polymere. Vernetzungen von RTV-Polymeren sind zudem durch Kondensationsreaktionen möglich.<sup>[23,171]</sup>



Dieser besteht im ersten Schritt aus einer oxidativen Addition. Hierbei wird unter Bildung einer vakanten Koordinationsstelle am Platin ein Platin(II)-Komplex generiert. Es schließt sich eine Insertion der Vinylgruppe in die Pt-H-Bindung und im letzten Schritt die reduktive Eliminierung an. Bei der reduktiven Eliminierung wird eine Ethylenbrücke zwischen dem Vernetzer und dem Polysiloxan gebildet und das Produkt vom Platin abgespalten. Die hierdurch wieder frei gewordene Koordinationsstelle wird durch die nächste Vinylgruppe besetzt.<sup>[23,24,170,177]</sup>

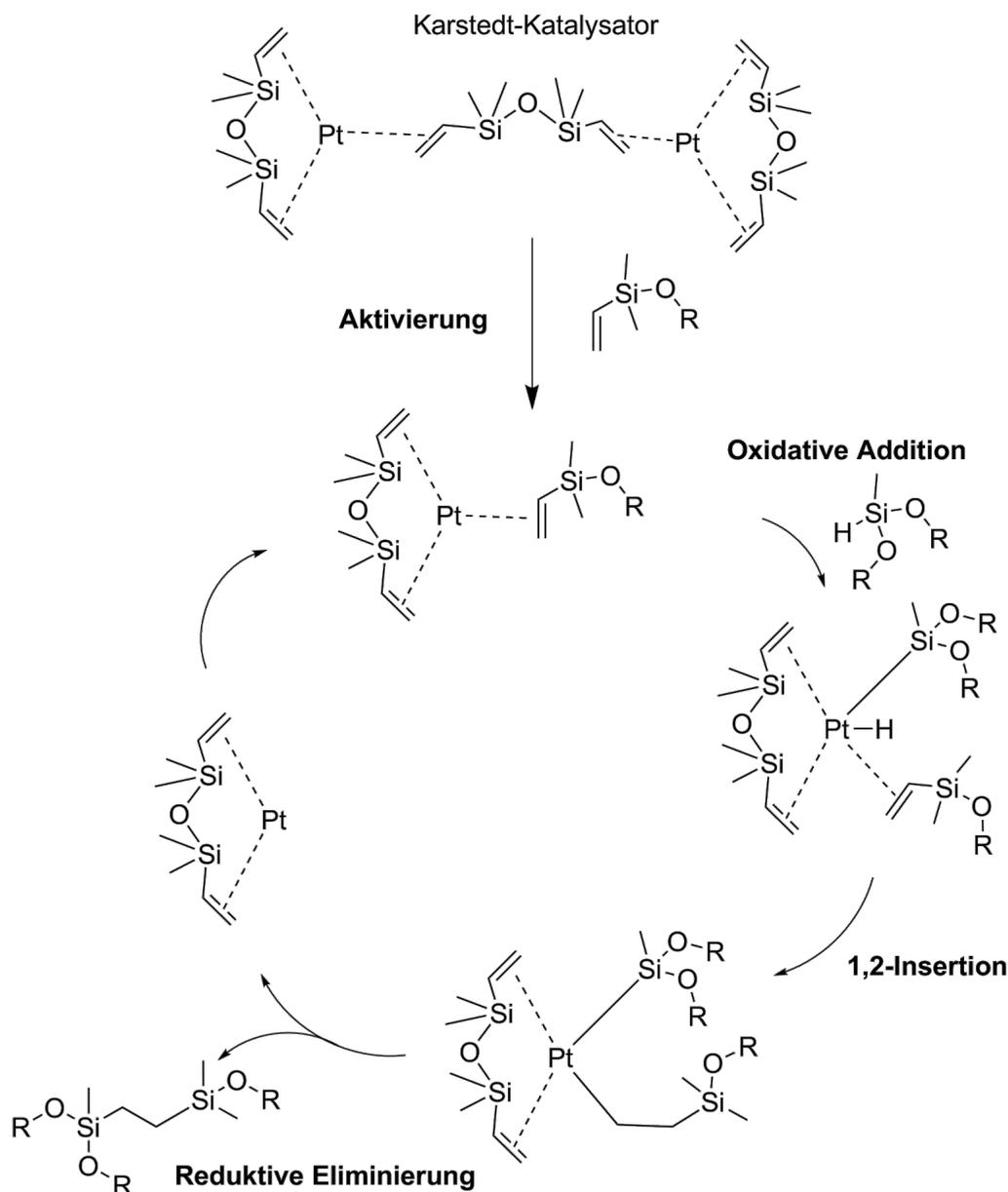


Abb. 2.17: CHALK-HARRODS-Mechanismus für eine Platin(0)-katalysierte Hydrosilylierung nach Lit. [24].

Eine quantitative Umsetzung von Vinylgruppen erfolgt mit einem SiH : SiVi-Verhältnis von 1.5 bis 2.0.<sup>[23]</sup> Durch die Verwendung der hoch-aktiven Katalysatoren verläuft die Reaktion

schon bei Raumtemperatur, weshalb die Substanzen als 2-Komponenten-Silicon erhältlich sind. Hierbei enthält nur eine der Komponenten den Vernetzer, d.h. die SiH-Spezies und den Katalysator. Eine Reduzierung der Vernetzungszeit ist durch Erhöhung der Temperatur und der Platinkonzentration möglich. Für eine weitere Kontrolle der Vernetzung werden der Polymermasse Inhibitoren zugesetzt, die den Platinkatalysator bei Raumtemperatur komplexieren und somit die spontane Vernetzung verhindern. Bei Erhöhung der Temperatur wird der Platin-Inhibitor-Komplex destabilisiert, sodass der Katalysator für die Vernetzung zur Verfügung steht. Als Inhibitoren werden Ethinylcyclohexanol, 2-Methyl-3-butin-2-ol, Divinyltetramethyldisiloxan, 1*H*-Benzotriazol, Dimethylfumarat oder Dimethylmaleat verwendet. Allgemein werden Katalysatorkonzentrationen von 5-20 ppm und vier Äquivalente des Inhibitors eingesetzt.<sup>[24,178]</sup> Bei den üblicherweise verwendeten Katalysatoren handelt es sich zum einen um den SPEIER-Katalysator, welcher aus einer Lösung aus Hexachloroplatin(IV)säure in Isopropanol besteht, und zum anderen um den KARSTEDT-Katalysator (s. Abb. 2.17), der einen Pt(0)-Divinyltetramethyldisiloxan-Komplex bildet. Eine Inhibierung der Vernetzung wird durch Schwermetall-, Stickstoff- und Schwefelverbindungen erzeugt, die als Katalysatorgifte wirken. Als Vorteile dieses Vernetzungssystems sind hohe Selektivitäten und Vernetzungsgeschwindigkeiten, homogene und definierte Netzwerkbildungen, gute mechano-elastische Eigenschaften sowie die Abwesenheit von Spalt- und Nebenprodukten und damit verbunden geringe Schrumpfungen und physiologische Unbedenklichkeiten zu nennen.<sup>[23,24,168,171]</sup>

Siliconpolymere, die über eine katalysierte Kondensationsreaktion (s. Abb. 2.18) vernetzt werden, bestehen aus einem Basispolymer und einem kürzerkettigen Vernetzer mit endständigen Silanol- oder hydrolysierbaren Gruppen der Form Si-X. Letztere spalten in Anwesenheit von Feuchtigkeit niedermolekulare Hydrolyseprodukte ab.

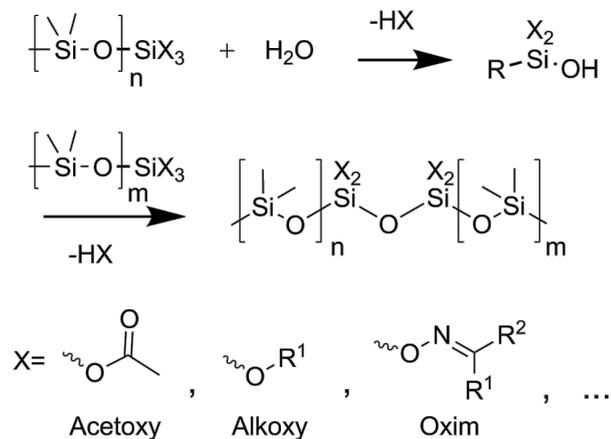


Abb. 2.18: Vereinfachte Darstellung einer Reaktion zur Vernetzung über eine Kondensationsreaktion.

Im Gegensatz zu den peroxid-induzierten und Additionsreaktionen erfolgt bei dem kondensationsvernetzenden System die Verknüpfung des Polymers und des Vernetzers über Si-O-Si-Bindungen und nicht über Ethylenbrücken. Neben der Verknüpfung des Polymers mit dem Vernetzer finden auch Reaktionen zwischen Vernetzer und Vernetzer sowie Polymer und Polymer statt, sodass komplexe und inhomogene Netzwerke entstehen. Die mechanistischen Details dieser Reaktionen sind jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt. Als Katalysatoren werden Basen, Säuren, Metallchelate oder zinn- bzw. titanorganische Verbindungen eingesetzt. Für dieses Vernetzungssystem werden zwei verschiedene Produkttypen angeboten. Hierbei handelt es sich um das 2-Komponenten-Silicon RTV-2 und das 1-Komponenten-Silicon RTV-1. Im Falle des RTV-2 wird einer der beiden Komponenten die zur Hydrolyse der Si-X-Gruppen notwendige Feuchtigkeit zugesetzt, sodass nach Vermischen die Reaktion einsetzt. Die Si-X-Gruppen im RTV-1 hingegen hydrolysieren durch äußere Zufuhr von Feuchtigkeit, woraufhin die katalysierte Kondensationsreaktion einsetzt. Um eine Vernetzung während der Lagerung zu verhindern, werden RTV-1-Mischungen in feuchtigkeitsundurchlässigen Gebinden abgefüllt. Die Vernetzung erfolgt hierbei diffusionskontrolliert von der Oberfläche ins Innere. Da die Vernetzungsgeschwindigkeit abnimmt, je weiter die Reaktion nach innen fortgeschritten ist, ist die verwendbare Schichtdicke limitiert. Das kommerziell bedeutsamste Vernetzungssystem auf Basis der Kondensationsreaktion ist das Acetoxy-RTV-1, welches häufig Anwendung im Sanitärbereich findet. Weiterhin werden u.a. Oxim- und Alkoxyssysteme verwendet, wobei erstere aufgrund toxikologischer Bedenken zu vermeiden sind. Ein Spezialfall der Kondensationsvernetzung ist die Dehydrokondensation, bei der ein Polysiloxan mit SiH-Funktion und mit einer endständigen Silanolgruppe unter Abspaltung von elementarem Wasserstoff vernetzt. Dieser Reaktionstyp ist jedoch aufgrund der Gasentwicklung nur für dünne Beschichtungen geeignet.<sup>[23,168,170,171]</sup>

### **Das Silicon Silpuran® 2430**

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Siliconelastomer handelt es sich um das additionsvernetzende RTV-2-Produkt Silpuran® 2430 A/B der WACKER CHEMIE AG, welches den Vorteil hat, keine flüchtigen Reaktionsprodukte freizusetzen. Außerdem wird durch das additionsvernetzende Verfahren eine nennenswerte Schrumpfung umgangen. Für die Herstellung des Silicons werden die Komponenten A und B im Verhältnis 1:1 gemischt und anschließend vernetzt. Beide Komponenten enthalten Polysiloxane mit Vinyl- und Methylsubstituenten sowie mit Methylgruppen modifiziertes Silica, dessen Konzentration vom Hersteller nicht angegeben wurde. Die Komponente A beinhaltet zusätzlich den Platinkatalysator und einen organischen Inhibitor. In Komponente B ist der Vernetzer als SiH-funktionelles Polysiloxan enthalten. Das Verhältnis von SiH : SiVi beträgt ca. 2.

Das Silpuran<sup>®</sup> 2430 ist nach der ISO 10993 und der USP Class VI als biokompatibel zertifiziert und kann daher als Implantatmaterial eingesetzt werden. Es hat eine mittlere Härte und weist laut Hersteller eine Shore A-Härte von 20 (ISO 868) auf. Die Zugfestigkeit wird mit 6 MPa (ISO 37) und die Bruchdehnung mit 540% (ISO 37) angegeben.<sup>[179]</sup>

## 2.6.2 Überblick über biomedizinische Anwendungen von Siliconen

Die außergewöhnlichen Eigenschaften der Silicone ließen Wissenschaftler und Ärzte schon in den 1950er Jahren vermuten, dass es sich bei diesem Material um ein geeignetes Biomaterial handeln könnte. Die chemische und thermische Beständigkeit sowie die geringe spezifische Oberflächenspannung deuteten auf eine gute Biokompatibilität und Biodurabilität der Silicone hin. Biokompatible Materialien verursachen keine negativen Beeinträchtigungen am lebenden biologischen System. Biodurabilität hingegen würde bedeuten, dass sich der Wirt nicht negativ auf das Biomaterial auswirkt und dieses nicht in seiner Funktion beeinträchtigt.<sup>[168]</sup> Biokompatibles Silicon wird häufig mit der Bezeichnung *medical grade* gekennzeichnet. Eine universelle Definition für solch eine spezielle Qualität existiert jedoch nicht.<sup>[168]</sup>

Aufgrund der wasserabweisenden und spreitenden Eigenschaften wurde schon 1946 durch Jaques *et al.* gezeigt, dass sich Siliconbeschichtungen für Spritzen und Nadeln eignen, um eine Blutgerinnung zu verhindern.<sup>[180]</sup> Kurze Zeit später bewiesen Margulies und Barker, dass diese Beschichtung keinen Einfluss auf das Blut hat.<sup>[181]</sup> Somit etablierte sich diese Beschichtung zunehmend und wurde zum Standard. Die erste Implantation von Siliconen erfolgte 1946 zur Reparatur des Gallenganges und 1948 wurde Silicon des gleichen Typs als Ersatz eines 9.5 cm langen Harnröhrenstücks implantiert.<sup>[168]</sup> In den 1960er Jahren stieg das Interesse am Einsatz von Siliconen im Gesundheitswesen weiter an, sodass man heute von einer Vielzahl von Anwendungsmöglichkeiten profitiert.

In der Orthopädie werden Silicone verwendet, um kleine Gelenke in der Hand und dem Fuß zu ersetzen. Auch Knieimplantate wurden schon 1969 zur Absorption von Erschütterungen mit Silicon ausgestattet.<sup>[182,183]</sup>

Katheter und Drainagen aus Silicon finden sowohl innerhalb als auch außerhalb des Körpers Anwendung. Häufig verfügen diese Produkte über eine Siliconbeschichtung, welche eine Verkrustung aufgrund der schlechten Benetzbarkeit des hydrophoben Polymers verhindert. Die sehr gute Flexibilität des Materials erlaubt zudem eine freie Beweglichkeit des Patienten. In Form von Dichtmaterialien werden druckempfindliche Haftsilicone (engl.: *pressure sensitive adhesives*, PSAs) zur Abdichtung von Drainagen und Kathetern verwendet.<sup>[168,184]</sup>

Die sehr gute Hämokompatibilität, d.h. die Verträglichkeit gegenüber Blut, macht Silicon zu einem geeigneten Material für den gesamten kardiovaskulären Bereich.<sup>[184]</sup>

Im Bereich der ästhetischen Implantate werden Silicone ebenfalls seit den 1960er Jahren genutzt. Es besteht die Möglichkeit, verschiedene Körperteile durch Siliconimplantate zu ersetzen oder in ihrer Form zu beeinflussen. Als Beispiele seien die Nase, die Wange, das Kinn, die weibliche Brust, die Hoden, das Gesäß und die Wade genannt. Für solche Rekonstruktionsoperationen werden häufig weichere Silicongele verwendet, die aus einem gering vernetzten Siliconelastomer ohne Füllstoffe bestehen. Die Gründe für entsprechende Implantationen können sowohl von rein ästhetischem Belang, aber auch infolge von Traumata und Krebsbehandlungen notwendig sein.<sup>[168]</sup>

Des Weiteren wird biomedizinisches Silicon für Kontaktlinsen verwendet, da es sehr gut luft- und lichtdurchlässig ist. Aufgrund ihrer dielektrischen und guten mechanischen Eigenschaften werden Silicone für die Ummantelung der Cochlea-Elektrode von Cochlea-Implantaten genutzt.<sup>[58,184]</sup>

Ein großes und sehr aktuelles Forschungsgebiet ist die Verwendung der Siliconimplantate und -beschichtungen als Wirkstofffreisetzungssysteme. Hierfür stellen das große freie Volumen im Silicon und die damit verbundene gute Permeabilität von Gasen und Flüssigkeiten sowie die große Aufnahmekapazität von Wirkstoffen vielversprechende Eigenschaften dar. Schon 1964 beobachtete Folkmann, dass Siliconelastomere Farbstoffe aufnehmen und wieder freisetzen können.<sup>[185]</sup> Dies führte ihn zu der Idee, Arzneimittel für eine lokale Freisetzung zu nutzen. Er befüllte Siliconkapseln mit therapeutischen Wirkstoffen gegen Herzrhythmusstörungen, dichtete deren Enden ab und implantierte sie in Hunde.<sup>[185]</sup> Auf dieser Basis untersuchten zahlreiche Wissenschaftler das Freisetzungsverhalten verschiedener Wirkstoffe aus unterschiedlichen Siliconprodukten.<sup>[186-191]</sup> Häufig werden den Siliconpolymeren hydrophile Komponenten wie Hydrogele beigemischt, um die Freisetzung durch das Quellverhalten des Hydrogels positiv zu beeinflussen. Generell laufen Freisetzungen aus Polymeren diffusionskontrolliert ab. Wird jedoch ein quellfähiges Material zugemischt, bestimmt zusätzlich die Wasserpenetration die kontrollierte Freisetzung.<sup>[190,191]</sup> Neben der Polymerzusammensetzung und dessen Permeabilität beeinflussen die Eigenschaften des Wirkstoffs das Freisetzungsverhalten. Gut im Silicon lösliche, d.h. hydrophobe, Moleküle mit geringer molarer Masse, z.B. Steroide, werden sehr schnell wieder freigesetzt.<sup>[190]</sup> Nemati *et al.* zeigten eine weitere Möglichkeit auf, die Freisetzungsmengen von Dexamethason aus Silicon zu steigern. Zusätzlich zu dem Wirkstoff wurde der Siliconmischung Natriumchlorid beigemischt, welches sich über den Freisetzungszeitraum auflöste und zu einer schnelleren Freisetzung führte.<sup>[192]</sup>

Für die Wirkstofffreisetzung ist es nicht zwingend notwendig, das gesamte Implantat aus Silicon zu fertigen. Siliconbeschichtungen sind oftmals, wie z.B. bei Stents, ausreichend.<sup>[190]</sup>

Ausschließlich auf Silicon basierende Freisetzungssysteme werden z.B. für die Empfängnisverhütung bei Frauen eingesetzt. Über einen sogenannten Vaginalring werden kontrolliert Kontrazeptiva freigesetzt. Mit einer solchen Therapie spielt die Patienten-Compliance keine Rolle, welche für die Einnahme der Kontrazeptiva in Pillenform notwendig ist. Ein Vaginalring ist somit besonders unkompliziert und gleichzeitig kosten- und langzeiteffektiv.<sup>[190]</sup> Zudem ist kein operativer Eingriff notwendig, wie es für ein subdermales Freisetzungssystem der Fall ist. Hierfür wird ein Siliconimplantat unter der Haut platziert, welches dort Hormone, wie z.B. Levonorgestrel, über mehrere Jahre freisetzt. Eine Alternative hierzu sind transdermale Freisetzungssysteme, wobei ein Siliconpad, ähnlich wie ein Pflaster, auf die Haut geklebt wird und den Wirkstoff abgibt.<sup>[190]</sup>

### 2.6.3 Die Bedeutung der Füllstoffe

Die mechanischen Eigenschaften von Siliconen können maßgeblich durch den Zusatz von Füllstoffen verbessert werden. Diese wechselwirken sehr stark mit den Polymerketten, sodass hieraus eine Verstärkung des Netzwerkes resultiert. Als Füllstoff dient üblicherweise pyrogenes oder gefälltes Silica, das eine hohe spezifische Oberfläche von  $100 - 800 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  aufweist. Neben sphärischen Nanopartikeln können auch anisotrope Nanopartikel zur Netzwerkverstärkung verwendet werden.<sup>[193–195]</sup> Mit dem Zusatz von Füllstoffen kann eine Erhöhung der Festigkeiten um das 40-fache im Vergleich zu füllstofffreien Siliconen erreicht werden.<sup>[23,25]</sup> Füllstofffreie Siliconelastomere, welche in der Regel spröde sind, weisen nur sehr geringe Reißfestigkeiten auf. Ruße finden ebenfalls Anwendung als Füllstoff, jedoch hauptsächlich, um die elektrische Leitfähigkeit der Silicone zu erhöhen.<sup>[23,26,196,197]</sup>

Generell ist der verstärkende Effekt auf das Silicon abhängig von der Partikelgröße des Füllstoffs, der Strukturiertheit, dem Füllstoffgehalt und der Möglichkeit mit der Partikeloberfläche zu wechselwirken.<sup>[23,26]</sup> Die Partikeloberfläche spielt also eine große Rolle und kann im Falle der Silica-Partikel durch verschiedene Herstellungsprozesse und Modifizierungen verändert werden. Starke Silica-Silica- und Silica-Polymer-Wechselwirkungen werden mit hydrophilen Silica-Partikeln erreicht, da diese Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Silanolgruppen des Silicas und dem Sauerstoff der Siloxankette ausbilden.<sup>[26,198–200]</sup> Die Behandlung von Silica mit erhöhten Temperaturen oder die Herstellung über Flammenpyrolyse führt zur vermehrten Bildung von eher unreaktiven Siloxangruppen auf der Partikeloberfläche. Der Anteil an reaktiven, hydrophilen isolierten Hydroxylgruppen ist dadurch verringert, wodurch schwächere Wechselwirkungen mit dem Polymer resultieren.<sup>[26]</sup> Eine qualitative Aussage über die Stärke der Wechselwirkungen kann über die Bestimmung der Menge an adhäriertem Polymer an den Partikeln getroffen werden. An Partikeln adhäriertes Polymer wird auch als *bound rubber* bezeichnet.<sup>[201]</sup>

Cochrane und Lin beschrieben verschiedene Typen möglicher Wechselwirkungen, u.a. schwache Polymer-Polymer-Wechselwirkungen (van der Waals), starke Silica-Silica-Wechselwirkungen und starke Silica-Polymer-Wechselwirkungen (Wasserstoffbrückenbindungen).<sup>[198]</sup>

In mehreren Untersuchungen wurde gezeigt, dass große Füllstoffgehalte und große spezifische Oberflächen zu einer positiven Verstärkung des Polymernetzwerkes führen.<sup>[25,198,202]</sup>

Zudem verstärken 5 - 50 nm große Primärpartikel, welche Aggregate von ca. 200 nm und Agglomerate von einigen Mikrometern bilden, das Netzwerk am effektivsten.<sup>[23,198,201]</sup>

Hohe Konzentrationen an Silica-Partikeln mit vielen Silanolgruppen stellen aber ein Problem bei der Verarbeitung der unvernetzten Silicone dar. Häufig werden Alterungseffekte und erhebliche Erhöhungen der Viskosität beobachtet, was als *crepe hardening* bezeichnet wird und dazu führt, dass die Massen nicht weiterverarbeitet werden können. Dieser Effekt ist auf die sehr starken Wechselwirkungen der Silanolgruppen der Silica-Partikel untereinander und mit den Siloxanketten zurückzuführen, wodurch es zu der Ausbildung von *bound rubber*-Schichten kommt (s. Abb. 2.19). Bei längeren Lagerungszeiträumen legen sich zunehmend Polymerketten um diese Partikel, wodurch die Mobilität der Ketten reduziert wird und das unvernetzte Material an Fließfähigkeit verliert. Dieser Prozess beschreibt das *crepe hardening* und ist bei Siliconen mit sehr hohen Füllstoffgehalten besonders ausgeprägt und schon nach sehr kurzer Zeit zu beobachten.<sup>[23,26,199,200,203]</sup>

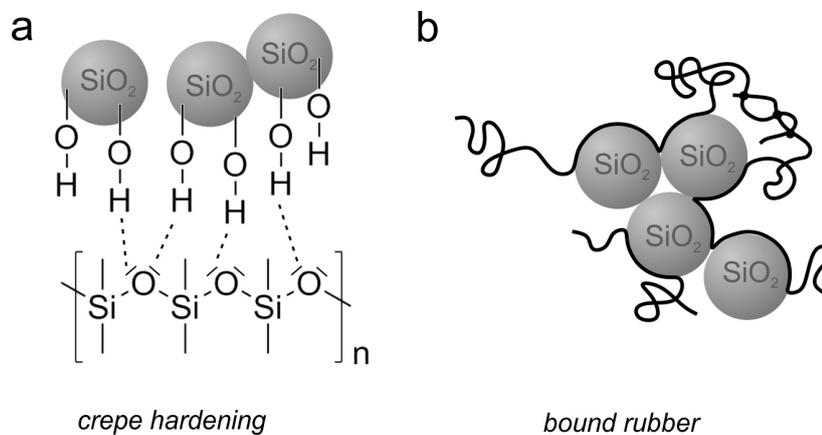


Abb. 2.19: a) Entstehung des *crepe hardening*-Effektes durch Wechselwirkung von Silanolgruppen der Silica-Partikel mit dem Sauerstoff der Polysiloxankette. b) Ausbildung von *bound rubber* durch Anlagerung von Polymerketten um Silica-Partikel.

Möglichkeiten, *crepe hardening*-Effekte zu verhindern, sind die Inaktivierung der Silanolgruppen durch hydrophobe Gruppen oder die Zugabe von Verarbeitungshilfsstoffen, um eine Reduzierung der Wechselwirkungen zu erreichen.<sup>[23,26,198,204]</sup> Besonders für Silica, welches durch Sol-Gel-Prozesse hergestellt wurde, kann eine Hydrophobierung von Vorteil sein. Diese Partikel enthalten höhere Konzentrationen an Silanolgruppen als das bei hohen Temperaturen hergestellte pyrogene Silica.<sup>[204]</sup> Für die Hydrophobierung eignen sich z.B. He-

xamethyldisilazan, Divinyltetramethyldisilazan, Dimethyldichlorsilan, Trimethylchlorsilan, kurzkettige Siloxandiole und Cyclosiloxane. Die Reaktivität der Hydrophobierungsmittel sowie die Wechselwirkungsintensität der Silica-Partikel mit dem Polymer hängen stark von den gewählten Reagenzien ab.<sup>[23,205]</sup>

Eine Alternative zur separaten Hydrophobierung der Partikel stellt das *in situ* Silazan-Verfahren dar. Hierbei wird das Polysiloxan zusammen mit den Silica-Partikeln und einem Silazan-Wasser-Gemisch vermennt. Nachteilig hierbei ist jedoch eine lange Compoundierzeit (Einmischung des Füllstoffs in das Polymer), da die hydrophilen Partikel portionsweise zugemischt werden, sowie ein zusätzliches Ausheizen, um Reaktionsprodukte und Wasser zu entfernen.<sup>[23,206]</sup>

Modifizierungen mit vinylhaltigen Silylierungsreagenzien können zusätzliche Vernetzungspunkte durch kovalente Anbindung des Füllstoffs an die Polysiloxanketten liefern, wenn additions- oder peroxid-induzierte Systeme verwendet werden.<sup>[23,26,207,208]</sup> Diese zusätzlichen Vernetzungen können zu deutlich härteren Siliconelastomeren führen. Die Ergebnisse einiger Studien zeigten jedoch auch, dass die dadurch erwartete Netzwerkverstärkung nicht immer eintrat.<sup>[23,26,207,208]</sup>

Als Alternative zu herkömmlichen Silica-Nanopartikeln wurden in dieser Arbeit sphärische nanoporöse Silica-Nanopartikel als Füllstoffe untersucht. Diese Partikel zeichnen sich durch eine sehr große spezifische Oberfläche von ca.  $1\,000\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$  aus, sodass eine gute verstärkende Wirkung erwartet wurde, auch wenn ein Großteil der Oberflächensilanolgruppen den Siliconketten nicht zugänglich ist. Die Arbeitsgruppe um Suzuki beschäftigte sich bereits mit der Verwendung von nanoporösen Silica-Partikeln als Füllstoff für Silicon, mit dem Fokus, die Transparenz von Komponenten für elektronische Bauteile, z.B. flexible Displays, zu erhöhen und den thermischen Ausdehnungskoeffizienten zu reduzieren.<sup>[209–212]</sup> Eine Zunahme der Transparenz und eine Verringerung des Ausdehnungskoeffizienten begründete die Gruppe mit einer Befüllung der Poren der Partikel mit Polymerketten. Diese Annahme ist jedoch kritisch zu betrachten, da der ermittelte Befüllungsgrad der Poren lediglich auf theoretischen Berechnungen basiert, aber in der Praxis eine Durchdringung des Porensystems mit Polymerketten entropisch nicht begünstigt und damit nicht zu erwarten ist. In einer Studie zeigten Suzuki *et al.* dennoch, dass durch den Zusatz von ca. 800 nm großen nanoporösen Silica-Partikeln von nicht-sphärischer Gestalt eine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften von Siliconen im Vergleich zu nicht porösen sphärischen Silica-Partikeln gleicher Größe möglich ist.<sup>[210]</sup> Huang *et al.* sowie Liu *et al.* untersuchten ebenfalls nanoporöse Silica-Partikel als Füllstoffmaterial für Silicone, die in industriellen Produkten und der Mikrofluidik Anwendung finden sollen.<sup>[213,214]</sup> Des Weiteren verwendeten Gupta *et al.* nanoporöse Silica-Nanopartikel zur Verbesserung der thermischen Stabilität von Silicon.<sup>[215]</sup> Die Verwendung von Nanokompositen aus nanoporösen Silica-Partikeln und

Silicon für biomedizinische Anwendungen ist jedoch bislang nicht erforscht worden. In einer Untersuchung von Zhang *et al.* wurde festgestellt, dass pyrogene Silica-Nanopartikel toxische Effekte zeigen, welche auf die hohe Herstellungstemperatur und die damit verbundenen hohen Konzentrationen an Siloxanbrücken auf der Silicaoberfläche zurückzuführen sind.<sup>[216]</sup> Diese fördern die Bildung toxischer reaktiver Sauerstoffspezies. Für die Anwendung der Silicone im medizinischen Bereich wird eine hohe Cyto- und Biokompatibilität der verwendeten Materialien vorausgesetzt, welche für die durch Präzipitation hergestellten NPSNPs gegeben ist.<sup>[27–29,165,217,218]</sup> Innerhalb der vorliegenden Dissertation sollte die Porosität der NPSNPs zudem für die Entwicklung eines speziellen Freisetzungssystems für Silicone genutzt werden. Hierfür wurde der poröse Füllstoff mit einem Wirkstoff beladen und anschließend in das Siliconpolymer eingearbeitet. Sowohl die Wirkstofffreisetzung aus den Einzelkomponenten, d.h. aus den NPSNPs, als auch aus dem Silicon, wurde bislang intensiv untersucht (s. Abschnitte 2.5.4 und 2.6.2). Durch die Kombination dieser beiden Materialien und der jeweiligen Freisetzungsverhalten und -kinetiken ergeben sich neue Möglichkeiten zur Erzeugung spezieller Freisetzungsprofile.

#### 2.6.4 Strategien zur Oberflächenmodifizierung von Siliconen

Die hydrophoben Eigenschaften von Siliconen werden grundsätzlich als positiv gewertet, wenn es um die geringen Wechselwirkungen von Siliconimplantaten mit dem umgebenden biologischen System geht. In einigen Fällen ist allerdings eine Proteinadsorption und gute Zelladhäsion gewünscht, die auf hydrophoben Oberflächen nicht gegeben ist. Zudem kann die bioinerte Oberfläche eine Kapselbildung auslösen, die häufigste Komplikation bei Siliconimplantaten beobachtet wird. Diese wird durch Fremdkörperreaktionen des Gewebes und damit verbundene immunologische Prozesse verursacht. Die Folgen solcher Fibrosen können bis hin zu einer Revisionsoperation führen.<sup>[219,220]</sup>

Um die Biokompatibilität und das Adhäsionsvermögen von Zellen zu steigern, wurden zahlreiche Versuche unternommen, um die Siliconoberfläche durch Modifizierungen verträglicher zu gestalten. Für solche Modifizierungen muss eine Oberfläche funktionelle Gruppen aufweisen, um kovalent spezifische Reste anbinden zu können. Die inerte Oberfläche der Silicone wird deshalb zunächst aktiviert, um hochenergetische und deshalb kurzlebige Spezies wie Radikale, Ionen und Moleküle im angeregten Zustand zu erzeugen. An diese Spezies, typischerweise Peroxide oder Hydroxylgruppen, werden in einem Folgeschritt die gewünschten, meist hydrophilen, Gruppen angebunden. Für die Aktivierung bieten sich im Bereich der physikalischen Methoden die Corona-, Plasma- und Laserbehandlung an. In den Bereich der chemischen Techniken fallen z.B. die Oxidierung mit einem Gemisch

aus Wasser, Wasserstoffperoxid und Salzsäure oder das Ätzen mit konzentrierten Natrium- oder Kaliumhydroxidlösungen (s. Abb. 2.20).<sup>[221–224]</sup>

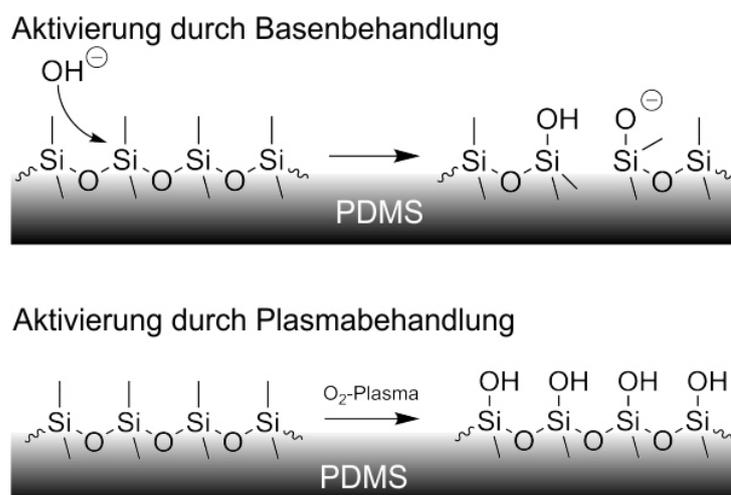


Abb. 2.20: Aktivierung von PDMS-Oberflächen durch Behandlung mit einer Base bzw. Sauerstoffplasma nach Lit. <sup>[222,225]</sup>.

Häufig angewandte Methoden sind das Laser- oder Plasma-induzierte *grafting*. Hierbei wird entweder zuerst die Oberfläche aktiviert und anschließend die Reste kovalent angebunden oder umgekehrt zuerst das Silicon mit den organischen Molekülen beschichtet und danach der Laser- oder Plasmabehandlung ausgesetzt. Die letztere Methode bietet sich vor allem für die Polymerisation von z.B. Acrylsäure und 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) auf der Siliconoberfläche an.<sup>[221,226–228]</sup> An die Carboxylgruppen können dann weitere Moleküle, wie z.B. Proteine über eine Aminofunktion, angebunden werden.<sup>[228,229]</sup> Im Folgenden werden einige Beispiele genannt, in denen die Aktivierung mittels Plasma- und Laserbehandlung genutzt wurde, um Modifizierungen an der Siliconoberfläche vorzunehmen. Bodas *et al.* untersuchten in mehreren Studien die Anbindung von HEMA an Siliconoberflächen mittels Sauerstoffplasmabehandlung und konnten damit eine Erhöhung der Hydrophilie erzeugen.<sup>[226,227,230]</sup> Abassi *et al.* gelang dies ebenso mittels eines CO<sub>2</sub>-gepulstem Laser.<sup>[231]</sup> Mit einer Beschichtung mit Kollagen Typ I konnten Hauser *et al.* erfolgreich die Biokompatibilität und Zelladhäsion verbessern.<sup>[220]</sup> Yue *et al.* gelang eine Biofunktionalisierung von Silicon mit Kollagen Typ I und hieran immobilisiertem Albumin bzw. Fibrinogen.<sup>[225]</sup> Sie erzielten erfolgreich eine Steigerung der Cytokompatibilität für neuronale Anwendungen, wie z.B. Cochlea-Implantate. Die Anbindung des Kollagens erfolgte durch eine Sauerstoffplasmabehandlung und anschließende Anbindung von ethyleniminhaltigen Silanen.

Eine andere Methode zur Anbringung von hydrophilen Gruppen oder Polymeren an die Siliconoberfläche über die Thiol-en-Click-Chemie wird von Zhang *et al.* vorgestellt. In einem

ersten Schritt wird das Silicon durch eine basenkatalysierte Reaktion mit Mercaptopropyltrimethoxysilan funktionalisiert. An die Thiolgruppen werden dann z.B. Poly(ethylenglycol), Chitosan, Farbstoffe oder andere Moleküle über die Thiol-en-Click-Chemie gebunden.<sup>[222]</sup>

Die Anbindung von hydrophilen Silica-Nanopartikeln zur Erhöhung der Hydrophilie kann über die Layer-by-Layer-Technik erfolgen, wie sie von Wang *et al.* beschrieben wird. Nach einer Behandlung mit einer Natriumhydroxidlösung zur Erzeugung einer negativ geladenen Oberfläche wird über elektrostatische Anziehung das kationische Polymer Poly(diallyldimethylammoniumchlorid) angebunden. Diese Schicht kann schlussendlich mit negativ geladenen hydrophilen Silica-Nanopartikeln beschichtet werden.<sup>[232]</sup>

Ein generelles Problem bei der Erzeugung von hydrophilen Siliconoberflächen ist allerdings der nur kurz anhaltende Effekt. In den meisten Fällen kommt es schon nach sehr kurzer Zeit, z.T. schon nach wenigen Stunden, zur Wiederherstellung der ursprünglichen hydrophoben Oberfläche, was als *hydrophobic recovery* bezeichnet wird. Hydrophile Gruppen an der Siliconoberfläche führen zu einer thermodynamisch instabilen Oberfläche, dies hat ein neues Ausrichten der flexiblen Polymerketten zur Folge, wobei diese Gruppen in das Siliconinnere gekehrt werden. Ein weiterer Grund für ein *hydrophobic recovery* ist die Migration von niedermolekularen hydrophoben Spezies aus dem Inneren des Silicons an die Oberfläche. Diese Prozesse werden durch Oberflächen verstärkt, die durch eine Aktivierung beschädigt wurden.<sup>[226,227,233–235]</sup> Die von Bodas *et al.* hergestellten HEMA-Beschichtungen verzeichnen erstaunlicherweise nach zwei Wochen einen Anstieg des Kontaktwinkels um nur 7°, sodass hier von einer langzeithydrophilen Oberfläche gesprochen wird, obwohl auch diese langsam in den hydrophoben Zustand zurückkehrt.<sup>[226]</sup>

### 2.6.5 Das Trommelfellkissen aus Silicon

In Abschnitt 2.2.1 wurde bereits der Nutzen einer Knorpelscheibe für eine Mittelohrprothese erläutert und die Substitution durch ein Siliconkissen angesprochen. Nachteilig an der Verwendung eines körpereigenen Knorpelstückes für die Fixierung einer Mittelohrprothese und für den Schutz des Trommelfells sind die unterschiedlichen Eigenschaften, die je nach Patient und Alter des Patienten gegeben sind. Hinzu kommen eine Degeneration des Knorpelmaterials auf längere Dauer und eine dadurch bedingte Verschlechterung der mechanischen Eigenschaften und der Fixierung.<sup>[22]</sup> Silicon als Ersatzmaterial könnte einer optimalen Schallübertragung angepasst werden und aufgrund seiner Biodurabilität konstante Bedingungen für jeden Patienten liefern. Wünschenswert wäre zudem eine Dämpfung sehr starker Schallsignale und ein Schutz des Innenohres und des Trommelfells bei starken Luftdruckveränderungen. Das Silicon muss hierfür bei normalem alltäglichem Hören fest und hart sein, um Dämpfungen zu verhindern. Ein Richtwert für ein solches Silicon ist der

$E$ -Modul einer Knorpelscheibe von 2.8 MPa.<sup>[236]</sup> Bei plötzlich auftretenden großen Amplituden, z.B. verursacht durch einen lauten Knall, oder bei starken Druckschwankungen sollte ein zukünftig zu entwickelndes Silicon dann in einen weicheren Zustand übergehen. Dieses nichtlineare Schwingungsverhalten ließe sich durch Verwendung von Füllstoffen und durch Strukturierung des Silicons einstellen.<sup>[23,26,198,237,238]</sup> Um eine gute Einheilung nach der Operation zu fördern und um Infektionen zu verhindern bzw. zu bekämpfen, ist die Ausstattung des Materials mit einem lokalen Wirkstofffreisetzungssystem von Interesse. In diesem Teil der Arbeit, der im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 599 “Biomedizintechnik” entstand, sollte ein auf Silicon basiertes System entwickelt werden, welches die Knorpelscheibe in Form eines Siliconkissens ersetzen kann (s. Abb. 2.21). Hierfür wurden einem Silicon, welches bereits üblicherweise verwendeten Silica-Füllstoffe enthält, zusätzlich NPSNPs als neues Füllstoffmaterial beigemischt. NPSNPs können sowohl zur Beeinflussung der mechanischen Eigenschaften als auch für Wirkstofffreisetzungen genutzt werden. Da es sich hierbei um ein neuartiges und nicht in der Literatur bekanntes Materialsystem handelt, lag der Schwerpunkt auf der Entwicklung eines geeigneten Silicon-NPSNPs-Systems, welches im Folgenden für eine Wirkstofffreisetzung genutzt werden kann.

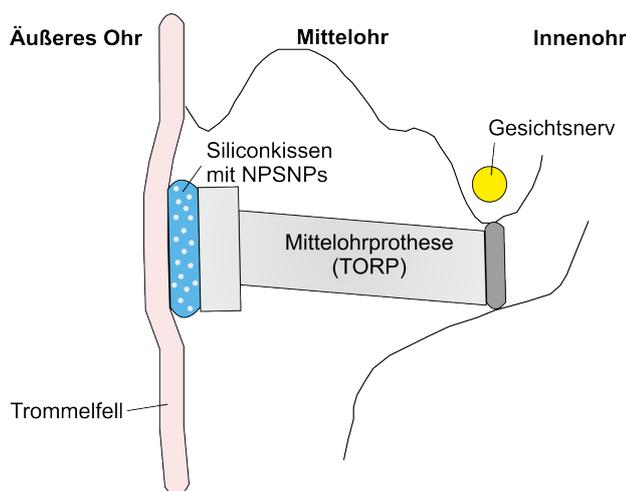


Abb. 2.21: Schematische Darstellung einer Mittelohrprothese mit Siliconkissen zwischen dem Trommelfell und der TORP.

### 2.6.6 Silicon für die Cochlea-Elektrode

Für eine Optimierung der Cochlea-Elektrode hinsichtlich einer gesteigerten Biokompatibilität und eines verbesserten Nerven-Elektroden-Kontakts bietet sich die Siliconummantelung aufgrund ihres großen Anteils an der gesamten Elektrode besonders gut an. Wie in Abschnitt 2.2.2 angesprochen, stellt die Entfernung der Elektrode zu den Neuronen ein konkretes Hindernis für eine optimale Informationsübertragung dar.<sup>[30]</sup> Von weiterer Bedeutung für das Hörergebnis ist außerdem der Erhalt der Neuronen.<sup>[30]</sup> Innerhalb des Exzellenzclusters

“Hearing4all” wird daran geforscht, neuroprotektive Wirkstoffe wie Rolipram und BDNF zu nutzen, um die Überlebensrate von SGNs und das Wachstum der Dendriten zu erhöhen. Außerdem soll hierdurch eine Reduzierung des Elektroden-Nerven-Abstandes durch gerichtetes Wachstum der Dendriten erfolgen.<sup>[30,35,36]</sup> Hierfür werden, wie auch für das Trommelfellkissen (s. Abschnitt 2.6.5), NPSNPs als Füllstoff für das Silicon verwendet und als lokale Wirkstofffreisetzungssysteme genutzt. Silicon, das für eine Cochlea-Elektrode verwendet wird, muss sehr weich und flexibel sein. Dies ist wichtig, da sich die Elektrode während der Implantation in die Windungen der Gehörschnecke hineinbiegen muss und die umliegenden sensiblen Gewebestrukturen in der Cochlea nicht beschädigt werden dürfen. Der *E*-Modul solcher Silicone beträgt ca. 0.45 MPa.<sup>[239]</sup>

Das langfristige und primäre Ziel war es, NPSNPs mit Rolipram zu beladen, in das Silicon einzuarbeiten und den Wirkstoff aus diesem System wieder freizusetzen (s. Abb. 2.22, Strategie 1).

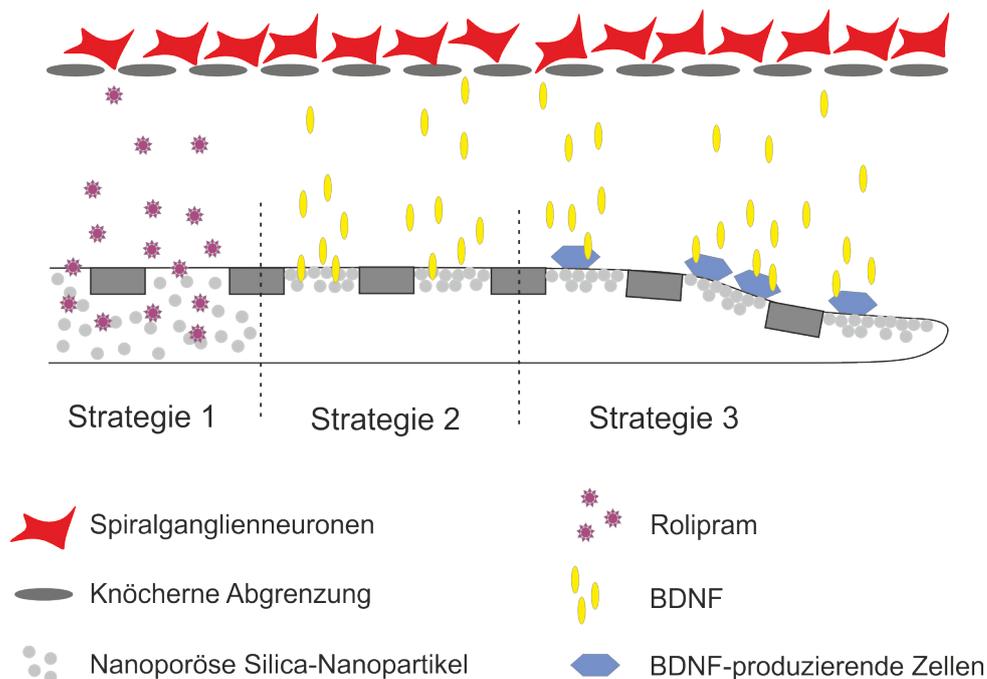


Abb. 2.22: Schematische Darstellung einer Cochlea-Elektrode im Querschnitt mit Modifizierungsstrategien für die Freisetzung von Rolipram und BDNF aus der Siliconummantelung.

Eine Alternative ist die Immobilisierung von BDNF auf NPSNPs und die Anreicherung dieser an der Siliconoberfläche (s. Abb. 2.22, Strategie 2), welche jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit war. Im Weiteren wird eine Hydrophilierung der ansonsten sehr hydrophoben Siliconoberfläche durch Beschichtung mit NPSNPs angestrebt, um diese attraktiver für adhärierende Zellen, wie z.B. BDNF-produzierende Fibroblasten, zu gestalten (s. Abb. 2.22, Strategie 3).<sup>[36]</sup> Zudem wäre durch Kombination der Strategie 1 mit der Strategie 2

---

bzw. 3 eine gleichzeitige Freisetzung von Rolipram und BDNF möglich. Eine erfolgreiche Freisetzung von BDNF gelang z.B. Wang *et al.* schon aus nanoporösen Silica-Suprapartikeln, die aus aggregierten Nanopartikeln bestanden.<sup>[240]</sup>

## 3 Analytische Methoden

Im folgenden Kapitel werden die zur Charakterisierung verwendeten Methoden vorgestellt. Dabei wird sich bei Standardmethoden auf die Beschreibung der Messparameter beschränkt. Im Falle der Zugprüfung und der Rheologie werden diese Methoden ausführlicher beschrieben.

### 3.1 Rasterelektronenmikroskopie

Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen wurden an einem Feldemissions-Rasterelektronenmikroskop des Typs JSM-6700F der Firma JOEL von Dr. Gesa Zahn, Dr. Maria Schweinefuß, Sergej Springer, Dennes Nettelroth und Katharina Nolte angefertigt. Pulverproben, deren Partikelgrößen mit ca. 300 nm und größer erwartet wurden, wurden an einem Rasterelektronenmikroskop vom Typ JSM-6610LV der Firma JOEL von Dr. Nina Ehlert untersucht. Die Pulverproben wurden entweder in Ethanol dispergiert, auf einen Graphitträger getropft und getrocknet oder als Feststoff fein verteilt auf einen Probenträger mit Graphitklebeplättchen gegeben. Die Proben wurden über eine Dauer von 60 s mit Gold an einer Bedampfungsanlage 108auto der Firma CRESSINGTON bedampft. Die graphische Auswertung der Aufnahmen erfolgte mit der Software ImageJ 1.47v des NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, USA.

### 3.2 Transmissionselektronenmikroskopie

Die Anfertigung von transmissionselektronenmikroskopischen (TEM) Aufnahmen erfolgte durch Alexandra Satalov an einem TEM Tecnai G2 F20 TMP der Firma FEI. Als Elektronenemitter diente eine Feldeffektkathode, die Beschleunigungsspannung betrug 200 kV. Für die Präparation von Partikeln wurden diese in Ethanol dispergiert, auf ein Kupfernetz getropft und getrocknet. Von den untersuchten Siliconproben wurden Dünnschnitte bei der CONTINENTAL AG (Hannover, Stöcken) durch Nadeschda Schmidt angefertigt. Hierfür wurden die Proben unter Verwendung eines Leica EM FC6 in Dimethylsulfoxid geschnitten, welches auf  $-135\text{ °C} / -145\text{ °C}$  gekühlt wurde. Die Dünnschnitte hatten eine Dicke von ca. 200 nm. Die Temperatur des Messers (Diatome-Cryotrim 45° und Cryo 45°) betrug  $-35\text{ °C}$ . Für die graphische Auswertung der Aufnahmen wurde die Software ImageJ 1.47v des NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, USA verwendet.

### 3.3 Röntgen-Diffraktometrie

Pulverförmige Feststoffe wurden in  $\theta$ - $2\theta$ -Transmissionsgeometrie an einem Stadi-P-Diffraktometer der Firma STOE unter Verwendung von  $\text{CuK}\alpha_1$ -Röntgenstrahlung gemessen. Röntgen-Diffraktometrie an Dünnschichten erfolgte an einem Diffraktometer mit  $\theta$ - $\theta$ -Reflexionsgeometrie der Firma STOE durch Philipp Abendroth. Für diese Messungen wurde  $\text{CuK}\alpha$ -Röntgenstrahlung verwendet. Die Auswertung erfolgte mit der Software WinXPow der Firma STOE.

### 3.4 Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie

Für die Bestimmung der Silberkonzentrationen in den durchgeführten Silberfreisetzungsexperimenten wurde ein Atomabsorptionsspektrometer Solaar MQZ Zeeman der Firma THERMO SCIENTIFIC verwendet. Die Messungen erfolgten nach einer externen Kalibrierung im Bereich von  $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  und  $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  bei einer Resonanzwellenlänge von 328.1 nm und Deuterium im Graphitrohr als Hintergrundkorrektur. Die Nachweisgrenze wurde entsprechend der DIN 32564 und DIN 38402 Teil 51 mit der Leerwertmethode bestimmt und beträgt  $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .<sup>[241,242]</sup> Für die Messungen wurden 15  $\mu\text{L}$  der Probe bei 100 °C getrocknet, bei 650 °C pyrolysiert und bei 1100 °C atomisiert. Die Durchführung der Messungen erfolgte durch Philipp Abendroth.

### 3.5 Physisorption

Die Physisorption wurde verwendet, um die spezifische Oberfläche, das Porenvolumen und die Porenweitenverteilung der hergestellten Silica-Materialien zu bestimmen. Sorptionsmessungen wurden von Jann Lippke, Natalja Wendt und Nadeschda Schmidt durchgeführt. Die Messungen von Pulverproben erfolgten an einer Autosorb 3-Messstation der Firma QUANTACHROME unter Verwendung von Stickstoff als Adsorptiv bei 78 K. Die Proben wurden für 24 h bei 60-80 °C im Vakuum aktiviert. Die spezifische Oberfläche wurde mit der BET-Methode berechnet, für die Auswertung der Porenvolumina wurde die Dichtefunktional-Theorie (DFT) angewandt und die Porenweitenverteilung wurde mithilfe der BJH-Methode ermittelt. Dünnschichten auf Bioverit®II-Substraten wurden mit Krypton als Adsorptiv bei 87.3 K an einer Autosorb 1-Messstation (QUANTACHROME) gemessen. Für die Berechnung der Porenweitenverteilung wurde eine softwareeigene Methode für Krypton bei 87 K verwendet. Die Auswertung der Messungen erfolgte mit den Softwares ASIQwin von QUANTACHROME und OriginPro 8G der Firma ORIGINLAB.

### 3.6 Thermogravimetrie

Thermogravimetrische (TG) Messungen wurden von Sergej Springer und Katharina Nolte an einem STA Thermoanalyzer der Firma NETZSCH angefertigt. Die Messungen erfolgten bis zu einer Temperatur von 1000 °C in Luftatmosphäre mit einer Heizrate von 5 K·min<sup>-1</sup>. Die Auswertung erfolgte mit den Softwares Proteus Thermal Analysis 4.3.1 der Firma NETZSCH und OriginPro 8G der Firma ORIGINLAB.

### 3.7 Kohlenstoff-Analyse

Für die Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes nach der Modifizierung von NPSNPs wurde die Kohlenstoff-Analyse genutzt. Die Messungen wurden an einem Gerät des Typs CS-2000 der Firma ELTRA GMBH von Claudia Schulze und Petra Zoch durchgeführt. Die Proben, jeweils in Dreifachbestimmung, wurden bei 1300 °C im Sauerstoffstrom verbrannt und als Kohlenstoffdioxid mit einem Infrarot-Detektor detektiert. Die Kalibration des Gerätes erfolgte mit Standards, deren Kohlenstoffgehalt ähnlich dem der Proben war.

### 3.8 Infrarotspektroskopie

Die Untersuchung von NPSNPs hinsichtlich einer erfolgreichen Modifizierung erfolgte mittels Infrarot (IR)-spektroskopie.

Für die Anfertigung von IR-Spektren wurde ein FT-IR-Spektrometer des Typs Tensor 27 der Firma BRUKER verwendet. Die Proben wurden als KBr-Presslinge in einem Bereich von 400 - 4000 cm<sup>-1</sup> in Transmission gemessen. Die Auswertung der Messungen erfolgte mit den Softwares OPUS 5.0 der Firma BRUKER und OriginPro 8G der Firma ORIGINLAB.

### 3.9 Photometrie

Die quantitative Bestimmung von Rolipram aus Freisetzungsexperimenten erfolgte mittels Photometrie.

Die Messungen wurden an einem Mikrotiterplatten-Photometer des Typs EON<sup>TM</sup> der Firma BIOTEK durchgeführt. Zur Auswertung wurden die Programme GEN5 2.04 der Firma BIOTEK und OriginPro 8G verwendet. Die Messungen erfolgten nach einer externen Kalibrierung im Bereich von 0.47 µg·mL<sup>-1</sup> und 30 µg·mL<sup>-1</sup>. Die Nachweisgrenze wurde entsprechend der DIN 32564 und DIN 38402 Teil 51 mit der Leerwertmethode bestimmt und beträgt 0.5 µg·mL<sup>-1</sup>.<sup>[241,242]</sup> Alle Proben wurden auf 37 °C vortemperiert. Vor der

Messung wurde die Platte für 2 min im Photometer platziert, welches ebenfalls auf 37 °C temperiert wurde, um immer gleiche Messbedingungen zu schaffen. Die anschließend verwendete Messmethode beinhaltete ein lineares Schütteln der Proben für 10 s und die Messung bei einer Wellenlänge von 280 nm und 37 °C.

### 3.10 Fluoreszenzspektroskopie

Zur Untersuchung der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Nanopartikel hinsichtlich ihrer Fluoreszenzeigenschaften wurde das Emissionsspektrum der Partikel gemessen. Die Aufnahme des Spektrums erfolgte mit einem Fluoreszenzspektrometer des Typs Fluoromax-4 der Firma HORIBA Ltd. am Institut für Physikalische Chemie der Leibniz Universität Hannover durch Natalja Wendt. Die Anregung erfolgte mit einer Wellenlänge von 300 nm. Die Schlitzbreiten vor sowie nach der Probe betragen 5 nm. Die Auswertung der Daten erfolgte mit der Software OriginPro 8G.

### 3.11 Dynamische Lichtstreuung

Für die Untersuchung der hydrodynamischen Radien von ausgewählten Silica-Proben wurde die dynamische Lichtstreuung (DLS) verwendet. Die Messungen erfolgten an einem Zeta Sizer Nano ZS der Firma MALVERN INSTRUMENTS unter Verwendung von Wasser als Dispersionsmedium. Die Messdaten wurden mit der Software Zetasizer 7.02 der Firma MALVERN INSTRUMENTS und OriginPro 8G ausgewertet.

### 3.12 Ellipsometrie

Mit Hilfe der Ellipsometrie wurden die Schichtdicken der Silber-Silica-Filme auf Silicium-Wafern (poliert, <100>) ermittelt. Es wurde bei einer Wellenlänge von 632.2 nm und einem Spektralbereich von 1.459 eV bis 3.349 eV gemessen. Der Einfallswinkel betrug 70°. Für die Proben wurde ein Modell aus vier Schichten und dem Substrat erstellt: Luft, Rauigkeit der Oberfläche, Beschichtung, Grenzflächenschicht zum Substrat (CAU thermal  $\text{SiO}_2$ ) und kristallines Silicium (Si DUV-NIR). Die Oberflächenrauigkeit und die Grenzflächenschicht wurden entsprechend der effektiven Medium-Theorie nach BRUGGEMANN modelliert. Dabei wurden jeder Schicht jeweils 50% der Nachbarschicht zugeschrieben. Das Modell zur Schichtdickenbestimmung wurde mittels TAUC-LORENTZ unter Verwendung von vier Oszillatoren erstellt. Die Anpassung der Daten erfolgte mit einem Fit unter Annahme von nicht-linearen Parametern. Es wurde ein maximaler mittlerer quadratischer Fehler von

3.5 akzeptiert. Die Messungen wurden von Natalja Wendt und Mandy Jahns an einem Ellipsometer des Typs ELL, SE 800 der Firma SENTECH durchgeführt. Die Messungen wurden mit der Software SpectraRay 3 der Firma SENTECH angepasst und ausgewertet.

### 3.13 Kontaktwinkelmessungen

Zur Untersuchung der Benetzbarkeit von oberflächenmodifizierten Siliconen wurde die Kontaktwinkelmessung verwendet. Die Messungen wurden mit einem Gerät des Typs SurfTens Original der Firma OEG unter Verwendung von Wasser durchgeführt. Die Messung erfolgte manuell mit sieben Messpunkten. Bei jeder Messung wurden die Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit gemessen. Zur Auswertung wurde die Software SurfTens 4.2 der Firma OEG und OriginPro 8G verwendet.

### 3.14 Rheologie

Mithilfe der Rheologie können feste und flüssige Materialien hinsichtlich ihrer Deformations- und Fließverhalten untersucht werden. Werden Materialien durch Aufbringen von Scherkräften deformiert, so führt dies bei einigen Proben zu einem Fließverhalten.<sup>[243]</sup> Entsprechend ihrer Verhalten können den Materialien unterschiedliche Eigenschaften zugeordnet werden. Hierbei werden zunächst zwei Extreme unterschieden, bei denen es sich zum einen um idealviskose Flüssigkeiten wie Wasser oder Mineralöl handelt und zum anderen um idealelastische Feststoffe wie Stahl. Alle Materialien mit dazwischen einzuordnenden Eigenschaften werden als viskoelastische Flüssigkeiten bzw. viskoelastische Feststoffe bezeichnet.<sup>[244]</sup> Bei Materialien, die vorwiegend elastisches Verhalten zeigen, wird die für die Deformation aufgebrauchte Energie wieder vollständig an die Umgebung abgegeben. Werden Materialien, die mehr von viskosem Verhalten geprägt sind, deformiert, so wird die eingebrachte Energie durch Reibung von dem System aufgenommen und für Umstrukturierungen und Bruch der Strukturen verwendet. Es wird dann auch von dissipierter Energie gesprochen.

Für die Untersuchung von Materialien bietet die Rheologie eine Vielzahl von möglichen Experimenten, die jeweils unterschiedliche Fragestellungen abdecken. In dieser Arbeit wurden die hergestellten Siliconproben mit Oszillationsversuchen unter Verwendung des Amplitudentests charakterisiert.

Zur Beschreibung eines Oszillationsversuches bietet sich das einfache Platte-Platte-Modell an, bei dem die Probe zwischen den Platten positioniert wird. Nur die obere Platte ist beweglich und wird sinusförmigen Oszillationen ausgesetzt, wodurch eine Scherung des Probenmaterials erfolgt. Ein Sensor an dieser Platte nimmt die Auslenkung, d.h.

die Deformation  $\gamma$ , auf. An der unteren Platte misst ein Sensor die Kraft, die auf sie ausgeübt wird. Das Messergebnis ist dann eine Schubspannung  $\tau$ . Bei einer Darstellung der Deformation und der Schubspannung über die Zeit entstehen jeweils Sinuskurven mit den Amplituden  $\gamma_A$  und  $\tau_A$ , solange die Deformation nicht zu groß gewählt wurde. In diesem Fall verlaufen beide Kurven identisch. Wird nun die Deformation so groß, dass die innere Struktur der Probe beschädigt wird, kommt es zwischen den Kurven zu einer Phasenverschiebung  $\delta$ . Der entstandene Phasenverschiebungswinkel wird auch als Verlustwinkel bezeichnet. Für  $\delta = 0^\circ$  liegt idealelastisches Verhalten vor und für  $\delta = 90^\circ$  zeigt die Probe idealviskoses Verhalten. Folglich handelt es sich um viskoelastisches Verhalten für Verlustwinkel  $0^\circ \leq \delta \leq 90^\circ$ . [243,244]

Aus dem Quotienten von  $\tau_A$  und  $\gamma_A$  lässt sich eine neue Größe, der komplexe Schubmodul  $G^*$ , beschreiben (s. Gl. 3.1). Die Angabe als komplexer Wert ist notwendig, da bei Oszillationsversuchen instationäre Scherbedingungen vorliegen.

$$G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A} \quad (3.1)$$

Mithilfe eines Vektordiagramms lassen sich aus dem komplexen Schubmodul und dem Verlustwinkel die Größen  $G'$ , bezeichnet als Speichermodul, und  $G''$ , bezeichnet als Verlustmodul, ermitteln. Der Anteil auf der x-Achse entspricht dem Speichermodul und repräsentiert den elastischen Anteil des Materials, während die y-Achse dem Verlustmodul entspricht und die viskosen Anteile repräsentiert (s. Abb. 3.1).

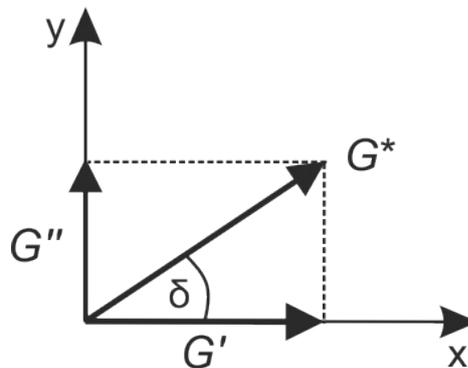


Abb. 3.1: Vektordiagramm zur Erläuterung des Zusammenhangs zwischen  $G^*$ ,  $G'$  und  $G''$  nach Lit. [244].

Wie schon zuvor erwähnt, sind die gespeicherte Energie und die dissipierte Energie bei der Deformation von Materialien von Bedeutung, um Aussagen über ihr viskoelastisches Verhalten machen zu können. Der Speichermodul steht somit für die gespeicherte Energie, da es innerhalb der Struktur nur zu Bindungsdehnungen, aber nicht zur Zerstörung der Struktur kommt. Der Verlustmodul beschreibt die Deformationsenergie, die durch Reibungsprozesse in Form von Wärme verloren geht und nur bei viskosem Verhalten

beobachtet wird. Aus diesen Zusammenhängen folgt, dass von viskoelastischen Festkörpern gesprochen wird, wenn  $G' > G''$  und dass es sich um viskoelastische Flüssigkeiten handelt, wenn  $G'' > G'$ . Zur Angabe eines Verhältnisses dieser beiden Größen wird häufig der Verlustfaktor  $\tan\delta$  angegeben, der als Quotient des Verlustmoduls und des Speichermoduls definiert ist (s. Gl. 3.2).

$$\tan\delta = \frac{G''}{G'} \quad (3.2)$$

Idealelastisches Verhalten entspricht damit  $\tan\delta = 0$  und idealviskoses Verhalten entspricht  $\tan\delta = \infty$ . Anhand der Verlustfaktoren, die über die gesamte Messung aufgetragen werden, lassen sich zudem Aussagen über Phasenübergänge vom Flüssigzustand ( $\tan\delta > 1$ ) zum Gel-Zustand ( $\tan\delta < 1$ ) treffen.<sup>[243,244]</sup>

Im Oszillationsversuch ist es möglich, zwischen unterschiedlichen Tests zu wählen, wobei in dieser Arbeit der Amplitudentest verwendet wurde. Mit diesem Test wird der linear-viskoelastische Bereich einer Probe bestimmt, d.h. der Deformationsbereich, in dem die Probe noch keine Schäden an der inneren Struktur genommen hat. Eine Deformation der Probe über diesen Bereich hinaus führt zur langsamen Zerstörung der inneren Struktur. Das Verhalten während der Zerstörung ist für bestimmte Fragestellungen von Interesse.<sup>[244]</sup> Amplitudentests erfolgen bei vorgegebener Kreisfrequenz und einer stetig steigenden Amplitude.

Die rheologischen Messungen wurden an einem Rheometer des Typs Physica MCR 301 der Firma ANTON PAAR in Platte-Platte-Geometrie im Oszillationsmodus durchgeführt. Die verwendeten Proben wurden in einer Teflonform mit einem Durchmesser von 25 mm und eine Dicke von 2 mm hergestellt (s. Abb. 3.2).



Abb. 3.2: Teflonform zur Probenherstellung für Rheologiemessungen.

Die Messungen erfolgten mit dem Amplitudentest beginnend bei Dehnungen von 0.01% bis maximal 100% mit einer Steigung von 5.9 Punkten pro Dekade. Die Kreisfrequenz betrug  $10 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$  und die Standardkraft wurde auf 15 N festgelegt. Alle Messungen wurden bei  $37^\circ\text{C}$  durchgeführt, um gleichbleibende Bedingungen zu gewährleisten und Körpertemperatur zu simulieren. Alle Messungen wurden dreifach ermittelt. Die Messdaten wurden mit den Softwares Rheoplus/32 V3.40 der Firma ANTON PAAR und OriginPro 8G ausgewertet.

### 3.15 Zugprüfung

Zur mechanischen Untersuchung von festen Proben finden uniaxiale Zugprüfungen Anwendung. Bei dieser Prüfung werden Proben definierter Geometrie und Norm bis zu ihrem Bruch gedehnt und zeitgleich die dafür benötigte Kraft gemessen.<sup>[245]</sup> Die genormte Probe wird hierfür in Klemmbacken eingespannt, mit einer langsamen Geschwindigkeit auseinander gezogen und die Dehnung z.B. mit einem Videoextensometer aufgezeichnet. Aus den Messdaten lässt sich eine Spannungs-Dehnungs-Kurve erstellen, anhand derer u.a. eine Unterscheidung der Materialien in spröde und duktil möglich ist. Die Spannung  $\sigma$  wird als die zur Dehnung benötigte Kraft pro Fläche definiert und die Dehnung  $\varepsilon$  beschreibt die Längenänderung der Probe. Wichtige Kennwerte, die mit diesem Prüfverfahren ermittelt werden können, sind z.B. Bruchdehnungen  $A_m$ , Zugfestigkeiten  $R_m$  und Elastizitätsmodul ( $E$ -Modul). Innerhalb der vorliegenden Arbeit wurde die Bruchdehnung als die Dehnung angenommen, bei der die Probe gerissen ist. Die Zugfestigkeit gibt die maximal erreichte Spannung während der gesamten Messung an. Der  $E$ -Modul wird aus dem elastischen Bereich der Probe berechnet, welcher durch einen linearen Anstieg zu Beginn der Messung gekennzeichnet ist. Die Steigung dieser HOOK'schen Geraden wird als  $E$ -Modul (s. Gl. 3.3) bezeichnet und beschreibt den Zusammenhang zwischen der Spannung und der Dehnung während der Verformung der Probe.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \frac{F/A}{(L-L_0)/L_0} \quad (3.3)$$

$F$  ist hierbei die aufgewendete Kraft,  $A$  die Querschnittsfläche der Probe,  $L_0$  die Ursprungslänge der Probe und  $L$  gibt die Länge der gedehnten Probe an.

Für ausführlichere Untersuchungen des Materials kann ein zyklischer Zugversuch durchgeführt werden. Für diese Prüfung wird die Probe einer mehrfachen Be- und Entlastung bei derselben Dehnung ausgesetzt und die Dehngrenze stetig erhöht. Auf diese Weise lassen sich z.B. Hysteresen erkennen, die auf Dämpfungseigenschaften des Materials hinweisen.

Delebecq *et al.* bestimmten anhand von Mooney-Rivlin-Auftragungen drei verschiedene Stufen für das Verhalten eines füllstoffhaltigen Silicons während des Deformationsprozesses.<sup>[246]</sup> Diese Stufen können auf gewöhnliche Spannungs-Dehnungskurven übertragen werden. Die erste Stufe beschreibt den Bereich der kleinen Deformationen, in dem die Spannung zunächst ein wenig absinkt, bevor ein Anstieg über einen längeren Dehnungsabschnitt in der zweiten Stufe erfolgt. Das Absinken ist ein charakteristisches Phänomen und wird als PAYNE-Effekt bezeichnet. Dieser Effekt wird durch Brüche und Neubildungen von Füllstoffnetzwerken verursacht. In der zweiten Stufe, in der ein Anstieg der Spannung im mittleren Bereich der Kurve verzeichnet wird, tritt ein weiteres Phänomen, der

MULLINS-Effekt, auf. Nach dem ersten Be- und Entlastungszyklus wird eine Entfestigung des Materials besonders bei Siliconelastomeren mit hohen Füllstoffgehalten beobachtet. Der MULLINS-Effekt wurde von Clément *et al.* mit einem Ablösen und Abgleiten von Polymerketten vom Füllstoff, aufgrund von limitierter Dehnbarkeit auf der Füllstoffoberfläche erklärt.<sup>[247]</sup> Die dritte Stufe beinhaltet einen starken Spannungsanstieg, der durch eine begrenzte Dehnbarkeit zwischen den Vernetzungspunkten verursacht wird.<sup>[246,248,249]</sup> Dieser starke Anstieg verschiebt sich zu kleineren Dehnungswerten, wenn die Anzahl an Vernetzungspunkten sehr hoch ist.<sup>[250]</sup>

Die Durchführung der Zugversuche erfolgte durch Dr. Silke Besdo am Institut für Kontinuumsmechanik der Leibniz Universität Hannover an einer 10 kN AllroundLine Test Maschine der Firma ZWICK/ROELL. Die verwendeten Proben wurden in standardisierter Geometrie nach der DIN 53504, S 3A ausgestanzt.<sup>[245]</sup> Die Länge  $L_0$  betrug 10 mm, die Breite 4 mm und die Dicke 2 mm. Alle Proben wurden zyklisch untersucht und je siebenmal bis 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% und 30% Dehnung be- und entlastet. Nach dem letzten erfolgten Zyklus wurden die Proben bis zum Bruch belastet. Jede Probenart wurde fünfmal vermessen. Für die Messungen wurde eine 100 N Kraftmessdose verwendet und eine Verfahrensgeschwindigkeit von  $20 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$  eingestellt. Die Vorspannkraft zwischen den Zyklen betrug 0.1 N. Für die Auswertung wurden die Programme testXpert II der Firma ZWICK/ROELL und OriginPro 8G verwendet.

### 3.16 Konfokalmikroskopie

Oberflächenbeschichtete Silicone wurden mit dem Konfokalmikroskop untersucht. Die Anfertigung von Aufnahmen wurde im Reinraum an einem Konfokalmikroskop des Typs DCM 3D der Firma LEICA von Dr. Hans-Christoph Schwarz durchgeführt. Messungen erfolgten mit Vergrößerungen von 10x, 50x und 150x. Die Auswertung der Daten erfolgte mit den Programmen Leica DCM3D 3.2.3.5 der Firma SENSO FAR und ImageJ 1.47v des NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH, USA.

### 3.17 Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie

Die Untersuchung von Siliconen, welche mit fluoreszierenden Kern-Schale-Nanopartikeln ausgestattet wurden, erfolgte hinsichtlich der Partikelverteilung mit einem Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskop. Bei dem verwendeten Gerät handelt es sich um ein Leica TCS SP8 X der Firma LEICA MIKROSYSTEME VERTRIEB GMBH. Die Anregung der fluoreszierenden Partikel erfolgte bei 405 nm. Die Emission wurde mit einem Photomultiplier in einem

Bereich von 533-548 nm detektiert. Der Gain wurde auf 1120.0 und der Offset auf -21.47 festgesetzt. Messungen erfolgten mit Vergrößerungen von 20x, 63x und 100x. Die Scan-Geschwindigkeit lag zwischen 400 und 600 Hz. Bei der verwendeten Software handelte es sich um LAS AF3, Version 4.0.0.11706 der Firma LEICA MIKROSYSTEME VERTRIEB GMBH, welche auch für die Bildbearbeitung genutzt wurde. Dünne Querschnitte der Siliconproben wurden mit einem Tropfen ProLong<sup>®</sup>Diamond Antifade Mountant (Brechungsindex: 1.47) der Firma MOLECULAR PROBES<sup>™</sup> auf einem Deckgläschen fixiert. Die Probe wurde anschließend auf einem Objektträger platziert und mit Nagellack befestigt.

## 3.18 *In vitro*-Untersuchungen

In diesem Abschnitt werden sowohl verschiedene durchgeführte Zelltests als auch Untersuchungen hinsichtlich der antibakteriellen Aktivität von Silber-Silica-Filmen beschrieben.

### 3.18.1 Cytokompatibilität

#### Zelltests an Silber-Silica-Beschichtungen

Die Cytokompatibilität von Silber-Silica-Beschichtungen wurde an murinen Fibroblasten (NIH 3T3) und humanen Osteoblastenvorläuferzellen (MG 63) an einfach beschichteten Bioverit<sup>®</sup>II-Plättchen (Durchmesser: 12 mm, Dicke: 1 mm) untersucht. Es wurden nanoporöse Silica-Beschichtungen mit und ohne Silber sowie dichte Silica-Beschichtungen mit und ohne Silber getestet. Die Cytokompatibilität wurde anhand der Parameter Zellmorphologie und -viabilität bzw. -proliferation bewertet.

Für die Tests wurden die Proben mit 0.5 mL NIH 3T3-Zellsuspensionen (Dichte:  $6.6 \cdot 10^4$  Zellen·mL<sup>-1</sup>) bzw. 0.5 mL MG 63-Zellsuspensionen (Dichte:  $1.04 \cdot 10^5$  Zellen·mL<sup>-1</sup>) in 12-Well Kulturplatten kultiviert. Als Kontrolle diente die reine Zellkulturplatte. Die Kultivierung der Zellen erfolgte in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) unter Zusatz von 10% fötalem Kälberserum (FCS), 1% Penicillin/Streptomycin und 1% Glutamin bei 5% CO<sub>2</sub> und 37 °C. Zwei Tage nach Aussaat der Zellen wurde der Zellkulturüberstand abgegossen und die adhärenierten Zellen zweimal mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, pH 7.4) gewaschen. Anschließend wurden die Zellen mit 8 µmol·L<sup>-1</sup> 5-(und 6)-Carboxyfluoresceindiacetatsuccinimidylester (CFSE) in PBS fixiert. Hierfür wurde 1 mL CFSE-Lösung in jedes Well gegeben und für 15 min bei 37 °C inkubiert. Die CFSE-Lösung wurde entfernt und durch 2 mL DMEM ersetzt. Die Auswertung der fixierten Zellen erfolgte mit einem UV-Fluoreszenz Mikroskop (Axio Imager 2 der Firma CARL ZEISS). Die Auszählung der Zellen wurde mit der ImageJ Software, Version 1.47 der Firma NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH durchgeführt.

Die Durchführung der Tests erfolgte durch Dr. Bushra Rais im Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig.

### **Zelltests an Siliconen (Silpuran® 2430) mit eingearbeiteten Vinyl/Trimethyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln**

Für die Beurteilung der Zellviabilität wurde für die Untersuchung der Silicone mit eingearbeiteten NPSNP-Vi,Me der CellTiter-Blue® Test verwendet. Lebende Zellen sind in der Lage, den Redox-Farbstoff Resazurin in den fluoreszierenden Farbstoff Resorufin umzusetzen. Die resultierenden Fluoreszenzsignale können bei einer Extinktion von 544 nm und einer Emission von 590 nm gemessen werden.<sup>[251]</sup>

Die Zellproliferation wurde mithilfe einer Kristallviolett-Färbung, auch Gram-Färbung genannt, deutlich gemacht. Nach der Fixierung der Zellen wurde der Triphenylmethanfarbstoff zugesetzt und das positiv geladene Molekül über elektrostatische Wechselwirkungen an die negativ geladene Zelloberfläche gebunden.<sup>[252]</sup>

Die hergestellten Siliconproben mit 3 wt% und 8 wt% unmodifizierten NPSNPs (NPSNP-OH) sowie 3 wt% und 8 wt% Vinyl/Trimethyl-modifizierten NPSNPs (NPSNP-Vi,Me) wurden auf ihre Cytokompatibilität untersucht. Als Referenz wurde Silicon (Silpuran® 2430) ohne Zusatz von NPSNPs verwendet. Die Cytokompatibilität wurde an drei verschiedenen Zelllinien untersucht und anhand der Zellviabilität beurteilt. Hierbei handelte es sich um humane Lungenkarzinomzellen (A549), murine Fibroblastenzellen (NIH 3T3) und primäre mesenchymale Stammzellen aus humanem Fettgewebe (hAD-MSCs, AD44N). Zum einen wurden Zellen direkt auf den Siliconproben für 24 h und 72 h kultiviert, zum anderen wurden Extraktionen der Proben durchgeführt, um zu untersuchen, ob die Siliconproben toxische Spezies freisetzen.

A549 und NIH 3T3 Zellen wurden in DMEM unter Zusatz von 10% FCS und 1% Penicillin/Streptomycin bei 5% CO<sub>2</sub> und 37 °C kultiviert. hAD-MSCs wurden in  $\alpha$ -MEM (engl.: *minimum essential medium*,  $\alpha$ -Modifikation) unter Zusatz von humanem Serum und 0.5% Gentamicin kultiviert (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>). Die Zellen wurden mit PBS gewaschen und mit Accutase-Lösung abgelöst. Nach Zentrifugation wurde die Zellsuspension anhand des Trypanblau-Ausschlusstests auf die Anzahl an lebenden Zellen geprüft. Dieser Test beruht darauf, dass lebende Zellen mit einer intakten Zellmembran keinen Farbstoff aufnehmen, während sich das Cytoplasma von toten Zellen blau färbt.<sup>[253]</sup>

Die vernetzten Silicone wurden UV-sterilisiert und mit 18 000 Zellen pro Well für 24 h bzw. 72 h kultiviert. Die Zellviabilität wurde mithilfe des CellTiter-Blue® Viability Assays (CTB) gemessen. Hierfür wurden 500  $\mu$ L einer 10% CTB-Lösung (450  $\mu$ L Basalmedium,

50  $\mu\text{L}$  CTB-Stammlösung) in jedes Well gegeben und für 1.5 h bei  $37^\circ\text{C}$  und 5%  $\text{CO}_2$  inkubiert.

Die Fluoreszenzsignale wurden bei einer Extinktion von 544 nm und einer Emission von 590 nm an einem Mikrotiterplatten-Photometer Fluoroskan Acent der Firma THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. gemessen.

Für die Visualisierung der Zellproliferation wurden die Zellen für 15 min bei RT mit 4% Para-Formaldehyd-Lösung in PBS fixiert und mit PBS gewaschen. Die fixierten Zellen wurden mit einer 0.02%igen Kristallviolett-Lösung in Wasser für 10 min angefärbt und anschließend mit PBS gewaschen.

Bilder der angefärbten Zellen wurden mit einem Mikroskop des Typs IX50 der Firma OLYMPUS angefertigt.

In einem weiteren Experiment wurden Extraktionen der Siliconproben entsprechend des ISO Standard 10993-12:2012 durchgeführt.<sup>[254]</sup> Die UV-sterilisierten Silicone wurden mit Zellkulturmedium versetzt ( $3\text{ cm}^2\cdot\text{mL}^{-1}$ ) und 72 h bei  $37^\circ\text{C}$  und 5%  $\text{CO}_2$  inkubiert. Die Extrakte wurden zu den Zellen (8 000 Zellen pro Well) in 96-Well-Mikrotiterplatten gegeben und 24 h bei  $37^\circ\text{C}$  und 5%  $\text{CO}_2$  kultiviert.

Auch hier wurde die Zellviabilität mittels des CTB Viability Assay nach gleichem Prinzip wie oben beschrieben bestimmt.

Die Durchführung der Zelltests erfolgte durch Dr. Antonina Lavrentieva vom Institut für Technische Chemie der Leibniz Universität Hannover.

### **Zelltests an 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln**

Für die Bestimmung der Zellviabilitäten, anhand derer Aussagen über die Cytokompatibilität gemacht werden können, wurde hier der Neutralrot-Test gewählt. Der Farbstoff Neutralrot gelangt durch Diffusionsprozesse durch die Zellmembran und wird in den Lysosomen von lebenden Zellen akkumuliert. Die quantitative Bestimmung der aufgenommenen Farbstoffmenge erfolgt photometrisch bei 570 nm.<sup>[255]</sup>

Die für die Freisetzung des Wirkstoffs Rolipram verwendeten NPSNP-MeOPh wurden auf ihre Cytokompatibilität mit murinen Fibroblasten (NIH 3T3) getestet. Es wurden Dispersionen aus NPSNP-MeOPh in Wasser mit Konzentrationen von 10, 100, 250, 500 und  $1\,000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  untersucht. Die Zelltests orientierten sich an Untersuchungen von Williams *et al.*<sup>[27]</sup>

Die Zellen wurden mit 10 000 Zellen pro Well in DMEM, welches mit 10% FCS sowie mit 1% Penicillin und Streptomycin versetzt war, komplementiert und für drei Tage bei  $37^\circ\text{C}$  und 5%  $\text{CO}_2$  kultiviert. Vor der Zugabe der Partikeldispersionen, wurde das

Medium gewechselt (50  $\mu\text{L}$  Medium pro Well) und jedes Well anschließend mit 50  $\mu\text{L}$  der entsprechenden Partikeldispersion versetzt. Die Inkubation erfolgte für vier Tage. Die tägliche Dokumentation wurde am Durchlichtmikroskop des Typs CKX41 mit der CCD-Kamera des Typs Colorview III und der Software CellP der Firma OLYMPUS durchgeführt. Nach der Neutralrot-Färbung wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 570 nm an einem Multidetektionsreader des Typs Synergy H1 der Firma BIOTEK gemessen.

Die Zelltests an NPSNP-MeOPh wurden von Jennifer Schulze an der Medizinischen Hochschule Hannover (Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde) durchgeführt.

### 3.18.2 *In vitro*-Untersuchung des neuroprotektiven Effekts von Rolipram-beladenen 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Für die Untersuchung des Einflusses von Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh auf das Überleben und die Dendritenbildung von Spiralganglienneuronen wurden diese aus den Cochleae von Sprague Dawley Ratten (P3-5) gewonnen. Die dissoziierte Spiralganglienneuronenkultur ist eine Mischkultur bestehend aus Fibroblasten, Gliazellen und Neuronen. Auf der Basis von Versuchen von Kranz *et al.* und Freisetzungsexperimenten mit beladenen Partikeln (Inkubation: 3 d in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässriger Rolipramlösung) wurde die theoretisch benötigte Menge an Partikeln berechnet und entsprechende Verdünnungen angefertigt.<sup>[35]</sup> Es wurden Partikeldispersionen mit potentiellen Freisetzungskonzentrationen von 0.01, 0.1, 1, 10 und  $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipram in Wasser getestet. Bestimmt wurden diese Partikelkonzentrationen auf der Basis einer Freisetzungsmenge von ca.  $1.3 \mu\text{g}$  Rolipram pro 1 mg NPSNP-MeOPh in zwei Tagen. Eine zusätzliche Versuchsreihe erfolgte unter Zusatz von BDNF zu den jeweiligen Konzentrationen. Als Negativ-Kontrolle dienten NPSNP-MeOPh ohne Rolipram.

Die verwendete 96-Well-Mikrotiterplatte wurde mit D/L-Ornithin und Laminin beschichtet. Für die Vereinzelung der Zellen wurden die in HBSS-Lösung aufbewahrten SGNs durch Zentrifugation abgetrennt und anschließend mit 2 mL Verdaulösung, bestehend aus HBSS und 0.1% Trypsin sowie 0.01% DNase, versetzt. Es erfolgte eine Inkubation bei  $37^\circ\text{C}$  unter intermittierendem Schütteln. Die Verdaulösung wurde durch Zentrifugation abgetrennt und die Zellen mit 200  $\mu\text{L}$  warmen FCS versetzt, um den Verdau zu stoppen. Nach dreimaligem Waschen mit je 1 mL serumfreien Medium erfolgte durch mehrfaches Auf- und Abziehen mit 1 mL dieses Mediums die mechanische Verdauung. Für die Zellzählung wurde die Zählkammer mit 10  $\mu\text{L}$  eines Gemisches aus 10  $\mu\text{L}$  Trypanblau und 10  $\mu\text{L}$  der Zellsuspension befüllt. Als Ziel wurde  $1\cdot 10^4$  Zellen pro Well (50  $\mu\text{L}$ ) gefordert. Zu 50  $\mu\text{L}$  der Zellsuspension

wurden 50  $\mu\text{L}$  der jeweiligen Nanopartikeldispersionen und ggf. 50  $\mu\text{L}$  einer BDNF-Lösung ( $50 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) pipettiert. Die SGNs wurden für 48 h bei 37 °C und 5%  $\text{CO}_2$  inkubiert.<sup>[35]</sup>

Die Zellen wurden mit 100  $\mu\text{L}$  eines 1:1-Gemisches aus Methanol und Aceton für 10 min fixiert, dreimal mit PBS gewaschen und mit 150  $\mu\text{L}$  PBS bei 4 °C gelagert.

Zur Bestimmung des neuroprotektiven Effekts wurden SGNs mit einer neuronenspezifischen Färbung visualisiert, indem die fixierten Zellen mit einem monoklonalen primären Neurofilament Maus-Antikörper (200 kDa) angefärbt wurden. Für die weitere Färbung wurde das Vectastain Elite ABC Kit verwendet.<sup>[256]</sup> Die Antikörper-Komplexe wurden durch Zugabe des Peroxidase-Diaminobenzidin-Substrats visualisiert. Überlebende Neurone sind als Neurofilament-positive Zellen definiert, welche Neuriten mit einer Länge von mindestens drei Zellkörpern aufweisen.<sup>[257]</sup> Die Neurone wurden mit einem inversen Mikroskop des Typs CKX41 der Firma OLYMPUS gezählt. Der neuroprotektive Effekt wurde ermittelt, indem die Überlebensrate der Spiralganglienneurone in Bezug zur Einsaatkontrolle bestimmt wurde.

Die Durchführung der Zelltests erfolgte durch Jennifer Schulze an der Medizinischen Hochschule Hannover (Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde).

### 3.18.3 Antibakterielle Untersuchung von Silber-Silica-Beschichtungen

Die antibakterielle Aktivität an einfach-beschichteten Bioverit®II-Plättchen (Durchmesser: 12 mm, Dicke: 1 mm) wurde mit lumineszierenden *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1 CTX: lux) ermittelt. Es wurden nanoporöse Silica-Beschichtungen mit und ohne Silber sowie dichte Silica-Beschichtungen mit und ohne Silber getestet. Bioverit®II-Substrate ohne Beschichtung dienten als Negativkontrolle. Die antibakteriellen Tests wurden direkt nach der Probenfertigung sowie nach einer fünftägigen Inkubation durchgeführt.

Die fünftägige Inkubation erfolgte, indem die Proben in einer 24-Well-Mikrotiterplatte mit jeweils 400  $\mu\text{L}$  PBS überschichtet wurden und das Medium täglich durch neues ersetzt wurde. Die Lagerung erfolgte bei 37 °C. Die Proben wurden anschließend mit Wasser gespült und bei 60 °C getrocknet. Vor den Tests wurden alle Proben (direkt nach Fertigung sowie nach der Inkubation) für 5 min mit 1 mL PBS überschichtet, um eine Absorption des Bakterienmediums durch die porösen Oberflächen zu minimieren. Diese Proben wurden mit 15  $\mu\text{L}$  der *Pseudomonas aeruginosa* Kultur in LB-Medium (Optische Dichte  $\text{OD}_{600}=0.1$ ) überschichtet.

Das Bakterienwachstum wurde mit einem *In Vivo* Imaging System des Typs IVIS®-200 der Firma XENOGEN bei 37 °C detektiert. Die Auswertung erfolgte mit der Living Image

Software® Version 2.6 der Firma XENOGEN. Alle Proben wurden in Dreifachbestimmung untersucht.

Die Durchführung der antibakteriellen Tests erfolgte durch Dr. Mohammad Imran Rahim am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig.

## 4 Experimenteller Teil

Dieses Kapitel beinhaltet die Synthesevorschriften und die Herstellungsverfahren aller verwendeten Materialien. Im ersten Abschnitt wird die Präparation von Silber-Silica-Beschichtungen und die anschließenden Freisetzungs- und Degradationsexperimente beschrieben. Es folgen die Synthesen von Silica-Nanopartikeln, die Einarbeitung dieser in Silicone, Experimente zur Oberflächenbeschichtung sowie die Freisetzung von Rolipram aus modifizierten NPSNPs.

Für alle Synthesen wurde Reinstwasser verwendet, welches über eine Reinstwasser-Anlage der Firma THERMO ELECTRON LED GmbH gewonnen wurde. Das verwendete Reinstwasser zeigte bei Raumtemperatur eine maximale Leitfähigkeit von  $0.055 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

### 4.1 Silber-Silica-Beschichtungen auf Bioverit®II-Substraten

In diesem Abschnitt wird die Herstellung von Silber-Silica-Beschichtungen sowohl auf Glas als auch auf Bioverit®II-Substraten beschrieben.

Es wurden zwei verschiedene Silber-Silica-Beschichtungen hergestellt. Hierbei handelt es sich um eine nanoporöse und eine dichte Silber-Silica-Schicht. Die Beschichtung der Substrate erfolgte durch Tauchzieh-Verfahren mit einem Dip-Roboter (DR 3 der Firma RIEGLER & KIRSTEIN GMBH).

#### 4.1.1 Substratreinigung und Vorbereitung

Es erfolgte eine intensive Reinigung der verwendeten Substrate, bevor diese beschichtet wurden.

Hierfür werden die Substrate zunächst für 30-40 min in Aceton gerührt. Die getrockneten Substrate werden anschließend für 2 h (Glassubstrate) bzw. maximal 15 min (Bioverit®II-Substrate) in Piranha-Säure ( $3\text{H}_2\text{SO}_4 : 2\text{H}_2\text{O}_2$ ) behandelt. Die gereinigten Substrate werden mit Wasser und Ethanol gespült und bei  $60^\circ\text{C}$  getrocknet.

Die oberen (1 mm) und unteren (2 mm) Kanten der Bioverit®II-Substrate werden abgetrennt, um inhomogene Beschichtungseffekte zu entfernen.

### 4.1.2 Präparation von nanoporösen Silber-Silica-Beschichtungen

Die Herstellung der Beschichtungslösung für die nanoporösen Silica-Schichten orientierte sich an der Vorschrift von Suh *et al.* und Lüßenhop.<sup>[18,258]</sup> In einer Lösung aus 200 mL Ethanol (EtOH), 12.6 mL Wasser und 100  $\mu\text{L}$  HCl (32%) werden 12.6 g des Triblock-Copolymers Pluronic<sup>®</sup> F127 gelöst. Anschließend werden 33.6 mL Tetraethylorthosilicat (TEOS) zugegeben und abgedeckt für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Es erfolgt eine Tauchzieh-Beschichtung der Bioverit<sup>®</sup> II-Substrate. Hierfür wird eine Eintauchgeschwindigkeit von  $1 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ , ein Verbleib in der Lösung von 30 s und einer Ziehgeschwindigkeit von  $0.1 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  gewählt. Die beschichteten Substrate werden zunächst für 15 min an der Umgebungsluft und über Nacht bei  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  getrocknet, bevor eine Calcination für 4 h bei  $450 \text{ }^\circ\text{C}$  (Aufheizrate  $1 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ ) erfolgt.

Für die Herstellung von silberhaltigen nanoporösen Silica-Beschichtungen werden die beschichteten Substrate für drei Tage in einer wässrigen  $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{AgNO}_3$ -Lösung unter Lichtausschluss inkubiert. Die inkubierten Beschichtungen werden von jeder Seite mit  $100 \mu\text{L}$  Wasser gespült und anschließend für 5 h bei  $550 \text{ }^\circ\text{C}$  (Aufheizrate  $1 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ ) calciniert.

### 4.1.3 Präparation von dichten Silber-Silica-Beschichtungen

Für die Präparation der dichten Silber-Silica-Beschichtungen wurde der Kronenether 18-Krone-6 zur Komplexbildung der Silberionen genutzt und dadurch eine Löslichkeit des verwendeten Silbernitrats in Ethanol erzielt.

7.8 g 18-Krone-6 werden in 50 mL EtOH mittels Ultraschall gelöst, anschließend 5.0 g  $\text{AgNO}_3$  zugefügt und so lange mit Ultraschall behandelt, bis sich eine bräunlich gefärbte Lösung bildet. Diese Lösung wird zu einer Lösung aus 350 mL EtOH, 10 mL Wasser, 200  $\mu\text{L}$   $\text{HNO}_3$  (65%) und 50 mL TEOS gegeben. Nach einer Rührzeit von 15 min bei RT werden die Bioverit<sup>®</sup> II-Substrate mit einer Eintauchgeschwindigkeit von  $1 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ , einem Verbleib in der Lösung von 30 s und einer Ziehgeschwindigkeit von  $0.1 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  beschichtet. Dichte Silica-Schichten, die als Negativkontrollen dienen, werden ohne den Zusatz von  $\text{AgNO}_3$  und dem Kronenether hergestellt. Die Trocknung der beschichteten Substrate erfolgt für 15 min an Umgebungsluft, gefolgt von  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  über Nacht und einer Calcination für 5 h bei  $550 \text{ }^\circ\text{C}$  (Aufheizrate  $1 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Die Negativ-Kontrollen ohne Silber werden bei  $450 \text{ }^\circ\text{C}$  calciniert.<sup>[18]</sup>

#### 4.1.4 Silberfreisetzungs- und Degradationsexperimente

In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie Silberfreisetzungsexperimente an nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen durchgeführt wurden. Außerdem wurden in einem Degradationsexperiment die Auflösungsprozesse der Silber-Silica-Beschichtungen, insbesondere die Degradation der Silbernanopartikel eingehend untersucht.

##### Silberfreisetzung

Für die Freisetzungsuntersuchungen werden Bioverit®II-Substrate mit Abmessungen von 38 mm x 26 mm x 1 mm verwendet und, wie in den Abschnitten 4.1.2 und 4.1.3 beschrieben, beschichtet. Die Silberfreisetzungen aus der dichten und nanoporösen Silica-Beschichtung erfolgen in Wasser bei 37 °C über sieben Tage unter Ausschluss von Licht. Jedes einfachbeschichtete Plättchen wird in einem Gefäß aus Polypropylen mit 40 g Wasser platziert. Nach definierten Zeitabständen werden die beschichteten Plättchen in ein neues Gefäß mit vortemperiertem Wasser umgesetzt. Nach jedem Wechsel wird das nun silberhaltige Medium zur Stabilisierung mit 100 µL HNO<sub>3</sub> (subboiled) versetzt.

##### Degradation

Für die Präparation von Proben für die Degradationsexperimente werden Glassubstrate (20 mm x 20 mm x 1 mm) verwendet und zehnfach beschichtet. Nach jeder einzelnen Beschichtung erfolgt eine Trocknung für 5 min an Umgebungsluft und für 10 min bei 60 °C, bevor erneut beschichtet wird. Die zehnfach beschichteten Substrate werden, wie in den Abschnitten 4.1.2 und 4.1.3 beschrieben, getrocknet und calciniert. Auch die Silberinkubation der nanoporösen Silber-Silica-Beschichtungen erfolgt wie zuvor beschrieben. Die hergestellten Silber-Silica-Beschichtungen werden jeweils für 1, 3 und 7 Tage bei 37 °C in Wasser gelagert. Nach Trocknung der Proben bei 60 °C werden die Beschichtungen vorsichtig abgekratzt und mittels TEM untersucht.

## 4.2 Herstellung und Verarbeitung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln als Füllstoff für Silicon

Im Folgenden werden die Synthesen der Silica-Füllstoffe, Modifizierungen dieser und die Einarbeitung der Partikel in das Siliconpolymer Silpuran® 2430 beschrieben.

### 4.2.1 Synthese von nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Die Synthese von nanoporösen Silica-Nanopartikeln wurde nach einer Vorschrift von Qiao *et al.* angepasst.<sup>[142]</sup> Es werden 6.32 g Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) und 0.46 mL Diethanolamin (DEA) in 150 mL Wasser und 26.8 mL Ethanol (EtOH) gelöst und für 30 min bei 40 °C gerührt. Anschließend werden 17.12 mL TEOS zugefügt und für weitere 2 h bei 40 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 18 000 G zentrifugiert, das Präzipitat zweimal mit Wasser und einmal mit Ethanol gewaschen. Das Produkt wird bei 60 °C über Nacht getrocknet und anschließend 5 h bei 550 °C (Aufheizrate 1 K·min<sup>-1</sup>) calciniert, um das strukturdirigierende Agens CTAB zu entfernen. Diese Partikel werden im Folgenden auch als NPSNP-OH gekennzeichnet.

### 4.2.2 Modifizierung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Es wurden NPSNPs mit unterschiedlichen Modifizierungen hergestellt. Hierfür wurden sowohl Trimethoxysilane als auch Dimethylchlorsilane eingesetzt. Die jeweiligen Synthesen werden in den folgenden Abschnitten beschrieben.

Für alle Synthesen wurden Schraubdeckelgläser verwendet, die zunächst silyliert wurden, um eine Anbindung der Modifizierungs-Silane zu vermeiden. Hierzu werden die Schraubdeckelgläser mit einem Gemisch aus 80 Vol% Chloroform und 20 Vol% Dichlordimethylsilan befüllt und für 30 min zugeschraubt stehen gelassen. Anschließend werden die Gläser mit Ethanol gespült und getrocknet.

#### Modifizierung mit Chlordimethylvinylsilan und Chlortrimethylsilan

Die Herstellung von Vinyl/Trimethyl-modifizierten NPSNPs (NPSNP-Vi,Me) erfolgte durch eine gleichzeitige Modifizierung mit Chlordimethylvinylsilan (Vi) und Chlortrimethylsilan (Me) (s. Abb. 4.1).

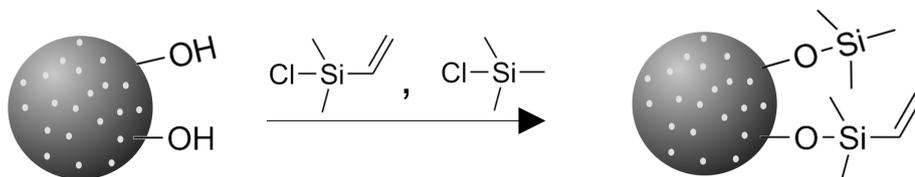


Abb. 4.1: Reaktion zur Modifizierung von NPSNPs mit einem Gemisch aus Chlordimethylvinylsilan und Chlortrimethylsilan.

Hierfür werden 2 g NPSNPs in 60 mL Toluol mittels Ultraschall dispergiert. Unter starkem Rühren werden nacheinander 600  $\mu$ L (4.3 mmol) Chlordimethylvinylsilan und 200  $\mu$ L

(1.6 mmol) Chlortrimethylsilan zugegeben. Die Reaktionslösung wird auf 70 °C erhitzt, für 10 min bei dieser Temperatur gehalten und anschließend die Temperierung abgestellt. Die Reaktionslösung wird für weitere 1.5 h im Ölbad gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wird mit 18 000 G zentrifugiert, das Produkt dreimal mit Ethanol gewaschen und für einige Tage bei 60 °C getrocknet.

### Modifizierung mit 4-Methoxyphenyltrimethoxysilan

Die Synthese erfolgte entsprechend einer Vorschrift aus der Masterarbeit von Nadeschda Schmidt.<sup>[259]</sup>

Für die Herstellung von 4-Methoxyphenyl-modifizierten NPSNPs (NPSNP-MeOPh) (s. Abb. 4.2) werden 2.0 g NPSNPs mittels Ultraschall in 80 mL Toluol dispergiert und mit 500  $\mu$ L (3.0 mmol) 4-Methoxyphenyltrimethoxysilan sowie 300  $\mu$ L (2.0 mmol) DBU versetzt. Es wird 2 h bei 80 °C gerührt und das Produkt anschließend durch Zentrifugation bei 6 000 rpm abgetrennt. Der weiße Feststoff wird dreimal mit Ethanol gewaschen und bei 60 °C mehrere Tage getrocknet.

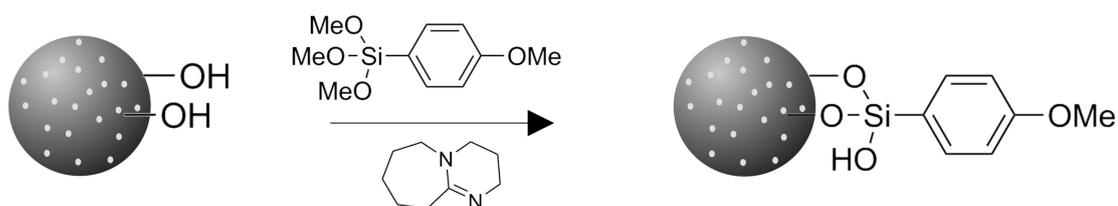


Abb. 4.2: Reaktion zur Modifizierung von NPSNPs mit 4-Methoxyphenyltrimethoxysilan.

### 4.2.3 Synthese von fluoreszierenden Kern-Schale-Nanopartikeln (CeF<sub>3</sub>:Tb<sup>3+</sup>@NPSNPs)

Die Synthese von fluoreszierenden Kern-Schale-Nanopartikeln erfolgte in zwei Schritten. Zunächst wurden die CeF<sub>3</sub>:Tb<sup>3+</sup>-Kerne hergestellt und diese anschließend mit einer nanoporösen Silica-Schicht umschlossen.

#### Synthese der CeF<sub>3</sub>:Tb<sup>3+</sup>-Kerne

Die Herstellung der CeF<sub>3</sub>:Tb<sup>3+</sup>-Kerne wurde nach einer Vorschrift von Kong *et al.* durchgeführt.<sup>[154]</sup>

0.41 g (0.9 mmol) Terbium(III)nitrat-Hexahydrat und 2.21 g (5.1 mmol) Cer(III)nitrat-Hexahydrat werden in 50 mL Diethylenglykol (DEG) bei 100 °C unter Argon-Atmosphäre gelöst. Diese Lösung wird auf 200 °C erhitzt, wodurch eine gelbbraune Färbung einsetzt.

Es wird eine weitere Lösung aus 0.67 g (18 mmol) Ammoniumfluorid in 50 mL DEG bei 70 °C hergestellt und zu der Metallsalzlösung gegeben. Nachdem das Gemisch 1 h bei 200 °C gerührt wurde, wird zur abgekühlten Lösung 100 mL Ethanol gegeben. Das Reaktionsgemisch wird zentrifugiert, der erhaltene Feststoff dreimal mit Ethanol gewaschen und über Nacht bei 60 °C getrocknet.

### **Herstellung der nanoporösen Silica-Schicht**

Für die Herstellung einer nanoporösen Silica-Schicht um die  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne, wurde eine optimierte Vorschrift verwendet, die von HENDRIK ALBERT SCHULZE in einem Forschungspraktikum optimiert wurde.

Hierfür werden 60 mg der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne in 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$  mittels Ultraschall dispergiert. Von dieser Suspension werden 3 mL mit 120 mL  $\text{H}_2\text{O}$  und 60 mL EtOH versetzt. Nach Zugabe von 1.9 mL DEA und 0.25 g CTAB wird für 5 min bei RT gerührt und der Mischung anschließend langsam 0.15 mL TEOS zugefügt. Nach einer Reaktionszeit von 2 h bei RT werden die Partikel mittels Zentrifugation abgetrennt, einmal mit Wasser und zweimal mit Ethanol gewaschen. Die Trocknung erfolgt bei 60 °C.

Zur Entfernung des CTABs werden 60 mg der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  in 30 mL EtOH dispergiert und mit 3.3 mL HCl (37%) versetzt. Die Extraktion erfolgt für 2 h bei Rühren unter Rückfluss. Die extrahierten  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  werden bei 6 000 rpm zentrifugiert, dreimal mit EtOH gewaschen und bei 60 °C getrocknet.

### **Modifizierung von $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$ mit Chlordimethylvinylsilan und Chlortrimethylsilan**

Für die Modifizierung der hergestellten  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  wurde die Vorschrift unter Abschnitt 4.2.2 verwendet und der vergleichsweise geringen eingesetzten Menge an  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  angepasst.

300 mg  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  werden in 9 mL Toluol mittels Ultraschall dispergiert. Unter starkem Rühren werden nacheinander 90  $\mu\text{L}$  (0.6 mmol) Chlordimethylvinylsilan und 30  $\mu\text{L}$  (0.2 mmol) Chlortrimethylsilan zugegeben. Die Reaktionslösung wird auf 70 °C erhitzt, für 10 min bei dieser Temperatur gehalten und anschließend die Temperierung abgestellt. Die Reaktionslösung wird für weitere 1.5 h im Ölbad gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wird bei 6 000 rpm zentrifugiert, das Präzipitat dreimal mit Ethanol gewaschen und für einige Tage bei 60 °C getrocknet.

#### 4.2.4 Stabilitätsuntersuchungen an Vinyl/Trimethyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Hergestellte NPSNP-Vi,Me wurden zwei bzw. drei Tage in Wasser oder Ethanol gerührt, um zu überprüfen, wie sich diese Behandlung auf die Einarbeitung und die mechanischen Eigenschaften der Silicone auswirkt.

350 mg der NPSNP-Vi,Me werden mit 10 mL Wasser oder Ethanol versetzt und zwei bzw. drei Tage gerührt. Das Medium wird durch Zentrifugation abgetrennt und die Nanopartikel bei 60 °C getrocknet.

#### 4.2.5 Einarbeitung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln in Silicon

Im Folgenden wird die Einarbeitung der hergestellten Silica-Nanopartikel in das 2-Komponenten-Silicon Silpuran<sup>®</sup> 2430 beschrieben. Das verwendete Silicon wird in einem Verhältnis von Komponente A : Komponente B = 1:1 eingesetzt. Die einzuarbeitenden Nanopartikel werden gemörsert, gesiebt (Maschenweite 200 µm) und in unterschiedlichen Anteilen in die Siliconmischung eingearbeitet. Es wurden folgende Siliconmischungen hergestellt:

Tab. 4.1: Übersicht über hergestellte Silicone mit verschiedenen Füllstoffen und Füllstoffgehalten.

Füllstoff	Füllstoffgehalt / wt%				
	0.5	3	5	8	10
NPSNP-OH			X		X
NPSNP-Vi,Me		X	X	X	X
NPSNP-Vi,Me (2d H <sub>2</sub> O )			X		X
NPSNP-Vi,Me (2d EtOH)			X		X
NPSNP-Vi,Me (3d EtOH)					X
CeF <sub>3</sub> :Tb <sup>3+</sup> @NPSNP-OH	X	X			
CeF <sub>3</sub> :Tb <sup>3+</sup> @NPSNP-Vi,Me		X		X	

Silicone ohne Zugabe von NPSNPs dienten als Referenz.

Die Vermischung der Nanopartikel mit dem unvernetzten Silicon erfolgt in einem SpeedMixer<sup>™</sup> DAC 150 SP der Firma HAUSCHILD & CO. KG. Die genaue Abfolge des Einmischprozesses ist in Tab. 4.2 beschrieben.

Zunächst wird Komponente A eingewogen und mit Schritt 1 behandelt, um Luftblasen zu entfernen.

Die Nanopartikel (NP) werden dann portionsweise mit Komponente A vermischt ( $(A+NP)_n$ ,  $n$  = Anzahl der Portionen). Nach jeder zugefügten Portion erfolgen erneut die Schritte 2 und 3. Mischungen mit mehr als 8 wt% Nanopartikeln werden zwischendurch zusätzlich mit einem Spatel gut durchmischt. Nach dem Einmischen der letzten Portion wird zusätzlich Schritt 4 durchgeführt. Die erhaltene Mischung wird für 1 h bei reduziertem Druck entgast und mit Komponente B versetzt. Für die Vermischung aller Komponenten folgen die Schritte 6 bis 8.

Tab. 4.2: Übersicht der Mischprozedur zum homogenen Einarbeiten der hergestellten Nanopartikel (NP) in Silpuran<sup>®</sup> 2430.  $n$  ist die Anzahl zugegebener Nanopartikelportionen und entspricht der benötigten Wiederholungen der Schritte 2 und 3.

Komponente	Wdh.	Prozess	Schritt
A	1x	30 s 2000 rpm	1
$(A+NP)_n$	1x	15 s 1500 rpm	2
		15 s 2000 rpm	
	2x	15 s 2500 rpm	3
		15 s 3000 rpm	
1x	30 s 3500 rpm	4	
	30 s 2000 rpm		
$(A+NP)_n+B$	1x	1 h reduzierter Druck	5
	2x	20 s 3500 rpm	6
	2x	30 s 3500 rpm	7
		30 s 2000 rpm	
1x	20 s 2500 rpm	8	
	30 s 2000 rpm		

Die Mischungen werden in eine Teflonform gefüllt (s. Abb. 4.3), für 2 h bei 120 °C vernetzt und über Nacht bei 60 °C gelagert, um eine vollständige Vernetzung zu gewährleisten.



Abb. 4.3: Teflonform für die Probenherstellung der Silicone.

## 4.3 Methoden zur Hydrophilierung von Siliconoberflächen

In diesem Abschnitt werden verschiedene Methoden zur Oberflächenbeschichtung von Silicon mit Silica-Partikeln vorgestellt. Hierfür wurden zusätzlich Stöber-Partikel ohne Porosität synthetisiert.

### 4.3.1 Synthese von Stöber-Partikeln

Die Stöber-Partikel wurden nach einer Synthese von Zhou *et al.* hergestellt.<sup>[136]</sup>

Zunächst wird eine Lösung, bestehend aus 44 mL Ethanol, 18 mL Wasser und 6 mL einer  $\text{NH}_4\text{OH}$ -Lösung (28-38%ig), hergestellt und diese 15 min bei RT gerührt. Anschließend wird eine Lösung, bestehend aus 36 mL Ethanol und 22 mL TEOS, zugetropft. Nach Ablauf der Reaktionszeit von 1 h wird das Produkt durch Zentrifugation bei 6 000 rpm abgetrennt, dreimal mit Wasser und einmal mit Ethanol gewaschen. Die Trocknung erfolgt bei 60 °C.

### 4.3.2 Sprühbeschichtung

Für die Sprühbeschichtung werden Partikelsuspensionen in EtOH hergestellt und mit einer Druckluftpistole auf das unvernetzte bzw. vorvernetzte Silicon aufgesprüht.

Die Sprühbeschichtung erfolgt mit NPSNPs (ca. 40 nm) sowie mit Stöber-Partikeln (ca. 500 nm) in Konzentrationen von  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Das unvernetzte Silicon (Silpuran<sup>®</sup> 2430) wird in eine Teflonform gegossen, überschüssiges Material mit der glatten Seite einer Platte abgezogen und anschließend mit 50 Sprühvorgängen bis hin zu 500 Sprühvorgängen beschichtet.

### 4.3.3 Beschichtung in Nanopartikel-Suspensionen während der Vernetzung

Es wurde eine Beschichtung der Siliconoberfläche erprobt, indem Silicone während des Vernetzungsprozesses in Suspensionen aus Silica-Partikeln (NPSNPs oder Stöber-Partikel) platziert wurden. Hierfür werden unterschiedlich konzentrierte Suspensionen aus Silica-Partikeln in Wasser hergestellt. Eine Teflonform mit unvernetztem Silicon (Silpuran<sup>®</sup> 2430) wird anschließend in dieser Suspension platziert und für 1 h auf 60 °C erhitzt. Die beschichteten und vernetzten Proben werden bei 60 °C getrocknet.

#### 4.3.4 Übersichtung mit Suspensionen

Für diese Art der Beschichtungstechnik werden hochkonzentrierte Suspensionen aus Silica-Partikeln (NPSNPs oder Stöber-Partikel) in Ethanol hergestellt. Unvernetztes Silicon (Silpuran<sup>®</sup> 2430) wird in eine Form gefüllt und für 15 min bei 60 °C vorvernetzt. Mit einer Pipette wird das Silicon mit dem Überstand der Suspension vorsichtig und gleichmäßig überschichtet. Die überschichteten Proben werden bei 60 °C endvernetzt. Dabei verdampft das Ethanol und die Partikel auf der Siliconoberfläche bleiben zurück. Überschüssige Partikel werden mit einem Spatel bestmöglich beseitigt. Eine Behandlung der Proben mit Druckluft und Ultraschall entfernt anschließend weiteren Partikelüberschuss.

#### Bedampfung mit Tetramethylorthosilicat

Es werden Proben verwendet, die zuvor mit dem Übersichtungsverfahren hergestellt wurden. Diese Proben wurden für unterschiedliche Zeiten in Wasser mit Ultraschall behandelt und anschließend mit Tetramethylorthosilicat (TMOS) für 24 h bei 50 °C bedampft. Hierbei wurde sich an einer Vorschrift aus der Diplomarbeit von Dr. Anne Christel orientiert.<sup>[260]</sup> Die Siliconproben werden an Drähten aufgehängt und in einem Kolben ca. 6 cm oberhalb des TMOS-Füllstandes platziert. Der Kolben wird anschließend dicht verschlossen. Nach abgelaufener Reaktionszeit werden die Proben jeweils mit 50 mL Wasser von jeder Seite gespült und mit Druckluft getrocknet. Es folgt eine Lagerung der Proben für mehrere Tage in Wasser und eine Trocknung bei RT.

#### 4.3.5 *In situ*-Beschichtung

Die *in situ*-Beschichtung beschreibt eine Beschichtung von unvernetztem Silicon (Silpuran<sup>®</sup> 2430) während einer Stöber-Synthese, wie sie in Abschnitt 4.3.1 beschrieben ist. Hierfür wurde das unvernetzte Silicon in eine Teflonform gefüllt und in der Syntheselösung platziert. Da es auf diese Weise nicht möglich ist zu rühren, wird die Reaktion im Ultraschallbad durchgeführt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wird noch einmal für 1 h auf 60 °C erhitzt, die Teflonform aus der Syntheselösung genommen und bei 60 °C gelagert.

#### 4.3.6 Beschichtung durch Aufpressen von Partikeln

Es sollte untersucht werden, ob unter Verwendung einer Siliconmischung mit hoher Viskosität eine Aufbringung von Silica-Partikeln möglich ist. Hierfür wurde von der WACKER CHEMIE AG eine Musterprobe unter Verwendung des fest-pastösen HTV Materials ELASTOSIL<sup>®</sup> Rplus 4001/60 hergestellt. Die Beschichtung erfolgt, indem zunächst Silica-

Partikel (unbekannter Art und Größe) in eine Form gegeben werden, das unvernetzte HTV darüber gelegt wird und anschließend eine Vernetzung für 15 min bei 165 °C stattfindet.

## 4.4 Roliprameinlagerung und Freisetzung

Im Folgenden werden die Durchführungen von Freisetzungsexperimenten mit Rolipram aus Silicon, NPSNP-Vi,Me, NPSNP-MeOPh und aus einem Komposit der Partikel und dem Silicon beschrieben.

### 4.4.1 Freisetzung aus Silicon

Für eine Freisetzung von Rolipram direkt aus dem vernetzten Siliconpolymer wurde 1 wt% Rolipram eingearbeitet.

20 mg Rolipram werden in 1 mL Cyclohexan dispergiert und zu 990 mg der Komponente A des Silpuran<sup>®</sup> 2430 gegeben. Die Mischung wird für 20 s bei 2 500 rpm und zweimal für 15 s bei 3 500 rpm vermischt. Diese Mischung wird über Nacht bei reduziertem Druck gelagert, um das verwendete Cyclohexan zu entfernen. Es erfolgt eine erneute Durchmischung für 20 s bei 3 500 rpm, bevor 990 mg der Komponente B zugemischt werden. Die vollständige Mischung wird noch einmal für 20 s bei 3 500 rpm behandelt, in eine Form gegeben und anschließend bei 60 °C für 3 h vernetzt. Auf diese Weise werden Proben mit 12 mm Durchmesser und 2 mm Dicke hergestellt.

Als Referenz werden Proben ohne Rolipram hergestellt. Hierfür werden sowohl Silicone unter Verwendung von Cyclohexan als auch ohne hergestellt.

Die Freisetzung erfolgt in 5 mL Eppendorf Tubes<sup>®</sup> mit 2 mL PBS bei 37 °C. Nach definierten Zeitabständen werden die Proben in ein neues Gefäß mit 2 mL vortemperiertem PBS umgesetzt. Diese Schritte werden wiederholt, um eine Konzentrations-Zeit-Kurve zu erhalten. Die Detektion des Wirkstoffs erfolgt photometrisch bei 280 nm (s. Abschnitt 3.9).

### 4.4.2 Freisetzung aus 4-Methoxyphenyl- und Vinyl/Trimethyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Für die Inkubationen von Rolipram in NPSNP-MeOPh und NPSNP-Vi,Me wurden Rolipramlösungen mit Konzentrationen von 1 mmol·L<sup>-1</sup>, 3 mmol·L<sup>-1</sup> und 6 mmol·L<sup>-1</sup> verwendet und sowohl Wasser als auch Ethanol als Medium untersucht. Die Inkubationen erfolgten über ein bis drei Tage.

Die Inkubationen erfolgen, indem die Partikel in der entsprechenden Rolipramlösung unter Lichtausschluss und bei 37 °C gerührt werden. Als Referenz werden Partikel im Medium ohne Rolipram gerührt. Die Partikel werden anschließend durch Zentrifugation abgetrennt und bei 37 °C bis maximal 60 °C getrocknet. Für die Freisetzung werden je 10 mg der Partikel in 2 mL Eppendorf Tubes<sup>®</sup> eingewogen. Die Freisetzung wird mit 2 mL PBS bei 37 °C durchgeführt, welches nach definierten Zeitabständen gewechselt wird. Hierfür werden die Proben zunächst bei 37 °C und 10 000 rpm zentrifugiert, um das PBS abzutrennen. Anschließend wird neues vortemperiertes PBS zu den Partikeln gegeben. Diese werden für eine Redispergierung mit einem Vortexer vom Gefäßboden gelöst und für 2 min mit Ultraschall behandelt, bevor sie erneut bei 37 °C gelagert werden. Diese Schritte werden wiederholt, um eine Konzentrations-Zeit-Kurve zu erhalten. Die Detektion des Wirkstoffs erfolgt photometrisch bei 280 nm.

#### **4.4.3 Freisetzung aus 4-Methoxyphenyl- und Vinyl/Trimethyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln in Silicon**

Für Freisetzungsexperimente aus einem NPSNPs-Silicon-Komposit werden 8 wt% Rolipram-beladene sowie unbeladene Partikel als Kontrolle in das Silpuran<sup>®</sup> 2430 entsprechend Abschnitt 4.2.5 eingearbeitet. Die Vernetzung erfolgt bei 60 °C. Die hergestellten Proben weisen einen Durchmesser von 12 mm und eine Dicke von 2 mm auf. Die Proben werden in 5 mL Eppendorf Tubes<sup>®</sup> platziert und mit 2 mL PBS versetzt. Nach definierten Zeitabständen werden die Siliconscheiben in ein neues Gefäß mit vorgewärmtem PBS umgesetzt. Diese Schritte werden wiederholt, um eine Konzentrations-Zeit-Kurve zu erhalten. Die Detektion des Wirkstoffs erfolgt photometrisch bei 280 nm.

## 5 Ergebnisse und Diskussion

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse einer antibakteriellen Ausrüstung von Bioverit®II mit Silber-Silica-Beschichtungen für Mittelohrprothesen dargestellt und diskutiert. Im Weiteren wird die Verwendung von Silica-Nanopartikeln als Füllstoff- und Beschichtungsmaterial für Silicone sowie die Freisetzung von Rolipram aus nanoporösen Silica-Nanopartikeln und Silicon für eine Anwendung im Innenohr vorgestellt und diskutiert.

### 5.1 Antibakterielle Ausrüstung von Bioverit®II mit Silber-Silica-Beschichtungen

Dieser Abschnitt behandelt die Charakterisierung von nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen auf Bioverit®II sowie Ergebnisse aus Silberfreisetzungs- und Degradationsstudien. Zudem werden Ergebnisse aus *in vitro*-Untersuchungen bezüglich der Cytokompatibilität und antibakteriellen Wirksamkeit der Beschichtungen dargestellt und diskutiert.

Die Bearbeitung dieses Forschungsthemas erfolgte in enger Kooperation mit Philipp Abendroth und ist Gegenstand einer in Vorbereitung befindlichen Veröffentlichung mit geteilter Erstautorenschaft. Da die Ergebnisse in ihrer Gesamtheit dargestellt und diskutiert werden, werden die geleisteten Arbeiten zu Beginn eines neuen Abschnitts den entsprechenden Personen zugeordnet.

#### 5.1.1 Charakterisierung der Silber-Silica-Beschichtungen

Die Charakterisierungen der nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen auf Bioverit®II mittels Rasterelektronenmikroskopie, Röntgen-Diffraktometrie sowie Physisorption wurden im Rahmen einer Masterarbeit von P. Abendroth durchgeführt.<sup>[261]</sup> Die Probenherstellung für Untersuchungen unter Verwendung der optischen Spektroskopie sowie deren Messung erfolgte durch P. Abendroth und T. Heemeier zu gleichen Teilen. Die Probenpräparation für Schichtdickenbestimmungen sowie die anschließende Auswertung wurden von P. Abendroth übernommen. Die Herstellung von Proben sowie deren Präparation für TEM-Untersuchungen wurden von T. Heemeier durchgeführt. Die anschließende Auszählung der Partikel wurde von P. Abendroth vorgenommen. Die Interpretation der Ergebnisse in ihrer Gesamtheit erfolgte in gemeinsamer Zusammenarbeit.

Die Herstellung der nanoporösen Silber-Silica-Beschichtungen erfolgte gemäß einer Vorschrift von Suh *et al.* und Lüßenhop durch eine Tauchzieh-Beschichtung mit einer Lösung aus Tetraethylorthosilicat, Pluronic® F127 als strukturdirigierendes Agens, Salzsäure und einem Ethanol/Wasser-Gemisch.<sup>[18,258]</sup> Durch Inkubation dieser Schicht mit einer Silbernitratlösung wurden in einem anschließenden Calcinationsschritt Silbernanopartikel erzeugt. Für die Herstellung der dichten Silber-Silica-Beschichtung wurde eine Lösung aus Tetraethylorthosilicat, 18-Krone-6, Silbernitrat, Salpetersäure und ein Ethanol/Wasser-Gemisch verwendet. Eine anschließende Calcination diente auch hier der Bildung von Silbernanopartikeln durch thermische Reduktion sowie der Verbrennung des Kronenethers.<sup>[18]</sup>

Die Untersuchung der Beschichtungsflächen erfolgte mittels Rasterelektronenmikroskopie. Die REM-Aufnahmen eines unbeschichteten Bioverit®II-Substrats zeigen die typische ungleichmäßige und raue Oberfläche mit rosettenartigen Strukturen (s. Abb. 5.1a), die auf Schicht- und Ringsilikate im Material, einer Glasglimmerkeramik, zurückzuführen sind. Diese Strukturen blieben auch nach einer Dreifachbeschichtung mit nanoporösem und dichtem Silber-Silica deutlich erkennbar (s. Abb. 5.1b,c).

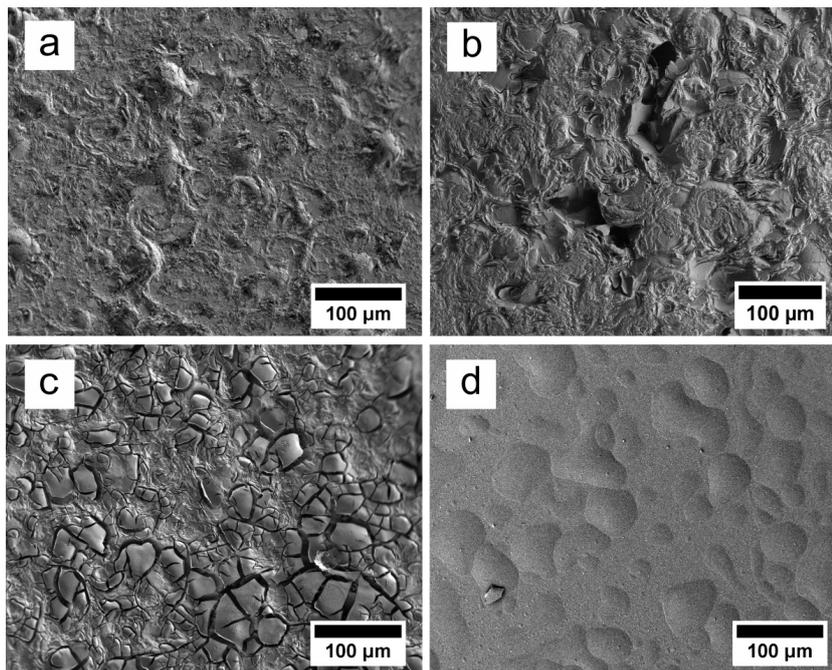


Abb. 5.1: REM-Aufnahmen von a) unbeschichtetem Bioverit®II, b) einer Beschichtung mit nanoporösem und c) einer Beschichtung mit dichtem Silber-Silica auf Bioverit®II sowie d) einer dichten Silber-Silica-Beschichtung auf Glas. Es handelt sich um Dreifachbeschichtungen.<sup>[261]</sup>

Es wurden Risse in den Beschichtungen entlang der Rosettenstrukturen festgestellt, die jedoch nicht zum Ablösen der Beschichtungen führten.<sup>[261]</sup> Vergleichsuntersuchungen auf Glassubstraten zeigten eine homogen ausgebildete Schicht für die nanoporöse Silber-Silica-

Beschichtung, während sich im Falle der dichten Beschichtung Inseln bzw. Blasen gebildet haben (s. Abb. 5.1d).<sup>[261]</sup>

In wiederholten Beschichtungsversuchen wurden diese inselartigen Hervorhebungen ebenfalls festgestellt. Es wird angenommen, dass die Inselbildungen durch die Anwesenheit des Kronenethers in der Syntheselösung verursacht wurden. Dieser führt vermutlich zu einer Erniedrigung der Benetzbarkeit und damit zu einer inhomogenen Ausbildung der dichten Silber-Silica-Schicht.

Eine Charakterisierung der Beschichtungen mittels Röntgen-Diffraktometrie hinsichtlich der Anwesenheit von kristallinem Silber war nicht erfolgreich, was auf äußerst geringe und nicht detektierbare kristalline Silberdomänen bzw. Silbergehalte hinweist (s. Abb. 5.2). Die für die Identifizierung von Silber erwarteten Reflexe bei  $38.1^\circ 2\theta$  (111) und  $44.3^\circ 2\theta$  (200) wurden nicht beobachtet.<sup>[262]</sup> Zudem wurde der für nanoporöse Materialien übliche Reflex bei  $1.2^\circ 2\theta$ , welcher auch als "Meso-Reflex" bezeichnet wird und durch Unterschiede in der Elektronendichte zwischen der Pore und der Porenwand verursacht wird, für die nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung nicht nachgewiesen.<sup>[261]</sup>

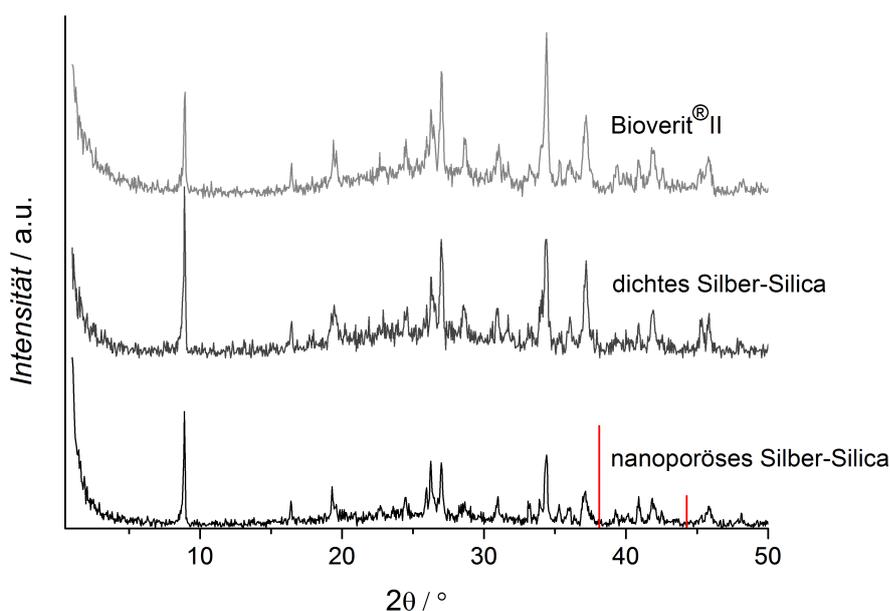


Abb. 5.2: Röntgen-Diffraktogramme von Bioverit®II und Dreifachbeschichtungen mit nanoporösem und dichtem Silber-Silica auf Bioverit®II.<sup>[261]</sup> Durch die roten Linien werden die Reflexlagen und relativen Intensitäten von Silber markiert.<sup>[262]</sup>

Anhand von Vergleichsmessungen mit Beschichtungen auf Glassubstraten wurde ausgeschlossen, dass die raue und unregelmäßige Oberflächenstruktur des Bioverit®II das Auftreten der für Silber charakteristischen Reflexe unterdrückt (s. Anhang, Abb. A.1). Hingegen konnte der "Meso-Reflex" auf einem beschichteten Glassubstrat beobachtet

werden. Es liegt somit nahe, dass in diesem Fall die Detektion durch die raue Oberfläche des Bioverit®II gestört wurde.<sup>[261]</sup>

Ein Vergleich der mit der BET-Methode ermittelten spezifischen Oberflächen von Bioverit®II sowie von nanoporösen Silica-Beschichtungen auf Bioverit®II vor und nach der Inkubation mit wässriger Silbernitratlösung wurde mittels Krypton-Physisorption durchgeführt. Eine Beschichtung des Substrats mit nanoporösem Silica führte zu einem Anstieg der BET-Oberfläche von  $23 \text{ cm}^2 \cdot \text{cm}^{-2}$  auf  $1180 \text{ cm}^2 \cdot \text{cm}^{-2}$ . Die Porenvolumina veränderten sich von  $4.0 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2}$  auf  $6.7 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ . Nach der Inkubation mit der wässrigen Silbernitratlösung reduzierte sich die BET-Oberfläche auf nur noch  $380 \text{ cm}^2 \cdot \text{cm}^{-2}$  und das Porenvolumen auf  $4.9 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ . Dies ist auf die Beladung der Poren mit Silbernanopartikeln, aber auch auf den Zusammenbruch der porösen Silica-Schicht durch Auflösungs- und Repräzipitationsprozesse zurückzuführen.<sup>[5,263]</sup> Die mit anderen Substraten, wie z.B. Glas, vergleichsweise hohe spezifische Oberfläche hängt mit der Rauigkeit des Materials zusammen. Die Sorptionsisothermen sind in Abb. 5.3 dargestellt und zeigen für Bioverit®II eine leichte Hysterese, die jedoch lediglich auf das Befüllen der Unebenheiten wie Löcher und Einkerbungen an der Materialoberfläche zurückzuführen ist. Die Hysterese der beiden beschichteten Proben zeigen den typischen Verlauf für nanoporöse Materialien.<sup>[261]</sup> Porenweitenverteilungen ließen sich aufgrund von vermutlich vorliegenden Flaschenhalsporen nicht bestimmen.

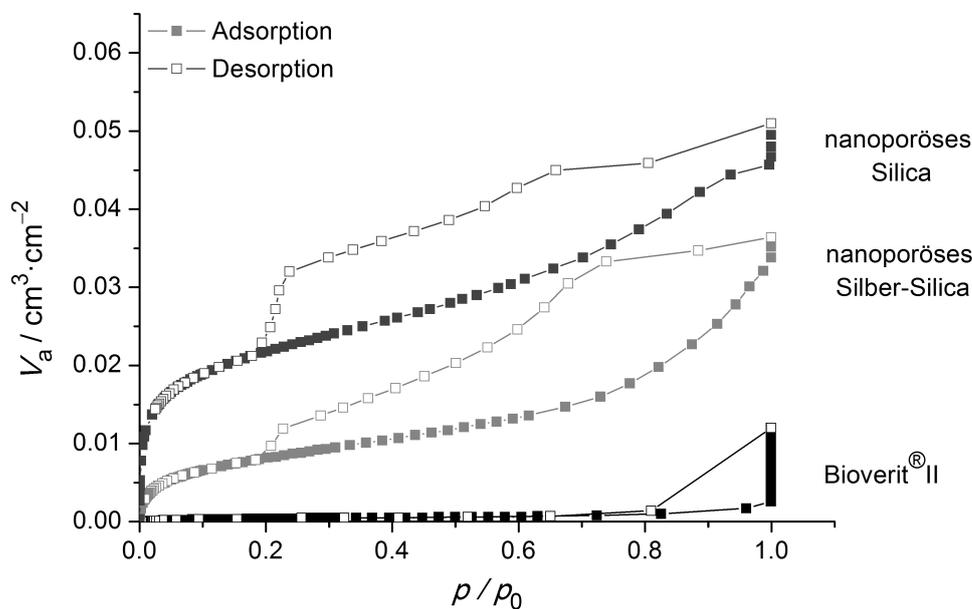


Abb. 5.3: Krypton-Sorptionsisothermen von Bioverit®II, einer nanoporösen Silica-Beschichtung auf Bioverit®II und einer nanoporösen Silber-Silica-Beschichtung auf Bioverit®II.<sup>[261]</sup>

Für die Schichtdickenbestimmung mittels Ellipsometrie wurden einfach beschichtete Silicium-Wafer verwendet. Dreifachbeschichtungen waren nicht realisierbar, da diese wäh-

rend des Beschichtungsprozesses zu zunehmenden Inhomogenitäten auf dem Wafer führten. Im Falle der dichten Silber-Silica-Beschichtung wurde der Wafer zuvor mit einer verdünnten Pluronic® F127-Tensidlösung vorbehandelt, um die Benetzbarkeit der Substrate zu verbessern. In Tab. 5.1 sind die ermittelten Schichtdicken aufgeführt. Es zeigt sich kein Unterschied für nanoporöse Silica-Beschichtungen mit und ohne Silber. Für beide ergeben sich Werte im Bereich zwischen 170 nm und 180 nm. Aus diesem Ergebnis lässt sich schlussfolgern, dass eine nachträgliche Inkubation der Beschichtung mit einer wässrigen Silbernitratlösung keinen erkennbaren Einfluss auf die Schichtdicke hat. Die Beschichtung mit dichtem Silber-Silica ist mit ca. 70 nm deutlich dünner. Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Messungen durch Inhomogenitäten, verursacht durch Benetzungsprobleme während der Herstellung, erschwert waren.

Tab. 5.1: Schichtdicken  $d$  von nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen. Es handelt sich um Einfachbeschichtungen auf Silicium-Wafern.

Beschichtungstyp	$d$ / nm
nanoporöses Silica	$178 \pm 10$
nanoporöses Silber-Silica	$170 \pm 8$
dichtes Silber-Silica	$72 \pm 5$

Als gute und einfache Möglichkeit zum Nachweis von Silber bietet sich die optische Spektroskopie an, bei der die charakteristische Oberflächenplasmonenresonanz von Silbernanopartikeln genutzt wird. Hierfür wurden Absorptionsspektren von einer nanoporösen und einer dichten Silber-Silica-Beschichtung über einen Bereich von 300 - 700 nm gemessen. Abb. 5.4 zeigt, dass für beide Beschichtungen eine einzige Absorptionsbande bei 408 nm resultiert. Diese entspricht einer Dipol-Plasmonenresonanz für Silber und deutet auf das Vorliegen von sehr kleinen sphärischen Silbernanopartikeln hin.<sup>[264-266]</sup> Das Vorliegen von aggregierten oder anisotropen Nanopartikeln konnte ausgeschlossen werden, da es in diesen Fällen zu Kopplungen von Plasmonen kommen würde und mehr als eine Absorptionsbande detektiert werden würde.<sup>[264,265,267]</sup> Eine Differenzierung zwischen Silbernanopartikeln in der dichten und der nanoporösen Beschichtung, wie sie von Cai *et al.* in Silber-Silica-Partikeln beobachtet wurde, konnte nicht festgestellt werden.<sup>[266]</sup> Diese Gruppe fand einen Zusammenhang zwischen einem Absorptions-Shift und der umgebenden Silicamatrix. Möglicherweise ist dieser Effekt für die hier untersuchten nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen nicht zu erkennen, weil die poröse Struktur durch die Inkubation mit einer wässrigen Silbernitratlösung kollabiert und Nanopartikel somit in beiden Beschichtungstypen nahezu vollständig eingebettet sind. Die Charakterisierung der Silber-Silica-Beschichtungen auf Bioverit®II-Substraten war mit dieser Methode, wegen der sehr rauen Oberflächenstruktur, selbst mit einer Zehnfachbeschichtung nicht möglich.

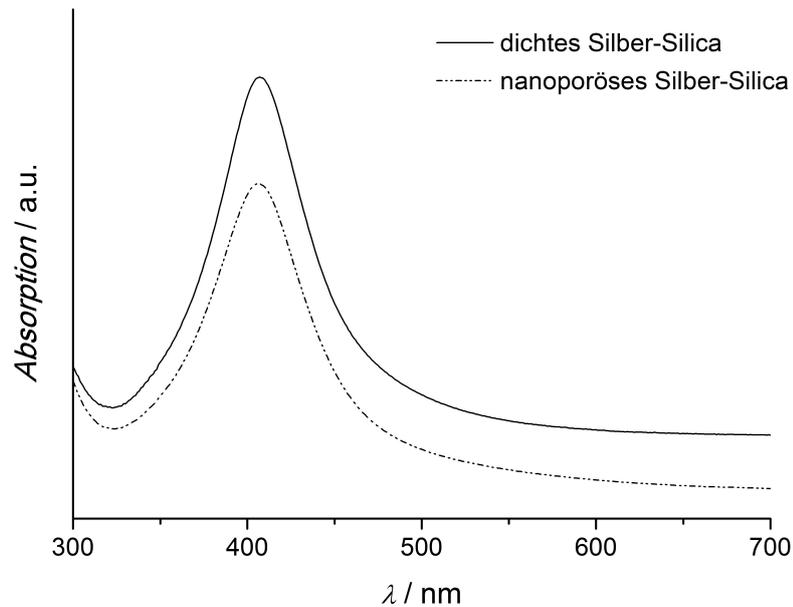


Abb. 5.4: Absorptionsspektren von einfach beschichteten Glassubstraten. Nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung und dichte Silber-Silica-Beschichtung.

Eine eingehende Untersuchung der Beschichtungen erfolgte zusätzlich mit der Transmissionselektronenmikroskopie. Abb. 5.5a zeigt die nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung mit einem deutlich ausgeprägten hexagonalen Porensystem und Porendurchmessern von ca. 8 nm. Auffällig erscheint, dass in diesen porösen Domänen keine Silbernanopartikel beobachtet wurden. Neben diesen Bereichen sind aber vor allem auch nicht-poröse Bereiche in der Beschichtung enthalten, in denen das Vorliegen von Silbernanopartikeln gezeigt werden konnte (s. Abb. 5.5b). Der Nachweis, dass es sich hierbei um Silber handelte, erfolgte durch Frank Steinbach und Prof. Dr. Armin Feldhoff mittels EDX-Messungen am Institut für Physikalische Chemie der Leibniz Universität Hannover.

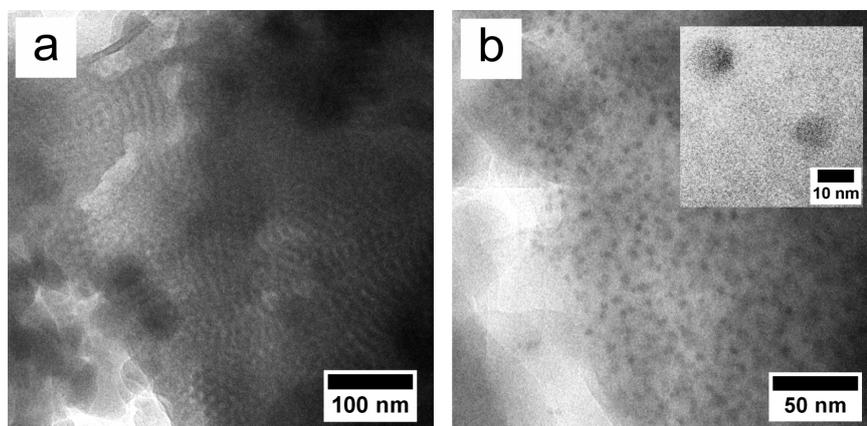


Abb. 5.5: TEM-Aufnahmen einer nanoporösen Silber-Silica-Beschichtung. a) Aufnahme einer Domäne mit geordnetem Porensystem und b) Aufnahme einer nicht-porösen Domäne mit Silbernanopartikeln.

Diese Beobachtungen zeigen, dass die Silbernitratlösung während der Inkubationszeit nicht das gesamte Porensystem erreicht haben kann. Durch Degradationsprozesse des Silicas ist die poröse Struktur kollabiert, sodass die Silberionen vermutlich keinen weiteren Zugang zu tieferliegenden Schichten hatten. Auf diese Weise lässt sich die Bildung der nicht-porösen Bereiche und das Vorliegen der Silbernanopartikel ausschließlich in diesen Domänen erklären. Innerhalb der nicht-porösen Domänen befanden sich hauptsächlich sphärische Silbernanopartikel mit einem Durchmesser von  $5 \pm 1$  nm. Außerdem wurden Partikel mit Größen von  $10 \pm 1$  nm gefunden, sodass eine schwache bimodale Verteilung mit einem Maximum bei 5.5 nm resultiert. Die dichte Silber-Silica-Beschichtung wies eine durchgehend kompakte Silica-Schicht mit sphärischen Silbernanopartikeln im Größenbereich von  $8 \pm 1$  nm (s. Abb. 5.6) auf. Die Silbernanopartikel in der dichten Silica-Beschichtung waren in einigen Bereichen ungleichmäßig verteilt und wiesen größere Abstände untereinander auf als in der nanoporösen Silica-Beschichtung.

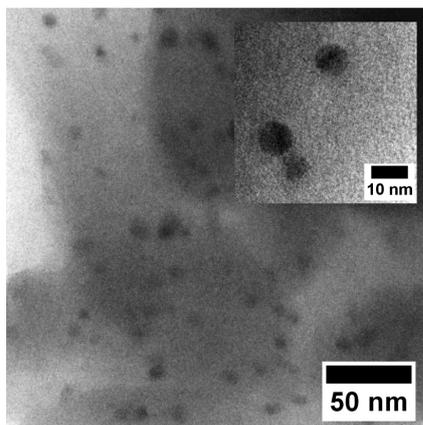


Abb. 5.6: TEM-Aufnahme einer dichten Silber-Silica-Beschichtung.

Ein möglicher Erklärungsansatz für die bimodale Verteilung in der nanoporösen Silber-Silica-Beschichtung basiert auf der Annahme, dass es während des Calcinationsprozesses zu einem ähnlichen Verhalten wie bei einer Ostwaldreifung kommt.<sup>[266,268]</sup> Zu Beginn des Calcinationsprozesses, bei Temperaturen ab  $300^\circ\text{C}$ , bilden sich aus Silbernitrat Silbernanopartikel.<sup>[269,270]</sup> Silberatome diffundieren dann auf der Partikeloberfläche und gehen als adsorbierte Atome auf die Porenwände über. Die Konzentration der adsorbierten Atome ist aufgrund des großen Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnisses um kleine Partikel herum größer als um große, sodass ein Konzentrationsgradient entsteht, dem das System versucht entgegenzuwirken.<sup>[268]</sup> Folglich wachsen große Partikel auf Kosten kleinerer. Dieser Mechanismus erklärt jedoch nicht, warum die kleinen Partikel mit 5 nm in größerer Anzahl vorlagen als die Partikel mit 10 nm Durchmesser. Ein weiterer Erklärungsansatz für die bimodale Verteilung ist die Bildung eines Silberkonzentrationsgradienten innerhalb der Schicht, der durch die Inkubation mit wässriger Silbernitratlösung verursacht wird.

Hier wäre eine absinkende Silberionenkonzentration von der Beschichtungsoberfläche in Richtung des Schichtinneren zu erwarten, sodass große Silbernanopartikel nur nahe der Beschichtungsoberfläche gebildet werden. Aufgrund der Probenpräparation für die Transmissionselektronenmikroskopie, die ein Abtragen der Beschichtung beinhaltete, kann keine Aussage darüber getroffen werden, welche Partikelgrößen sich bevorzugt im Inneren oder an der Oberfläche der Schicht befinden.

### 5.1.2 Silberfreisetzung

Die Probenherstellung der nanoporösen Silber-Silica-Beschichtung, das anschließende Freisetzungsexperiment, die Analysen der Freisetzungsmitteln mittels AAS sowie deren Auswertung erfolgten durch P. Abendroth innerhalb seiner Masterarbeit.<sup>[261]</sup> Die Herstellung sowie die Durchführung des Experimentes für die Freisetzung aus der dichten Silber-Silica-Beschichtung erfolgten durch T. Heemeier. Die Analysen der Freisetzungsmitteln mittels AAS sowie deren Auswertung wurden durch P. Abendroth vorgenommen. Die Planung der Experimente und die Interpretation der Ergebnisse erfolgten in gemeinsamer Zusammenarbeit.

Das Freisetzungverhalten von Silber aus der nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtung wurde über sieben Tage bei 37 °C in Reinstwasser untersucht. Dieses Freisetzungsmitteln wurde gewählt, um die Bildung schwerlöslicher Silbersalze zu vermeiden. Die entsprechenden Freisetzungskurven sind in Abb. 5.7 dargestellt.

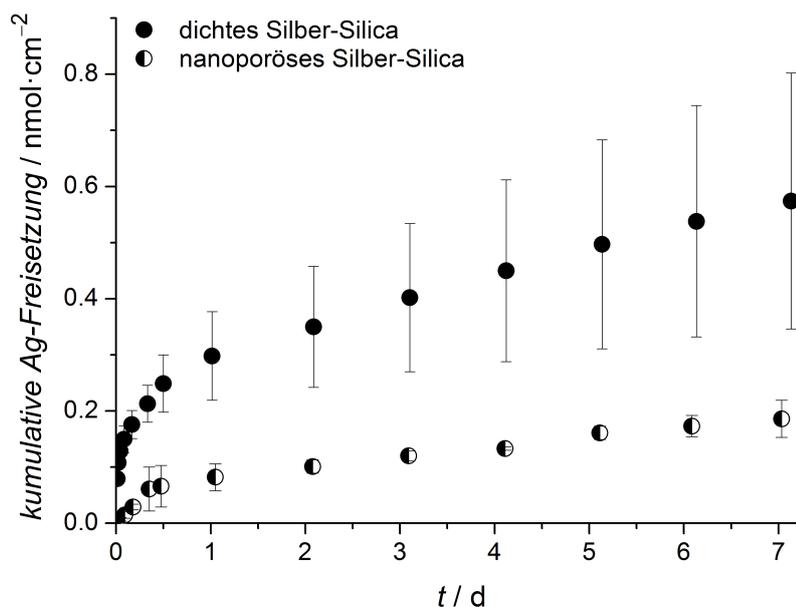


Abb. 5.7: Silberfreisetzungskurven von nanoporösen<sup>[261]</sup> und dichten Silber-Silica-Beschichtungen auf Bioverit<sup>®</sup>II über einen Zeitraum von sieben Tagen.

Für beide Beschichtungstypen ergaben sich Freisetzungskurven, die sich in zwei Schritte unterteilen lassen. Innerhalb der ersten zwölf Stunden wurde für beide Beschichtungen ein *burst release*, d.h. eine schnelle und starke Silberfreisetzung, beobachtet. Nach dem *burst release*, ab Tag 1, folgte bis zum Ende des Untersuchungszeitraums eine konstante Silberfreisetzung. Der *burst release* machte für die nanoporöse Beschichtung einen Anteil von 36% und für die dichte Beschichtung einen Anteil von 43% der gesamten freigesetzten Silbermenge aus. Für die dichte Silber-Silica-Beschichtung wurde eine kumulative Silberkonzentration von  $0.58 \pm 0.23 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$  ( $0.070 \pm 0.028 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) und für die nanoporöse Beschichtung von  $0.19 \pm 0.03 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$  ( $0.020 \pm 0.004 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) ermittelt. Für die nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung wurde sowohl für den Bereich des *burst release* als auch für den anschließenden Bereich ein lineares Verhalten und damit eine Freisetzung entsprechend einer Kinetik nullter Ordnung festgestellt. Lineare Annäherungen ergaben für den *burst release* eine Steigung von  $42 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$  und zwischen Tag 1 und Tag 7 von  $18 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ . Eine lineare Annäherung für die Freisetzung aus der dichten Silber-Silica-Beschichtung ist nur im Zeitraum von Tag 1 bis Tag 7 möglich und ergibt eine Steigung von  $46 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ . Die vergleichsweise geringe freigesetzte Menge aus der nanoporösen Beschichtung könnte mit einer möglichen Porenblockierung während der Inkubation durch ein Kollabieren der porösen Struktur und damit einer Limitierung des Silbergehaltes in der Schicht erklärt werden. Die sehr geringen freigesetzten Silbermengen sind vergleichbar mit Konzentrationen von  $0.035\text{--}0.045 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ , die von Massa *et al.* publiziert wurden und eine ausreichende antibakterielle Wirksamkeit gegen das Bakterium *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* zeigten.<sup>[271]</sup>

Die Ausbildung eines *burst release* für beide Beschichtungstypen ist sehr wahrscheinlich auf Degradationsprozesse des amorphen Silicas zurückzuführen. Es ist bekannt, dass diese Silicaspezies besonders in den ersten Stunden, in denen sie mit Wasser in Kontakt steht, zu einer ausgeprägten Degradation neigt.<sup>[272]</sup> Zudem führt in diesem Zeitraum an der Oberfläche adsorbiertes Silber zu einer schnelleren Silberfreisetzung. Die unterschiedlichen Verhalten für die nanoporöse und dichte Beschichtung sind vermutlich in den unterschiedlichen Herstellungsprozessen und folglich mit unterschiedlichen Silberkonzentrationen an der Oberfläche begründet. Die linearen Anstiege nach Tag 1 können durch kontinuierliche und langsame Auflösungsprozesse, welche auch im Inneren der Schicht ablaufen, erklärt werden.

Die großen Standardabweichungen, die sich für die dichte Silber-Silica-Beschichtung im Vergleich zu der nanoporösen Beschichtung ergaben, werden ebenfalls auf die Unterschiede im Herstellungsprozess zurückgeführt. Im Falle des dichten Beschichtungstyps spielen Inhomogenitäten auf der Substratoberfläche eine größere Rolle, da diese den Einbau des Silberionen-Kronenether-Komplexes in die Silica-Matrix beeinflussen könnten. Das

Resultat wäre eine inhomogene Verteilung des Silbers in der Beschichtung, wodurch sich unterschiedliche Silberfreisetzungen ergeben. Außerdem bieten die insel- bzw. blasenartigen Inhomogenitäten unterschiedlich starke Angriffspunkte für einen Auflösungsprozess. Die Herstellung der Beschichtungen in zwei Schritten, wie sie für die nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung erfolgt, scheint zu besser reproduzierbaren Beschichtungen zu führen.

### 5.1.3 Degradationsstudie

Die Herstellung der Proben sowie die Probenpräparationen für die TEM-Untersuchungen erfolgten durch P. Abendroth und T. Heemeier zu gleichen Teilen. Die Ausmessungen der Partikel wurden von P. Abendroth durchgeführt. Die Planung der Experimente und die Interpretation der Ergebnisse in Zusammenhang mit den vorherigen Untersuchungen erfolgte durch P. Abendroth und T. Heemeier zu gleichen Teilen.

Für eine tiefergehende Charakterisierung und Erklärung der beobachteten Silberfreisetzungsverhalten wurden mit beiden Beschichtungstypen Degradationsexperimente durchgeführt. Es erfolgten Untersuchungen der Beschichtungen mittels TEM nach 1, 3 bzw. 7 Tagen Lagerung unter Freisetzungsbedingungen (Reinstwasser, 37 °C).

Wie Abb. 5.8a zeigt, enthielt die nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung auch nach einer eintägigen Behandlung in Reinstwasser zwei verschiedene Silicastrukturen wie sie für die unbehandelte Probe beschrieben wurden (vgl. Abb. 5.5). Die nanoporöse Struktur war noch deutlich zu erkennen. Das geordnete Porensystem kollabierte hier aufgrund von Auflösungs- und Repräzipitationsprozessen, sodass die gesamte Beschichtung kompakter erschien. Silbernanopartikel waren auch in dieser Probe nur in den dichten Domänen zu erkennen. Nach einer drei- und siebentägigen Lagerung in Reinstwasser wurden die porösen Strukturen nicht mehr beobachtet. Dies lässt auf eine vollständige Degradation dieser Bereiche schließen (s. Abb. 5.8b,c). In allen untersuchten Beschichtungen wurde eine Vielzahl von Silbernanopartikeln beobachtet. Diese wiesen konstante Partikelgrößen von ca. 6 nm auf (s. Tab. 5.2 und Abb. 5.9).

Tab. 5.2: Entwicklung von Silbernanopartikeldurchmessern nach der Degradation von Silber-Silica-Beschichtungen in Reinstwasser bei 37 °C.

<i>Zeit / d</i>	<i>Durchmesser / nm</i>	
	nanoporös	dicht
0	6 ± 2	8 ± 1
1	7 ± 1	7 ± 1
3	6 ± 1	5 ± 1
7	6 ± 2	2 ± 1

Nach einer dreitägigen Behandlung der dichten Silber-Silica-Beschichtung wurden weichere abgerundete Fragmente im Vergleich zu einer eintägigen Behandlung festgestellt, was, wie erwartet, durch eine schnellere Auflösung des Silicas verursacht wurde. Als besonders auffällig stellte sich eine kontinuierliche Abnahme der Partikeldurchmesser von 8 nm auf 2 nm (s. Tab. 5.2 und Abb. 5.9) mit zunehmender Lagerung in Wasser heraus.

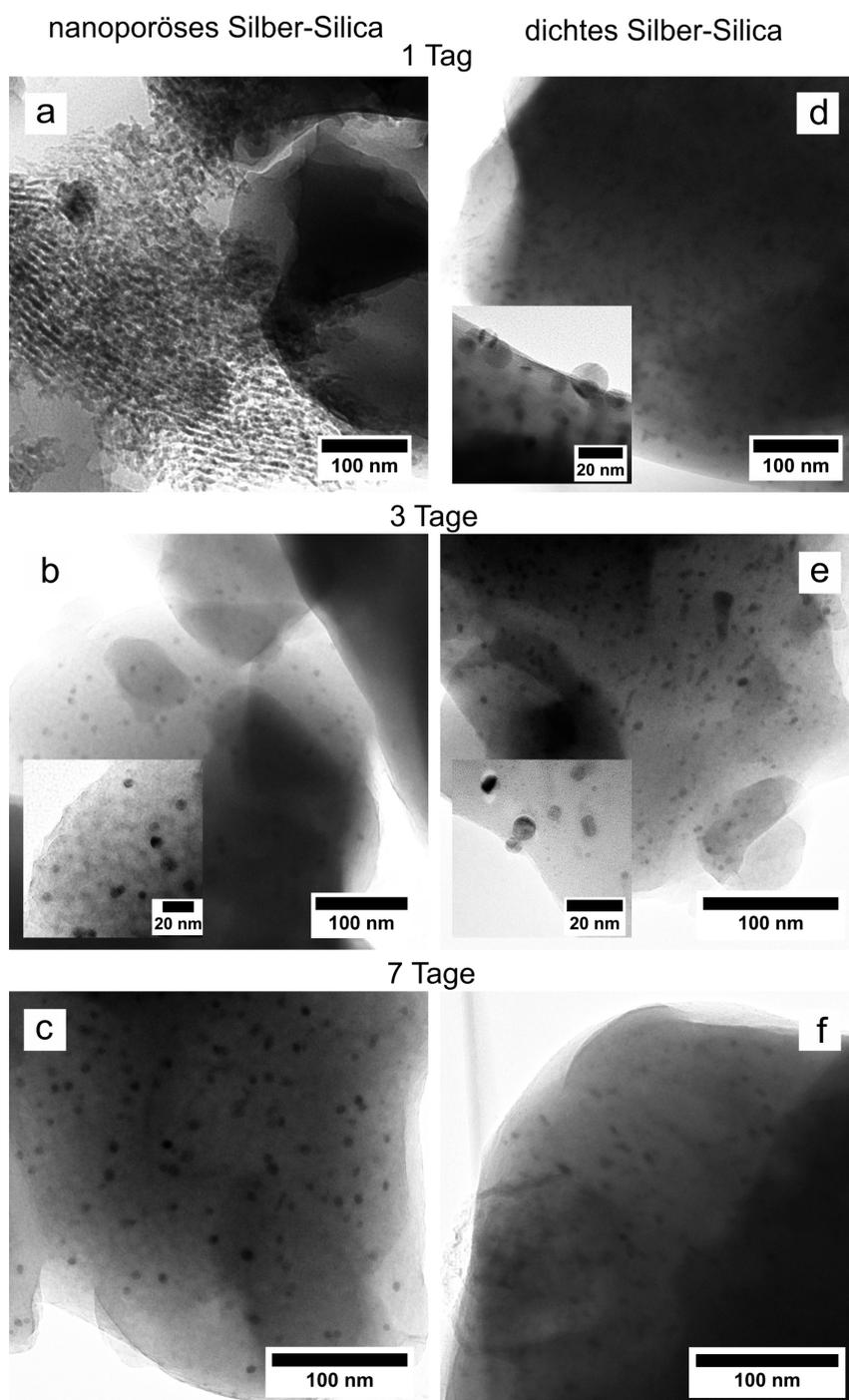


Abb. 5.8: TEM-Aufnahmen von nanoporösen (a-c) und dichten (d-f) Silber-Silica-Beschichtungen nach 1, 3 und 7 Tagen Lagerung in Reinstwasser bei 37°C.

Abb. 5.9 zeigt die Entwicklung der Partikeldurchmesser und Partikelgrößenverteilungen über den Zeitraum von 0 bis 7 Tagen, wobei 0 Tage den Zustand vor dem Kontakt mit Wasser beschreibt. TEM-Aufnahmen der dichten Silber-Silica-Beschichtung zeigten für einige Fragmente Partikel, die noch teilweise in der Oberfläche der Beschichtung verankert waren, aber auch zu gewissen Anteilen frei lagen (s. Abb. 5.8d,e, kleine Bildausschnitte). Es ist möglich, dass diese Partikel bei fortgeschrittener Silicaauflösung aus der Beschichtung herausgeschwemmt werden. Dies würde in biologischen Systemen bedeuten, dass das Silber nicht vollständig aufgelöst werden würde, bevor es das Zielgewebe erreicht hat und Silberionen gegebenenfalls nicht in ausreichender Konzentration für eine antibakterielle Wirkung vorliegen. Eine Unterscheidung zwischen freigesetzten Silbernanopartikeln und Silberionen erfolgte in der Analyse der Freisetzungsmidien mittels AAS nicht, da diese Methode alle Silberspezies erfasst.

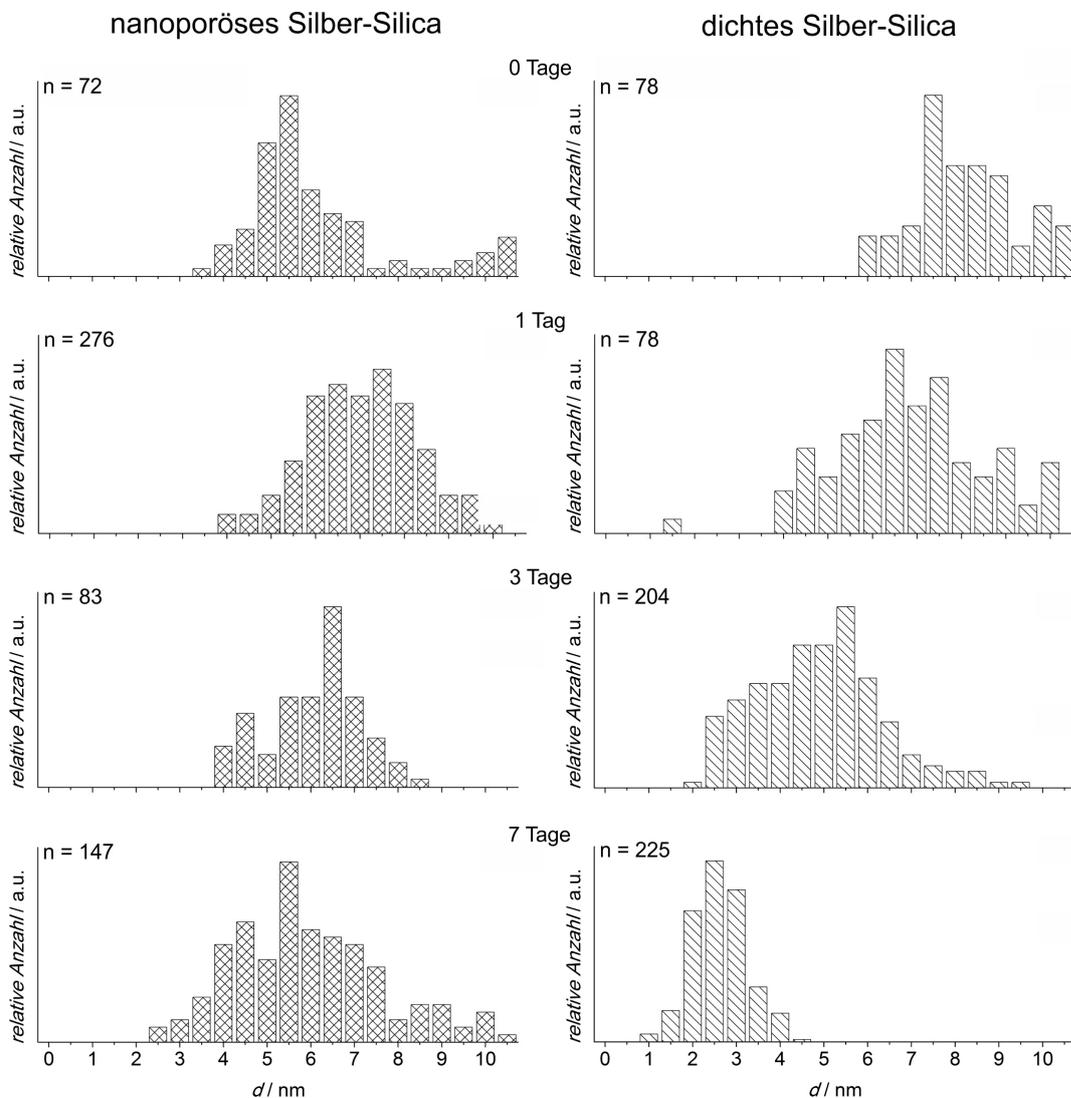


Abb. 5.9: Größenverteilungen von Silbernanopartikeln in nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen nach 0, 1, 3 und 7 Tagen Lagerung in Reinstwasser bei 37 °C.

Diese Ergebnisse zeigen, dass für die nanoporöse und die dichte Beschichtung unterschiedliche Degradationsmechanismen ablaufen. Insgesamt unterstützen die Degradationsuntersuchungen die Ergebnisse aus den Freisetzungsexperimenten sehr gut. Die größeren freigesetzten Silberkonzentrationen der dichten Beschichtung werden demnach auf die Abnahme der Partikeldurchmesser innerhalb des Versuchszeitraums zurückgeführt. Da erwartet wurde, dass die poröse Beschichtung aufgrund der offeneren Struktur besser für die Degradation zugänglich sein müsste, werden im Folgenden zwei Erklärungsvorschläge für das tatsächlich beobachtete Verhalten gegeben.

Der erste Erklärungsvorschlag geht auf die Bildung einer inhomogenen Beschichtung, wie sie in Abschnitt 5.1.1 (s. Abb. 5.1d) für den dichten Beschichtungstyp beschrieben wurde, zurück. Durch die inselartigen Strukturen ist die Beschichtung, aufgrund einer größeren makroskopischen Oberfläche, wesentlich angreifbarer für Degradationsprozesse als es für eine kontinuierliche Schicht, wie bei der nanoporösen Silber-Silica-Beschichtung, der Fall ist.

Im zweiten Vorschlag wird die Annahme getroffen, dass sich während der Herstellung der Schichten eine Hülle um die Silbernanopartikel bildet. Es wäre denkbar, dass sich während der dreitägigen Inkubation der nanoporösen Beschichtung mit Silbernitrat eine Schicht aus  $\text{Ag}_2\text{O}$  bildet. Eine solche Schicht wäre schwerlöslich und würde den Auflösungsprozess der Silbernanopartikel erschweren und verzögern. Hiermit könnte auch erklärt werden, warum sich die Partikelgrößen über den gesamten Untersuchungszeitraum nicht verändern. Im Falle der dichten Beschichtung, bei der die Kondensation des Silicas und die Bildung der Silbernanopartikel in einem Calcinationsschritt ablaufen, kann sich eine besser lösliche Silber-Silicat-Hülle gebildet haben. Diese ist leichter zugänglich als Silbernanopartikel und würde den Auflösungsprozess begünstigen.

#### 5.1.4 *In vitro*-Untersuchungen

Die Planung der Experimente und die Probenherstellung für die Cytokompatibilitätstests sowie für die Prüfung der antibakteriellen Wirksamkeit wurden von T. Heemeier durchgeführt. Die Cytokompatibilitätstests wurden von Dr. B. Rais und die Tests auf antibakterielle Wirksamkeit von Dr. I. M. Rahim jeweils am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig durchgeführt. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte in Zusammenarbeit von P. Abendroth und T. Heemeier.

## Cytokompatibilität

Zur Evaluierung der Cytokompatibilität der nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen wurden die murine Fibroblastenzelllinie NIH 3T3 und die humanen Osteoblastenvorläuferzellen MG 63 verwendet. Beide Zelltypen sind relevant für die Anwendung im Mittelohr. Fibroblasten sind Bindegewebsbildungszellen. Sie kommen vielfältig im Körper vor und sind an Regenerations- und Umbauprozessen beteiligt. Hier ist z.B. die Bildung einer schützenden *Mucosa* um das Mittelohrimplantat nach dem operativen Eingriff ein wichtiger Prozess. Osteoblastenvorläuferzellen sind hingegen am Aufbau von knöchernen Strukturen beteiligt. Diese sind in gewisser Weise auch im Mittelohr nach einer Implantation einer TORP gewünscht, um diese an der Steigbügelseite hin zum ovalen Fenster zu fixieren und verbliebene Strukturen zu erhalten.<sup>[52]</sup>

Mikroskopische Untersuchungen zeigten nach einer Kultivierungszeit von zwei Tagen eine größtenteils vollständige Zellkonfluenz, d.h. Bedeckung der Oberfläche, für beide Zelllinien und für alle Beschichtungstypen mit und auch ohne Silber (s. Abb. 5.10 und 5.11).

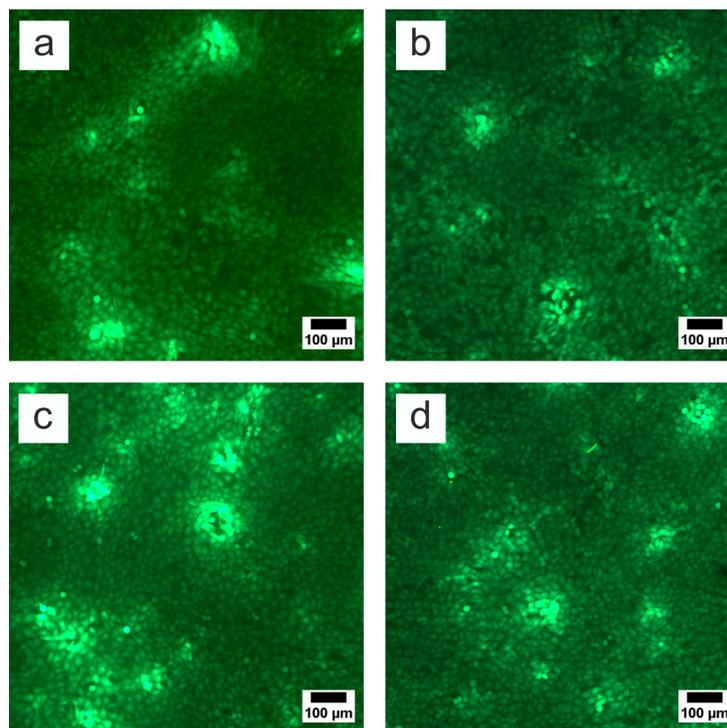


Abb. 5.10: Mikroskopische Aufnahmen der Zellmorphologie und -konfluenz von NIH 3T3-Zellen auf nanoporösem Silica (a), nanoporösem Silber-Silica (b), dichtem Silica (c) und dichtem Silber-Silica (d) auf Bioverit®II nach einer Kultivierungszeit von zwei Tagen.

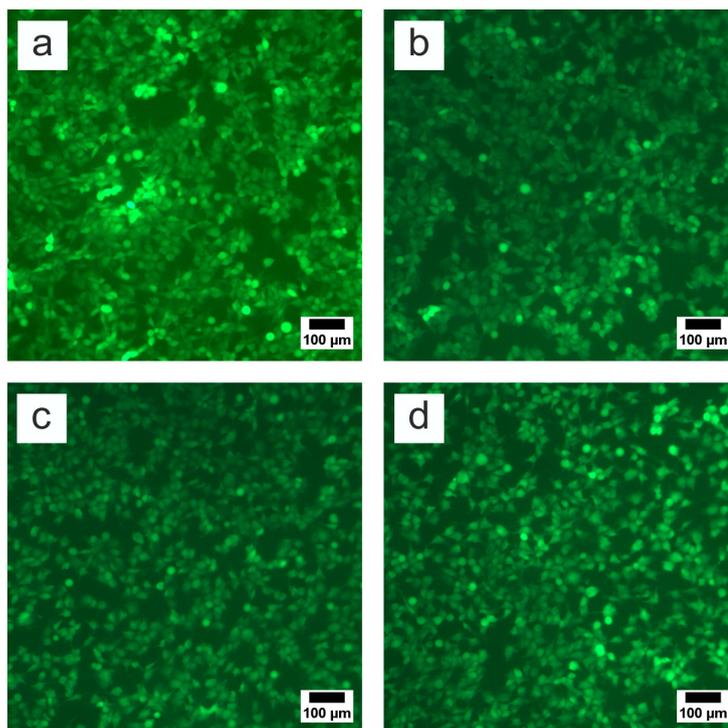


Abb. 5.11: Mikroskopische Aufnahmen der Zellmorphologie und -konfluenz von MG 63-Zellen auf nanoporösem Silica (a), nanoporösem Silber-Silica (b), dichtem Silica (c) und dichtem Silber-Silica (d) auf Bioverit®II nach einer Kultivierungszeit von zwei Tagen.

Die Zellen zeigten ein gutes Spreitverhalten, d.h. sie breiteten sich flächig aus, wodurch größerer Stress für die Zellen ausgeschlossen wird. Die Bedeckung mit MG 63-Zellen erschien minimal geringer im Vergleich zu den NIH 3T3-Zellen, welche folglich etwas besser adhärten und proliferierten. Diese Beobachtung spiegelt sich in den absoluten Zellzahlen pro  $\text{cm}^2$  wieder, die insgesamt für NIH 3T3 größer waren und auch im Bereich der Zellzahl der Zellkulturplatte (Kontrolle) lagen (s. Abb. 5.12 und 5.13). Die Proliferation der NIH 3T3-Zellen war für die dichte Silber-Silica-Beschichtung geringfügig größer verglichen mit der Kontrolle und den anderen getesteten Beschichtungen. Die Proliferation von NIH 3T3 auf der nanoporösen Silber-Silica-Beschichtung zeigte hingegen eine marginale Tendenz zu einer geringeren Proliferation. Die Adhäsion und Proliferation der MG 63-Zellen waren auf allen Beschichtungstypen ähnlich, aber minimal geringer als bei der Kontrolle. Insgesamt sind somit sowohl die Beschichtungen ohne Silber als auch mit Silber als cytokompatibel gegenüber den zwei gewebespezifischen Zelltypen einzustufen.

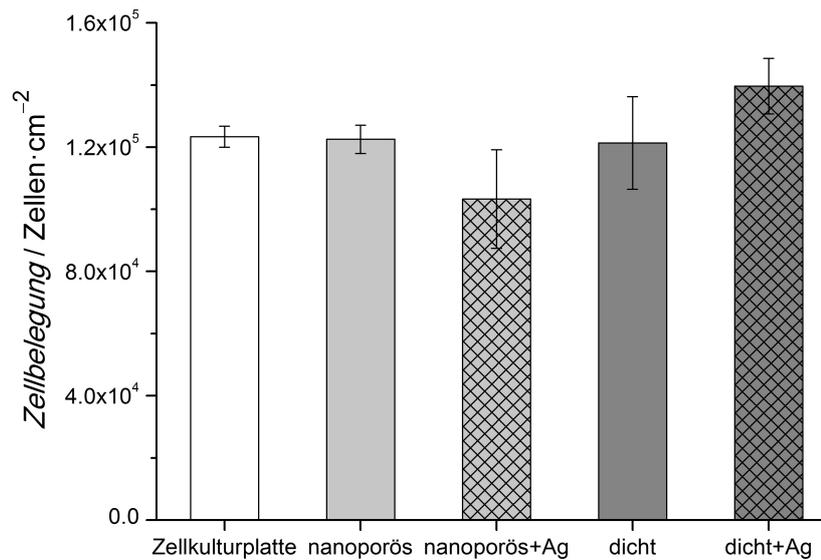


Abb. 5.12: Anzahl der NIH 3T3-Zellen nach einer Kultivierung von zwei Tagen auf nanoporösem Silica, nanoporösem Silber-Silica, dichtem Silica und dichtem Silber-Silica auf Bioverit®II. Die Zellkulturplatte diente als Kontrolle.

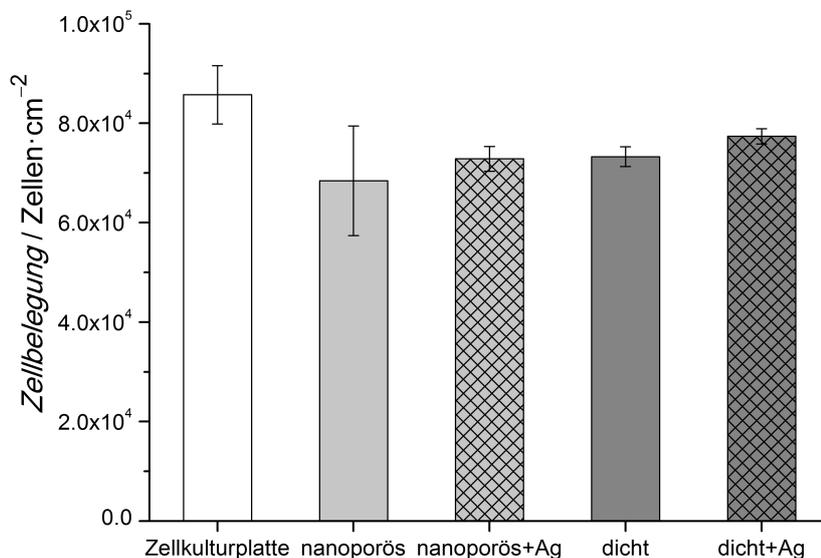


Abb. 5.13: Anzahl der MG 63-Zellen nach einer Kultivierung von zwei Tagen auf nanoporösem Silica, nanoporösem Silber-Silica, dichtem Silica und dichtem Silber-Silica auf Bioverit®II. Die Zellkulturplatte diente als Kontrolle.

### Antibakterielle Wirksamkeit

Die antibakterielle Wirksamkeit der nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtung wurde mit lumineszierenden *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1 CTX:lux) untersucht, die in Form des Wildtyps neben weiteren Bakterien häufig bei der chronischen *Otitis media*

gefunden werden.<sup>[10]</sup> Eine erfolgreiche Bekämpfung dieser Bakterien würde somit die Infektion nach einer TORP-Implantation unterbinden.

In Abb. 5.14 sind die Ergebnisse aus der Untersuchung von frisch hergestellten Proben und in Abb. 5.15 nach einer fünftägigen Auslagerung in PBS dargestellt. 9 min nach der Besiedelung mit Bakterien kommt es für die Kontrolle Bioverit®II sowie für alle Beschichtungen zunächst zu einem Anstieg der Bakterienzahl. Dieser Anstieg konnte im Falle der frisch hergestellten Proben nur für die dichte Silber-Silica-Beschichtung erfolgreich reduziert werden, sodass hier eine initiale antibakterielle Aktivität gegeben ist. Die nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung zeigt keine antibakterielle Aktivität. Folglich ist die freigesetzte Silbermenge hier nicht ausreichend. Die in den Freisetzungsexperimenten freigesetzte Silbermenge wird generell als sehr gering eingeordnet und liegt dabei wohl für die nanoporöse Beschichtung gerade unterhalb der Grenze zur Wirksamkeit für die getestete Bakterienmenge.

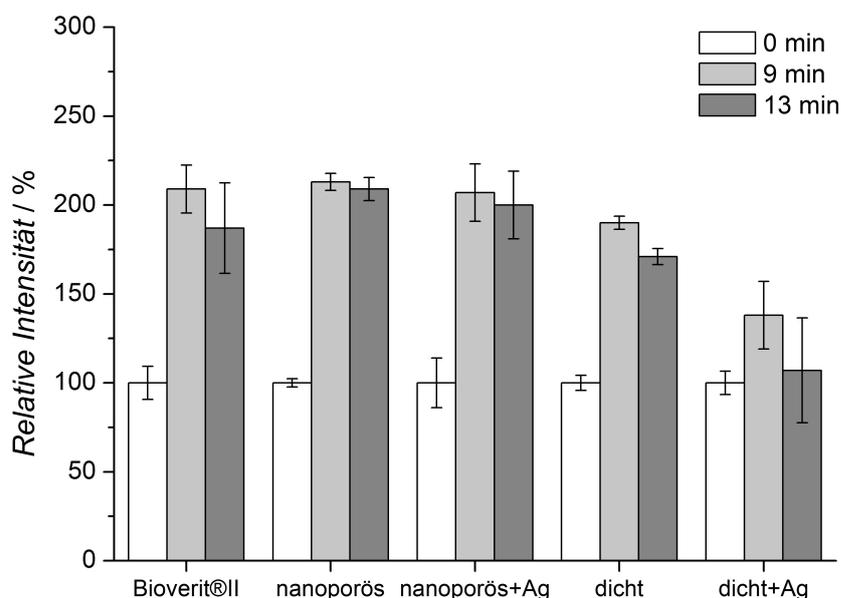


Abb. 5.14: Initiale antibakterielle Aktivität von Silber-Silica-Beschichtungen direkt nach der Herstellung gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*.

Die Untersuchung an Proben, die für fünf Tage in PBS eingelagert wurden und damit die Wirksamkeit fünf Tage nach einer Implantation simulieren sollten, zeigte für keine der silberhaltigen Beschichtungen eine antibakterielle Aktivität auf die eingesetzte Bakterienmenge. Erstaunlicherweise führte jedoch die silberfreie nanoporöse Beschichtung zu einer deutlichen Reduzierung des Signals und auch alle anderen Beschichtungen zeigten eine geringfügige Signalerniedrigung im Vergleich zum unbeschichteten Bioverit®II (s. Abb. 5.15). Ein solcher antibakterieller Effekt wurde ebenfalls von der Gruppe um Massa für eine nanoporöse Silica-Beschichtung festgestellt, welche mit dem Bakterium *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* besiedelt wurde.<sup>[271]</sup>

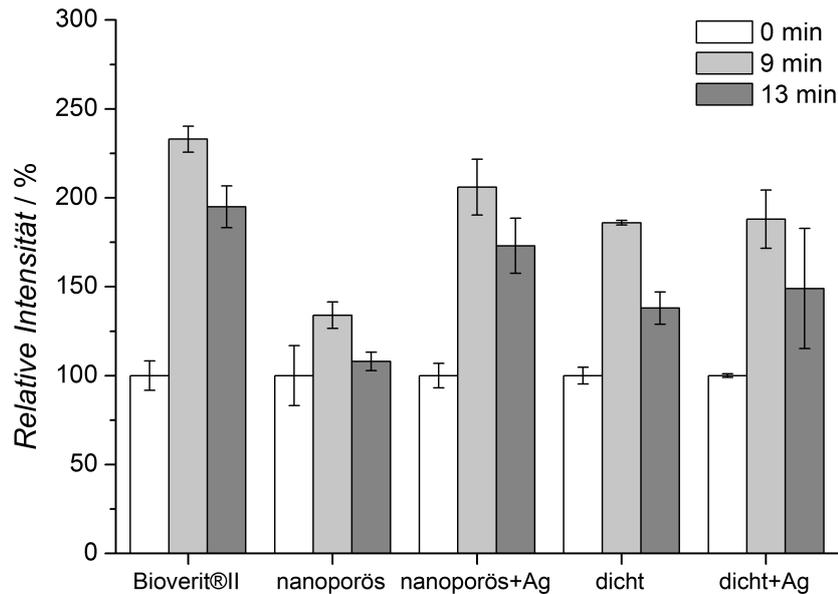


Abb. 5.15: Initiale antibakterielle Aktivität von Silber-Silica-Beschichtungen nach einer fünftägigen Behandlung der Proben mit PBS gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*.

Es ist möglich, dass die freigesetzten Silbermengen ausreichend wären, wenn zuvor das initiale Bakterienwachstum direkt nach der Implantation reduziert wird, wie es mit der frisch hergestellten Probe gezeigt wurde. In beiden Tests wurde jedoch die gleiche Bakterienkonzentration verwendet und damit gleiche Startbedingungen vorausgesetzt.

### 5.1.5 Zusammenfassung

Für die Bekämpfung von Infektionen nach der Implantation einer Mittelohrprothese ist eine antibakterielle Beschichtung dieser für eine lokale Wirkung wünschenswert. Hierfür wurden eine silberhaltige nanoporöse und eine dichte Silica-Beschichtung untersucht.

Es wurde eine erfolgreiche Beschichtung des Substrates Bioverit®II mit nanoporösem bzw. dichtem Silber-Silica nachgewiesen. Die Schichtdicken betragen für eine Einfachbeschichtung mit nanoporösem Silber-Silica  $170 \pm 10$  nm und für dichtes Silber-Silica  $72 \pm 5$  nm. Für die nanoporöse Beschichtung konnte mittels Krypton-Physisorption erfolgreich die Bildung von nanoporösen Strukturen mit einer spezifischen Oberfläche von  $1180 \text{ cm}^2 \cdot \text{cm}^{-2}$  bestätigt werden. Mit Hilfe von TEM-Untersuchungen von silberfreien nanoporösen Beschichtungen wurde zudem ein geordnetes hexagonales Porensystem mit Porendurchmessern von ca. 8 nm gezeigt. Der Nachweis für erfolgreich eingelagertes Silber erfolgte durch Ausnutzung der Oberflächenplasmonenresonanz von Silbrenanopartikeln mittels optischer Spektroskopie. TEM-Aufnahmen von beiden Beschichtungstypen bewiesen ebenfalls die Bildung von Silbrenanopartikeln in den Silica-Beschichtungen mit Durchmessern von ca. 6 nm in der

nanoporösen und ca. 8 nm in der dichten Schicht. Hierbei wurden außerdem zwei Schichtstrukturen für die nanoporöse Silber-Silica-Beschichtung gefunden. Es wurden Fragmente mit definierter poröser Struktur beobachtet, in denen keine Silbernanopartikel vorlagen, sowie kompakte Silica-Fragmente, welche die Silbernanopartikel enthielten. Der Verlust der porösen Struktur nach Lagerung im wässrigen Medium ist auf Degradationsprozesse des Silicas zurückzuführen und wird in den oberflächennahen Beschichtungsregionen vermutet, die Kontakt mit der wässrigen Silbernitratlösung hatten. In tieferliegenden Schichten ist diese Lösung wahrscheinlich nicht vorgedrungen, sodass hier die Struktur erhalten blieb. In Freisetzungsexperimenten über sieben Tage wurden für die nanoporöse und die dichte Beschichtung unterschiedliche Silberfreisetzungsverhalten beobachtet. Für beide Beschichtungen ergab sich in den ersten zwölf Stunden ein *burst release*, der bei der nanoporösen Beschichtung, im Gegensatz zur dichten, linear verlief. Nach dem *burst release* verliefen beide Freisetzungskurven konstant entsprechend einer Kinetik nullter Ordnung. Über den gesamten Untersuchungszeitraum wurde mit  $0.58 \pm 0.23 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$  Silber eine größere Menge aus der dichten Beschichtung freigesetzt als mit  $0.19 \pm 0.03 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$  aus der nanoporösen Beschichtung. Diese Unterschiede sind vermutlich auf die verschiedenen Herstellungsprozesse und daraus resultierenden unterschiedlichen Silbermengen in den Beschichtungen zurückzuführen. Ebenfalls mit dem Herstellungsprozess sind die großen Standardabweichungen in der Freisetzungskurve der dichten Silica-Beschichtung zu erklären. Dieser scheint hier zu weniger gut reproduzierbaren Beschichtungen und einer inhomogeneren Silberverteilung zu führen.

Degradationsuntersuchungen an Silbernanopartikeln in den Silica-Schichten lieferten aufschlussreiche Ergebnisse für das Freisetzungsverhalten beider Beschichtungen. Es wurde beobachtet, dass die Silbernanopartikel in der porösen Silber-Silica-Beschichtung über einen Zeitraum von sieben Tagen unter Freisetzungsbedingungen konstant die gleiche Größe von 6 nm aufwiesen, während in der dichten Beschichtung eine kontinuierliche Abnahme des Durchmessers von 8 nm auf 2 nm erfolgte. Dieses Ergebnis unterstützt die größeren Silberfreisetzungsmengen aus der dichten Silica-Beschichtung. Die Unterschiede können aus inhomogenen und damit angreifbareren Beschichtungen im Falle der dichten Silber-Silica-Beschichtung rühren, bei der inselartige Erhebungen beobachtet wurden. Eine weitere mögliche Erklärung ist die Ausbildung einer leichtlöslichen Silber-Silicat-Hülle um die Silberpartikel in der dichten Beschichtung und einer schwerlöslichen Silberoxid-Hülle in der nanoporösen Beschichtung, die während der Calcinationsschritte entstehen könnten. Ein Beweis für die Bildung solcher Hüllen konnte mittels TEM nicht geliefert werden, sodass in weiteren Untersuchungen die Röntgenphotoelektronenspektroskopie hilfreich wäre. Zudem wurden in den dichten Beschichtungen einige Fragmente gefunden, bei denen Silbernanopartikel aus der Beschichtung herausstanden und in die umgebende Matrix

hineinreichen. Es ist denkbar, dass diese Partikel aus der Silicamatrix herausgeschwemmt werden können. Diese Partikel würden vermutlich vom Wirkungsort weggetragen werden, bevor sie sich vollständig aufgelöst haben und die aktive Spezies, die Silberionen, bilden konnten, sodass dieses Silber nicht für eine Bakterienbekämpfung verfügbar wäre.

Eine *in vitro*-Evaluierung der Beschichtungen erfolgte mit NIH 3T3-Zellen und MG 63-Zellen. Die Zellen adhärten und proliferierten auch auf Silica-Beschichtungen, welche Silbernanopartikel enthielten sehr gut, sodass diese Beschichtungsmaterialien als cytokompatibel eingestuft werden können. In der Untersuchung auf die antibakterielle Wirksamkeit gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* zeigte sich ausschließlich die frisch hergestellte dichte Silber-Silica-Beschichtung als effektiv, um das initiale Bakterienwachstum zu hemmen. Nach einer fünftägigen Lagerung in PBS konnte dieser Effekt, bei gleichen Bakterienkonzentrationen jedoch nicht mehr beobachtet werden. Möglicherweise ist eine antibakterielle Wirksamkeit nach diesem Zeitraum dennoch gegeben, wenn durch die initiale Hemmung des Bakterienwachstums die anfängliche Bakterienkonzentration reduziert wurde. Sowohl für diese Probe als auch für die getesteten nanoporösen Silber-Silica-Schichten war die freigesetzte Silbermenge zu gering für die Bekämpfung der ausgesäten Bakterien.

## 5.2 Modifizierte nanoporöse Silica-Nanopartikel als Füllstoffmaterial für Silicon

Dieser Abschnitt beinhaltet die Entwicklung eines neuartigen Füllstoff-Silicon-Systems für biomedizinische Anwendungen. Als Füllstoffe dienten hierfür unmodifizierte NPSNPs (NPSNP-OH) und Vinyl/Trimethyl-modifizierte NPSNPs (NPSNP-Vi,Me). Die Verarbeitbarkeit der NPSNPs-Silicon-Mischungen und der Einfluss von Modifizierungen sowie von verschiedenen NPSNPs-Gehalten auf das Siliconnetzwerk und damit auf die mechanischen Eigenschaften standen dabei im Fokus der Untersuchungen.

Im Folgenden wird die Charakterisierung der NPSNP-OH und NPSNP-Vi,Me sowie das Einmischverhalten dieser in ein Siliconpolymer präsentiert. Anschließend werden mechanische Tests und Cytokompatibilitätsuntersuchungen an den vernetzten Siliconen präsentiert. Des Weiteren wird die Verwendung von fluoreszierenden  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  als Füllstoffmaterial vorgestellt und diskutiert.

Die Bezeichnung NPSNPs wird verwendet, wenn es sich um nanoporöse Silica-Nanopartikel im Allgemeinen handelt und keine Unterscheidung in modifizierte oder unmodifizierte Partikel erfolgt. Hingegen wird die Bezeichnung NPSNP-OH genutzt, um kenntlich zu machen, dass es sich explizit um unmodifizierte NPSNPs handelt und NPSNP-Vi,Me, wenn die Partikel mit Vinyltrimethyl- und Trimethylgruppen modifiziert wurden.

### 5.2.1 Charakterisierung der nanoporösen Silica-Nanopartikel

NPSNPs wurden nach einer modifizierten Vorschrift von Qiao *et al.* unter Verwendung von Tetraethylorthosilicat, Cetyltrimethylammoniumbromid als strukturdirigierendes Agens und Diethanolamin in wässrig-ethanolischer Lösung hergestellt.<sup>[142]</sup> Die Modifizierung der NPSNPs erfolgte mit Chlordimethylvinylsilan und Chlortrimethylsilan in Toluol.

REM- und TEM-Aufnahmen der NPSNPs zeigen Partikel mit einer sphärischen Morphologie und Durchmessern von  $41 \pm 5$  nm (s. Abb. 5.16).

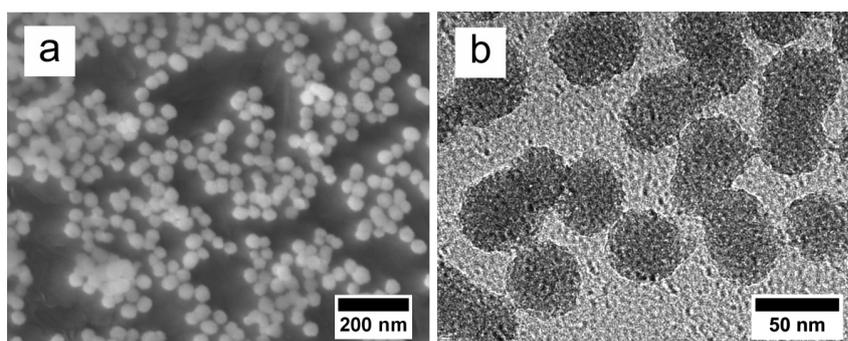


Abb. 5.16: a) REM- und b) TEM-Aufnahme von NPSNPs.

Das Röntgen-Diffraktogramm in Abb. 5.17 zeigt ein für NPSNPs charakteristisches breites Reflex bei  $1.8^\circ 2\theta$ . Dieser weist auf das Vorliegen eines nanoporösen Systems hin, da der Reflex durch Elektronendichteunterschiede zwischen der Porenwand und der Pore entsteht. Die Breite des Reflexes lässt auf variierende Poren- und Wanddurchmesser und das Fehlen weiterer Reflexe auf ein ungeordnetes Porensystem schließen.

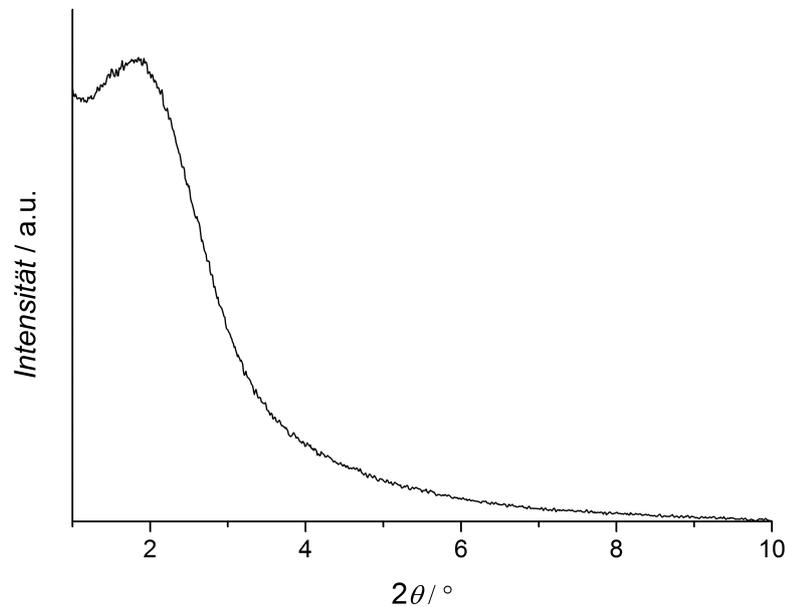


Abb. 5.17: Röntgen-Diffraktogramm von NPSNPs.

Die Ergebnisse der Stickstoff-Sorptionsmessung bestätigen das Vorliegen eines nanoporösen Materials (s. Abb. 5.18a). Der Anstieg der Isotherme bei sehr geringen Relativdrücken geht auf die Befüllung von Mikroporen zurück, die mit dieser Messmethode nicht detailliert dargestellt wird. Der weitere Anstieg der Isotherme bis zu einem Relativdruck von ca.  $0.96 p/p_0$  ist auf die Befüllung von Mesoporen zurückzuführen. Eine Hysterese tritt hier nicht auf, da sehr kleine Mesoporen vorliegen und keine Kapillarkondensation stattfindet.

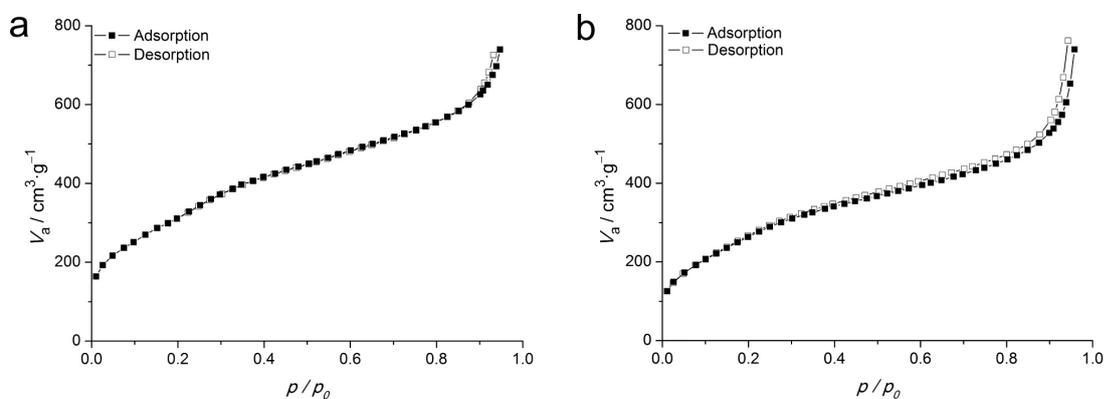


Abb. 5.18: Stickstoff-Sorptionsisothermen von a) NPSNP-OH und b) NPSNP-Vi,Me.

Der steile Anstieg nach  $0.96 p/p_0$  ist hier nicht dargestellt, da dieser lediglich durch Kondensation in interpartikulären Zwischenräumen verursacht wird. Die mit der BET-Methode ermittelte spezifische Oberfläche für NPSNP-OH beträgt  $1210 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  und das über die BJH-Methode bestimmte Porenvolumen beträgt  $1.0 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ . In Abb. 5.19a ist die mit der DFT-Methode bestimmte Porenweitenverteilung dargestellt, aus welcher Porendurchmesser von 2-4 nm ermittelt wurden. Im Anhang (s. Abb. A.2) ist der mit der Messung gut übereinstimmende DFT-Fit dargestellt.

Nach der Vinyl/Trimethyl-Modifizierung der Partikel (NPSNP-Vi,Me) erfolgte erneut eine Stickstoff-Sorptionsmessung (s. Abb. 5.18b). Die geringere Adsorption am Beginn der Isotherme deutet auf einen geringeren Anteil an Mikroporen als bei unmodifizierten NPSNP-OH hin. Die Porenweitenverteilung der NPSNP-Vi,Me bestätigt dies durch eine Verschmälerung der Verteilung und das primäre Vorliegen von Poren mit Durchmessern von 3 nm (s. Abb. 5.19b). Im Anhang (s. Abb. A.2) ist der mit der Messung gut übereinstimmende DFT-Fit dargestellt.

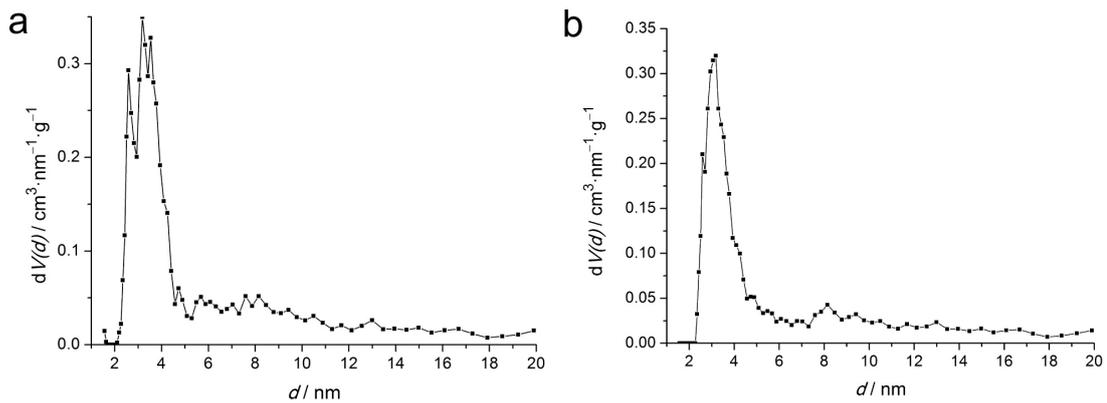


Abb. 5.19: Porenweitenverteilungen von a) NPSNP-OH und b) NPSNP-Vi,Me.

Die BET-Oberfläche beträgt  $1030 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  und das Porenvolumen wurde mit  $0.9 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  bestimmt. Beide Werte sind geringer als für NPSNP-OH und weisen daher auf eine erfolgreiche Modifizierung der Partikel hin. Die organischen Gruppen können in den Porenraum hineinreichen und diesen ggf. blockieren, wodurch die Porengröße, die spezifische Oberfläche und das Porenvolumen reduziert werden.

Die Kohlenstoff-Analyse von NPSNP-Vi,Me ergab einen Kohlenstoffanteil von  $4.1 \pm 0.2\%$  und somit eine zusätzliche Bestätigung, dass eine Modifizierung stattgefunden hat (NPSNP-OH: 0.0% Kohlenstoff). Des Weiteren wurde mit Hilfe der IR-Spektroskopie die Anwesenheit der charakteristischen Banden der Valenzschwingungen von Vinyl- und Methylgruppen ((C=C)- und (C-H)-Schwingungen) gezeigt (s. Abb. 5.20 und Tab. 5.3). Die breite Bande zwischen  $3700 \text{ cm}^{-1}$  und  $2800 \text{ cm}^{-1}$  ist den Wasserstoff-Brückenbindungen von Wasser und Silanolgruppen des Silicas zuzuordnen. Die (Si-OH)-Schwingung der freien Silanolgruppen

liegt bei  $3647\text{ cm}^{-1}$  und wird größtenteils überdeckt, ist aber bei NPSNP-OH noch als kleine Schulter zu erkennen. Die (Si-OH)-Schwingung ist bei NPSNP-Vi,Me nicht mehr nachzuweisen. Diese Beobachtung und die Intensitätsabnahme der breiten (O-H)-Bande zwischen  $3700\text{ cm}^{-1}$  und  $2800\text{ cm}^{-1}$  nach der Modifizierung sprechen ebenfalls für eine erfolgreiche Reaktion zwischen den Silanolgruppen und den Silylierungsreagenzien.<sup>[26,273–275]</sup>

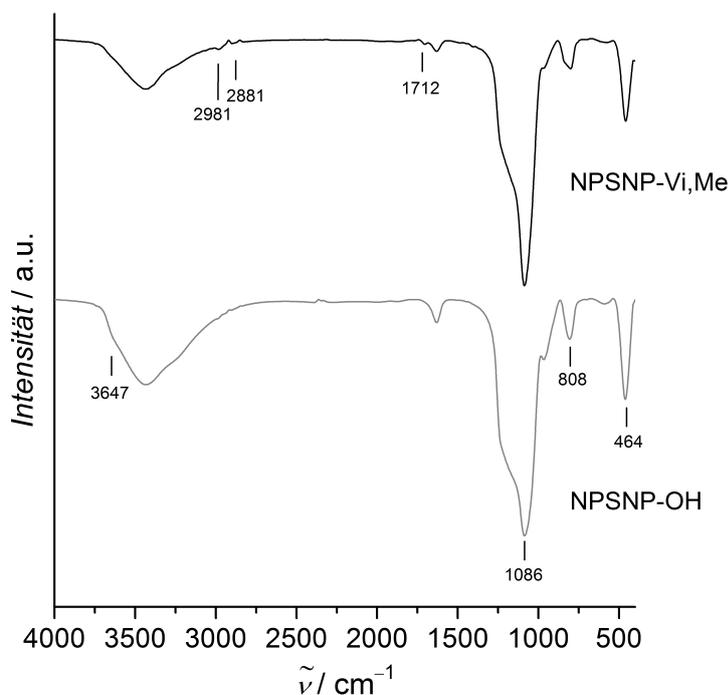


Abb. 5.20: IR-Spektren von NPSNP-OH und NPSNP-Vi,Me.

Tab. 5.3: Vergleich der IR-Banden von NPSNP-OH und NPSNP-Vi,Me.<sup>[26,273–275]</sup> (Wellenzahl/ $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$  = Valenzschwingung,  $\delta$  = Deformationsschwingung)

NPSNP-OH	NPSNP-Vi,Me	Art der Schwingung	Herkunft	
3700-2800	3700-2800	$\nu(\text{O-H})$	Wasser	
		$\nu(\text{Si-OH})$	Silica	
		2981	$\nu(\text{C-H})$	Vi, Me
		2881	$\nu(\text{C-H})$	Vi, Me
		1712	$\nu(\text{C=C})$	Vi
1633	1624	$\nu(\text{O-H})$	Wasser	
	2981	$\nu(\text{C-H})$	Vi, Me	
1086	1080	$\nu(\text{Si-O-Si})$ , (asym.)	Silica	
958	954	$\nu(\text{Si-OH})$	Silica	
808	810	$\nu(\text{Si-O-Si})$ , (sym.)	Silica	
464	464	$\delta(\text{Si-O-Si})$	Silica	

## 5.2.2 Qualität und Verarbeitbarkeit der unvernetzten Siliconmischungen

Die Einmischung von NPSNPs in das Silicon Silpuran<sup>®</sup> 2430 erfolgte mit einem SpeedMixer<sup>™</sup> DAC 150 SP unter Verwendung eines speziellen Mischprogramms.

Die Verarbeitbarkeit, makroskopische Homogenität und Viskosität der unvernetzten Siliconpolymere wurden nach der Einarbeitung unterschiedlicher Mengen an NPSNP-Vi,Me und NPSNP-OH in Komponente A des Silpuran<sup>®</sup> 2430 und nach der Zumischung von Komponente B miteinander verglichen (s. Abb. 5.21).

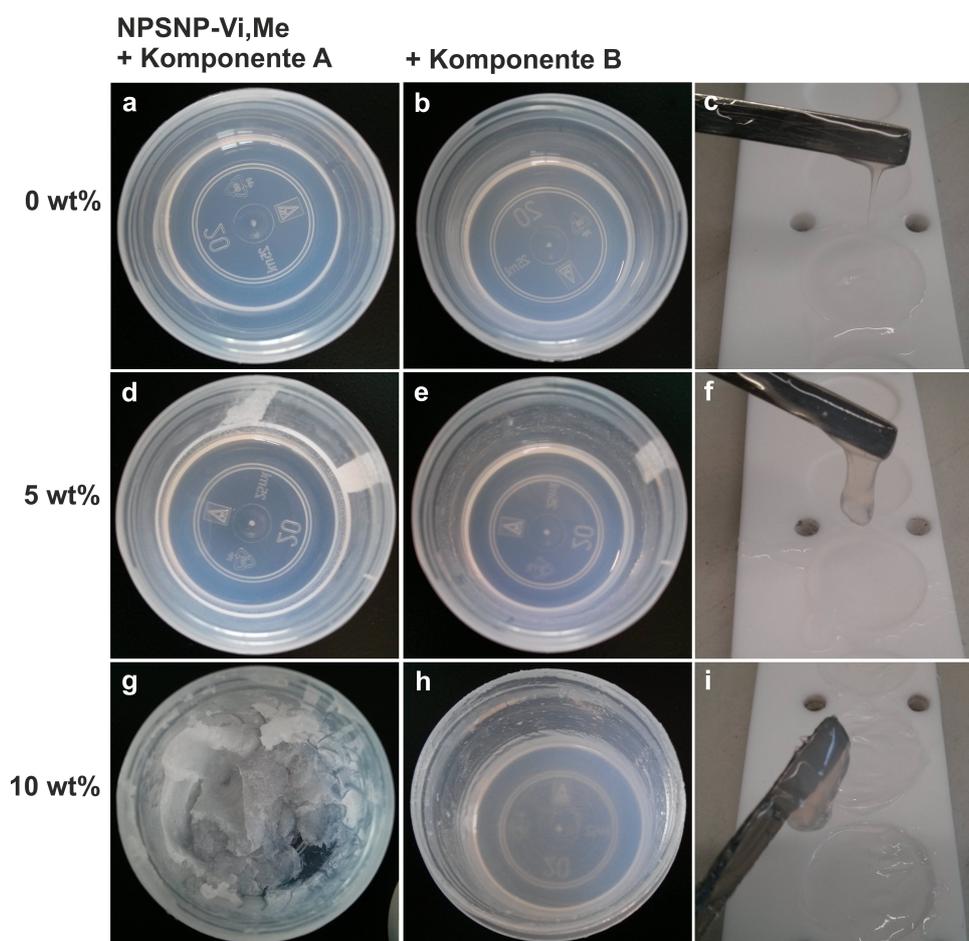


Abb. 5.21: Verhalten der Siliconmischungen bei der Herstellung ohne Zusatz von NPSNP-Vi,Me (a-c), mit 5 wt% (d-f) und mit 10 wt% (g-i) NPSNP-Vi,Me.

Mischungen, die ohne den Zusatz von NPSNPs (s. Abb. 5.21a,b) hergestellt wurden, wiesen eine sehr gute Homogenität und Verarbeitbarkeit auf. Proben mit einem Gehalt von bis zu 5 wt% NPSNP-Vi,Me ließen sich problemlos vermischen. Die Einarbeitung der Partikel in Komponente A erschien von Anfang an homogen (s. Abb. 5.21d). Es wurden keine Partikelagglomerationen oder -akkumulationen am Becherboden beobachtet. Die Zumischung von Komponente B erfolgte ebenfalls problemlos (s. Abb. 5.21e).

Ab einem Gehalt von 8 wt% NPSNP-Vi,Me resultierte eine sehr viskose und feste Mischung aus Komponente A und den Nanopartikeln. Dieser Perkolations-effekt ist auf die Ausbildung eines stabilen Partikelnetzwerkes in dem Polymer zurückzuführen. Außerdem kam es zu Akkumulationen am Becherboden, welche nach der Zugabe von Komponente B nicht mehr beobachtet wurden. Die Perkolations-effekte nahmen bei der Einmischung von 10 wt% NPSNP-Vi,Me in Komponente A zu (s. Abb. 5.21g). In einigen Fällen führte die hohe Füllstoffkonzentration zur Ausbildung von festen, aber spröden Polymerkugeln, die in weiteren Verarbeitungsschritten eine pastöse Mischung ergaben (s. Abb. 5.21h). Proben mit mehr als 10 wt% NPSNP-Vi,Me waren schwer zu verarbeiten und zeigten sprödes, feststoffartiges Verhalten. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass das verwendete Silpuran<sup>®</sup> 2430 bereits eine vom Hersteller zugefügte, unbekannte Menge an Silica enthält und der weitere Zusatz von NPSNPs für eine erfolgreiche Siliconverarbeitung limitiert ist. Ähnliche Ergebnisse werden von Liu *et al.* beschrieben, die mit 7 nm großen pyrogenen Silica-Partikeln maximal 10 wt% der Nanopartikel in das Siliconpolymer Sylgard<sup>®</sup> 184 (DOW CORNING) einmischen konnten.<sup>[214]</sup> Dieses Silicon enthielt ebenfalls bereits vom Hersteller zugefügten Silica-Füllstoff. Weiterhin zeigten Liu *et al.*, dass durch den Zusatz von Partikeln mit größeren Durchmessern von ca. 300 nm eine Zumischung von bis zu 20 wt% möglich war.<sup>[214]</sup> Aufgrund der geringeren Oberfläche dieser Partikel, sind hier Silica-Silica- und Silica-Polymer-Wechselwirkungen geringer ausgeprägt, wodurch die Viskositäten der Mischungen weniger stark ansteigen und eine bessere Verarbeitbarkeit gegeben ist.

Die unvernetzten Siliconmischungen ohne den Zusatz von NPSNPs zeigten eine sehr gute Homogenität und Transparenz in jedem Verarbeitungsschritt (s. Abb. 5.21a-c). Die Transparenz der Mischungen nahm mit steigendem Partikelgehalt leicht ab (s. Abb. 5.21e,h) während die Viskosität der Polymermischungen anstieg (s. Abb. 5.21c,f,i). Der Anstieg der Viskosität wird durch zunehmende Wechselwirkungen zwischen Silica-Silica und Silica-Polymer verursacht, die stärker sind als Polymer-Polymer-Wechselwirkungen.<sup>[198]</sup> Die Erhöhung der Viskosität, auch als *crepe hardening* bezeichnet, wird durch die Bildung von Netzwerkbindungen und Adsorption von Polymerketten auf der Partikeloberfläche (*bound rubber*) begründet.<sup>[198,199]</sup>

Im Rahmen der Bachelorarbeit von Aaron Hung Bui wurden verschiedene Modifizierungsstrategien für die NPSNPs und das Verhalten auf die Dispergierbarkeit in dem Siliconpolymer untersucht.<sup>[276]</sup> Es wurden NPSNPs hergestellt, die mit Phenyltrimethoxysilan, 7-Octenyltrimethoxysilan, Propyltrimethoxysilan und Chlordimethylpropylsilan modifiziert wurden. Die Verwendung dieser Partikel führte jedoch zu keinen weiteren Verbesserungen, weder hinsichtlich der Einarbeitung noch der mechanischen Eigenschaften. Die besten Ergebnisse wurden mit den Dimethylpropyl-modifizierten NPSNPs erhalten, welche als

einzig aus dem Chlorsilan hergestellt wurden, während die Modifizierungen mit Phenyl-, 7-Octenyl- und Propylgruppen mit den Trimethoxysilanen erfolgte. Die Anwesenheit von Alkoxygruppen, die durch unvollständige Reaktion zum Teil nicht an die Partikel gebunden wurden, scheinen das Polymersystem durch die Polarität der Alkoxygruppen negativ zu beeinflussen. Die maximal einzuarbeitende Füllstoffmenge lag bei allen Partikeln bei 10 wt%.<sup>[276]</sup>

Im Vergleich zu Mischungen mit NPSNP-Vi,Me wurden Mischungen mit 5 wt% und 10 wt% NPSNP-OH, d.h. unmodifizierten Partikeln, untersucht. Die Mischung mit 5 wt% NPSNP-OH verhielt sich ähnlich wie diejenige mit 5 wt% NPSNP-Vi,Me. Nach der Zugabe von 10 wt% NPSNP-OH zu Komponente A wurden sehr starke Perkolationsseffekte mit einer Ausbildung vieler kleiner Polymerkügelchen beobachtet (s. Abb. 5.22). Diese waren deutlich ausgeprägter als in der Mischung mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me. Aufgrund der spröden und feststoffartigen Konsistenz der Polymerkügelchen war eine homogene Einmischung von Komponente B nicht möglich.

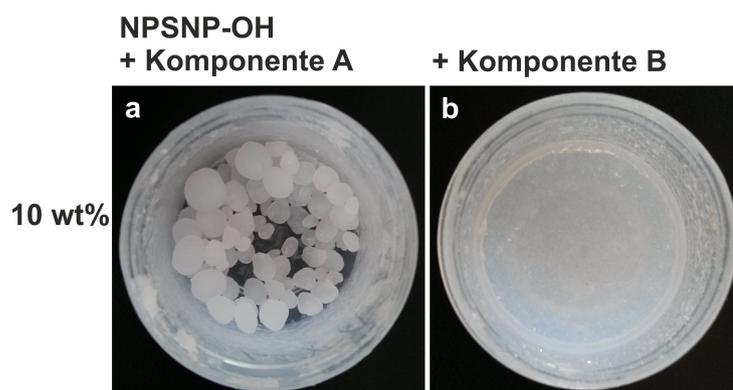


Abb. 5.22: Verhalten der Siliconmischungen bei der Herstellung mit 10 wt% NPSNP-OH.

Die Viskositäten der Probe mit 5 wt% NPSNP-OH und insbesondere mit 10 wt% NPSNP-OH waren höher als für die jeweiligen Gehalte mit NPSNP-Vi,Me. Hohe Konzentrationen an Silanolgruppen haben aufgrund der Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen großen Einfluss auf die Silica-Polymer- und Silica-Silica-Wechselwirkungen.<sup>[26,198,199]</sup> Die Inaktivierung der Silanolgruppen durch Modifizierungen mit Methyl- und Vinylgruppen führte somit erfolgreich zu einer verbesserten Verarbeitbarkeit der Siliconmischungen.

### 5.2.3 Charakterisierung der vernetzten Silicone

#### Visuelle Beurteilung

Die hergestellten Siliconmischungen wurden in einer Teflonform bei 120 °C vernetzt und zunächst einer visuellen Beurteilung unterzogen.

Nach der Vernetzung der Siliconmischungen zeigt sich eine Abnahme der Transparenz mit zunehmendem Füllstoffgehalt (s. Abb. 5.23), wie es auch von Suzuki *et al.* beobachtet wurde.<sup>[209]</sup> Diese wird durch die vermehrte Bildung von größeren Agglomeraten und Silica-Netzwerken erklärt.<sup>[211]</sup> Proben mit NPSNP-Vi,Me erschienen für alle Füllstoffgehalte homogen. Silicon, das 10 wt% NPSNP-OH enthielt, war wesentlich trüber als die Probe mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me, da die Wechselwirkung der Partikel untereinander stärker ist und diese vermehrt zur Agglomeration neigen. Die Probe mit 10 wt% NPSNP-OH wies zudem ausgeprägte Inhomogenitäten auf (s. Abb. 5.23d). Weiße Bereiche in der Probe wurden als Risse erkannt, die nach einer Prüfung auf Flexibilität entstanden sind und das spröde Verhalten widerspiegeln.

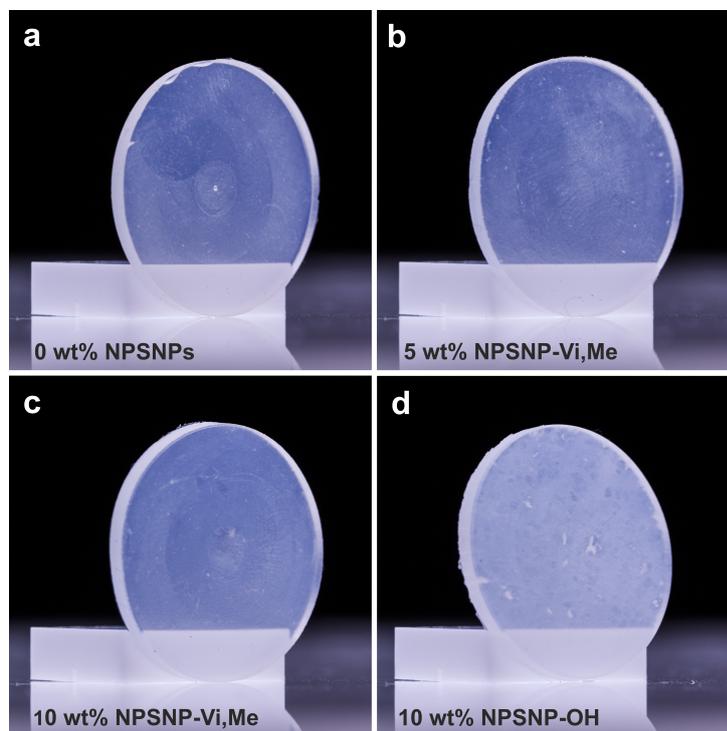


Abb. 5.23: Vernetzte Siliconproben: a) ohne NPSNPs, b) mit 5 wt% NPSNP-Vi,Me, c) mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me und d) 10 wt% NPSNP-OH.

### TEM-Untersuchungen

Die Charakterisierung der Silicone hinsichtlich der Partikelverteilung und Netzwerkausbildung erfolgte für Proben mit 0 wt%, 5 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me mittels Transmissionselektronenmikroskopie. Hierfür wurden Dünnschnitte der Proben mit einer Dicke von ca. 200 nm angefertigt.

Die Referenzprobe mit 0 wt% NPSNPs zeigt unscharfe, diffuse Strukturen, in denen sehr kleine Partikel, vermutlich die vom Hersteller zugegebenen Silica-Nanopartikel, mit

Durchmessern bis zu 30 nm erkannt wurden (s. Abb. 5.24a,b). Diese Partikel sind aggregiert und bilden ein Netzwerk innerhalb des Silicons aus.

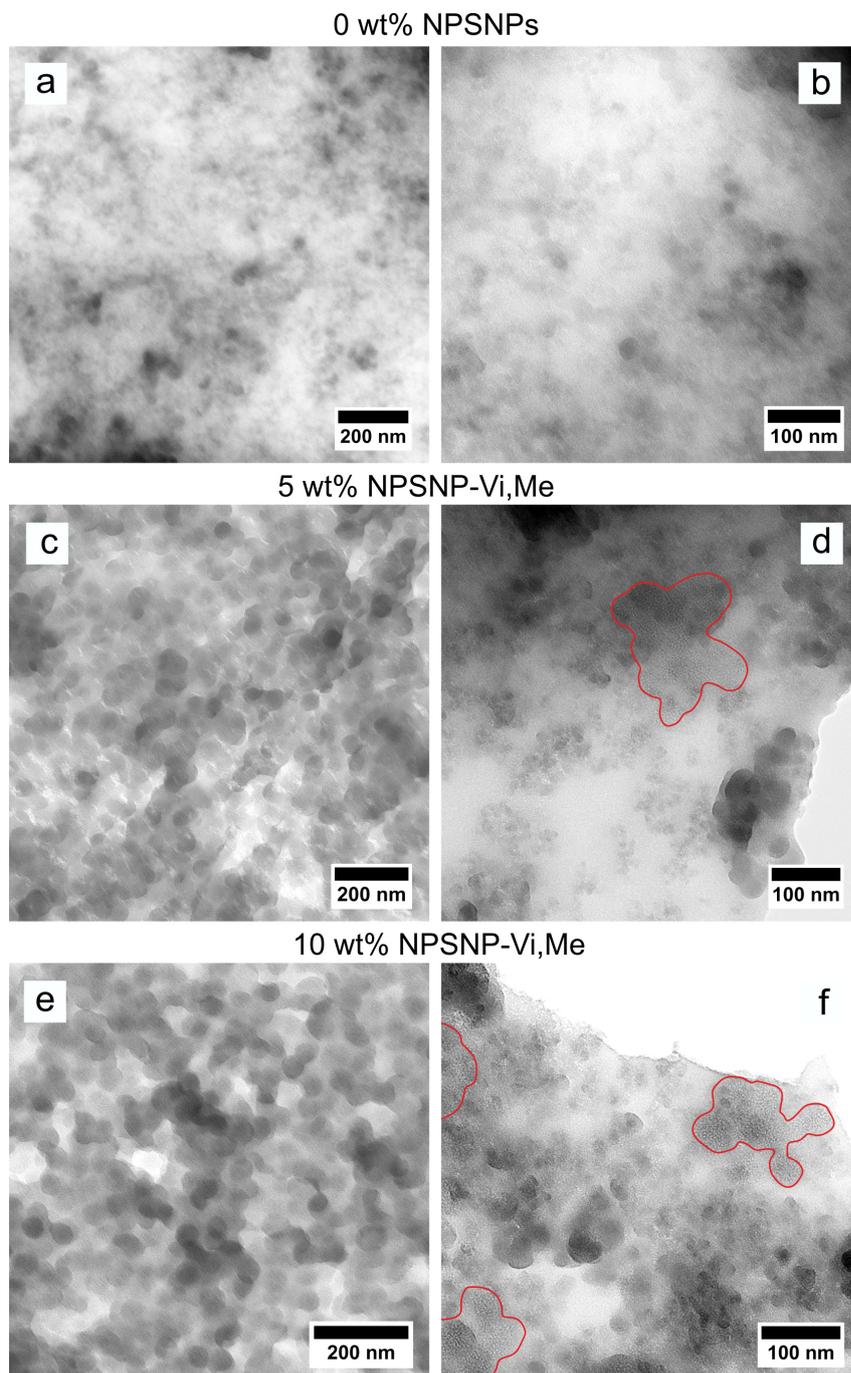


Abb. 5.24: TEM-Aufnahmen von Siliconen mit 0 wt% (a,b), 5 wt% (c,d) und 10 wt% (e,f) NPSNP-Vi,Me. Die rot umrandeten Bereiche kennzeichnen Agglomerate aus NPSNP-ViMe.

In TEM-Aufnahmen von Proben mit 5 wt% und 10 wt% sind deutlich Partikel mit einem Durchmesser von ca. 40 nm zu erkennen. Die Struktur dieser Partikel ist eindeutig den eingearbeiteten NPSNP-Vi,Me zuzuordnen. Die nanoporösen Partikel weisen aufgrund der Porosität im Vergleich zu den dichten Partikeln des Herstellers einen weniger dichten

Schwarzanteil bei gleicher betrachteter Fläche auf. Dickere Bereiche der Dünnschnitte bestehen aus Multilagen und zeigen eine kompakte, dichte Ansammlung dieser Partikel, welche die kleinen Silica-Nanopartikel des Herstellers überdecken (s. Abb. 5.24c,e). Abb. 5.24e und f zeigen dünnere Bereiche, in denen abgrenzbare NPSNP-Vi,Me beobachtet wurden, die als Agglomerate von ca. 100 - 200 nm im freien Volumen des Polymers vorliegen. Diese Agglomerate sind in den Abb. 5.24d und f als rot umrandete Bereiche gekennzeichnet. Bevorzugt akkumulierten die NPSNP-Vi,Me allerdings an Agglomeraten des vom Hersteller zugefügten Füllstoffs. Dieser Effekt ist vermutlich auf stärkere Wechselwirkungen zwischen den Silica-Partikeln untereinander als mit dem Polymer zu erklären. Die Siliconprobe mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me lässt mehr Agglomerate und ein dichteres Silica-Netzwerk erkennen. Die Netzwerke scheinen jedoch weniger ausgedehnt zu sein als Netzwerke, welche durch Füllstoffe des Herstellers gebildet wurden. Insgesamt ist eine definitive Aussage hierzu und zu der Partikelverteilung, die zwar gleichmäßig zu sein scheint, aufgrund des geringen Kontrasts und der ungleichmäßigen Probendicken in einigen Probenbereichen schwierig. Anhand dieser Ergebnisse war dennoch ein netzwerkverstärkender Effekt sowohl für die Probe mit einem Gehalt von 5 wt% als auch mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me zu erwarten. Im Falle der 10 wt%-Probe sollte dieser stärker als für die 5 wt%-Probe sein.

## Zugversuche

Die mechanische Charakterisierung mittels zyklischer Zugversuche gibt Informationen über die Zugfestigkeiten und Bruchdehnungen von Siliconen mit 0 wt% bis 10 wt% NPSNP-Vi,Me. Zudem können Aussagen über das Ausmaß an dissipierter Energie und Reorientierungen innerhalb des Netzwerkes getroffen werden.

Es ist repräsentativ jeweils eine Messkurve pro Probentyp dargestellt. Die Messkurven der einzelnen Proben mit Dehnungen bis zum Bruch sowie Messkurven mit 30%-Dehnung der zyklischen Messungen befinden sich im Anhang (s. Abb. A.4 bis A.8). Ebenso sind dort beispielhaft für eine Probe mit 0 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me die vollständigen zyklisch gemessenen Bereiche dargestellt (s. Abb. A.9).

Spannungs-Dehnungs-Kurven der Silicone mit 0 wt% und 3 wt% NPSNP-Vi,Me zeigen den von Polmanteer *et al.* beschriebenen typischen Verlauf für Silicone mit hoch-strukturiertem Silica als Füllstoff (s. Abb. 5.25).<sup>[25]</sup> Die Kurven weisen geschwungene und bauchige Verläufe auf. Solche Verläufe wurden von Delebeq *et al.* in drei Stufen unterteilt, welche in Abschnitt 3.15 beschrieben wurden. Mit der Probe, die 5 wt% NPSNP-Vi,Me enthält, beginnen sich die Kurvenverläufe zu verändern. Anders als Proben mit 0 wt% und 3 wt% NPSNP-Vi,Me zeigen Proben ab 5 wt% NPSNP-Vi,Me bei geringen Dehnungen ein annähernd lineares Verhalten und damit einen weniger ausgeprägten geschwungenen Verlauf. Die Proben mit

8 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me weisen besonders bei höheren Dehnungen ein zusätzliches vom typischen Kurvenverlauf abweichendes, eher spiegelbildlichen Kurvenverlauf auf.

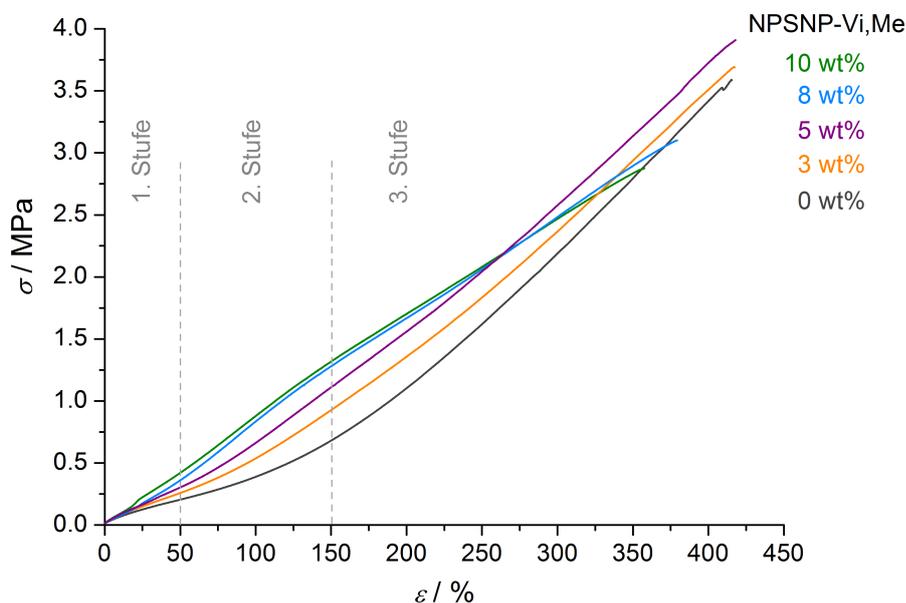


Abb. 5.25: Spannungs-Dehnungs-Kurven von Siliconen mit 0 wt%, 3 wt%, 5 wt%, 8 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me.

Alle Spannungs-Dehnungs-Kurven zeigen deutlich das typische nicht-lineare Verhalten von Siliconelastomeren. Bis zu einer Dehnung von ca. 70% wurde für die Probe mit 5 wt% NPSNP-Vi,Me jedoch ein fast linearer Anstieg beobachtet, der oberhalb von 70% Dehnung in einen linearen Bereich mit einer größeren Steigung übergeht. Ab diesem Bereich ist eine Abgrenzung der zweiten und dritten Stufe nicht möglich. Prozesse wie das Abgleiten von Polymerketten und Brüche dieser finden hier möglicherweise parallel statt. Vermutlich ist das Füllstoffnetzwerk mit diesem Partikelgehalt ausgeprägter und stärker als in Proben mit 0 wt% und 3 wt%, sodass schon bei niedrigeren Dehnungen mehr Kraft benötigt wird, um Silica-Silica- und Silica-Polymer-Netzwerke aufzubrechen. Besondere Kurvenverläufe wurden für Proben mit 8 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me beobachtet. Es zeigt sich eine Abflachung der Kurven ab ca. 150% Dehnung, dem Übergang von der zweiten in die dritte Stufe. Ein Erklärungsansatz hierfür ist, dass durch den sehr hohen Füllstoffgehalt ein Großteil des freien Volumens im Polymernetzwerk durch Silica-Nanopartikel ausgefüllt ist. Hierdurch wurden die Entfernungen zwischen Vernetzungspunkten von Polymerketten erhöht, da große Füllstoffagglomerate mehr Raum benötigen. Dies würde bedeuten, dass eine kritische Füllstoffkonzentration erreicht wurde, was mit dem maximal einzuarbeitendem Partikelgehalt von 10 wt% übereinstimmen würde. Wird nun solch eine Probe gedehnt, kommt es zunächst in der ersten Stufe zu einem Bruch und Umbau des Füllstoffnetzwerkes. In der zweiten Stufe werden die starken Silica-Polymer-Bindungen gebrochen, da sich die Polymerketten von den Partikeloberflächen ablösen und abgleiten. Als Konsequenz aus

diesem Prozess liegen sehr viel weniger Netzwerkbindungen vor. Es existieren dann nur noch die weit voneinander entfernten Polymer-Polymer-Verknüpfungspunkte mit langen Segmenten, wodurch weniger Kraft für eine Dehnung benötigt wird als zuvor.<sup>[277]</sup> Die genauen Prozesse während des Dehnvorgangs sind selbst für Materialien mit einem typischen Kurvenverlauf nicht vollständig geklärt.<sup>[246,247]</sup>

Messkurven aus zyklischen Zugversuchen sind in Abb. 5.26 gezeigt. Dargestellt sind hier Wiederholungsmessungen mit einer Belastung bis 30% Dehnung und einer anschließenden Entlastung.

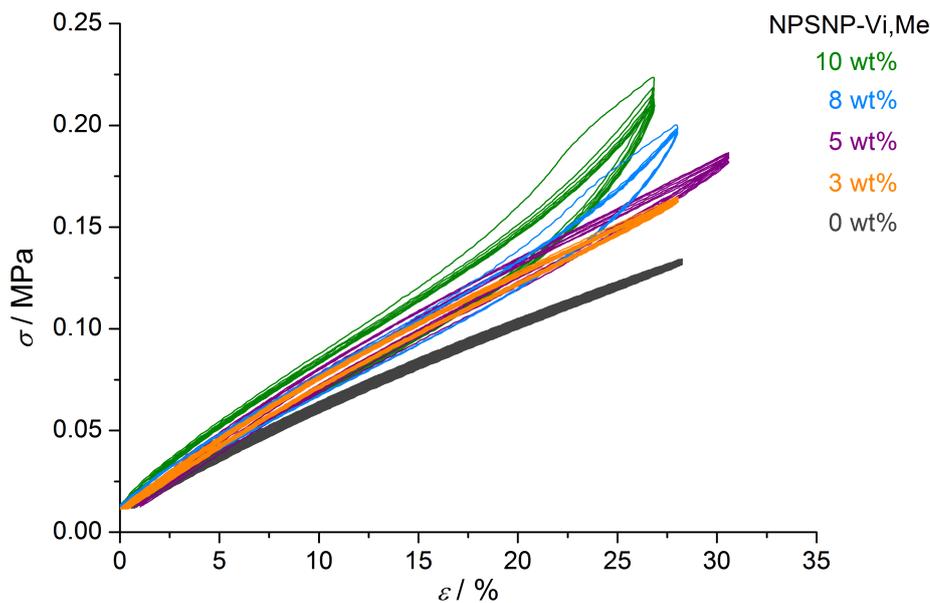


Abb. 5.26: Messkurven von zyklischen Messungen mit einer Belastung bis 30% Dehnung und anschließender Entlastung auf 0.1 N für Proben mit Gehalten von 0 wt% bis 10 wt% NPSNP-Vi,Me.

Es ist deutlich die zunehmende Ausbildung von Hysterese und sigmoidalen Kurvenverläufe mit steigendem Partikelgehalt zu erkennen. Wie von Polmanteer *et al.* beschrieben wurde, ist die Ausbildung einer Hysterese abhängig von der Festigkeit des Materials und damit auch vom Füllstoffgehalt.<sup>[25]</sup> Je höher der Füllstoffgehalt ist, desto größer sind Adhäsionsmöglichkeiten der Polymerketten am Füllstoff und umso ausgeprägter ist die Hysterese. Das Auftreten der Hysterese gibt aufgrund der benötigten Energie für Umbauprozesse im Netzwerk außerdem Hinweise auf das Ausmaß an dissipierter Energie und somit auf die Dämpfungseigenschaften des Materials. Besonders nach dem ersten Zyklus sind Entfestigungen zu beobachten, welche als MULLINS-Effekt bekannt sind. Dieser Effekt ist ebenfalls umso ausgeprägter, je höher der Füllstoffgehalt ist und geht auf das vermehrte Ablösen und Abgleiten der Polymerketten von der Partikeloberfläche zurück.<sup>[25,247]</sup>

Berechnungen von  $E$ -Moduln wurden näherungsweise in einem Bereich von geringen Dehnungen (bis ca. 50%) durchgeführt, in dem ein nahezu lineares Verhalten erkennbar ist (Tab. 5.4) Die Werte sind allerdings aufgrund der nicht optimalen Linearität nur als Richtwerte zu verstehen. Es zeigt sich ein deutlicher Anstieg des  $E$ -Moduls von  $0.36 \pm 0.02$  MPa für 0 wt% NPSNP-Vi,Me auf  $0.84 \pm 0.07$  MPa für Silicon mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me. Die Einarbeitung von 10 wt% NPSNP-Vi,Me führte somit zu einer Erhöhung des  $E$ -Moduls um 133%, also einer erhöhten Steifigkeit des Materials. Diese ist auf eine Verstärkung des Siliconnetzwerkes zurückzuführen. Folglich wirken NPSNP-Vi,Me als netzwerkverstärkende Füllstoffe, mit denen sich durch Wahl der Gehalte die mechanischen Eigenschaften des Silicons für unterschiedliche Anwendungsbereiche einstellen lassen.

Tab. 5.4: Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Zugversuchen für Silicone mit unterschiedlichen Gehalten an NPSNP-Vi,Me als Füllstoff. \*Durchschnittswerte ohne 1. Zyklus (Entfestigung).

Gehalt/ wt%	$\sigma$ (30%)*/ MPa	$E$ -Modul / MPa	$R_m$ / MPa	$A_m$ / %
0	$0.14 \pm 0.01$	$0.36 \pm 0.02$	$3.28 \pm 0.56$	$424 \pm 23$
3	$0.16 \pm 0.01$	$0.47 \pm 0.01$	$3.55 \pm 0.26$	$416 \pm 19$
5	$0.17 \pm 0.03$	$0.52 \pm 0.07$	$3.77 \pm 0.16$	$424 \pm 8$
8	$0.18 \pm 0.02$	$0.68 \pm 0.05$	$2.96 \pm 0.15$	$370 \pm 45$
10	$0.21 \pm 0.02$	$0.84 \pm 0.07$	$2.87 \pm 0.12$	$348 \pm 21$

Für die Anwendung in der Cochlea-Elektrode werden weiche, flexible Silicone mit einem  $E$ -Modul von 0.45 MPa eingesetzt.<sup>[239]</sup> Damit liegt das Silicon mit einem Gehalt von 3 wt% NPSNP-Vi,Me, welches ein  $E$ -Modul von  $0.47 \pm 0.01$  MPa aufweist, in einem ähnlichen Bereich und ist daher für weitere Untersuchungen von Bedeutung. Hingegen wird für ein Trommelfellkissen an der Mittelohrprothese ein härteres Silicon benötigt, dessen  $E$ -Modul mit 2.8 MPa deutlich höher liegt als selbst die mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me gefüllte Probe. Dieses System erscheint anhand der Ergebnisse dieser Messmethode für die Anwendung im Mittelohr als nicht geeignet.<sup>[236]</sup>

Ein Vergleich der Spannungen zum Zeitpunkt der 30%-Dehnung im zyklischen Versuch ist in Tab. 5.4 aufgeführt. Auch bei diesen geringen Dehnungen ist ein Anstieg der Spannungen mit steigendem Partikelgehalt zu verzeichnen. Es wurde eine Erhöhung um 50% von  $0.14 \pm 0.01$  MPa für das Silicon mit 0 wt% NPSNP-Vi,Me auf  $0.21 \pm 0.02$  MPa für das Silicon mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me erreicht.

Die Zugfestigkeiten  $R_m$  steigen für Proben mit 5 wt% NPSNP-Vi,Me um 15% von  $3.28 \pm 0.56$  MPa auf  $3.77 \pm 0.16$  MPa an (s. Tab. 5.4). Für die Silicone ab 8 wt% wurde eine Abnahme der Zugfestigkeiten auf bis zu  $2.87 \pm 0.12$  MPa für 10 wt% NPSNP-Vi,Me

festgestellt. Die Begründung dieser Entwicklung wird durch die zuvor beschriebenen Erklärungsvorschläge der Kurvenverläufe gegeben. Mit zunehmenden Füllstoffgehalten wird mehr Kraft benötigt, um die Proben zu dehnen. Bei den hohen Gehalten ab 8 wt% führen komplexere Prozesse in der dritten Stufe zu einer Abnahme der benötigten Kraft.

Ein Vergleich der Spannungen aller untersuchten Proben bei spezifischen Dehnungen ist in Abb. 5.27 dargestellt. Bis zu einer Dehnung von 200% nehmen die Spannungen mit steigendem Partikelgehalt nahezu linear zu. Für größere Dehnungen (350% und 400%) wird der lineare Anstieg nur noch bei Siliconen mit Partikelgehalten bis 5 wt% NPSNP-Vi,Me beobachtet. Für die Proben mit 8 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me spiegeln sich hier die abflachenden Kurvenverläufe aus der Spannungs-Dehnungs-Auftragung wider. Nur noch vier von fünf der 8 wt%-Proben erreichten die 350%-Dehnung und nur eine Probe erreichte eine Dehnung von 400%. Im Falle der 10 wt%-Probe widerstanden zwei von fünf Proben einer Dehnung von 350% und keine Probe erreichte die 400%-Dehnung.

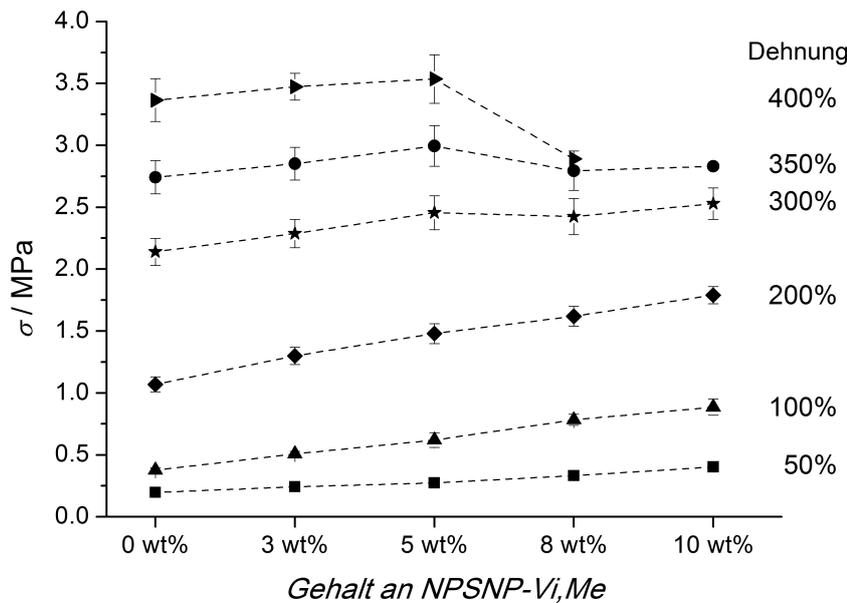


Abb. 5.27: Vergleich der Spannungen der Proben mit 0 wt%, 3 wt%, 5 wt%, 8 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me bei unterschiedlichen Dehnungen.

Die durchschnittlichen Bruchdehnungen  $A_m$  der Silicone mit 8 wt% und 10 wt%-NPSNP-Vi,Me sinken somit merklich vom Maximalwert  $424 \pm 8\%$ , der mit einer 5 wt%-Probe erreicht wurde, auf  $370 \pm 45\%$  bzw.  $348 \pm 21\%$ . Hier zeigt sich, dass ein sehr hoher Füllstoffgehalt zu einer Reduzierung der Bruchdehnung führt. Durch den hohen Partikelanteil werden die Proben weniger flexibel, außerdem pflanzen sich Brüche im Netzwerk schneller im Material fort.

Diese Untersuchungen zeigten, dass die mechanischen Eigenschaften der Proben mit hohem Partikelgehalt denen mit niedrigeren Partikelgehalten unterlegen sind, wenn starke

mechanische Beanspruchungen auf sie wirken. Für die Verwendung als Siliconummantelung für die Cochlea-Elektrode oder als Knorpelersatzmaterial für eine Mittelohrprothese sind jedoch vergleichsweise geringe Dehnbelastungen gegeben. Eine Verschlechterung der Eigenschaften bei hohen Dehnungen hat somit für das geplante Einsatzgebiet eine geringere Relevanz.

### Rheologische Untersuchungen

Für die Untersuchung der Proben unter dynamischer Materialbeanspruchung wurde die Rheologie verwendet. Es wurden vernetzte Siliconproben mit NPSNP-Vi,Me und NPSNP-OH als Füllstoff hinsichtlich ihrer Verstärkungseffekte auf das Siliconnetzwerk sowie der beginnenden Strukturzerstörung untersucht. Die Messungen wurden in Platte-Platte-Geometrie im Oszillationsmodus mit dem Amplitudentest durchgeführt.

Die Messungen der Proben mit NPSNP-Vi,Me zeigen eine Zunahme des Speichermoduls  $G'$  mit steigendem Partikelgehalt (s. Abb. 5.28).

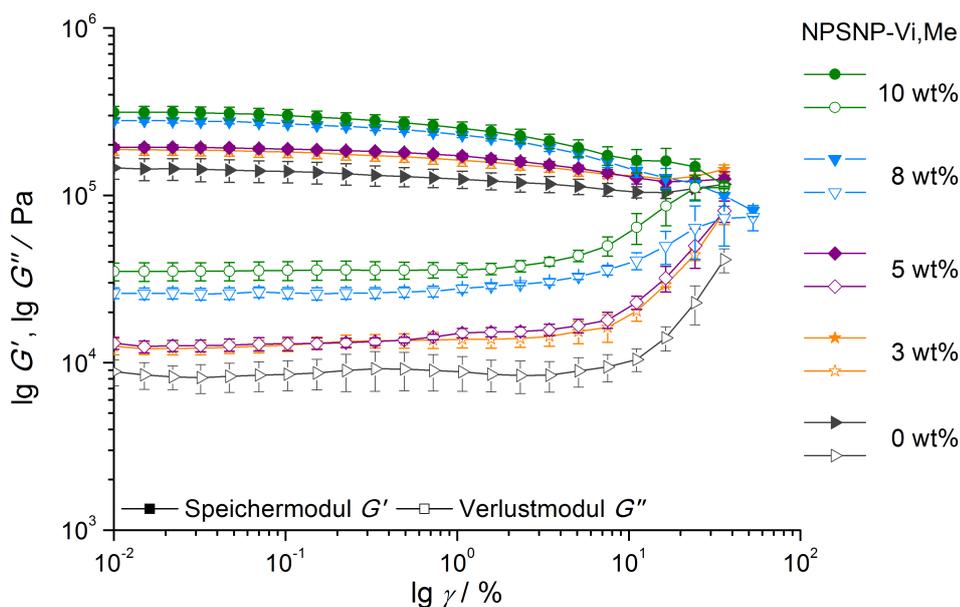


Abb. 5.28: Speicher- und Verlustmodul von Siliconen mit 0 wt%, 3 wt%, 5 wt%, 8 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me.

Die Anstiege der Moduln von 3 wt% auf 5 wt% NPSNP-Vi,Me sowie von 8 wt% auf 10 wt% sind dabei nur gering. Die größten Effekte sind somit zwischen Proben mit 0 wt%, 3 wt% und 8 wt% zu erkennen, was die Ergebnisse aus den Zugversuchen größtenteils unterstützt. Durch Einmischung von 10 wt% NPSNP-Vi,Me wurde der Speichermodul von  $0.14 \pm 0.02$  MPa auf  $0.30 \pm 0.03$  MPa (bei 0.1% Dehnung) erhöht, sodass eine Verstärkung um 114% erreicht wurde (s. Tab. 5.5). Neben den elastischen Anteilen nehmen auch die

viskosen Anteile mit steigendem Partikelgehalt zu. Dies ist an der Zunahme der Verlustmoduln  $G''$  zu erkennen und wird u.a. damit erklärt, dass ein Material verhältnismäßig mehr Energie dissipieren kann, wenn das Material auch mehr Energie aufgenommen hat als ein anderes. Da für die Deformation der festeren 10 wt%-Probe mehr Energie aufgebracht werden muss als für die weichere 0 wt%-Probe, steigt gleichzeitig der Verlustmodul. Insgesamt wurde jedoch eine Erhöhung der Festigkeit durch die Einarbeitung von NPSNP-Vi,Me erreicht.

Tab. 5.5: Speichermoduln der Silicone mit NPSNP-Vi,Me und NPSNP-OH als Füllstoffe. Die Durchschnittswerte beziehen sich auf 0.1% Dehnung.

Gehalt/ wt%	$G'$ (NPSNP-Vi,Me) / MPa	$G'$ (NPSNP-OH) / MPa
0	$0.14 \pm 0.02$	
3	$0.18 \pm 0.01$	
5	$0.19 \pm 0.01$	$0.31 \pm 0.07$
8	$0.27 \pm 0.09$	
10	$0.30 \pm 0.03$	$0.44 \pm 0.04$

In den linear-viskoelastischen Bereichen, in denen der Speichermodul konstant ist, bleibt die Struktur eines Polymers unbeschädigt. Verkürzt sich dieser Bereich und tritt bei kleineren Deformationen auf, so ist dies ein Hinweis auf eine irreversible Zerstörung der Mikrostrukturen.<sup>[196]</sup> Die Messkurven in Abb. 5.28 zeigen deutlich, dass die Strukturzerstörung desto eher eintritt, je größer der Partikelgehalt in der Probe ist. Dies wurde vor allem bei Proben mit 8 wt% und 10 wt% beobachtet und wird durch starke Reibungen zwischen den Silica-Agglomeraten und dem Polymer-Netzwerk während den dynamischen Messungen verursacht.<sup>[196]</sup> Diese Beobachtungen entsprechen den Ergebnissen aus den Zugversuchen, bei denen eine Reduzierung der Bruchdehnungen und Zugfestigkeiten ebenfalls für diese beiden Proben festgestellt wurde.

Es wird damit bestätigt, dass hohe Gehalte an NPSNP-Vi,Me das Polymernetzwerk sehr gut verstärken und bei geringen Dehnungen zu sehr guten mechanischen Festigkeiten führen. Silicone mit geringerem Füllstoffgehalt hielten der dynamisch-mechanischen Beanspruchung länger stand.

Rheologische Messungen an einem Knorpelstück des *Tragus* wurden in der Dissertation von Dr. Tammo Lüßenhop durchgeführt. Diese Ergebnisse wurden mit Messungen verglichen, die unter ähnlichen Bedingungen mit Siliconen durchgeführt wurden, welche NPSNP-Vi,Me enthielten. Hieraus ergab sich, unter Berücksichtigung unterschiedlicher Probendicken, eine grobe Übereinstimmung der Speichermoduln des Knorpels und des Silicons mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me.<sup>[18]</sup>

Vergleichend zu Siliconen, die NPSNP-Vi,Me enthielten, wurden Messungen mit Siliconen mit 5 wt% und 10 wt% NPSNP-OH durchgeführt (s. Abb. 5.29).

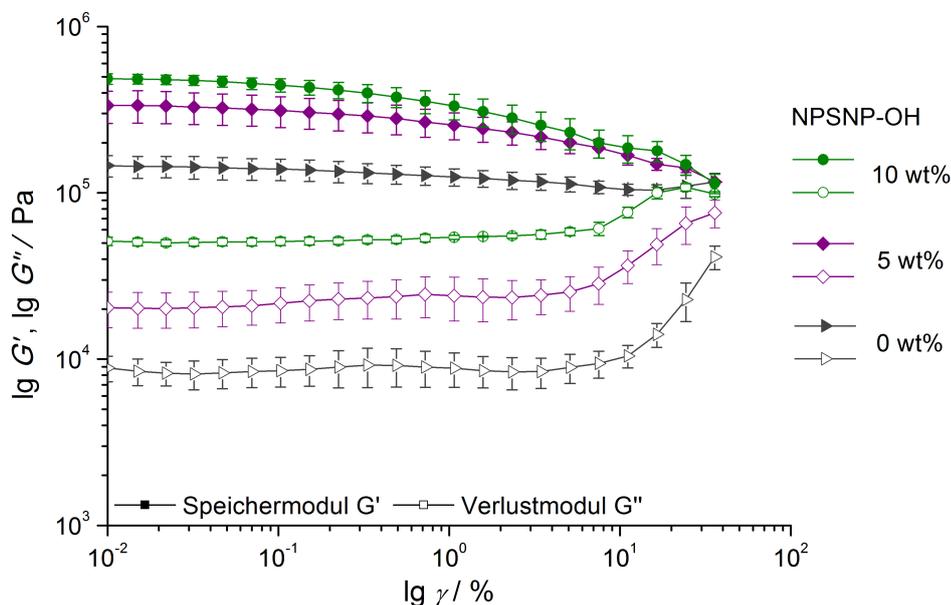


Abb. 5.29: Speicher- und Verlustmodul von Siliconen mit 0 wt%, 5 wt% und 10 wt% NPSNP-OH.

Die Speichermoduln betragen bei 0.1% Dehnung für die 5 wt%-Probe  $0.31 \pm 0.07$  MPa und für die 10 wt%-Probe  $0.44 \pm 0.04$  MPa. Die Festigkeiten dieser Proben sind somit größer als für Proben mit NPSNP-Vi,Me als Füllstoff. Eine Zerstörung der Struktur findet bei Proben mit unmodifizierten NPSNP-OH jedoch früher statt, was an den kürzeren linear-viskoelastischen Bereichen zu erkennen ist. Diese Beobachtung ist vermutlich auf die erschwerte Probenherstellung und Inhomogenitäten innerhalb der Proben zurückzuführen. Im Vorfeld wurden ähnliche Speichermoduln für die unmodifizierten NPSNP-OH und die modifizierten NPSNP-Vi,Me als Füllstoffe erwartet da einerseits die Wechselwirkungen aufgrund der Silanolgruppen der NPSNP-OH und den Siloxanketten stärker sein sollten als bei inaktivierten, d.h. modifizierten, NPSNP-Vi,Me. Andererseits sollte allerdings durch die Anbindung von Vinylgruppen an die Siloxanketten eine Kompensation der verlorenen Wechselwirkungen zwischen Silanolgruppen erfolgen. Da für Proben mit NPSNP-OH größere Moduln gemessen wurden, wird davon ausgegangen, dass der Anteil der Vinylgruppen an der Silicaoberfläche nicht ausreichend war, um genügend chemische Bindungen mit den SiH-Gruppen der Siloxanketten zu bilden. Einige andere Forschungsgruppen beobachteten ähnliche Verhalten, wobei z.B. Deng *et al.* einen positiven Effekt mit Vinyl-modifizierten Füllstoffen erzielte.<sup>[26,198,207,246,278]</sup> Die deutlich bessere Verarbeitbarkeit der Silicone unter Verwendung der NPSNP-Vi,Me und die daraus resultierenden homogenen Proben sind jedoch von größerer Bedeutung als die geringe Reduzierung der Festigkeiten infolge der Modifizierung.

Durch die rheologischen Untersuchungen wurde eine verstärkende Wirkung der NPSNP-Vi,Me auf das Siliconnetzwerk bestätigt. Die mechanischen Eigenschaften des Silicons lassen sich dabei durch gezielte Wahl der Partikelgehalte verändern und für bestimmte Anwendungen anpassen.

#### **5.2.4 Einfluss von lösungsmittelbehandelten Vinyl/Trimethyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln auf die Eigenschaften von Silicon**

Im Hinblick auf eine Verwendung des Silicons als Freisetzungssystem wurde der Einfluss von NPSNP-Vi,Me, die mehrere Tage in Wasser oder Ethanol gerührt wurden, auf das unvernetzte sowie vernetzte Silicon untersucht. Für die Herstellung von Wirkstofffreisetzungssystemen bestehend aus NPSNPs in Silicon müssen die Partikel durch Rühren in einer Wirkstofflösung beladen und anschließend die getrockneten Partikel in das Siliconpolymer eingearbeitet werden.

Bei der Einarbeitung von NPSNP-Vi,Me, die in Ethanol gerührt und anschließend getrocknet wurden, waren keine Unterschiede im Vergleich zu unbehandelten Mischungen festzustellen. NPSNP-Vi,Me, welche mit Wasser behandelt und in das Siliconpolymer eingearbeitet wurden, bildeten hingegen mit dem bloßen Auge erkennbare Partikelagglomerate. Dieser Effekt war für eine Probe mit 5 wt% nur gering, verstärkte sich aber bei der Einmischung von 10 wt% der wasserbehandelten NPSNP-Vi,Me und resultierte in einer inhomogenen Mischung (s. Anhang, Abb. A.10). Diese Probe zeigte keine vollständige Vernetzung, was sich in einer klebrigen Oberfläche äußerte.

Kohlenstoff-Analysen der unbehandelten Partikel und der für zwei Tage mit Ethanol bzw. Wasser behandelten Partikel zeigte eine Tendenz zum Anstieg des Kohlenstoffgehaltes nach einer Behandlung mit Ethanol (s. Abb. 5.30). Der Kohlenstoffgehalt ist auf Restgehalte an Ethanol in der Probe zurückzuführen und wurde mittels thermogravimetrischer Messungen bestätigt. TG-Messungen der Proben sind im Anhang aufgeführt (s. Abb. A.11). Das Rühren der Partikel in Wasser führte zu einer Abnahme des Kohlenstoffgehaltes von ca. 4% auf 1%. Da Silica in wässriger Lösung einer Degradation unterliegt, führen diese Prozesse auch zur Hydrolyse und damit zum Verlust der Vinyl- und Trimethylgruppen an der Silicaoberfläche.

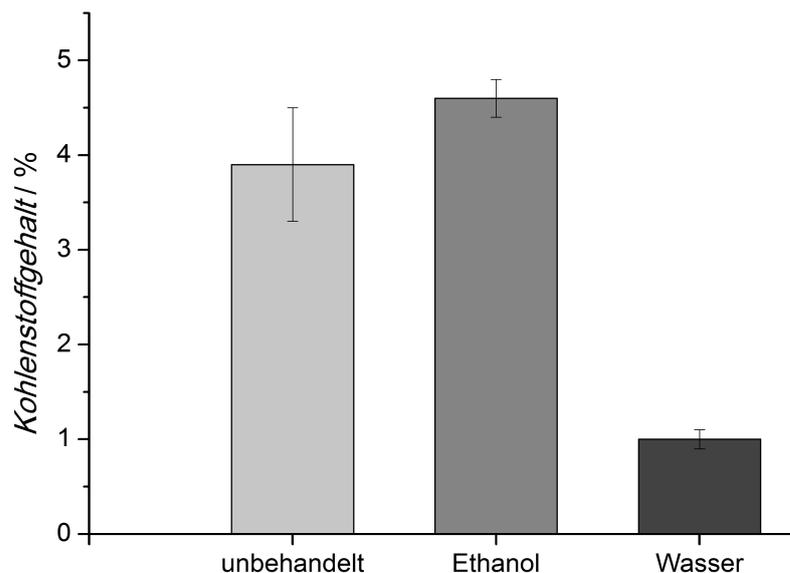


Abb. 5.30: Kohlenstoffgehalte von unbehandelten sowie für zwei Tage mit Ethanol und Wasser behandelten NPSNP-Vi,Me.

In Abb. 5.31 sind die Ergebnisse aus rheologischen Messungen für ethanolbehandelte Proben dargestellt. Die zweitägige Ethanolbehandlung der NPSNP-Vi,Me führte sowohl für die 5 wt%-Probe als auch für die 10 wt%-Probe zu einer geringen Erniedrigung der Speichermoduln um 5% bzw. 7% im Vergleich zu unbehandelten Proben (s. rote Linien in Abb. 5.31).

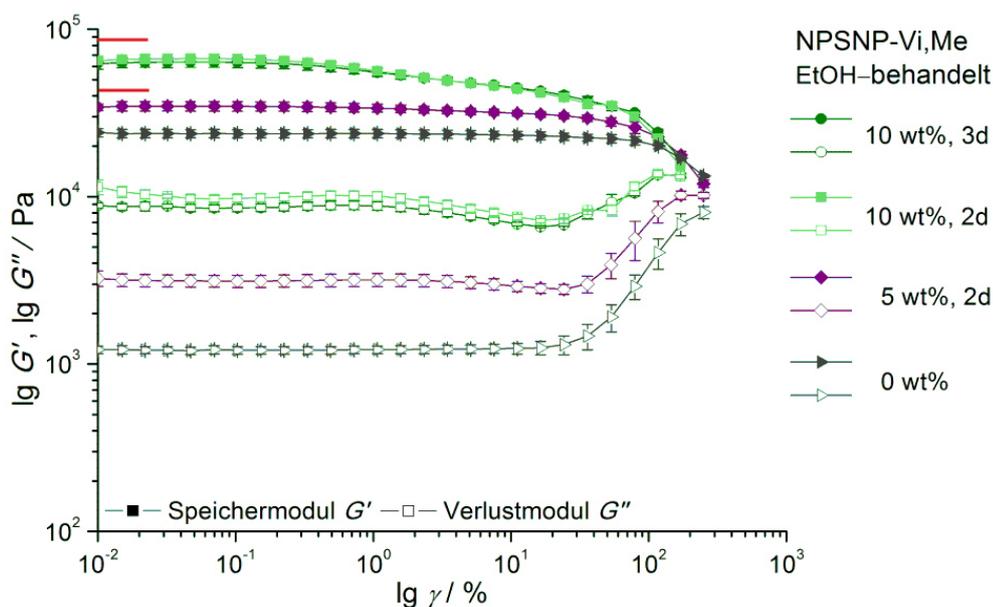


Abb. 5.31: Speicher- und Verlustmoduln von Siliconproben, die ethanolbehandelte NPSNP-Vi,Me enthalten. Rote Markierungen deuten die Speichermoduln von Proben mit unbehandelten NPSNP-Vi,Me an (untere Linie: 5 wt%; obere Linie: 10 wt%).

Die Lage der Speichermoduln von Proben mit 5 wt% und 10 wt% unbehandelten NPSNP-Vi,Me bei einer Dehnung von 0.1% sind in Form roter Linien markiert (5 wt%: unten; 10 wt%: oben). Es wurde kein relevanter Unterschied zwischen einer zweitägigen und einer dreitägigen Ethanolbehandlung festgestellt. Im Vergleich mit der 0 wt%-Vergleichsprobe wurde für alle Proben eine Erhöhung der Festigkeit erreicht.

Die Ergebnisse aus Messungen mit wasserbehandelten Proben zeigen für die 5 wt% NPSNP-Vi,Me einen sehr ähnlichen Verlauf wie für die entsprechende ethanolbehandelte und unbehandelte Probe (s. Abb. 5.32). Die Zumischung von 10 wt% wasserbehandelter Partikel führte zu einer Reduzierung des Speichermoduls um 52%. Die Hauptursache für diese starke Abnahme liegt vermutlich in der Inhomogenität der Probe, verursacht durch starke Partikelagglomerationen.

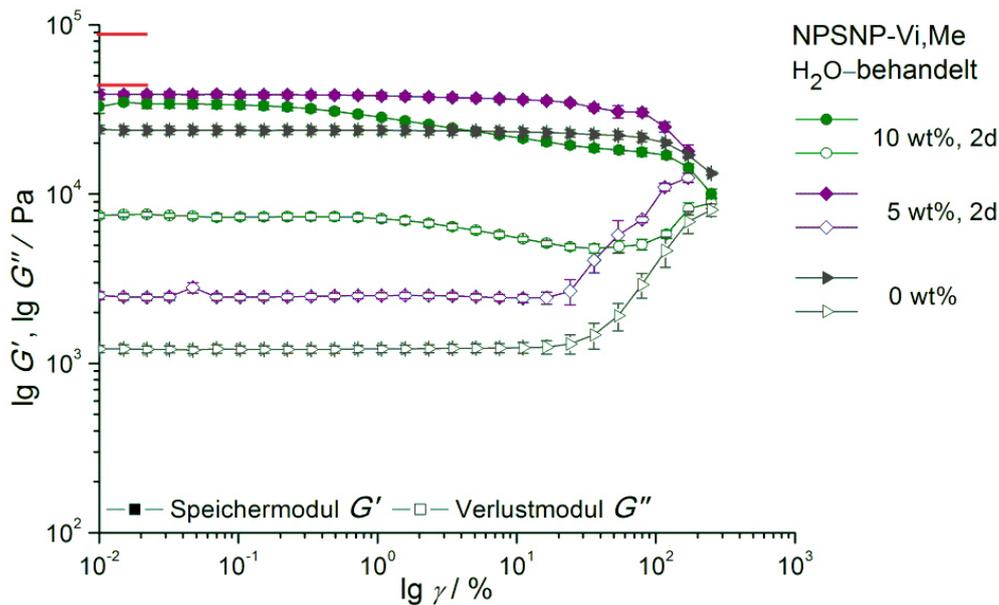


Abb. 5.32: Speicher- und Verlustmodul von Siliconproben, die wasserbehandelte NPSNP-Vi,Me enthalten. Rote Markierungen deuten die Speichermoduln von Proben mit unbehandelten NPSNP-Vi,Me an (untere Linie: 5 wt%; obere Linie: 10 wt%).

Wie diese Ergebnisse zeigen, hat vor allem die Vorbehandlung der NPSNP-Vi,Me mit Wasser Einfluss auf die Verarbeitbarkeit, die Homogenität der Proben und die mechanischen Eigenschaften. Die Behandlung mit Ethanol hat einen deutlich geringeren Effekt. Der erhöhte Kohlenstoffgehalt der ethanolbehandelten Probe wurde auf Restmengen des Lösungsmittels in Höhe von 7% zurückgeführt (s. TG-Messung im Anhang, Abb. A.11). Möglicherweise wirkt sich dieser negativ auf die Festigkeiten aus, wie es auch in vorherigen Versuchen beobachtet wurde. Im Falle der wasserbehandelten Proben wurde mittels Thermogravimetrie jedoch nur ein Restwassergehalt von 4% ermittelt (s. Anhang, Abb. A.11). Die Abnahme des Kohlenstoffgehaltes in den wasserbehandelten Partikeln ließ eine erhöhte Konzentration an Silanolgruppen auf der Silicaoberfläche vermuten. Folglich hätte dies,

wie auch für unmodifizierte NPSNP-OH, zu erhöhten Wechselwirkungen zwischen den Silica-Partikeln und dem Polymer und somit zu einer größeren Verstärkung des Netzwerkes führen müssen. Diese Annahme wurde jedoch nicht bestätigt. Möglicherweise ist die Konzentration an Silanolgruppen sehr groß, sodass die NPSNPs eine besonders starke Agglomerationsneigung aufweisen, welche gegenüber den Wechselwirkungen mit dem Polymer dominierend ist. Hierdurch bilden sich große Agglomerate, wie sie beim Vermischen hoher Partikelkonzentrationen in das Siliconpolymer beobachtet wurden und welche u.a. aufgrund einer inhomogenen Verteilung scheinbar nicht fähig sind, das Siliconnetzwerk zu verstärken. Aufschluss über die Erhöhung der Silanolkonzentration nach einer Lösungsmittelbehandlung würde die SEARS-Zahl geben, welche über eine Titration der Silanolgruppen mit Natriumhydroxid ermittelt werden kann.<sup>[279]</sup>

Untersuchungen der Partikel mittels REM zeigten bis zu einer Behandlungszeit von zwei Tagen keine Unterschiede zu den unbehandelten Partikeln. Bei dem Vergleich mit Partikeln, die für drei Tage in Ethanol bzw. Wasser gerührt wurden, konnten einige nicht-sphärische große Aggregate mit Durchmessern von einigen 100 nm beobachtet werden (s. Abb. 5.33).

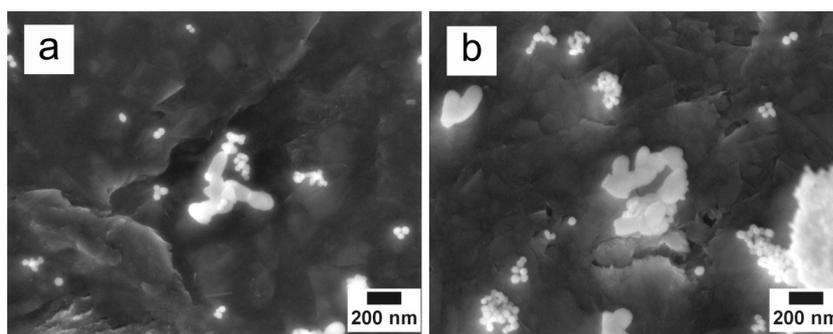


Abb. 5.33: REM-Aufnahmen von NPSNP-Vi,Me, die drei Tage in Wasser (a) und Ethanol (b) gerührt wurden.

Auflösungs- und Repräzipitationsprozesse der Partikel, welche durch eine geringe Löslichkeit in den Medien hervorgerufen werden, haben hier vermutlich zu einer Ostwaldreifung geführt. Da dieser Effekt bislang nur bei NPSNPs mit Vinyl- und Methylmodifizierung beobachtet wurde, wird davon ausgegangen, dass diese kurzen organischen Reste die Partikeloberfläche nur wenig von dem Lösungsmittel abschirmen und damit angreifbarer für Degradationsprozesse sind. Diese Aggregatbildung tritt jedoch erst nach einer dreitägigen Behandlung ein und kann damit nicht die Ursache für die verschlechterten Eigenschaften von Siliconen sein, die NPSNP-Vi,Me mit einer zweitägigen Wasserbehandlung enthalten. Hinsichtlich der Verwendung als Freisetzungssystem ist es anhand dieser Ergebnisse von Vorteil die Wirkstoffinkubation in ethanolischer Lösung durchzuführen, soweit dies möglich ist.

### 5.2.5 Fluoreszierende $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ @NPSNPs als Füllstoff

#### Charakterisierung der $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ @NPSNPs

Für eine Erweiterung der Detektionsmöglichkeiten von Silica-Füllstoffen in Silicon wurden NPSNPs mit fluoreszierenden  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kernen entwickelt. Die Kerne wurden gemäß einer Vorschrift von Kong *et al.* mit Terbium(III)nitrat-Hexahydrat, Cer(III)nitrat-Hexahydrat und Ammoniumfluorid in Diethylenglykol synthetisiert.<sup>[154]</sup> Die Herstellung der nanoporösen Silica-Hülle erfolgte unter Verwendung von Tetraethylorthosilicat, Cetyltrimethylammoniumbromid und Diethanolamin in einer wässrig-ethanolischen Lösung. Neben der Aufklärung der Partikelverteilung im Silicon, z.B. mittels Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie, verfügen derartig markierte Partikel über den Vorteil, auch in biologischen Systemen detektiert werden zu können. Auf diese Weise ließen sich Kenntnisse über mögliche Ausschwemmungen aus dem Silicon, Abbauprozesse oder Anreicherungen der Partikel im Organismus gewinnen.

Anhand von röntgenographischen Messungen wurde eine erfolgreiche Synthese der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne bestätigt. Die Reflexe lassen sich eindeutig der Phase des Cer(III)-fluorids zuordnen (s. Abb. 5.34) und die Reflexverbreiterung deutet auf das Vorliegen von Nanopartikeln hin. Die geringe Verschiebung der Reflexe zu größeren Beugungswinkeln weist auf die Dotierung mit Terbium(III)-Ionen hin, da diese kleiner sind als Cer(III)-Ionen.<sup>[280]</sup>

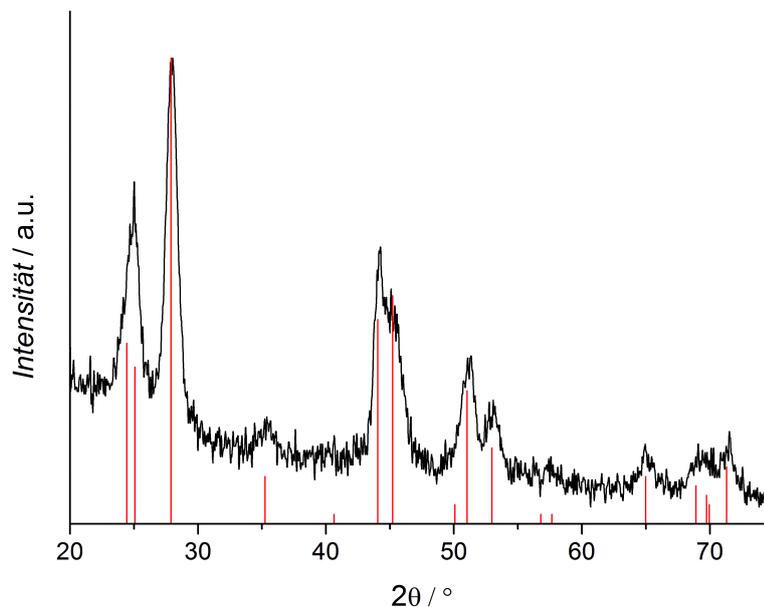


Abb. 5.34: Röntgen-Diffraktogramm von Terbium(III)-dotiertem Cer(III)-fluorid. Durch die roten Linien werden die Reflexlagen und relativen Intensitäten von Cer(III)-fluorid markiert.<sup>[281]</sup>

Den Nachweis, dass tatsächlich eine Dotierung stattgefunden hat, gibt die grüne Fluoreszenz einer ethanolischen Suspension unter Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 254 nm (s. Foto in Abb. 5.35). Zudem belegt das in Abb. 5.35 dargestellte Emissionsspektrum des Feststoffs aus  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kernen das Vorliegen des gewünschten Produkts. Die mit einer Anregungswellenlänge von 300 nm erzeugten Emissionen zeigen Maxima bei 489 nm und 543 nm, welche den Übergängen  $^5\text{D}_4-^7\text{F}_6$  bzw.  $^5\text{D}_4-^7\text{F}_5$  entsprechen.<sup>[154]</sup> Die grüne Fluoreszenz wird durch letzteren verursacht.

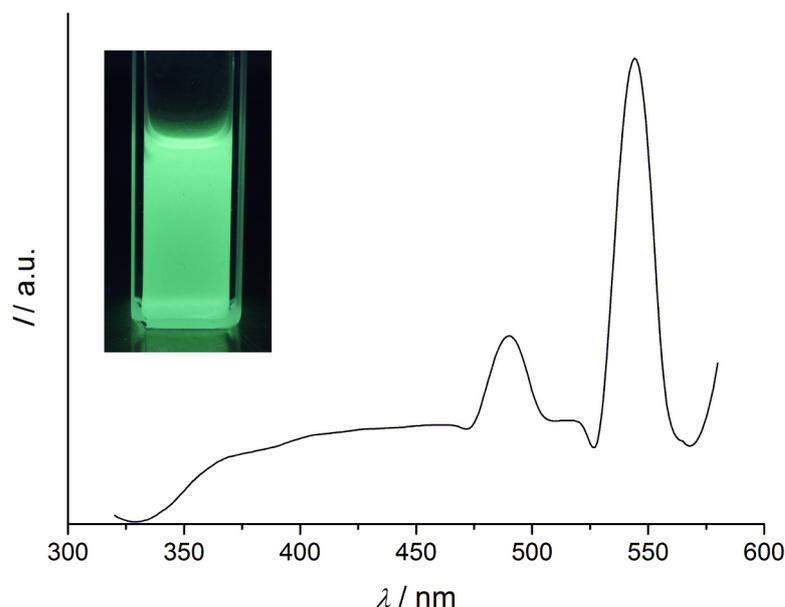


Abb. 5.35: Emissionsspektrum der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne bei einer Anregungswellenlänge von 300 nm und Foto einer fluoreszierenden ethanolischen Suspension der Kerne unter Einwirkung von Licht der Wellenlänge 254 nm.

Nach der Herstellung der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne erfolgte die Synthese der nanoporösen Silica-Schale um diese Kerne herum. TEM-Untersuchungen dienten dem Nachweis der hergestellten Kern-Schale-Nanopartikel. In den TEM-Aufnahmen (s. Abb. 5.36a-d) sind deutlich die stäbchenförmigen Kerne mit einer Größe von ca. 10 nm zu erkennen, welche vollständig von Silica umschlossen sind.

Es wurden aggregierte Kern-Schale-Partikel beobachtet, bei denen größtenteils eine sphärische bis ellipsoide Morphologie der Basispartikel erkennbar war (s. Abb. 5.36a,c). Außerdem lagen isolierte Partikel mit Durchmessern von ca. 50 nm vor, die mit den bisher verwendeten NPSNPs ohne Kerne vergleichbar sind (s. Abb. 5.36d). Wie in Abb. 5.36b gezeigt ist, wurden neben sphärischen und ellipsoiden Partikeln auch stark von dieser Morphologie abweichende  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  gefunden.

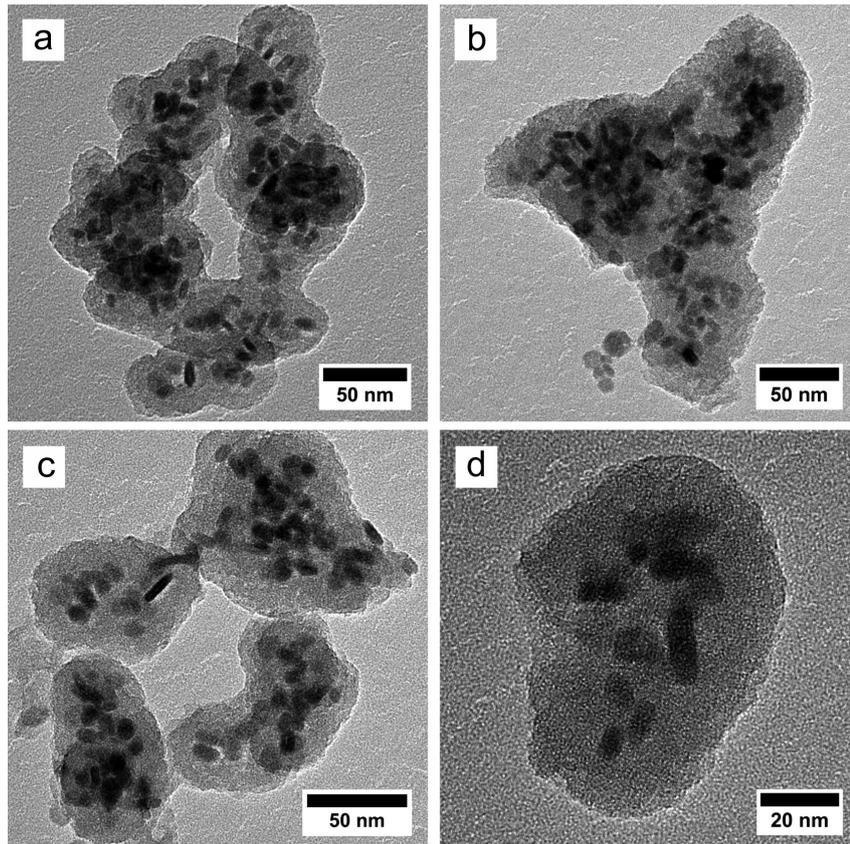


Abb. 5.36: TEM-Aufnahmen von  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$ .

Mithilfe der Stickstoff-Sorptionsmessung von  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  wurde die Bildung einer nanoporösen Silica-Schicht bestätigt (s. Abb. 5.37). Diese ergab eine spezifische BET-Oberfläche von  $890 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  und ein Porenvolumen von  $0.6 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ . Verglichen mit reinen NPSNPs sind diese Werte etwas niedriger, was auf die hohe Dichte der nicht-porösen  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne zurückzuführen ist. Die Porengröße wurde nach der DFT-Methode mit ca. 3 nm ermittelt und stimmt mit den Porengrößen der NPSNPs (s. Abschnitt 5.2.1) gut überein.

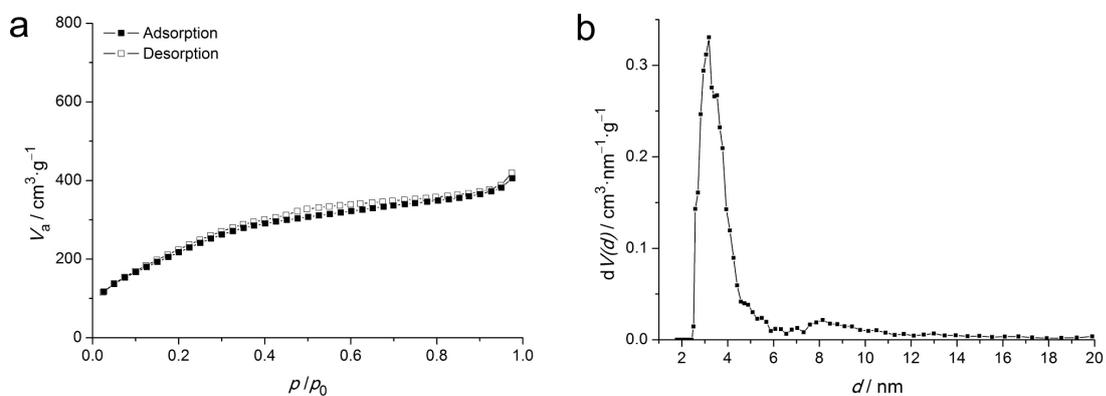


Abb. 5.37: a) Stickstoff-Sorptionsisotherme und b) Porenweitenverteilung von  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$ .

### Silicone mit $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$ als Füllstoff

Die  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  wurden in unmodifizierter Form als  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  mit 0.5 wt% und 3 wt% in Siliconpolymer eingearbeitet. Außerdem wurden auch Partikel mit Vinyl- und Trimethylgruppen modifiziert. Unter Verwendung der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  wurden Siliconproben mit 3 wt% und 8 wt% hergestellt und vergleichend die Verteilung der Partikel im Silicon mittels Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie untersucht.

Alle Partikel ließen sich gut in das Siliconpolymer einarbeiten und ergaben homogene vernetzte Siliconelastomere. Einzig die Siliconprobe mit 8 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  war auch nach einer Vernetzungszeit von 24 h bei 120 °C noch weich und klebrig.

Eine Überprüfung der Fluoreszenzeigenschaften der Partikel im Silicon erfolgte durch Bestrahlung der Proben mit Licht der Wellenlänge 254 nm. Eine Fluoreszenz wurde in allen Proben außer der Referenz ohne Kern-Schale-Partikel beobachtet (s. Abb. 5.38). Dabei zeigt schon der geringe Gehalt von 0.5 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  ein sehr starkes Leuchten, welches sich optisch nicht von höheren Gehalten von bis zu 8 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  unterscheiden lässt.

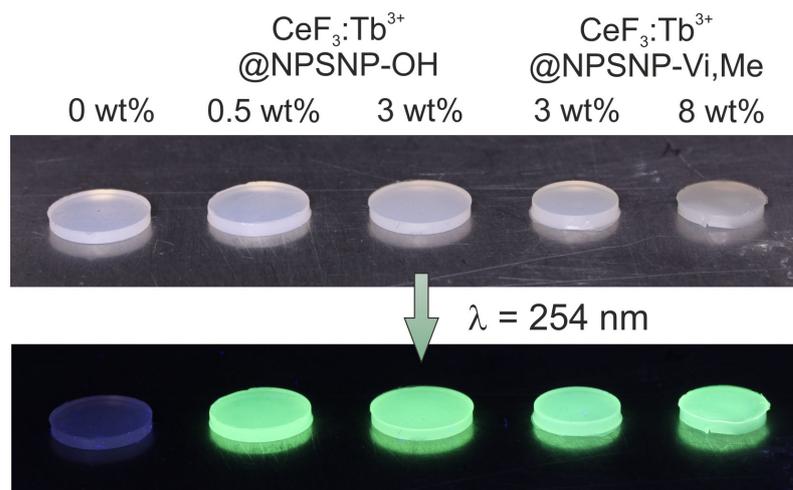


Abb. 5.38: Nachweis der Fluoreszenzeigenschaften von Siliconen mit  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  und  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  als Füllstoffe in unterschiedlichen Gehalten.

Anhand von Konfokal-Laser-fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen aus Ebenen von Probenquerschnitten wurde der prozentuale Anteil der Fluoreszenzsignale mithilfe der Software ImageJ bestimmt. Für die Siliconprobe mit 0.5 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  war dies aufgrund der geringen Signalintensitäten nicht möglich. Für die Probe mit 3 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  wurde ein Anteil von 1.7% ermittelt (s. Tab. 5.6). Der Anteil in den Proben mit 3 wt% und 8 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  betrug 2.4% bzw. 4.5%.

Die ermittelten Werte repräsentieren jeweils die Anteile an fluoreszierenden  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kernen am Gesamtfüllstoffgehalt und liegen deshalb unterhalb der eingearbeiteten Gehalte

Tab. 5.6: Prozentuale Anteile der Fluoreszenzsignale in verschiedenen Siliconproben.

Partikelart	Partikelgehalt / wt%	Fluoreszenzanteil / %
NPSNP-OH	0.5	-
	3	1.7
NPSNP-Vi,Me	3	2.4
	8	4.5

von 3 wt% bzw. 8 wt%. Die im Vergleich zur Silica-Schale schweren Kerne machen dabei einen Anteil von 60-80% am Gesamtfüllstoffgehalt aus. Dieser Wert variiert, da die Verteilung der Kerne in der Schale zum Teil stark unterschiedlich ist, wie anhand von TEM-Aufnahmen festgestellt wurde (s. Abb. 5.36).

Die Differenz von 0.7% zwischen den fluoreszierenden Anteilen der Proben mit 3 wt% unmodifizierten und modifizierten Kern-Schale-Partikeln ist möglicherweise auf eine inhomogene Verteilung, besonders im Silicon mit unmodifizierten Partikeln, zu erklären. Unmodifizierte Partikel neigen stärker zur Agglomeration als modifizierte Partikel, wodurch Bereiche in der Probe entstehen, die eine hohe lokale Konzentration an Partikeln aufweisen, während Nachbarbereiche eine geringere Konzentration enthalten können.

Der Vergleich zwischen den Proben mit 3 wt% und 8 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@NPSNP\text{-Vi,Me}$  zeigt eine Erhöhung der fluoreszierenden Anteile um das 1.9-fache, wodurch die Erhöhung des Füllstoffgehaltes belegt wurde. Würden die  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne homogen verteilt vorliegen, wäre eine Erhöhung des fluoreszierenden Anteils um das 2.7-fache erwartet worden.

Dreidimensionale Aufnahmen von Silicon-Querschnitten verdeutlichen die Verteilung der fluoreszierenden Kern-Schale-Nanopartikel im Silicon. Mittels Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie war es möglich, die agglomerierten Partikel bis zu einer Tiefe von 30  $\mu\text{m}$  noch eindeutig detektieren zu können.

Die Konfokal-Laser-fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer Probe mit 0.5 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@NPSNP\text{-OH}$  ist in Abb. 5.39 dargestellt. Sie zeigt, wie zuvor vermutet, sowohl Bereiche mit hohen als auch mit geringeren lokalen Intensitäten. Diese lokalen Fluoreszenzsignale sind als Partikelagglomerate zu deuten. Einzelne Nanopartikel sind aufgrund der Auflösungsgrenze von 200 nm nicht nachweisbar. Es ist zu erkennen, dass einige große Agglomerate mit bis zu 20  $\mu\text{m}$ , aber auch kleinere mit ca. 5  $\mu\text{m}$  vorliegen. Insgesamt sind diese Agglomerate gut über den Probenausschnitt verteilt. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass nur die  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne betrachtet werden, nicht aber die Silica-Schalen.

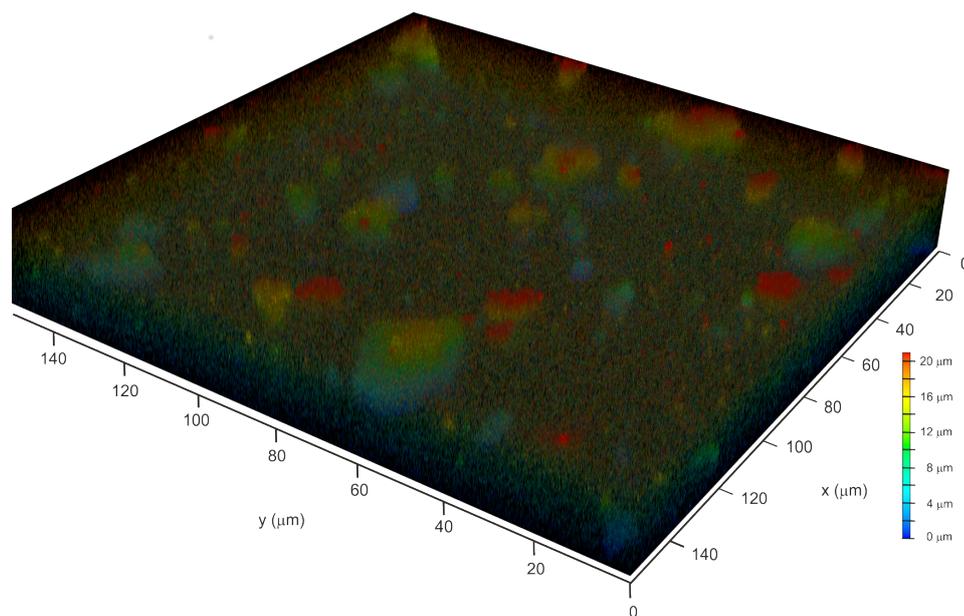


Abb. 5.39: Konfokal-Laser-fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer Silicon-Probe mit 0.5 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$ .

Die Probe mit 3 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  weist deutlich mehr Fluoreszenzsignale als die 0.5 wt%-Probe auf (s. Abb. 5.40). In dieser Probe wurden ebenfalls neben kleineren Agglomeraten auch solche mit Durchmessern bis zu 20  $\mu\text{m}$  beobachtet. Die Verteilung erscheint wesentlich dichter, aber auch gleichmäßiger als bei geringerem Füllstoffgehalt. Der Vergleich der gezeigten dreidimensionalen Aufnahme mit Aufnahmen anderer Proben ist aufgrund der etwas anderen Darstellung nicht ganz eindeutig. Zweidimensionale Aufnahmen aus einer Ebene bestätigen jedoch die beschriebenen Beobachtungen.

Die dreidimensionale Aufnahme einer Siliconprobe mit 3 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  (s. Abb. 5.41) zeigt eine homogene Verteilung der Partikel über den gesamten Probenausschnitt. Aus den Fluoreszenzsignalen lassen sich größtenteils Agglomerate mit Durchmessern bis zu 5  $\mu\text{m}$  ableiten. Es sind deutlich weniger Agglomerate mit großen Durchmessern von 10-20  $\mu\text{m}$  zu erkennen. Die Modifizierung der Partikel führte somit zu einer gewünschten Minimierung der Agglomeratbildung und infolgedessen zu einer Verbesserung der Partikelverteilung.

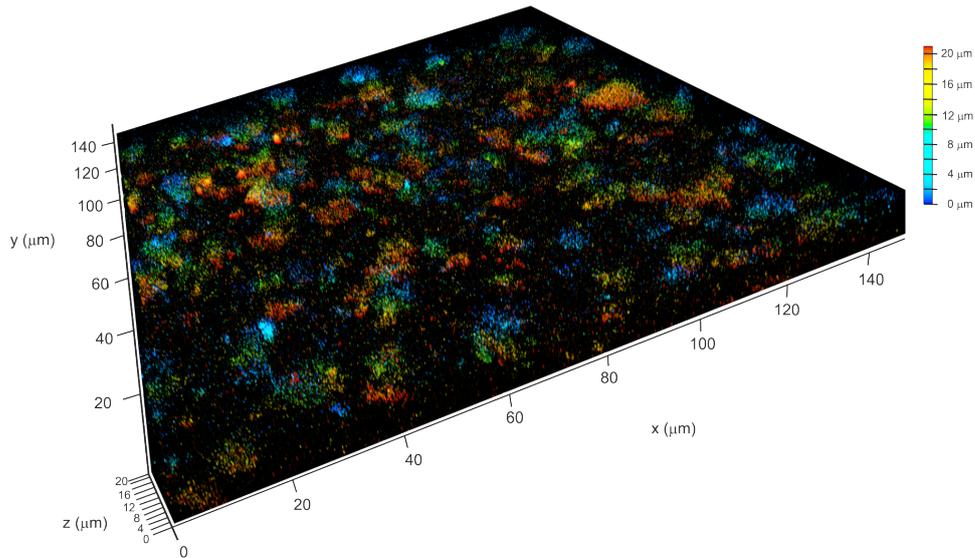


Abb. 5.40: Konfokal-Laser-fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer Silicon-Probe mit 3 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$ .

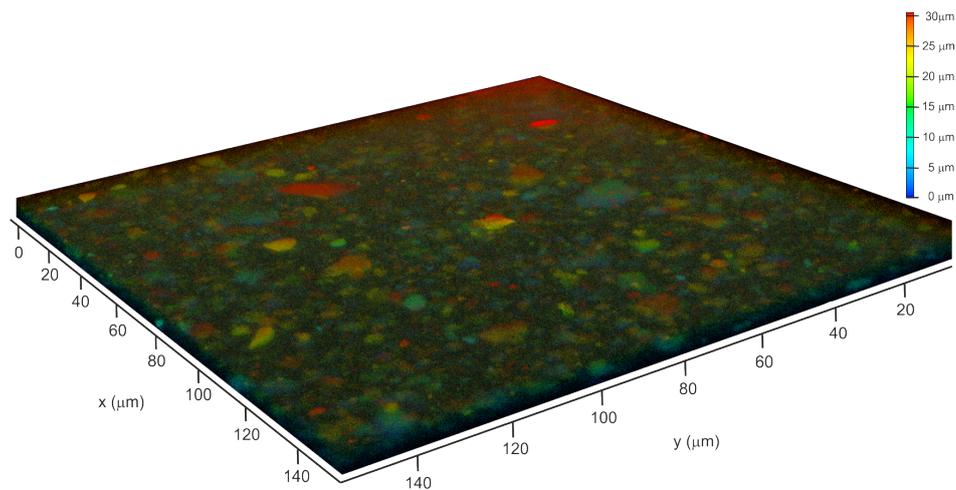


Abb. 5.41: Konfokal-Laser-fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer Silicon-Probe mit 3 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$ .

Die Verwendung von 8 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  als Füllstoff führte zu einer weiteren Zunahme der Signaldichte (s. Abb. 5.42). Die Größe der Agglomerate ist denen in der 3 wt%-Probe sehr ähnlich, jedoch wurden vereinzelt sehr große Agglomerate mit Durchmessern von 30-40  $\mu\text{m}$  beobachtet. Wahrscheinlich entstanden diese aufgrund des hohen Füllstoffgehalts und der damit verbundenen Reduzierung des freien Volumens im Polymer. Partikel liegen hier dichter beieinander und neigen vermehrt zur Agglomeration.

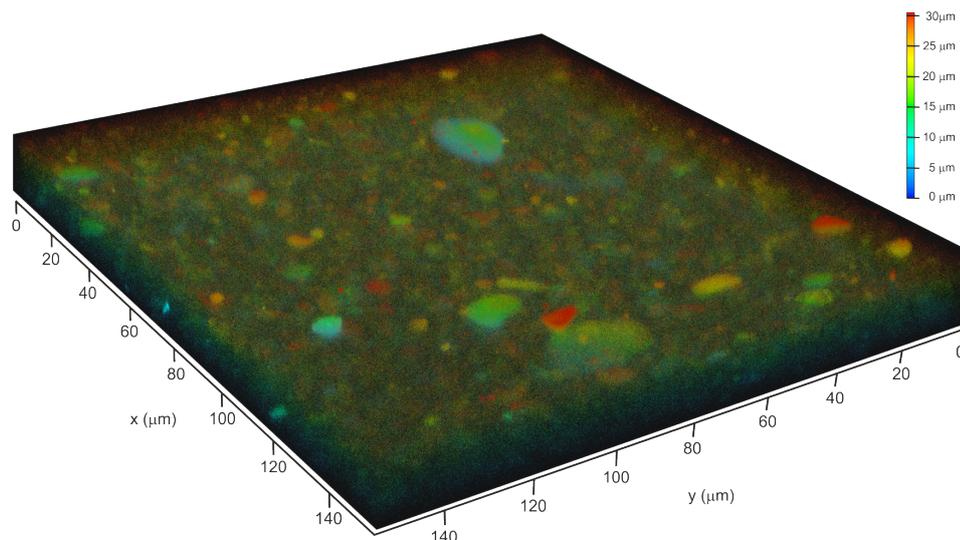


Abb. 5.42: Konfokal-Laser-fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer Silicon-Probe mit 8 wt%  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$ .

Mittels Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie konnten die  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  erfolgreich detektiert und unterschiedliche Verteilungen der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  und  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  beobachtet werden. Diese Methode eignet sich somit sehr gut für die Detektion von Füllstoffen. In dieser Untersuchung konnte erneut gezeigt werden, dass die Modifizierung der NPSNPs positive Auswirkungen auf die Verteilung der Partikel im Polymer hat, wodurch letztlich die mechanischen Eigenschaften beeinflusst werden. Mechanische Tests, die nicht Gegenstand dieser Untersuchung waren, würden zu einer weiterführenden Charakterisierung dieses Materials beitragen.

### 5.2.6 *In vitro*-Cytokompatibilität von Silicon mit nanoporösen Silica-Nanopartikeln als Füllstoff

Die beabsichtigte Verwendung als Implantatmaterial macht es unabdingbar, die Cytokompatibilität der Silicone mit dem neuen Füllstoff NPSNP-Vi,Me zu untersuchen. Zusätzlich wurden Silicone mit NPSNP-OH getestet, um einen Einfluss der Modifizierung zu untersuchen. Bei den verwendeten Zelllinien handelte es sich um humane Lungenkarzinomzellen (A549) und murine Fibroblasten (NIH 3T3) sowie um primäre mesenchymale Stammzellen aus humanem Fettgewebe (hAD-MSCs). Die Interaktion eines Biomaterials mit einem Zelltyp ist immer spezifisch, sodass die Wechselwirkung des Materials mit Zellen aus dem späteren *in vivo*-System untersucht werden müssen.<sup>[282]</sup> Mit dieser Auswahl wurde ein breites Spektrum abgedeckt und der Fokus nicht nur auf die Anwendung im Ohrbereich gelegt, in dem die NIH 3T3-Zellen die größte Rolle innerhalb dieser Zelllinien spielen.

Auf keiner der untersuchten Siliconproben sowie für keine der getesteten Zelltypen wurde eine Hemmung der Zellproliferation festgestellt. Abb. 5.43 zeigt anhand von mikroskopischen Aufnahmen eine Zunahme der Zellbedeckung nach einer Kultivierung von 72 h im Vergleich zu 24 h auf Silicon ohne Zusatz von NPSNPs (linke Spalte) sowie auf Siliconen mit 8 wt% NPSNP-Vi,Me (mittlere Spalte) und 8 wt% NPSNP-OH (rechte Spalte). Aufnahmen der Proben mit 3 wt% NPSNP-Vi,Me und NPSNP-OH befinden sich im Anhang (s. Abb. A.13). Aufgrund der starken Hydrophobizität des Silicons können die Zellen jedoch, wie erwartet wurde, nicht gut adhären und bildeten Zellaggregate.<sup>[283,284]</sup> Sie blieben jedoch vital. Das geringe Adhäsionsvermögen wurde insbesondere bei den hAD-MSCs in Form von Sphäroidenbildung beobachtet. Diese wurden bei der Färbung größtenteils herunter gewaschen, sodass die mikroskopischen Aufnahmen nur die restlichen verbliebenen Zellen zeigen. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen der biokompatiblen Vergleichsprobe mit 0 wt% NPSNPs und den NPSNPs-haltigen Proben festgestellt.

Um als cytokompatibel zu gelten, muss entsprechend der ISO10993-5 eine Zellviabilität von mindestens 70% gegeben sein. Diese Vorgabe wurde für alle Zelllinien, mit Ausnahme der empfindlichen hAD-MSCs auf dem Silicon mit 8 wt% NPSNP-Vi,Me nach 72 h, erfüllt (s. Abb. 5.44 bis 5.46).

Für A549-Zellen wurde kaum ein Unterschied in den Zellviabilitäten zwischen den verschiedenen Proben beobachtet (s. Abb. 5.44). Es wurde lediglich eine geringe Tendenz zur Abnahme für Proben mit 8 wt% NPSNP-OH und NPSNP-Vi,Me gezeigt. Die Viabilitäten lagen aber insgesamt in einem sehr guten Bereich oberhalb von 80%.

Die Zellviabilität von NIH3T3-Zellen war für Siliconproben mit NPSNP-OH und NPSNP-Vi,Me geringfügig erniedrigt, lag aber größtenteils immer noch oberhalb von 80% (s. Abb. 5.45). Innerhalb dieser Zelllinie ist die Viabilität für 8 wt%-Proben und ebenso für modifizierte NPSNP-Vi,Me marginal erniedrigt.

Die empfindlicheren hAD-MSCs zeigen im Vergleich zu den anderen Zelllinien die größten Abnahmen in der Zellviabilität (s. Abb. 5.46). Es zeigt sich somit, dass die Zelltypen unterschiedlich auf Biomaterialien reagieren. In einer umfangreichen Studie von Schneider *et al.* mit unterschiedlichen mesenchymalen Stammzellen auf verschiedenen Polymeren zeigten diese für PDMS eine geringere Cytokompatibilität und Vitalität im Vergleich zu einigen anderen getesteten Polymeren.<sup>[282]</sup> Die hMSCs scheinen demnach empfindlich und ihre Interaktion mit Biomaterialien sehr spezifisch zu sein. Die Viabilitäten dieser Zellen auf den in dieser Arbeit getesteten Siliconen lagen hingegen in einem guten Bereich, sodass die Silicone bis auf die Probe mit 8 wt% NPSNP-Vi,Me als cytokompatibel für hAD-MSCs eingestuft werden können. Ein Trend hinsichtlich einer verstärkten Reduzierung der Viabilität, die durch den Füllstoffgehalt oder die Modifizierung verursacht werden könnte, wurde nicht beobachtet.

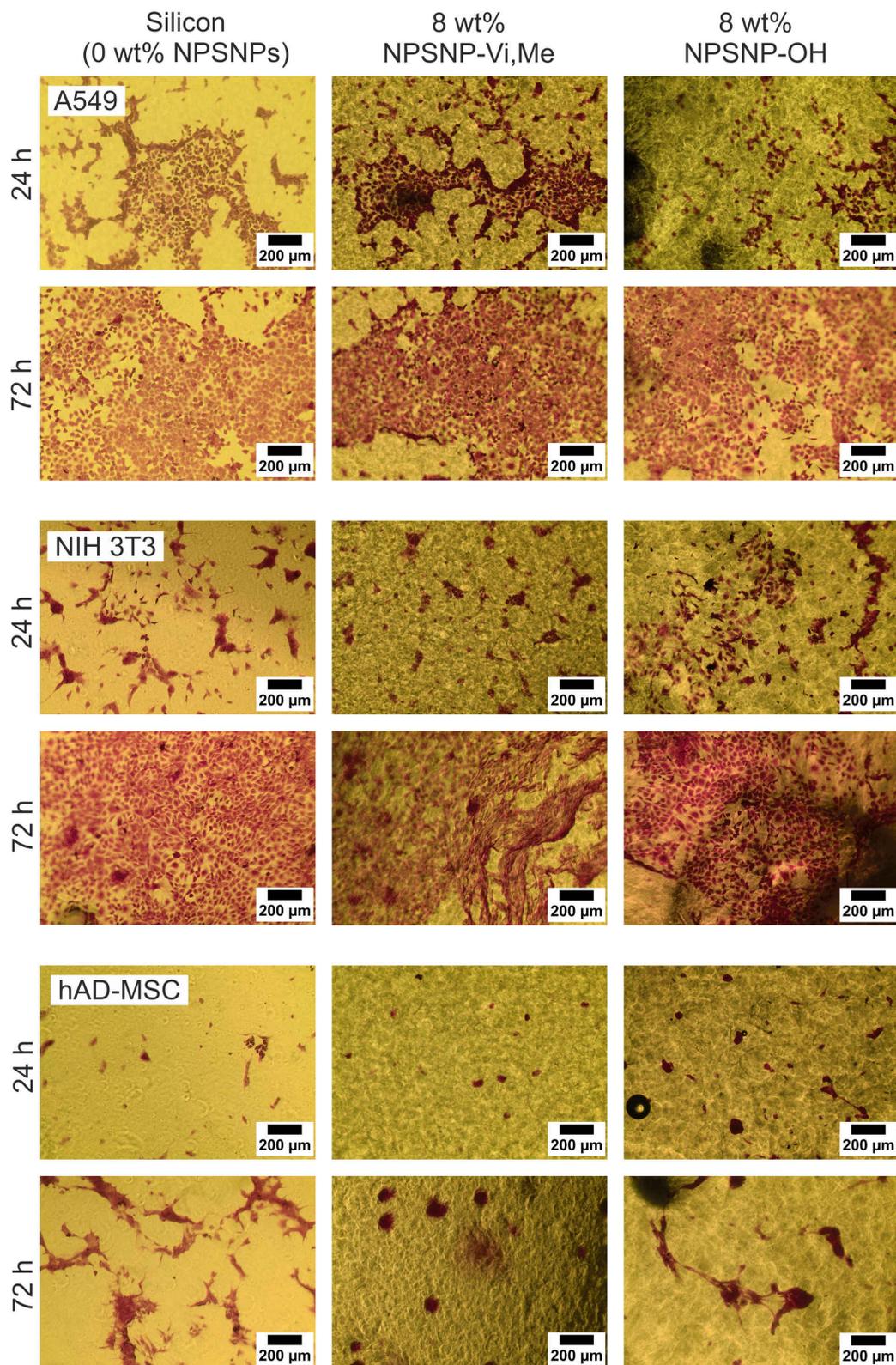


Abb. 5.43: Mikroskopische Aufnahmen von A549-Zellen, NIH 3T3-Zellen und hAD-MSCs nach einer Kristallviolett-färbung. Die Aufnahmen zeigen die Zellen nach einer Kultivierung für 24 h und 72 h auf Silicon ohne NPSNPs sowie Silicon mit 8 wt% NPSNP-Vi,Me bzw. NPSNP-OH.

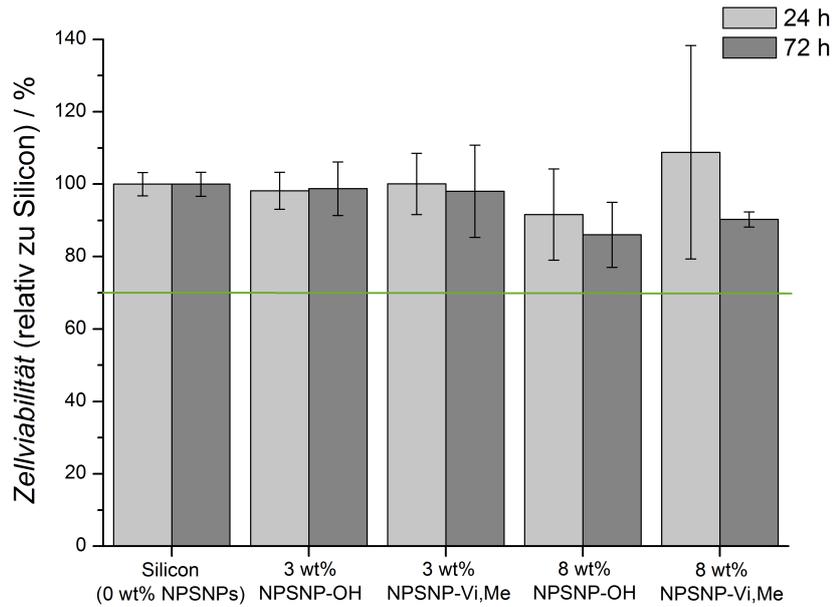


Abb. 5.44: Zellviabilitäten aus CTB-Assays von A549-Zellen gegenüber Silicon ohne NPSNPs sowie Silicon mit 3 wt% und 8 wt% NPSNP-OH bzw. NPSNP-Vi,Me. Die grüne Linie markiert die Grenze der Cytokompatibilität nach ISO 10993-5.

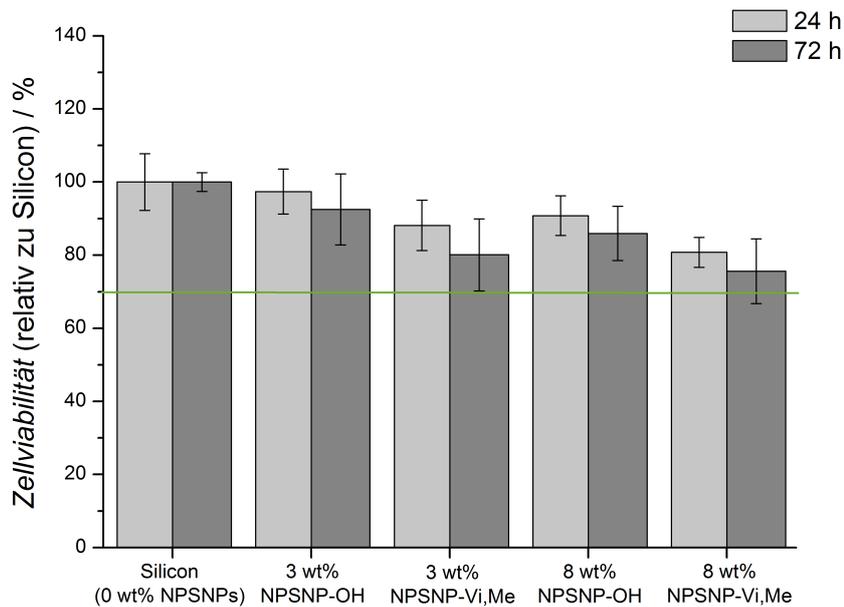


Abb. 5.45: Zellviabilitäten aus CTB-Assays von NIH 3T3-Zellen gegenüber Silicon ohne NPSNP sowie Silicon mit 3 wt% und 8 wt% NPSNP-OH bzw. NPSNP-Vi,Me. Die grüne Linie markiert die Grenze der Cytokompatibilität nach ISO 10993-5.

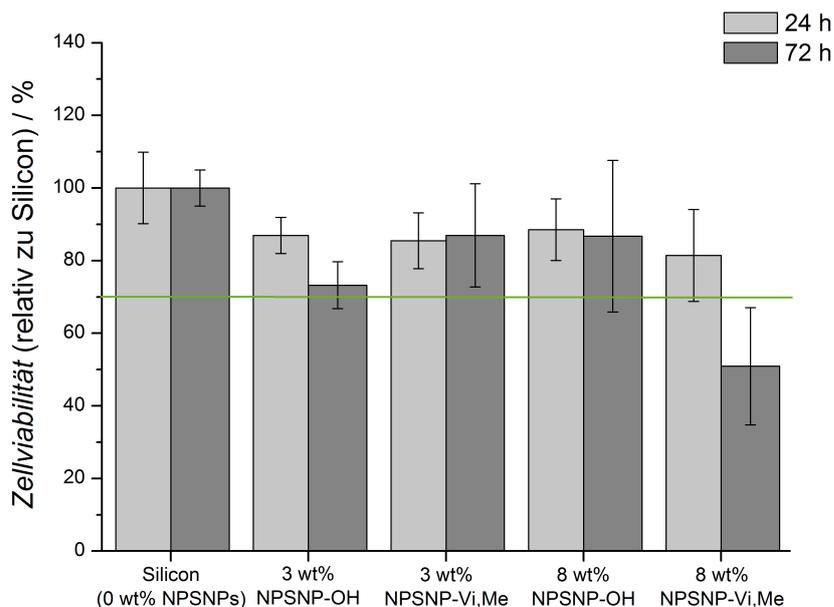


Abb. 5.46: Zellviabilitäten aus CTB-Assays von hAD-MSCs gegenüber Silicon ohne NPSNPs sowie Silicon mit 3 wt% und 8 wt% NPSNP-OH bzw. NPSNP-Vi,Me. Die grüne Linie markiert die Grenze der Cytokompatibilität nach ISO 10993-5.

Zur Überprüfung der Silicone im Hinblick auf toxische Spezies wie z.B. Monomere oder Nanopartikel, die aufgrund möglicher unvollständiger Vernetzungen freigesetzt werden könnten, wurde in einem Zellkulturexperiment ein zusätzlicher Extraktionstest durchgeführt, dessen Ergebnisse in Abb. 5.47 gezeigt sind.

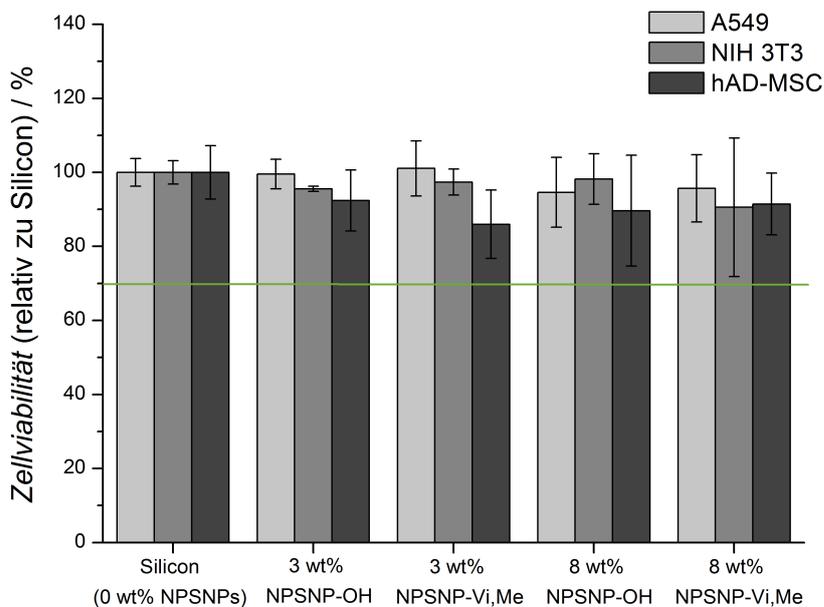


Abb. 5.47: Zellviabilitäten aus CTB-Assays von A549, NIH 3T3 und hAD-MSCs gegenüber Silicon ohne NPSNPs sowie Silicon mit 3 wt% und 8 wt% NPSNP-OH bzw. NPSNP-Vi,Me nach einer Extraktion über 72h bei 37°C. Die grüne Linie markiert die Grenze der Cytokompatibilität nach ISO 10993-5.

Für diesen Tests wurden die Überstände nach einer dreitägigen Extraktion im Medium bei 37 °C mit den Zellen versetzt und für 24 h kultiviert. Die Zellviabilität lag in allen Fällen oberhalb von 90%, sodass die Freisetzung von toxischen Spezies ausgeschlossen werden konnte.

Auf der Grundlage der Cytotoxizitätsprüfungen wurde festgestellt, dass die Zellviabilität durch eine Modifizierung der Partikel oder durch einen hohen Füllstoffgehalt nicht maßgebend verringert wurde. Es konnten mit einer Ausnahme, im Falle der hAD-MSCs, Zellviabilitäten oberhalb von 70% gezeigt werden. Außerdem wurde in allen Fällen eine sehr gute Proliferation beobachtet, sodass hier von cyto kompatiblen Materialien gesprochen werden kann.

### 5.2.7 Zusammenfassung

Es wurden erstmals biomedizinische Silicone mit NPSNPs als Füllstoff, die auch Potential für lokale Wirkstofffreisetzungen besitzen, hergestellt und untersucht. Um eine gute Verarbeitbarkeit und Homogenität der Mischungen zu erzielen, wurden die Partikel mit hydrophoben Vinyl dimethyl- und Trimethylgruppen modifiziert. Die Vinylgruppe sollte hierbei für eine zusätzliche chemische Bindung an das additionsvernetzende Siliconpolymer genutzt werden. Die Silicone mit unmodifizierten NPSNP-OH und modifizierten NPSNP-Vi,Me wurden in einigen Untersuchungen vergleichend betrachtet. Die Ergebnisse lieferten wesentliche neue Erkenntnisse über die Verwendung von NPSNPs als Füllstoffmaterial, welche als Basis für weitergehende Studien dienen können.

Die sphärischen NPSNP-Vi,Me weisen einen Durchmesser von  $41 \pm 5$  nm auf. Stickstoff-Sorptionsmessungen ergaben eine spezifische BET-Oberfläche von  $1030 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , ein Porenvolumen von  $0.9 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  und Porendurchmesser von 3 nm. Diese Werte sind kleiner als für unmodifizierte NPSNP-OH, was für eine erfolgreiche Modifizierung spricht, da ein Teil des Porenraums mit organischen Gruppen ausgefüllt wird. In IR-Spektren konnten entsprechende Banden zugeordnet werden.

Die Einarbeitung der NPSNP-Vi,Me in das Silicon war bis zu einem Partikelgehalt von 10 wt% möglich. Höhere Gehalte resultierten in inhomogenen Mischungen. Bei Partikelgehalten ab 8 wt% wurden während der Einarbeitung zunehmend Perkolationseffekte, welche vermutlich durch die Ausbildung von Silica-Netzwerken verursacht wurden, beobachtet. Auch nach der Zumischung von Komponente B wurde mit steigendem Partikelgehalt eine Viskositätszunahme des unvernetzten Siliconpolymers verzeichnet. Diese Beobachtung ist auf zunehmende Wechselwirkungen zwischen den Silica-Partikeln und dem Polymer zu erklären und als *crepe hardening* bekannt. Alle vernetzten Proben erschienen homogen. Die Verarbeitung der NPSNP-OH war aufgrund starker *crepe hardening*-Effekte kaum

möglich und führte im Falle der 10 wt%-Probe zu sehr inhomogenen, spröden Siliconen. Eine Inaktivierung der Silanolgruppen mit hydrophoben Gruppen führte also zu einer besseren Verarbeitbarkeit sowie zu homogeneren Produkten und ist unabdingbar.

TEM-Aufnahmen zeigten das Vorliegen von Agglomeraten aus NPSNP-Vi,Me, die sich häufig am Silica-Netzwerk der vom Hersteller zugefügten Füllstoffe konzentrierten und dieses damit ausweiten. In Silicon, welches 10 wt% NPSNP-Vi,Me enthält, scheint das freie Volumen sehr stark durch die Füllstoffe ausgefüllt zu sein, wodurch der maximal einzuarbeitende Partikelgehalt von 10 wt% erklärt werden kann.

Zugversuche von Siliconproben mit unterschiedlichen NPSNP-Vi,Me-Gehalten bestätigten eine erfolgreiche Verstärkung des Siliconnetzwerkes durch den Zusatz von NPSNP-Vi,Me. Mit steigendem Partikelgehalt wurde eine Zunahme des *E*-Moduls verzeichnet. Mechanische Eigenschaften lassen sich folglich durch die Wahl des NPSNP-Vi,Me-Gehaltes regulieren. Verglichen mit dem *E*-Modul eines Silicons in der Cochlea-Elektrode (0.45 MPa) würde sich hier das weichere, flexible Silicon mit 3 wt% NPSNP-Vi,Me (0.47 MPa) anbieten. Da für eine Wirkstofffreisetzung ein möglichst hoher Gehalt an NPSNPs wünschenswert ist, würde die Verwendung eines Siliconpolymers mit einer geringeren Shore A-Härte sinnvoll sein, um dem geforderten *E*-Modul trotzdem zu entsprechen. Der *E*-Modul für ein Trommelfellkissen für das Mittelohrimplantat wurde mit den vorliegenden Mischungen nicht erreicht. Die Zugfestigkeiten stiegen bis zu einem Partikelgehalt von 5 wt% NPSNP-Vi,Me auf  $3.77 \pm 0.16$  MPa an und nahmen dann für die Proben mit 8 wt% und 10 wt% NPSNP-Vi,Me ab. Ein analoges Verhalten wurde für die Bruchdehnung beobachtet. Hier lag der Maximalwert von  $242 \pm 8\%$  ebenfalls bei der Siliconprobe mit 5 wt%-NPSNP-Vi,Me. Dies ist auf die hohen Füllstoffgehalte und daraus resultierenden veränderten Bruchmechanismen während der Dehnung zurückzuführen.

Mittels der Rheologie konnten die Ergebnisse aus den Zugversuchen zu großen Teilen bestätigt werden. Insgesamt zeigte sich eine zunehmende Festigkeit der Silicone mit steigendem Partikelgehalt. Durch den Zusatz von 10 wt% NPSNP-Vi,Me wurde eine Erhöhung des Speichermoduls um 114% erzielt. Die Senkung der Speichermoduln, durch Zerstörung der Mikrostrukturen, beginnt im Falle von Partikelgehalten ab 8 wt% NPSNP-Vi,Me schon bei geringeren Dehnungen als für Proben mit 0 wt% bis 5 wt% NPSNP-Vi,Me. Hier zeigt sich, wie schon im Zugversuch, die geringere Widerstandsfähigkeit bei hohen mechanischen Beanspruchungen. In den geplanten Anwendungen im Ohrbereich sind diese großen Dehnbelastungen jedoch nicht gegenwärtig, weshalb vor allem die guten mechanischen Eigenschaften in geringeren Dehnungsbereichen relevant sind.

Vergleichend wurden Silicone mit NPSNP-OH als Füllstoff untersucht. Hier wurden zwar größere Speichermoduln als für NPSNP-Vi,Me ermittelt, jedoch kommt es schon bei geringeren Dehnungen zur Strukturzerstörung. Die höhere Festigkeit dieser Materialien

ist auf die sehr starken Wechselwirkungen des Polymers mit den Silanolgruppen der NPSNP-OH zurückzuführen. Die Modifizierung mit Vinylgruppen, welche den Verlust von Wechselwirkungen durch die Hydrophobierung kompensieren sollte, führte folglich nicht zu einer ausreichenden Anbindung an die Polymerketten.

Eine Testreihe, in der NPSNP-Vi,Me mit Wasser bzw. Ethanol vorbehandelt wurden, diente der Überprüfung des Einflusses auf die Einarbeitung und die mechanischen Eigenschaften der Silicone. Diese Untersuchung ist besonders im Hinblick auf die Verwendung als Freisetzungssystem und die Beladung der Partikel mit einem Wirkstoff relevant. Es stellte sich heraus, dass sich in Wasser gerührte Partikel schlechter in das Siliconpolymer einarbeiten lassen als ethanolbehandelte Partikel. Zudem wurde mit Hilfe der Rheologie festgestellt, dass vor allem die Siliconprobe mit 10 wt% wasserbehandelten Partikeln merklich an Festigkeit verlor. Vermutlich lösen sich die hydrophoben organischen Gruppen durch Hydrolyse- und weitere Degradationsprozesse der Silica-Nanopartikel ab. Diese Degradationsprozesse bewirken eine Erhöhung der Silanolgruppenkonzentration und eine verstärkte Agglomeratbildung, die vermutlich zu schlechteren Eigenschaften des gefüllten Polymers führt. Folglich sollte eine Wirkstoffbeladung der Silica-Nanopartikel bevorzugt in ethanolischer Lösung erfolgen.

Kern-Schale-Nanopartikel, die aus einem fluoreszierenden  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kern mit einer nanoporösen Silica-Schale bestehen, konnten erfolgreich synthetisiert und in Silicon eingearbeitet werden. Diese Partikel ermöglichen die Erweiterung der Detektionsmöglichkeiten auf Fluoreszenzmethoden wie die Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie. Die  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  wurden erfolgreich mit Durchmessern von ca. 50 nm hergestellt. Neben isolierten Kern-Schale-Partikeln wurden auch aggregierte Partikel beobachtet. Die Nanoporosität der Silica-Schale wurde mittels Stickstoff-Sorptionsmessungen bestätigt. Nach der Einarbeitung von  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-Vi,Me}$  sowie  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNP-OH}$  in Silicon wurden diese mit der Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Hiermit war es möglich, die Partikel bis zu einer Tiefe von 30  $\mu\text{m}$  im Silicon zu detektieren. Silicone mit unmodifizierten Kern-Schale-Partikeln wiesen im Vergleich zu modifizierten Partikeln verstärkt Agglomerate auf. Durch eine Modifizierung mit Vinyl/Trimethyl-Gruppen konnte eine Verbesserung der Partikelverteilung im Silicon erreicht werden.

Die Untersuchung der Cytokompatibilität von NPSNP-Vi,Me erfolgte mit den Zelllinien A549 und NIH 3T3 sowie den Stammzellen des Typs hAD-MSC über einen Kultivierungszeitraum von 24 h bzw. 72 h. Die Adhäsion der Zellen war aufgrund der hydrophoben Oberfläche reduziert, dennoch blieben die Zellen weiterhin vital und proliferierten gut. Um auszuschließen, dass sich unter physiologischen Bedingungen toxische Spezies aus dem Silicon herauslösen, wurde zusätzlich ein Extraktionstest durchgeführt. Auf der Basis dieser Zelltests konnten die getesteten Silicone als cytokompatibel bewertet werden.

## 5.3 Entwicklung einer hydrophilen Siliconoberfläche

Für eine Verbesserung der Zelladhäsion auf Silicon wird eine hydrophile Siliconoberfläche benötigt. Hierfür wurden verschiedene Strategien verfolgt, um diese durch Beschichtung mit Silica-Partikeln zu erzeugen. Im Folgenden werden die Ergebnisse aus Siliconbeschichtungen durch Aufsprühen, Behandlungen in einem Tauchbad, Übersichtung mit Silica-Suspensionen, eine gleichzeitige Synthese von Stöber-Partikeln während der Siliconvernetzung sowie durch Aufpressen der Partikel auf ein sehr viskoses Silicon vorgestellt und diskutiert. Die letztgenannte Methode wurde in Absprache von der WACKER CHEMIE AG erprobt und uns für Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

Die beschichteten Proben wurden mit Hilfe von Kontaktwinkelmessungen analysiert. Diese Methode wird üblicherweise für erste Untersuchungen verwendet, da die Größe des Kontaktwinkels Aufschluss über den Grad der Hydrophilie/-phobie gibt. Diese wurde für die erfolgten Experimente zunächst mit Kontaktwinkeln  $\leq 60^\circ$  definiert. Bačáková *et al.* beschrieben, dass die Zelladhäsion neben der Hydrophilie u.a. durch die Flexibilität, das Zeta-Potential und die Rauigkeit des Materials sowie durch den Zelltyp beeinflusst wird.<sup>[284]</sup> Da zudem die chemische Zusammensetzung der Oberfläche eine Rolle spielt, erfolgten in dieser Versuchsreihe zusätzlich Experimente mit Amino- bzw. Sulfonsäure-modifizierten Silica-Partikeln, deren Synthese entsprechend Vorschriften von Williams *et al.*<sup>[27]</sup> und Marschall *et al.*<sup>[285]</sup> durchgeführt wurden. Unter Verwendung dieser Partikel wurden jedoch im Vergleich zu den unmodifizierten keine Veränderung der Kontaktwinkel festgestellt, sodass auf die Darstellung dieser Ergebnisse verzichtet wird.

### 5.3.1 Charakterisierung der Silica-Partikel

Für die Beschichtung der Silicone wurden insgesamt drei verschiedene Arten von Silica-Partikeln verwendet. Hierbei handelte es sich um sphärische (sphär.) sowie anisotrope (anisotr.) nanoporöse Silica-Nanopartikel sowie unporöse Stöber-Partikel.

Abb. 5.48 zeigt REM-Aufnahmen der verwendeten Silica-Partikel. Die sphärischen NPSNPs, welche ebenso als Füllstoff für Silicone verwendet wurden (s. Abschnitt 5.2), sind monodispers und weisen Größen von ca. 40 nm auf. Anisotrope NPSNPs wurden gemäß einer Vorschrift von Rambaud *et al.* unter Verwendung von Tetraethylorthosilicat, Cetyltrimethylammoniumbromid, NaOH, Mercaptopropyltrimethoxysilan in Wasser synthetisiert.<sup>[286]</sup> Es liegen sowohl gebogene als auch gerade wurmförmige Partikel vor (s. Abb. 5.48b). Die Längen variieren im Mikrometerbereich, während die Durchmesser mit ca. 100 nm nahezu gleichbleibend sind. Die verwendeten Stöber-Partikel zeigen eine sphärische Morphologie und sind monodispers mit Durchmessern von ca. 500 nm (s. Abb. 5.48c). Diese Partikel

wurden nach einer Vorschrift von Zhou *et al.* mit Tetraethylorthosilicat, Ammoniumhydroxidlösung und Ethanol hergestellt.<sup>[136]</sup>

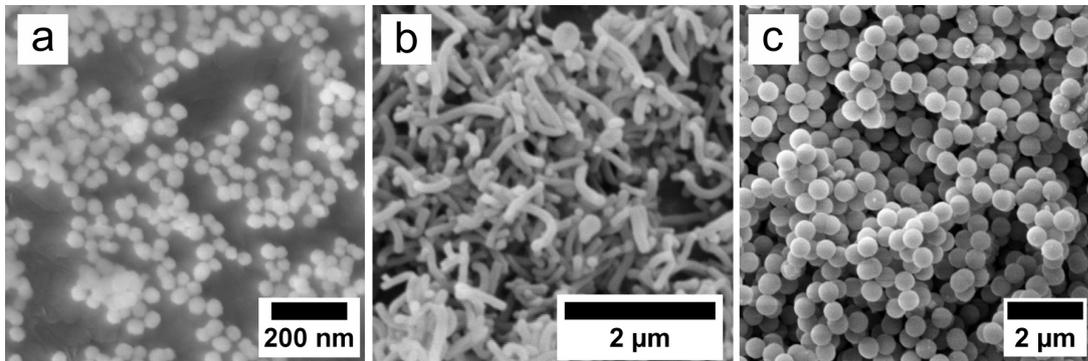


Abb. 5.48: REM-Aufnahmen von sphärischen NPSNPs (a), anisotropen NPSNPs (b) und Stöber-Partikeln (c).

Ergänzend wurden die Partikeldurchmesser der sphärischen NPSNPs und der Stöber-Partikel mit dynamischer Lichtstreuung ermittelt. Für nicht annähernd sphärische Partikel ist dies aufgrund von anisotroper Lichtstreuung nicht möglich, da sich hierdurch sehr ungenaue hydrodynamische Radien ergeben. Die Partikelgrößenverteilungen sind der Abb. 5.49 zu entnehmen.

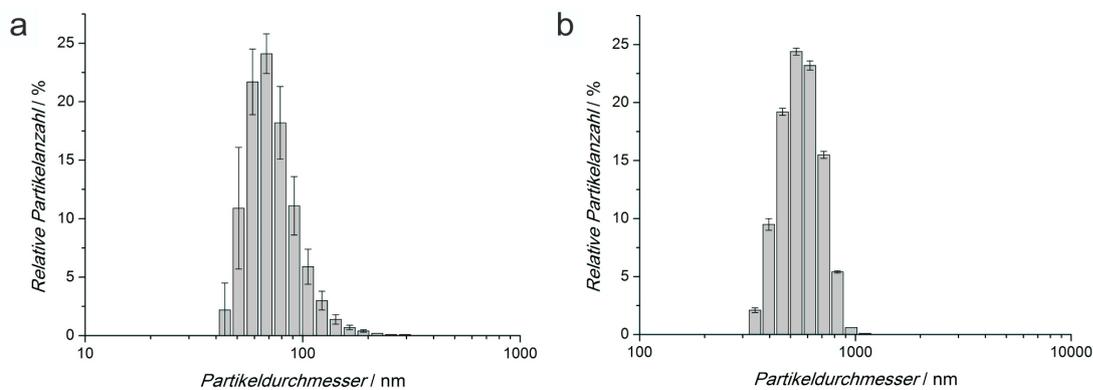


Abb. 5.49: DLS-Messungen von sphärischen NPSNPs (a) und Stöber-Partikeln (b).

In beiden Fällen liegt eine unimodale Partikelgrößenverteilung vor. Das Maximum der Verteilung von sphärischen NPSNPs liegt bei ca. 70 nm und das der Stöber-Partikel bei etwa 530 nm. Die geringen Abweichungen zu den Werten aus REM-Analysen sind auf die Bildung von Solvathüllen zurückzuführen, denn die DLS ermittelt den hydrodynamischen Radius der Partikel. Zudem können Abweichungen des Radius sowie größere Standardabweichungen durch Agglomeration von Partikeln verursacht werden, die dann zu einem größeren Gesamtdurchmesser führen. Es wurde beobachtet, dass Suspensionen aus sphärischen NPSNPs eine geringe Stabilität aufwiesen und sich die Partikel schon nach

wenigen Minuten wieder absetzten, während Suspensionen aus Stöber-Partikeln über einen Zeitraum von mehreren Stunden stabil blieben.

Durch die Verwendung von Partikeln mit unterschiedlichen Größen und Morphologien wurde der Einfluss dieser Parameter auf die Beschichtung und damit auf die Hydrophilie des Silicons untersucht. Die Stöber-Partikel mit Größen um 500 nm wurden neben sehr kleinen sphärischen NPSNPs gewählt, da hiermit dickere Schichten auf dem Silicon und dadurch stärkere hydrophile Eigenschaften erwartet wurden. Außerdem würden dickere Beschichtungen zu einem längeren Erhalt der hydrophilen Eigenschaften führen, wenn diese, wie in einem biologischen System zwangsweise, mit wässrigen Medien in Kontakt sind. Je dicker die hydrophile Silica-Schicht ist, desto länger dauert die vollständige Auflösung und das Hervortreten der hydrophoben Siliconoberfläche. Die nicht-porösen Stöber-Partikel dienten als Modell und sollten im Falle einer erfolgreichen Hydrophilierung durch nanoporöse Silica-Partikel gleicher Größe ersetzt werden, um für Freisetzungszwecke verwendet werden zu können. Die wurmförmigen anisotropen NPSNPs würden ineinander verwobene Partikelschichten bilden und zu durchgehenden und ungeordneten Beschichtungen führen, mit denen möglicherweise auftretende Lotuseffekte verhindert werden könnten.

### **5.3.2 Beschichtungen auf Silicon**

Die Kontaktwinkelmessungen wurden jeweils mehrfach auf einer Probe an verschiedenen Stellen vorgenommen und gemittelt. Für ausgewählte Proben wurde zusätzlich die Bedeckung der Siliconoberfläche mit Stöber-Partikeln mittels Konfokalmikroskopie untersucht. Ein Nachweis der sphärischen NPSNPs war aufgrund der lateralen Auflösungsgrenze von ca. 400 nm nicht möglich. Ein Nachweis in axialer Richtung, dessen Auflösung zwar höher ist, ist hier ebenfalls nicht erfolgreich. Die Nanopartikel können zum Teil in das Silicon eingesunken sein und sehr wahrscheinlich bildete sich vor bzw. während des Vernetzungsvorgangs des Silicons ein Meniskus an der Grenzfläche Nanopartikel–Silicon zur Verminderung der Oberflächenenergie aus, sodass eine scharfe Abgrenzung zwischen den Nanopartikeln und der Siliconoberfläche nicht möglich ist, zumal die Partikelgrößen sehr dicht an der axialen Auflösungsgrenze liegen.

## Sprühbeschichtung

Eine gängige und einfache Beschichtungstechnik für Proben ist das Sprühverfahren. Die unvernetzten Siliconpolymere wurden hierbei bis zu 500 Mal mit einer ethanolischen Suspension aus sphärischen NPSNPs bzw. Stöber-Partikeln besprüht und anschließend vernetzt.

Die Silicone wiesen alle eine leichte Trübung auf. Auf besprühten Proben waren zum Teil kleine tröpfchenförmige Effekte zu erkennen, die durch die Besprühung mit Ethanol verursacht wurden. Die konfokalmikroskopische Analyse der mit Stöber-Partikeln besprühten Probe belegte die Beschichtung des Silicons (s. Abb. 5.50). Die Partikelverteilung war aber zum Teil inhomogen, wobei einige Bereiche beobachtet wurden, die keine Partikel aufwiesen (s. rot umrandete Bereiche in Abb. 5.50a).

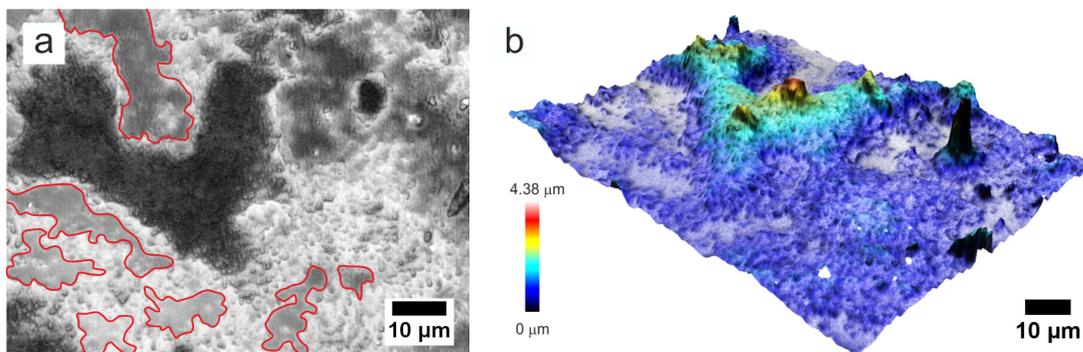


Abb. 5.50: Konfokalmikroskopische Aufnahmen einer mit Stöber-Partikeln besprühten Siliconprobe.

Der Kontaktwinkel einer unbesprühten Siliconprobe (Referenz) betrug  $108 \pm 5^\circ$  (s. Abb. 5.51). Die Kontaktwinkelmessung eines Silicons, das nur mit Ethanol besprüht wurde, ergab eine geringe Abnahme des Kontaktwinkels auf  $97 \pm 5^\circ$ . Diese Abnahme kann möglicherweise auf oberflächenstrukturelle Effekte zurückzuführen sein, die durch das Aufsprühen verursacht wurden. Es wurden keine Abhängigkeiten von der Messtemperatur und der Luftfeuchtigkeit festgestellt. Die Besprühung mit sphärischen NPSNPs ergab keine eindeutige Änderung des Kontaktwinkels und auch die durch Verwendung der größeren Stöber-Partikel erwarteten Effekte wurden nicht beobachtet.

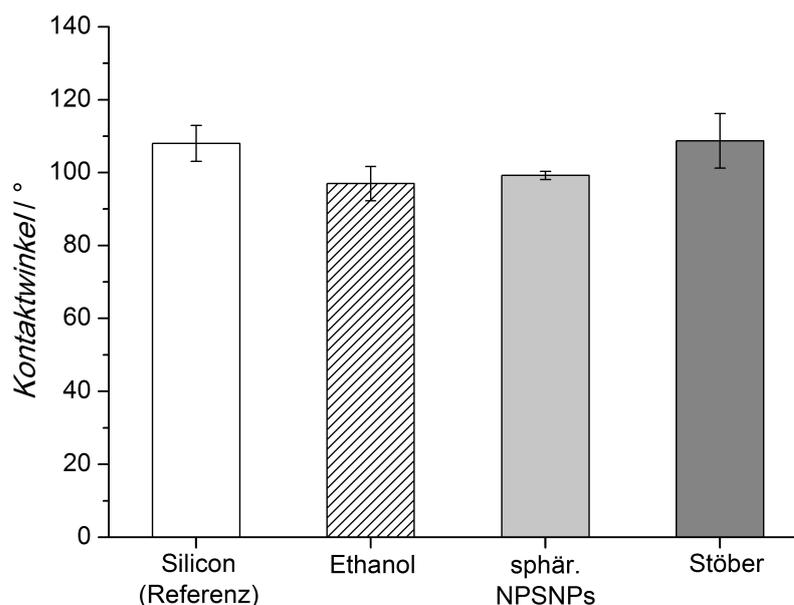


Abb. 5.51: Kontaktwinkel von unterschiedlich besprühten Siliconproben.

Eine Hydrophilierung der Siliconoberfläche konnte durch eine Sprühbeschichtung folglich nicht erreicht werden. Problematisch bei dieser Technik ist vor allem der benötigte Luftstrom, der das unvernetzte Silicon bei jedem Sprühvorgang bewegt und auf diese Weise die Silica-Partikel mit einer dünnen Siliconschicht überzieht, weshalb auch auf weitere Versuche mit anisotropen NPSNPs verzichtet wurde. Eine weitere Erklärung ist der Effekt des *hydrophobic recovery*, d.h. die Wiederherstellung der Hydrophobizität innerhalb weniger Stunden oder Tage. Als Gründe hierfür werden die Flexibilität der Polymerketten und die Migration von niedermolekularen hydrophoben Spezies vom Inneren des Polymers an die Oberfläche genannt.<sup>[173,233–235]</sup> Hierdurch ergeben sich Silicone mit Kontaktwinkeln, die denen der Referenzproben entsprechen.

### Tauchbadbeschichtung

Bei der Tauchbadbeschichtung wurden die Siliconpolymere in einer wässrigen Suspension aus Stöber-Partikeln vernetzt. Hierfür wurden verschiedene Konzentrationen getestet, wobei mit einer Konzentration von  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  Stöber-Partikel die beste Bedeckung des Silicons erreicht wurde. Abb. 5.52a und b zeigen die konfokalmikroskopischen Aufnahmen dieser Probe.

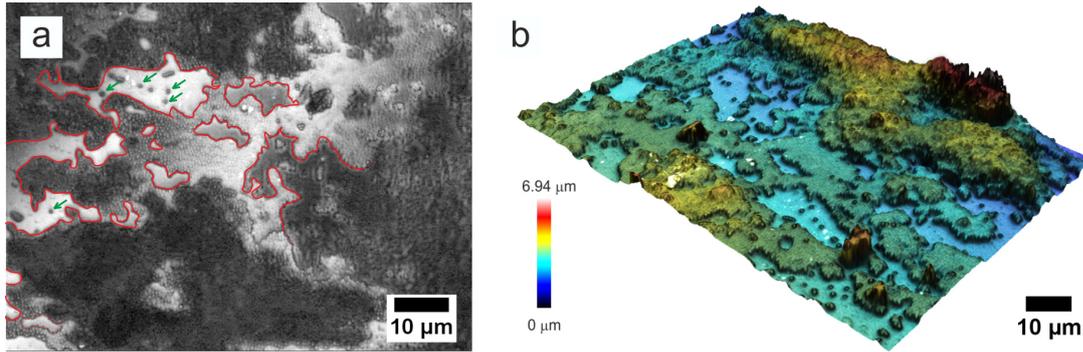


Abb. 5.52: Konfokalmikroskopische Aufnahmen von Proben, die in einem Tauchbad unter Verwendung von  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  Stöber-Partikeln beschichtet wurden.

Es ist erkennbar, dass durch die Verwendung von  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  Stöber-Partikeln eine großflächige Bedeckung des Silicons erfolgte. Jedoch liegen auch Bereiche vor, in denen keine Bedeckung stattgefunden hat (s. rot umrandete Bereiche in Abb. 5.52a) oder nur einzelne isolierte Partikel aufliegen (s. grüne Pfeile in Abb. 5.52a). Die Stöber-Partikel sind vorwiegend in Monolagen angeordnet. Zum Teil sind aber auch Schichten aus zwei und mehr Lagen erkennbar.

Die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen mit  $170 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  und  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Stöber-Partikeln sind vergleichend in Abb. 5.53 dargestellt.

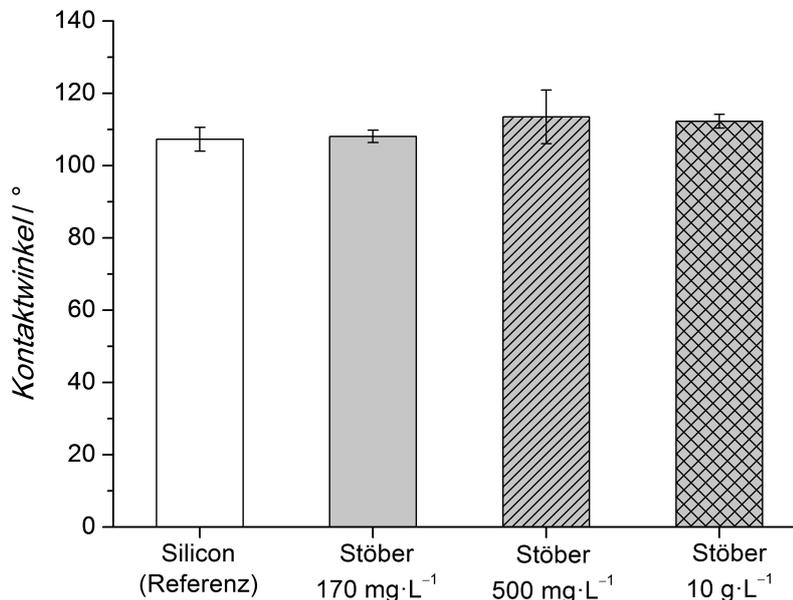


Abb. 5.53: Kontaktwinkel von Siliconproben nach Tauchbadbeschichtungen mit Stöber-Partikeln.

Trotz der vielversprechenden Beobachtungen durch die Konfokalmikroskopie wurde keine Erniedrigung des Kontaktwinkels erreicht. Die vermessenen Proben ergaben untereinander sehr ähnliche Kontaktwinkel. Das Referenzsilicon weist einen Wert von  $107 \pm 3^\circ$  auf und

auch die mit  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  beschichtete Probe liegt mit  $114 \pm 7^\circ$  im gleichen Bereich und führte folglich nicht zu der gewünschten Hydrophilierung.

Die Beweglichkeit der Siloxanketten, die durch den thermischen Einfluss zusätzlich erhöht war, scheint auch bei dieser Beschichtungsmethode zu einer Überdeckung der hydrophilen Silica-Partikel mit dem hydrophoben Polymer und damit zu einem *hydrophobic recovery* geführt zu haben.

### Überschichtungsversuche mit Silica-Suspensionen

Für diese Beschichtungsmethode wurden Stöber-Partikel sowie sphärische und anisotrope NPSNPs verwendet. Die Überschichtungsversuche erfolgten durch Auftragen einer hochkonzentrierten ethanolischen Silica-Suspension auf ein vorvernetztes Silicon. Durch Verdampfung des Lösungsmittels bei  $60^\circ\text{C}$  und gleichzeitiger Vernetzung des Silicons wurde dieses beschichtet. In allen Fällen resultierten Silicone, auf denen eine deutliche weiße Silica-Schicht zu sehen war. Zur Entfernung von überschüssigem Beschichtungsmaterial wurden einige Proben anschließend in Ethanol oder Wasser mit Ultraschall behandelt. Diese Proben sind mit dem Zusatz + EtOH oder + H<sub>2</sub>O gekennzeichnet.

Anhand der konfokalmikroskopischen Aufnahmen von Siliconproben, die mit Stöber-Partikeln überschichtet wurden, ergab sich eine größere Rauigkeit der Siliconoberfläche als mit anderen Beschichtungsmethoden (s. Abb. 5.54). Diese Beobachtung ist auf die direkte Beträufelung und Einwirkung der schweren hochkonzentrierten Suspension auf das nur wenig vernetzte Silicon zurückzuführen.

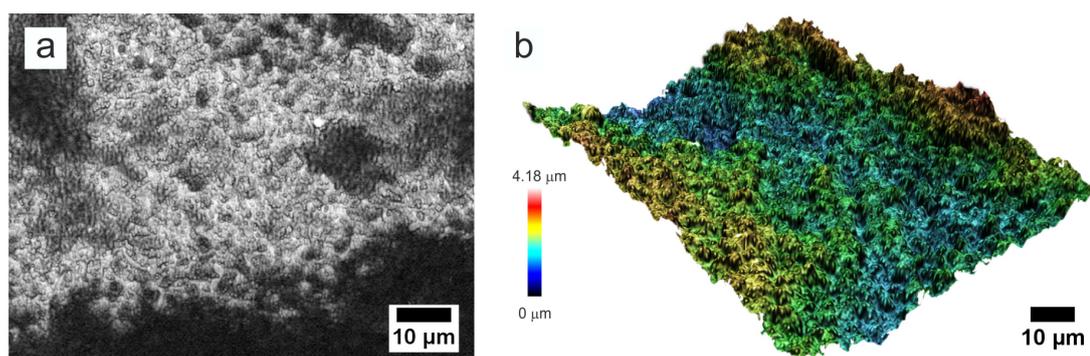


Abb. 5.54: Konfokalmikroskopische Aufnahmen einer Siliconprobe nach einer Überschichtung mit Stöber-Partikeln.

Die Abb. 5.54a und b zeigen eine sehr gute Bedeckung der Siliconoberfläche mit gleichmäßig verteilten Stöber-Partikeln. Eine Aussage über das Vorliegen von Mono- oder Multilagen ist aufgrund der Unebenheit der Siliconoberfläche nicht möglich. Die gleichmäßige Bedeckung blieb auch nach einer Ultraschallbehandlung der beschichteten Probe in Ethanol bestehen.

Die Untersuchung der Siliconoberflächen mittels Kontaktwinkelmessungen ergab keine Erniedrigung der Kontaktwinkel infolge einer Überschichtung mit Stöber-Partikeln (s. Abb. 5.55). Der Kontaktwinkel direkt nach der Beschichtung lag bei  $110 \pm 2^\circ$  und ist damit identisch zu dem Referenzsilicon ( $108 \pm 5^\circ$ ).

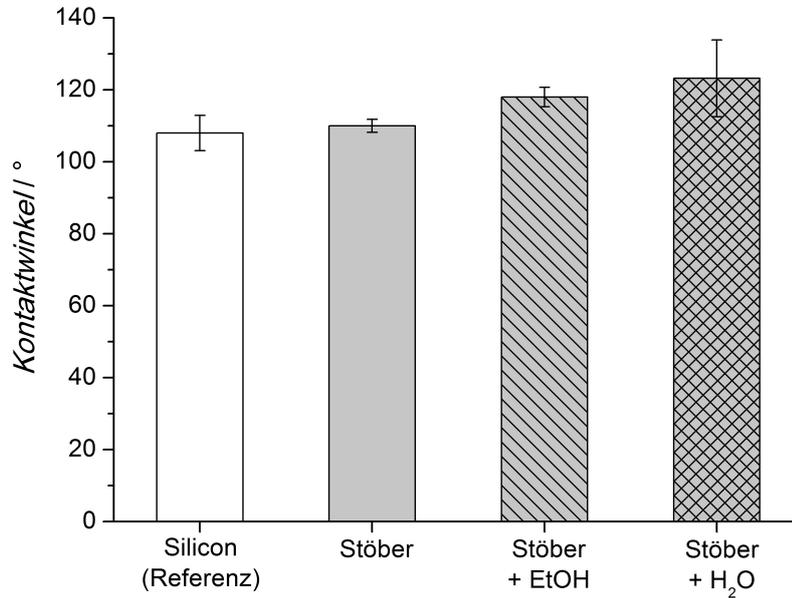


Abb. 5.55: Kontaktwinkel von Siliconproben nach Überschichtung mit Stöber-Partikeln.

Nach den Behandlungen mit Ultraschall ist eine marginale Tendenz zu größeren Kontaktwinkeln zu verzeichnen, welche wahrscheinlich auf eine Neuordnung der Partikel auf der Oberfläche verursacht wurde.

Abb. 5.56 zeigt die Ergebnisse der Kontaktwinkelmessungen aus Überschichtungsversuchen mit sphärischen und anisotropen NPSNPs. Die Beschichtung mit sphärischen NPSNPs führte zu einem Anstieg des Kontaktwinkels von  $108 \pm 5^\circ$  auf  $131 \pm 9^\circ$ . Dieses Resultat und die Tatsache, dass die Silicone eine dicke weiße Silica-Schicht aufwiesen, führte zu der Annahme, dass durch die Anordnung der 40 nm kleinen Partikel ein Lotuseffekt entstand. Nach einer Behandlung mit Ultraschall in Ethanol bzw. Wasser, wurde eine Reduzierung des Kontaktwinkels durch Abtragung des überschüssigen Silicas beobachtet. Die Kontaktwinkel lagen nun bei  $119 \pm 7^\circ$  und  $121 \pm 5^\circ$  nach der Behandlung in Ethanol bzw. Wasser. Somit liegen die Werte nach wie vor im Bereich des unbeschichteten Silicons, sodass keine erfolgreiche Hydrophilierung stattfand.

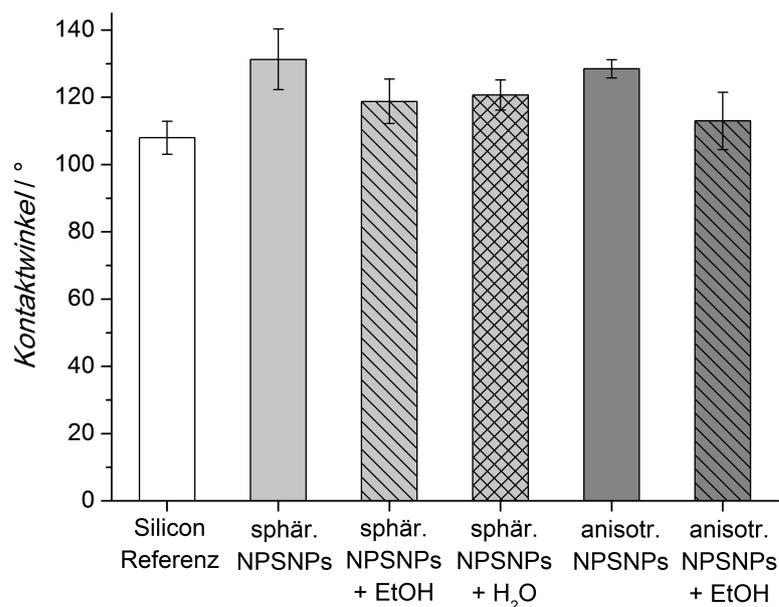


Abb. 5.56: Kontaktwinkel von Siliconproben nach Überschichtung mit sphärischen und anisotropen NPSNPs.

Mit der Absicht, die Ausbildung von Lotusstrukturen zu verhindern, erfolgten Beschichtungsversuche mit anisotropen NPSNPs. Wie jedoch der Abb. 5.56 entnommen werden kann, führte dies zu ähnlichen Ergebnissen wie mit sphärischen NPSNPs. Es wurden Kontaktwinkel von  $129 \pm 3^\circ$  vor der Ultraschallbehandlung mit Ethanol und  $113 \pm 9^\circ$  nach der Behandlung gemessen. Auf eine Wasserbehandlung wurde hier aufgrund geringer Erfolgchancen, entsprechend den Ergebnissen von sphärischen NPSNPs, verzichtet.

Sowohl mit sphärischen als auch mit anisotropen NPSNPs scheint sich eine strukturierte Silicaoberfläche gebildet zu haben, welche zusätzlich mit einer hydrophoben Schicht des Silicons überzogen ist und zu einer Erhöhung der Kontaktwinkel führte.<sup>[287]</sup>

### Beschichtung durch TMOS-Bedampfung

Weitere Versuche, um das Überschichtungsverfahren für die Hydrophilierung von Siliconoberflächen zu optimieren, erfolgten durch eine Bedampfung mit Tetramethylorthosilicat. Hierfür wurden die Proben zuvor mit sphärischen NPSNPs überschichtet und anschließend mit TMOS bedampft, um eine gleichmäßige, möglichst unstrukturierte Beschichtung zu erzielen. Vor der Bedampfung wurden die Proben für 5 min bzw. 30 min in Ethanol mit Ultraschall behandelt. Die Kontaktwinkel der Proben, nach Spülung mit Wasser, Trocknung mit Druckluft und bei Raumtemperatur für einige Minuten, sind in Abb. 5.57 gezeigt (5 min US + TMOS und 30 min US + TMOS).

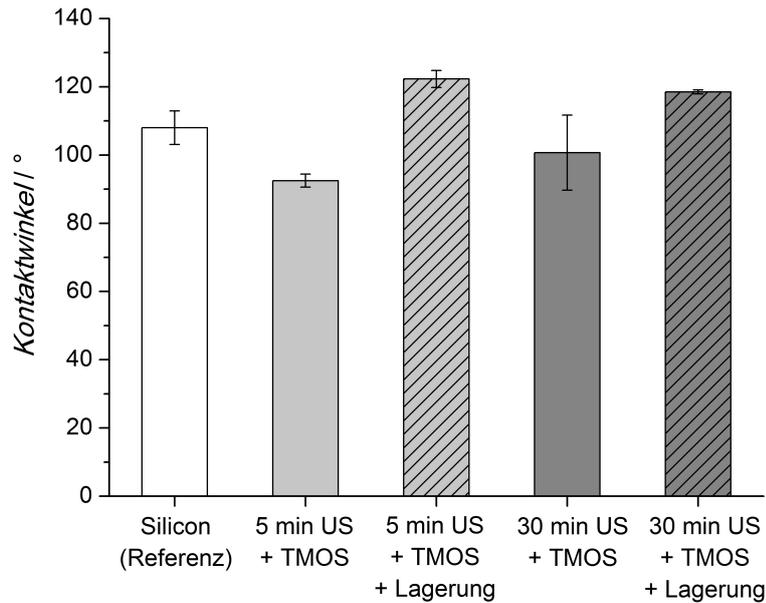


Abb. 5.57: Kontaktwinkel von Siliconproben nach einer Überschichtung mit sphärischen NPSNPs und Bedampfung mit TMOS.

Die besten Ergebnisse wurden dabei mit einer fünfminütigen Ultraschallbehandlung und anschließenden TMOS-Bedampfung erreicht. Hierdurch ergaben sich eine Erniedrigung des Kontaktwinkels auf  $93 \pm 5^\circ$ . Diese Probe hat vermutlich durch einen geringeren Abtrag des überschüssigen Silica-Materials, eine bessere Ausgangssituation für die Kondensation des TMOS ergeben, als für Proben mit längeren Ultraschallbehandlungen. Dennoch ist die Erniedrigung des Kontaktwinkels nicht derartig ausgeprägt, dass von einer Hydrophilierung der Oberfläche gesprochen werden kann. Zudem wurden die Kontaktwinkel der Proben nach einer fünftägigen Lagerung in Wasser und einer anschließenden Trocknung bei Raumtemperatur für mehrere Tage erneut vermessen (s. Abb. 5.57, + Lagerung). Hierbei wurde ein Anstieg der Kontaktwinkel auf  $119 \pm 1^\circ$  für die 30 min behandelte Probe und  $122 \pm 3^\circ$  für die 5 min behandelte Probe festgestellt. Kurze Zeit nach der Bedampfung liegen noch viele Silanolgruppen vor, die einen geringeren Kontaktwinkel verursachen. Nach einer längeren Lagerungszeit kondensieren diese Gruppen zu hydrophoberen Si-O-Si-Brücken, woraus ein Anstieg des Kontaktwinkels resultiert.<sup>[288]</sup> Zusätzlich spielt aber auch hier höchstwahrscheinlich die Flexibilität der Siloxanketten und die Migrationsfähigkeit von Siliconbestandteilen eine Rolle, sodass die Oberfläche im Laufe der Zeit mit dem hydrophoben Polymer bedeckt wurde.

### ***In situ*-Beschichtung**

Bei der *in situ*-Beschichtung wurde das unvernetzte Siliconpolymer in einer Teflonform in einer Stöber-Syntheselösung platziert. Die Reaktion erfolgte mittels Ultraschallbehandlung,

da ein Rühren aufgrund der Teflonform nicht möglich war. Durch die schnelle und starke Präzipitation der Partikel wurde eine gute Bedeckung der Siliconoberfläche erhofft. Nach beendeter Reaktionszeit und zusätzlicher Vernetzung im Ofen konnte allerdings keine vollständige Vernetzung des Silicons erreicht werden. Es ist anzunehmen, dass das in der Syntheselösung befindliche Ammoniumhydroxid als Katalysatorgift wirkte.

Eine Erniedrigung des Kontaktwinkels wurde trotz einer eindeutig erkennbaren Beschichtung (s. Abb. 5.58a) mit Silica nicht erreicht. Der Kontaktwinkel auf der Siliconbeschichtung betrug  $112 \pm 2^\circ$  (s. Abb. 5.58b). Vergleichend damit wurde der Kontaktwinkel des Teflonrandes der Siliconform betrachtet, der ebenfalls eine dicke Silica-Schicht mit einem Kontaktwinkel von  $110 \pm 3^\circ$  aufwies. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass dicke Silica-Beschichtungen aufgrund ihrer Oberflächenstruktur zu einem hydrophoben Charakter führen.<sup>[287]</sup> Möglich ist zudem, dass sich die Polymerketten im unvernetzten bzw. fast vernetzten Zustand durch die mechanische Einwirkung des Ultraschalls derart bewegten, dass sich diese über die Partikel legten.

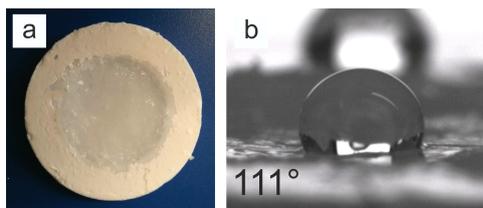


Abb. 5.58: a) Silicon nach der Beschichtung in der Stöber-Syntheselösung und b) Wassertropfen aus Kontaktwinkelmessungen auf beschichtetem Silicon.

### Beschichtung durch Partikel aufpressen

Für die Beschichtung von Silicon durch Aufpressen von Silica-Partikeln wurde durch Mitarbeiter der WACKER CHEMIE AG eine Metallform mit Silica-Partikeln ausgekleidet und ein hochviskoses, fest-pastöses HTV-Siliconpolymer darauf gelegt, gepresst und vernetzt. Das HTV-Silicon wurde für diese Methode gewählt, da hiermit das Einsinken der Partikel in das Polymer vermieden werden sollte. Es resultierte eine sehr instabile und inhomogene Beschichtung (s. Abb. 5.59). Die Kontaktwinkelmessungen an verschiedenen Stellen der Beschichtung variierten von  $77^\circ$  bis  $161^\circ$ . Je dicker dabei die Silica-Schicht war, desto größer war der Kontaktwinkel. Dieses Ergebnis führt erneut zu der Schlussfolgerung, dass die Strukturierung der dicken Schichten einen Lotuseffekt verursacht. Zu verzeichnen war auch ein geringerer Kontaktwinkel von  $77^\circ$  an besonders dünn beschichteten Stellen. Dies deutet darauf hin, dass mit speziellen Schichtdicken und Siliconausgangsmaterialien zumindest eine geringe Hydrophilierung möglich erscheint. Da jedoch kein unbeschichtetes Referenzmaterial zur Verfügung stand, ist ein direkter Vergleich nicht möglich.

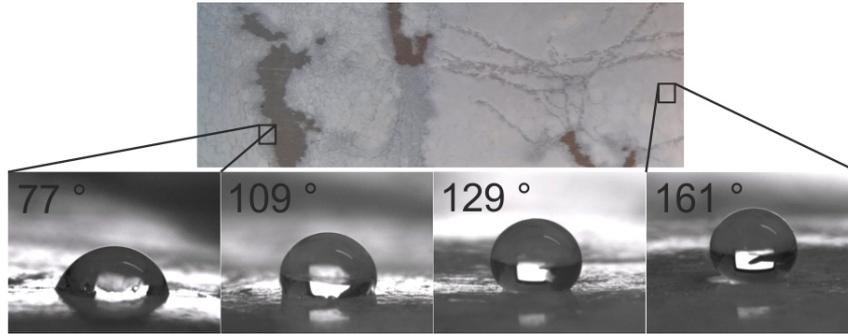


Abb. 5.59: Fotoausschnitt des beschichteten Silicons (oben) und Wassertropfen zur Kontaktwinkelmessung an verschiedenen Stellen der Beschichtung (unten).

Anhand der aufgezeigten Methoden wurde deutlich, dass eine Beschichtung von Silicon mit Silica zur Erzeugung einer hydrophilen Oberfläche nicht trivial ist. Es ist generell bekannt, dass die Hydrophilierung, unabhängig von der gewählten Technik, aufgrund der *hydrophobic recovery* Schwierigkeiten bereitet.<sup>[173,233–235]</sup>

### 5.3.3 Zusammenfassung

Die Herstellung einer hydrophilen Siliconoberfläche war für eine verbesserte Adhäsion von Zellen gewünscht. Für die Beschichtungsversuche wurden 40 nm große sphärische NPSNPs, anisotrope NPSNPs mit Durchmessern von ca. 100 nm und Längen von mehreren Mikrometern sowie größere sphärische Stöber-Partikel mit Durchmessern von ca. 500 nm verwendet. Zudem wurde sich unterschiedlicher Techniken bedient, um diese Partikel auf die Siliconoberfläche aufzutragen.

Die Charakterisierung der Oberflächen von ausgewählten Proben erfolgte mittels Konfokalmikroskopie. Hiermit stellte sich heraus, dass das Silicon durch Verwendung des Sprühverfahrens zwar größtenteils bedeckt werden konnte, aber dennoch einige partikelfreie Bereiche vorlagen. Eine weitgehend homogene Beschichtung, die vorwiegend aus Monolagen bestand, wurde durch die Tauchbadbeschichtung mit einer Stöber-Partikel-Suspension der Konzentration  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  erzielt. Eine ebenfalls durchgängige Beschichtung resultierte mit der Überschichtungsmethode.

Mit Hilfe von Kontaktwinkelmessungen stellte sich heraus, dass mit keiner der verwendeten Methoden eine Hydrophilierung der Siliconoberfläche erreicht werden konnte. Die Verwendung der sehr kleinen NPSNPs führte vermutlich zur Ausbildung strukturierter Oberflächen, die einen Lotuseffekt zeigten. Eine anschließende TMOS-Bedampfung einer Probe resultierte nur für kurze Zeit in einer Erniedrigung des Kontaktwinkels. Zudem war auch die Beschichtung hinsichtlich einer hydrophilen Oberfläche während einer Stöber-Synthese nicht erfolgreich. Das Aufpressen von Silica-Partikeln auf ein HTV-Silicon ergab

eine sehr inhomogene und instabile Beschichtung. Die Kontaktwinkel lagen hier zwischen  $77^\circ$  für weniger stark und  $161^\circ$  für sehr stark beschichtete Bereiche. Zwar lag für dieses Silicon keine Referenz vor, dennoch erscheint diese Methode am erfolgversprechendsten. Aufgrund der *hydrophobic recovery* stehen Wissenschaftler generell vor großen Herausforderungen, Hydrophilierungen von Silicon über einen langen Zeitraum zu erhalten.<sup>[173,233–235]</sup>

## 5.4 Entwicklung eines Freisetzungssystems für den neuroprotektiven Wirkstoff Rolipram

Zur Erhöhung der Überlebensrate von Spiralganglienneuronen und dem Wachstum der Dendriten ist eine lokale Freisetzung des neuroprotektiven Wirkstoffs Rolipram aus einem NPSNPs-Silicon-Komposit vorgesehen. Für die Entwicklung eines lokalen Freisetzungssystems für die Cochlea-Elektrode wurden zunächst Freisetzungen aus zwei unterschiedlich modifizierten NPSNPs als Wirtmaterial untersucht. Diese Partikel wurden außerdem nach der Beladung mit Rolipram als Füllstoff in Silicon eingearbeitet und anschließend Freisetzungsexperimenten unterzogen. Bei den verwendeten NPSNPs handelte es sich um die in dieser Arbeit bereits verwendeten und charakterisierten Vinyl/Trimethyl-modifizierten NPSNPs sowie um 4-Methoxyphenyl-modifizierte NPSNPs (NPSNP-MeOPh). Rolipram enthält ebenfalls eine Phenylgruppe, sodass  $\pi - \pi$ -Wechselwirkungen der aromatischen Ringe genutzt werden können, um die Freisetzung zu beeinflussen. Erste vielversprechende Untersuchungen hierzu erfolgten in unserer Gruppe in der Masterarbeit von N. Schmidt.<sup>[259]</sup> Im Folgenden werden die Charakterisierung von NPSNP-MeOPh sowie Freisetzungsexperimente vorgestellt und diskutiert. Des Weiteren werden Ergebnisse aus *in vitro*-Untersuchungen hinsichtlich der Cytokompatibilität der NPSNP-MeOPh und der neuroprotektiven Wirkung von Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh auf Spiralganglienneuronen (SGNs) präsentiert.

### 5.4.1 Charakterisierung von 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Die Synthese der NPSNPs orientierte sich an der Vorschrift von Qiao *et al.* unter Verwendung von Tetraethylorthosilicat, Cetyltrimethylammoniumbromid und Diethanolamin in einer wässrig-ethanolischen Lösung.<sup>[142]</sup> Die Modifizierung wurde mit 4-Methoxyphenyltrimethoxysilan in Toluol durchgeführt.

Die Modifizierung der NPSNP-OH mit 4-Methoxyphenylgruppen wurde anhand von IR-Messungen überprüft (s. Abb. 5.60). Banden der (C-H)-Valenzschwingung der Methylgruppe ( $2929 \text{ cm}^{-1}$ ) sowie der (C=C)-Valenzschwingungen des Aromaten ( $1653 - 1448 \text{ cm}^{-1}$ ) bestätigen die erfolgreiche Modifizierung.<sup>[273]</sup> Tab. 5.7 enthält eine detaillierte Zuordnung aller Banden.

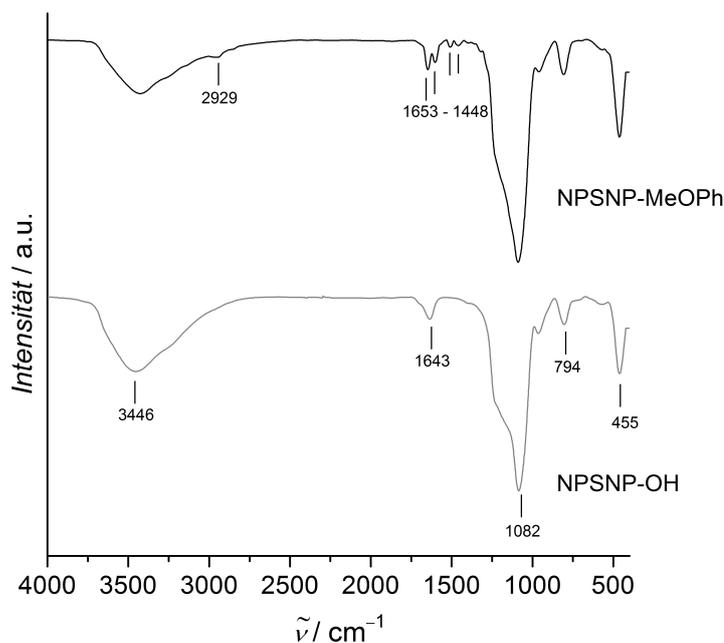


Abb. 5.60: IR-Spektren von NPSNP-OH und NPSNP-MeOPh.

Tab. 5.7: Vergleich der IR-Banden von NPSNP-OH und NPSNP-MeOPh.<sup>[26,273–275]</sup> (Wellenzahl /  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$  = Valenzschwingung,  $\delta$  = Deformationsschwingung).

NPSNP-OH	NPSNP-MeOPh	Art der Schwingung	Herkunft
3700-2900	3700-2900	$\nu(\text{O-H})$	Wasser
		$\nu(\text{Si-OH})$	Silica
	2929	$\nu(\text{C-H})$	Me
	1653-1448	$\nu(\text{C=C})$	arom. Ring
1643		$\nu(\text{O-H})$	Wasser
1082	1083	$\nu(\text{Si-O-Si})$ , (asym.)	Silica
958	954	$\nu(\text{Si-OH})$	Silica
798	808	$\nu(\text{Si-O-Si})$ , (sym.)	Silica
464	464	$\delta(\text{Si-O-Si})$	Silica

Mit Hilfe der Kohlenstoff-Analyse wurde ein Kohlenstoffgehalt von  $14.8 \pm 0.1\%$  ermittelt, wodurch die Modifizierung ebenfalls bestätigt wurde.

Abb. 5.61 zeigt die Stickstoff-Sorptionsisotherme der NPSNP-MeOPh. Der Verlauf der Isotherme ist vergleichbar mit Messungen, welche in Abschnitt 5.2.1 für NPSNP-Vi,Me gezeigt wurden.

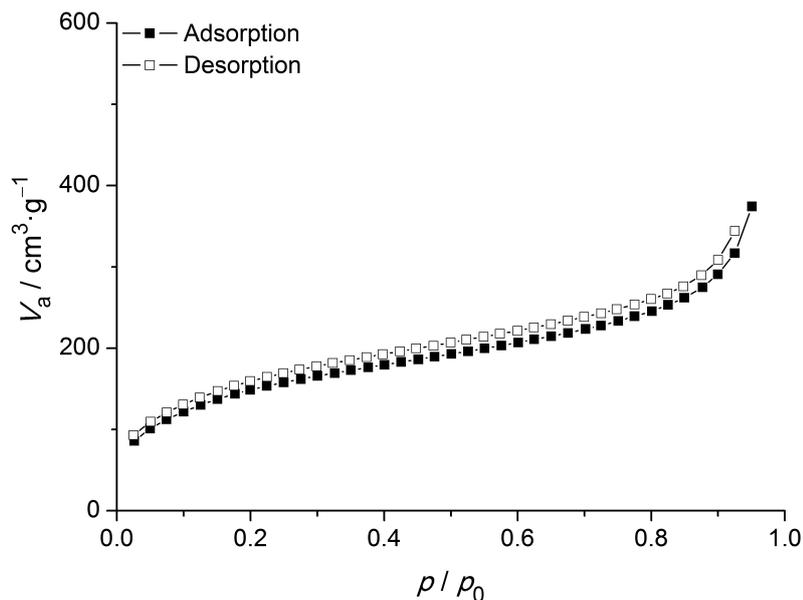


Abb. 5.61: Stickstoff-Sorptionsisotherme von NPSNP-MeOPh.

Mit der DFT-Methode wurde eine durchschnittliche Porengröße von 2-4 nm ermittelt. Die Porenweitenverteilung sowie der DFT-Fit sind dem Anhang in Abb. A.3 zu entnehmen. Die Sorptionsmessungen nach der Modifizierung ergaben Abnahmen der spezifischen BET-Oberfläche von  $990 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  auf  $560 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  und des Porenvolumens von  $0,8 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$  auf  $0,5 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ . Diese Abnahmen sind auf den Platzbedarf der organischen Gruppen in den Poren zurückzuführen. Zudem können sich während der Synthese Homokondensate aus den Trimethoxysilanen gebildet haben, die sich als polymerartige Aggregate an der Silicaoberfläche anbinden und anlagern können.<sup>[289]</sup> Eine solche Oberflächenbelegung blockiert die Poren für eine vollständige Aufnahme des Adsorptivs, wodurch geringere BET-Oberflächen und Porenvolumina verzeichnet werden als tatsächlich vorliegen.

## 5.4.2 Freisetzung von Rolipram

### Direkte Freisetzung aus dem Siliconelastomer

In einem Vorversuch erfolgte eine Überprüfung des Freisetzungsverhaltens von Rolipram direkt aus dem Siliconelastomer ohne die Verwendung von NPSNPs als Füllstoff und Wirkstoffdepot. Dieses Experiment ergab somit Aufschluss darüber, ob sich dieses Molekül generell zur Freisetzung aus diesem Material eignet und vollständig aus dem Polymer abgegeben wird. Hierfür wurde testweise 1 wt% Rolipram in das Siliconpolymer eingearbeitet, dieses vernetzt und anschließend in PBS über mehrere Wochen freigesetzt. Die kumulative Freisetzung von Rolipram über einen Zeitraum von 77 Tagen ist in Abb. 5.62 dargestellt.

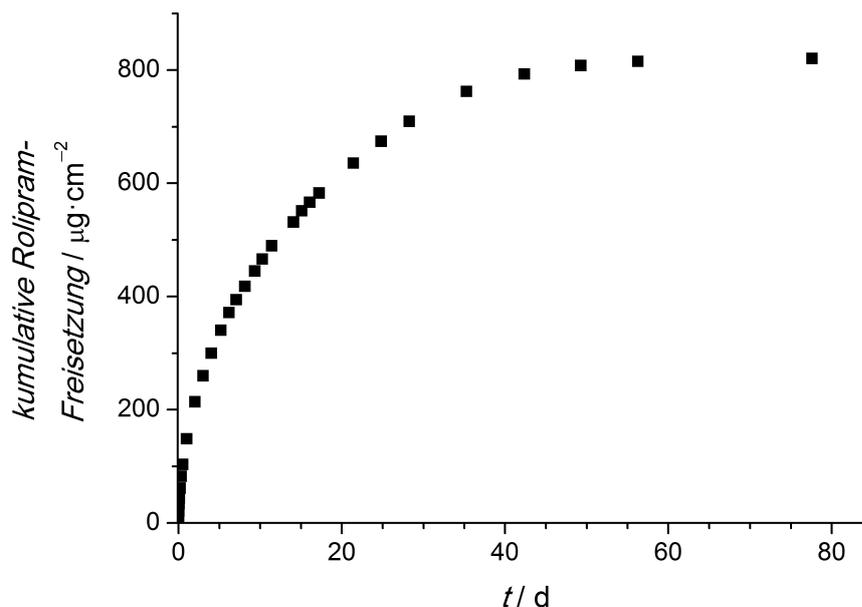


Abb. 5.62: Kumulative Freisetzung aus Silicon, welches 1 wt% Rolipram enthält.

Die Freisetzung erfolgte diffusionskontrolliert entsprechend einer Kinetik erster Ordnung. Dies lässt auf eine gute Verteilung und Löslichkeit des Wirkstoffs im Polymer schließen. Nach 77 Tagen waren 95% des Roliprams und damit  $820 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  freigesetzt. Schon nach einem Tag wurden 12% Rolipram abgegeben, nach zwei Tagen 24% und nach neun Tagen 51%. Im weiteren Verlauf wurden im wöchentlichen Abstand jeweils ca. 10% Rolipram freigesetzt. Die Freisetzungsgeschwindigkeit erniedrigte sich somit während des Untersuchungszeitraums. Die Ergebnisse zeigen, dass eine nahezu vollständige Abgabe des kleinen und hydrophoben Moleküls Rolipram aus dem Silicon möglich ist.

In Bezug auf die Verwendung für eine lokale Freisetzung aus einer Cochlea-Elektrode kann mit diesem diffusionskontrollierten Freisetzungsprofil zu Beginn der Freisetzung eine Erhöhung der Rolipramkonzentration um die Cochlea-Elektrode herum erreicht werden, wodurch sich ein Konzentrationsgradient in Richtung der SGNs ausbildet. Ein richtungsabhängiges Wachstum der Dendriten könnte somit gefördert werden. Im späteren Verlauf könnten geringere Konzentrationen ausreichend sein, um das weitere Überleben und Wachstum der SGNs und Dendriten zu erhalten.

### Freisetzung aus Vinyl/Trimethyl-modifizierten NPSNPs

Für die Entwicklung eines kombinierten Freisetzungssystems mit Rolipram-beladenen NPSNPs in Silicon erfolgten zunächst Freisetzungsversuche direkt aus den Partikeln. Hierfür wurden Vinyl/Trimethyl-modifizierte NPSNPs über zwei Tage in ethanolischen Rolipramlösungen inkubiert, da die Voruntersuchungen aus Abschnitt 5.2.4 unter diesen Bedingungen die beste Einarbeitung in das Silicon und auch die besten mechanischen

Eigenschaften für das Silicon zeigten. Zudem weist Rolipram eine größere Löslichkeit in Ethanol als in Wasser auf, sodass höhere Einlagerungskonzentrationen verwendet werden konnten. Es wurden Inkubationen in einer  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  sowie in einer  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipramlösung durchgeführt. Die Freisetzungsprofile in Abb. 5.63 zeigen beide einen *burst release* innerhalb des ersten Freisetzungstages und damit eine schnelle Abgabe des Wirkstoffes in kurzer Zeit.

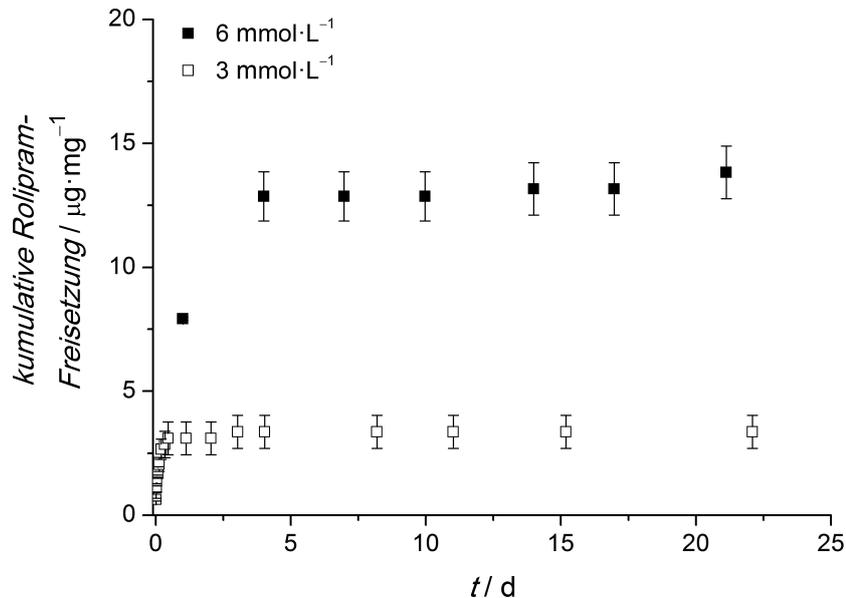


Abb. 5.63: Kumulative Freisetzung von Rolipram nach einer zweitägigen Inkubation von NPSNP-Vi,Me in einer  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  und einer  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ethanolischen Rolipramlösung.

Jeweils nach dem *burst release* wurde kaum bzw. kein Rolipram mehr nachgewiesen, was auf oberflächlich adsorbierten Wirkstoff oder geringe Wechselwirkungen zwischen den Partikeloberflächen und dem Rolipram hinweist. Partikel, die in einer  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipramlösung inkubiert wurden, setzten 410% mehr Rolipram frei als in einer  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Lösung inkubierte Partikel.

Es wurde zusätzlich überprüft, ob die Einarbeitung der beladenen Partikel in Silicon den Freisetzungszeitraum verlängern kann. Im Folgenden wurde deshalb, ohne Berücksichtigung der für eine Behandlung im Innenohr benötigten Roliprammengen, eine hohe Konzentration von 8 wt% der in einer  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipramlösung inkubierten NPSNP-Vi,Me in Silicon eingearbeitet. Die Freisetzung aus diesen Proben diente der Gewinnung erster Erkenntnisse über den Erfolg oder Misserfolg einer Rolipramfreisetzung und dessen Nachweis aus einem solchen kombinierten System, da hiermit die maximal mögliche Freisetzungsmenge erreicht werden kann. Es wurde nicht die höchstmögliche Füllstoffmenge von 10 wt% NPSNP-Vi,Me gewählt, um eine gute Verarbeitbarkeit und Homogenität der Mischungen und Proben sicherzustellen und Perkolationseffekte möglichst gering zu halten.

Es stellte sich heraus, dass eine Rolipramfreisetzung aus dem System NPSNP-Vi,Me in Silicon nicht möglich ist. Dies spricht erneut dafür, dass der Wirkstoff nur oberflächlich adsorbiert wurde. Während des Einmischens der Partikel in das Silicon verteilte sich das Rolipram vermutlich und wurde so stark verdünnt, dass es im Freisetzungsexperiment mit der gewählten Analyse­methode, der Photometrie, nicht nachweisbar war. Das System aus NPSNP-Vi,Me in Silicon ist somit nicht für lokale Freisetzungen von Rolipram im Innenohr geeignet.

### Freisetzung aus 4-Methoxyphenyl-modifizierten NPSNPs

Die Untersuchung des Freisetzungsverhaltens von Rolipram aus NPSNP-MeOPh erfolgte aus Inkubationen mit wässriger sowie ethanolscher Rolipramlösung. Es wurden verschiedene Parameter, wie z.B. die Inkubationszeit und die Rolipramkonzentration, variiert. Aufgrund der geringen Löslichkeit von Rolipram in Wasser war in diesem Medium jedoch die Konzentration auf  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  beschränkt.

Die kumulative Freisetzung aus NPSNP-MeOPh, welche in einer  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ethanolschen Rolipramlösung für zwei Tage inkubiert wurden, ist in Abb. 5.64 dargestellt.

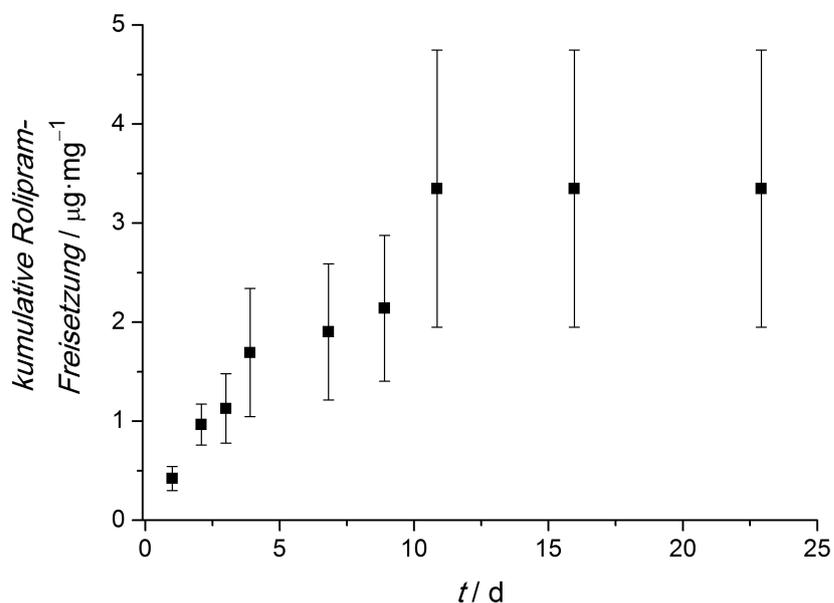


Abb. 5.64: Kumulative Freisetzung von Rolipram nach einer zweitägigen Inkubation von NPSNP-MeOPh in einer  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ethanolschen Rolipramlösung.

In dem 23-tägigen Untersuchungszeitraum war der Wirkstoff über einen Zeitraum von elf Tagen nachweisbar. Es wurde eine Gesamtmenge von  $3.4 \pm 1.4 \text{ µg}\cdot\text{mg}^{-1}$  Rolipram freigesetzt, wovon mit  $1.1 \pm 0.4 \text{ µg}\cdot\text{mg}^{-1}$  ca. 32% in den ersten drei Tagen abgegeben wurden. Folglich sinkt die Freisetzungsgeschwindigkeit über den Freisetzungszeitraum. Für eine Inkubation in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ethanolschen Rolipramlösung wurde eine eingelagerte Menge von

$2.0 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  Rolipram spektroskopisch aus den Inkubationsüberständen ermittelt. Anhand dieses Wertes sowie Vergleichswerten aus wässrigen Inkubationen ist anzunehmen, dass der Großteil oder sogar die gesamte Menge an eingelagertem Rolipram freigesetzt wurde. Die benötigte Rolipramkonzentration für eine Verwendung als lokales Freisetzungssystem in Cochlea-Implantaten liegt bei  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $27.5 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ).<sup>[35]</sup> Die freigesetzten Mengen sind damit zu hoch und müssten für eine Anwendung stark verdünnt werden. Ausgehend von einer Freisetzung über zwei Tage und einer freigesetzten Menge von ca.  $1 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  würden etwa  $27 \mu\text{g}$  NPSNP-MeOPh in einem Liter Medium benötigt werden. Eine Verringerung der Inkubationskonzentration zur Erniedrigung der Freisetzungsmengen ist aufgrund einer zu starken Annäherung an die Nachweisgrenze von  $1.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipram nicht möglich. Die Messwerte der Freisetzung sind mit großen Standardabweichungen behaftet. Der Grund für die großen Schwankungen sind unterschiedlich schnelle Auflösungen der Silicaoberflächen, welche durch das Ausmaß an Partikelagglomerationen beeinflusst werden und abhängig von der Redispergierung nach erneuter Medienzugabe ist. Hierdurch können sich für Proben unterschiedliche Freisetzungsmengen in identischen Zeiträumen ergeben. Besonders deutlich wird dies am vierten und elften Tag der Freisetzung. Hier stiegen die Freisetzungsmengen vermeintlich an, jedoch ist auch die Standardabweichung erhöht. Hinzu kommt, dass bei der Modifizierung mit Trimethoxysilanen Homokondensate gebildet werden können, die zu Aggregatbildungen und Anlagerungen an der Partikeloberfläche führen. Diese werden bei Lagerung im wässrigen FreisetzungsmEDIUM ebenso wie die chemisch direkt angebondenen Gruppen abgelöst. Da die Detektion des Roliprams spektroskopisch bei einer Wellenlänge von 280 nm erfolgte, bei der auch 4-Methoxyphenylgruppen absorbieren, kam es zu Überlagerungen dieser beiden Signale. Obwohl in jedem Experiment eine Vergleichskontrolle ohne Rolipram durchgeführt wurde und hiermit die Rolipramfreisetzung um die Absorptionen durch 4-Methoxyphenylgruppen korrigiert wurde, ergaben sich große Schwankungen innerhalb der Versuchsreihe.

Diese Problematik machte auch eine Detektion des freigesetzten Roliprams in einem weiteren Freisetzungsversuch mit einer Inkubation in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ethanolischen Rolipramlösung unmöglich. In diesem Fall waren die freigesetzten Roliprammengen so gering, dass die Signale des Roliprams und der 4-Methoxyphenylgruppen nicht unterschieden werden konnten. Sowohl für Rolipram-beladene Partikel als auch für die Kontrollpartikel schwankten die Signale stark, sodass nach einer Mittelwertbildung und Korrektur durch die Kontrollen kein Rolipram nachweisbar war. Aufgrund der geringen Konzentrationen war auch eine getrennte Detektion der beiden Spezies mittels HPLC (Hochdruckflüssigkeitschromatographie) nicht erfolgreich.

Es wurde jedoch gezeigt, dass im Vergleich zu Untersuchungen mit NPSNP-Vi,Me eine gleichmäßigere Freisetzung über einen längeren Zeitraum möglich war. Durch die

Verwendung einer 4-Methoxyphenyl-Modifizierung konnten somit die erwarteten Wechselwirkungen mit dem aromatischen System des Roliprams ausgenutzt werden.

Weitere vergleichende Untersuchungen wurden mit Inkubationen in wässrigen Rolipramlösungen durchgeführt. Wasser findet häufig Verwendung als Inkubationsmedium und wurde getestet, um den Einfluss von überschüssigen Homokondensaten durch Hydrolyseprozesse während der wässrigen Inkubation zu minimieren. In Abb. 5.65 ist das Freisetzungsprofil nach einer Inkubationszeit von drei Tagen gezeigt.

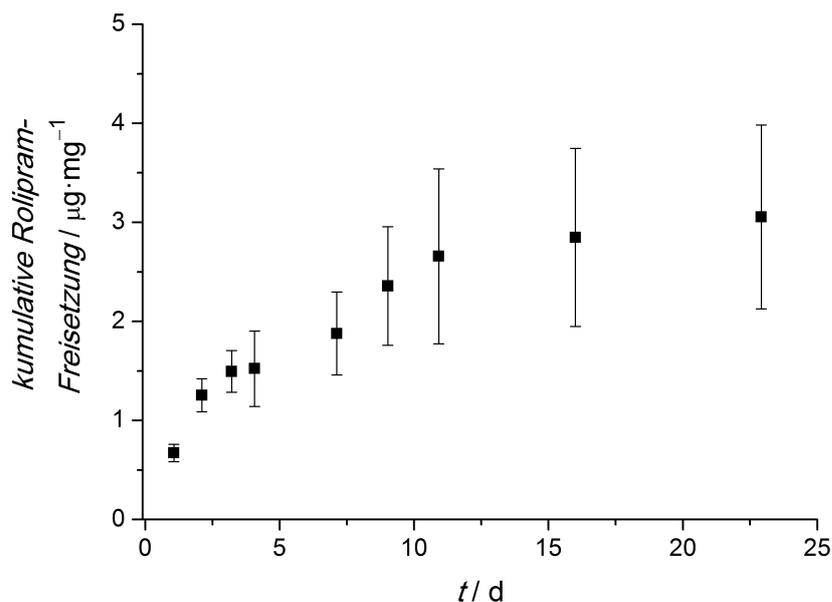


Abb. 5.65: Kumulative Freisetzung von Rolipram nach einer dreitägigen Inkubation von NPSNP-MeOPh in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässrigen Rolipramlösung.

In den ersten Tagen des Freisetzungsexperiments ist deutlich eine Rolipramfreisetzung zu erkennen. Vom dritten auf den vierten Tag wurde kein Wirkstoff nachgewiesen, da die Freisetzungsgeschwindigkeit so weit abgesunken war, dass sehr geringe Roliprammengen freigesetzt wurden, deren Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze lag. Durch eine Erhöhung der Abstände zwischen den Medienwechseln waren die Nachweise weiterhin gegeben. Insgesamt wurde eine Freisetzung von Rolipram über den gesamten Untersuchungszeitraum von 23 Tagen beobachtet, in dem eine kumulative Freisetzung von  $3.1 \pm 0.9 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  Rolipram ermittelt wurde. Die bei der Inkubation aufgenommene Roliprammenge wurde mit  $5.9 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  spektroskopisch bestimmt. Abzüglich eines Waschschriffs zur Entfernung von oberflächlich an den Partikeln adsorbiertem Wirkstoff, enthielten die NPSNP-MeOPh  $5.3 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  Rolipram. Nach drei Tagen wurde  $1.5 \pm 0.4 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  Rolipram freigesetzt, was vergleichbar mit der Freisetzung aus einer  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ethanolischen Rolipramlösung ist. Wie der Kurvenverlauf andeutet, ist die Freisetzungsgeschwindigkeit sowie die freigesetzte Menge an Rolipram nach dem elften Tag reduziert, was auf eine Ausschöpfung des Wirk-

stoffdepots hindeutet. Es ist zu beachten, dass besonders bei diesen Messpunkten große Standardabweichungen zu verzeichnen sind, welche die Aussagekraft dieser Werte mindern. Die über drei Tage in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässrigen Wirkstofflösung inkubierten NPSNP-MeOPh, setzten Roliprammengen frei, welche die optimale Rolipramkonzentration von  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  für die Anwendung im Innenohr überstieg.<sup>[35]</sup> Eine Verringerung der Inkubationskonzentration oder der Inkubationszeit zur Erniedrigung der Freisetzungsmengen, wäre jedoch aufgrund der Signalüberlagerungen und der Nähe zur Nachweisgrenze nicht möglich. Da im Weiteren ein System aus NPSNPs in Silicon entwickelt werden sollte und die Freisetzungverhalten aus den Partikeln nicht direkt auf das kombinierte System übertragbar sind, kann die benötigte Freisetzungsmenge nicht alleinig aus den Partikeln abgeleitet werden. Insgesamt wurden unter diesen Inkubationsbedingungen eine länger andauernde Freisetzung und eine Reduzierung der Standardabweichungen, vermutlich durch einen geringeren Einfluss von Signalüberlagerungen als unter ethanolischen Bedingungen, erreicht. Die Inkubation mit Wasser könnte schon in diesem Schritt zur weitgehenden Hydrolyse der Homokondensate geführt haben, wodurch die Rolipramlösung einen besseren Zugang zu der Partikeloberfläche und damit zu den Poren und dem Partikelinneren bekommen könnte. Hierdurch würden größere Mengen des Roliprams im Inneren der Partikel eingelagert werden können, was eine längerfristige und verzögerte Freisetzung bewirken könnte. In ethanolischer Lösung inkubierte Partikel lagerten den Wirkstoff wahrscheinlich hauptsächlich in den Zwischenräumen der polymerartigen Aggregate der Homokondensate ein sowie an den Partikeloberflächen. Hierdurch kann es zu einer geringeren Wirkstoffeinlagerung und einer schnelleren Erschöpfung des Wirkstoffdepots gekommen sein. Die ermittelten Einlagerungsmengen aus den Inkubationsüberständen unterstützen diese Vermutung. Unter Verwendung von  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipramlösungen wurde durch eine wässrige Inkubation  $5.9 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  und durch eine ethanolische Inkubation nur  $2.0 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  Rolipram eingelagert. Hierbei handelte es sich zwar um unterschiedliche Inkubationszeiten von drei bzw. zwei Tagen, jedoch wird im Folgenden gezeigt, dass diese scheinbar kaum Einfluss auf die Einlagerungsmenge hat.

Eine kürzere Inkubationszeit von einem Tag in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässrigen Rolipramlösung ergab mit  $5.8 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  eine ähnliche eingelagerte Roliprammenge wie nach einer dreitägigen Inkubation. Mit beiden Inkubationszeiten wurde eine größere Einlagerungsmenge verglichen mit einer zweitägigen Inkubation in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ethanolischen Rolipramlösung erreicht. Durch die kurze eintägige Inkubation erfolgte jedoch keine ausreichende Entfernung der überschüssigen Homokondensate, sodass keine Unterschiede zwischen den Kontrollpartikeln und den Rolipram-beladenen Partikeln festgestellt wurden. Die Signale der 4-Methoxyphenylgruppen überlagerten die Signale des freigesetzten Roliprams in den ersten Tagen. Erst nach drei Tagen konnte Rolipram im Medium nachgewiesen werden

(s. Anhang, Abb. A.12). Folglich ist ab diesem Zeitpunkt der größte störende Anteil an Homokondensaten abgelöst worden. Eine Inkubationszeit von drei Tagen ist daher notwendig, um überschüssige Homokondensate von der Partikeloberfläche zu lösen und damit die Absorptionseffekte während der Freisetzung zu minimieren.

Die vielversprechendsten Ergebnisse wurden mit NPSNP-MeOPh, welche für drei Tage in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässrigen Rolipramlösung inkubiert wurden, erhalten. Innerhalb der vorliegenden Arbeit sollte mit der Untersuchung eines Kombinationssystems aus NPSNP-MeOPh und Silicon die Grundlage für eine mögliche Verwendung als neuartiges Freisetzungssystem gelegt werden. Im nächsten Schritt wurden deshalb, wie auch schon bei Versuchen mit Rolipram-beladenen NPSNP-Vi,Me, 8 wt% der beladenen NPSNP-MeOPh in Silicon eingearbeitet. Um gut zu verarbeitende und homogene Mischungen zu gewährleisten, wurde dieser Gehalt als Maximum für Freisetzungsexperimenten festgelegt, welcher außerdem die höchstmögliche freisetzbare Wirkstoffmenge für dieses Kombinationssystem ermöglicht. Würde in einem Freisetzungsexperiment kein Rolipram nachgewiesen werden, wäre dieses System folglich nicht geeignet. Mit der Verwendung dieses maximalen Füllstoffgehaltes ist somit eine eindeutige und grundlegende Beurteilung der Eignung als Kombinationsfreisetzungssystem möglich. Die vernetzten Silicone mit NPSNP-MeOPh wiesen, wie auch Proben mit 10 wt% der wasserbehandelten NPSNP-Vi,Me aus Vorversuchen (s. Abschnitt 5.2.4), eine unvollständige Vernetzung auf, was sich in einem weichen und klebrigen Material äußerte. Ein Freisetzungsexperiment ließ sich mit diesen Proben dennoch durchführen. Das Freisetzungsprofil in Abb. 5.66 zeigt eine diffusionskontrollierte kontinuierliche Abgabe des Wirkstoffs. Die in der Siliconprobe enthaltene Roliprammenge wurde mit  $32.7 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  bestimmt. Innerhalb des Untersuchungszeitraums von 45 Tagen wurden  $15.2 \pm 1.2 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  und damit knapp 50% Rolipram freigesetzt. Wie auch der Kurvenverlauf zeigt, ist die Freisetzung nach dieser Zeit noch nicht beendet, da ein weiterer Anstieg der kumulativen Mengen auch bei dem letzten Messpunkt verzeichnet wurde.

Es stellte sich heraus, dass die Standardabweichungen im Vergleich zu Freisetzungen aus Partikeln sehr gering sind. Die Partikel im Silicon stehen nicht im direkten Kontakt mit dem wässrigen FreisetzungsmEDIUM, sodass Hydrolyse- und Auflösungsprozesse keine entscheidende Rolle spielen und die störenden Absorptionen durch 4-Methoxyphenylgruppen nicht vorhanden sind. Zudem verändert sich die dem Medium zugewandte Siliconoberfläche bei einem Medienwechsel nicht. Im Gegensatz dazu muss im Falle von Partikeln das FreisetzungsmEDIUM durch Zentrifugation abgetrennt werden und die Partikel in neuem Medium redispersiert werden. Bei der Redispersierung kommt es dabei z.B. durch unvollständiges Aufbrechen der Partikelagglomerate und dadurch bedingt zu unterschiedlich stark ausgeprägten Hydrolysen und Rolipramfreisetzungen.

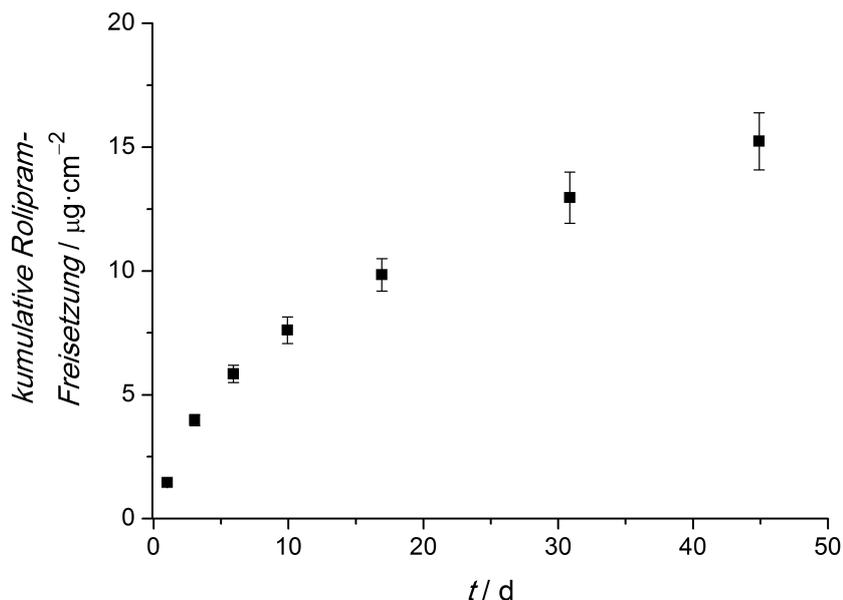


Abb. 5.66: Kumulative Freisetzung von Rolipram aus Silicon mit 8 wt% Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh. Die Inkubation der Partikel erfolgte in  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässriger Rolipramlösung für drei Tage.

Die erfolgreiche Freisetzung von Rolipram aus NPSNP-MeOPh, welche in Silicon eingearbeitet wurden, bietet die Grundlage für weitere Untersuchungen. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass das untersuchte Silicon keine optimale Vernetzung zeigte. Diese Tatsache beeinflusst die Freisetzung, da das Polymer Netzwerk flexibler ist und sich vermutlich auch das freie Volumen im Polymer von einem vollständig vernetzten Silicon unterscheidet. Dies wirkt sich auf die Diffusion aus, wodurch Veränderungen der Freisetzungsgeschwindigkeiten und Wirkstoffmengen zu erwarten sind. Um eine vollständige Vernetzung zu erreichen, könnten geringere NPSNP-MeOPh-Gehalte hilfreich sein. In Vorversuchen wurde gezeigt, dass die Vernetzung und die Eigenschaften unter Verwendung von 5 wt% NPSNP-Vi,Me besser sind als mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me. Da sich herausstellte, dass das freigesetzte Rolipram die geringe benötigte Konzentration von  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  übersteigt, ist eine Reduzierung des NPSNP-MeOPh-Gehaltes auch aus dieser Sicht besonders sinnvoll.<sup>[35]</sup> Signalstörungen, die durch Methoxyphenylgruppen hervorgerufen werden, sind nach der Einarbeitung der Partikel in Silicon nicht gegeben, sodass es zudem denkbar wäre, NPSNP-MeOPh aus einer Inkubation in einer ethanolischen Rolipramlösung zu verwenden. Hierdurch könnten verbesserte Festigkeiten des Silicons erzielt werden.

Die Freisetzung von Rolipram, das in NPSNP-MeOPh eingelagert und anschließend in Silicon eingearbeitet wurde, scheint zunächst gleichmäßiger und flacher im Vergleich zu einer direkten Freisetzung aus Silicon (s. Abb. 5.62) zu verlaufen. Ein direkter Vergleich ist aufgrund der großen Konzentrationsunterschiede jedoch nicht möglich. Wird die Freisetzungskurve aus der direkten Freisetzung aus Silicon erst ab dem 15. Tag betrachtet,

nachdem 60% des Roliprams freigesetzt wurden, flacht aufgrund der Diffusionskontrolle auch hier die Kurve ab und ähnelt dem komplexeren Freisetzungssystem mit NPSNP-MeOPh in Silicon. Weitergehende Untersuchungen mit unterschiedlichen Rolipramkonzentrationen und Kombinationen beider Systeme würden weiteren Aufschluss hinsichtlich der jeweiligen Freisetzungsprofile geben.

### 5.4.3 *In vitro*-Cytokompatibilität von 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Zur Überprüfung der Cytokompatibilität von NPSNP-MeOPh wurden vorkultivierte murine Fibroblasten (NIH 3T3) verwendet und diese vier Tage in Kontakt mit den Nanopartikeln kultiviert. Als Vergleich dienten unmodifizierte NPSNP-OH, die bereits zuvor als cytokompatibel getestet wurden.<sup>[27]</sup>

Für die Bestimmung der Zellviabilität wurde der Neutralrot-Test genutzt, dessen Ergebnisse in Abb. 5.67 aufgeführt sind. Die Zellviabilitäten lagen für die getesteten Konzentrationen sowohl für NPSNP-OH als auch für NPSNP-MeOPh größtenteils oberhalb von 80% und gelten somit nach ISO 10993-5 als cytokompatibel.<sup>[254]</sup> Eine leichte Tendenz zu einer Viabilitätsabnahme bei steigenden Partikelkonzentrationen ist erkennbar, diese liegen jedoch in einem akzeptablen Bereich. Die Zellviabilitäten der unmodifizierten und modifizierten NPSNPs lassen keine nennenswerten Unterschiede untereinander erkennen, sodass die Modifizierung keine Reduzierung der Viabilität hervorruft.

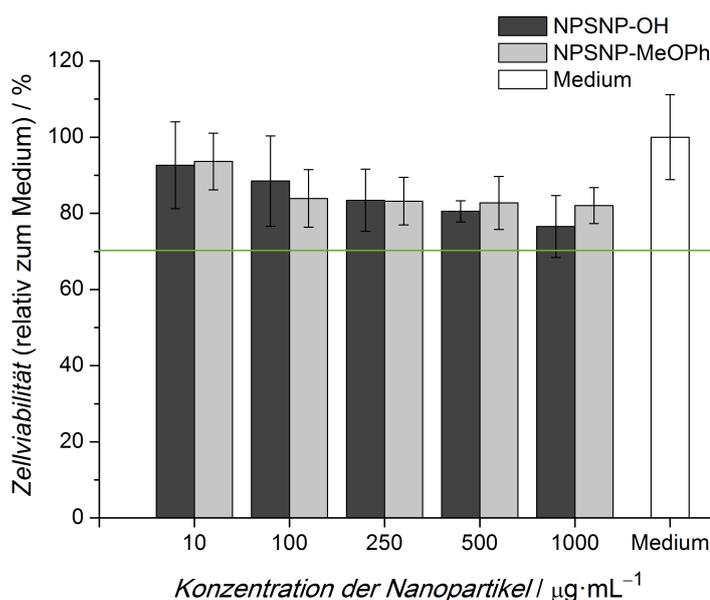


Abb. 5.67: Zellviabilitäten aus Neutralrot-Tests von NPSNP-OH und NPSNP-MeOPh. Die grüne Linie markiert die Grenze der Cytokompatibilität nach ISO 10993-5.

#### 5.4.4 Neuroprotektive Wirkung von Rolipram-beladenen 4-Methoxyphenyl-modifizierten nanoporösen Silica-Nanopartikeln auf Spiralganglienneuronen

Die in Abschnitt 5.4.2 vorgestellten, mit Rolipram beladenen NPSNP-MeOPh wurden hinsichtlich ihrer neuroprotektiven Wirkung auf SGNs untersucht. Bei den verwendeten SGNs handelte es sich um primäre Zellen, welche frisch aus der Cochlea von Ratten isoliert wurden. Diese Methode ist wohl etabliert, wobei die Qualität dieser Zellen dennoch von der Präparation sowie von den Tieren abhängig sein kann.

Für die Untersuchung wurden Partikel verwendet, welche in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässrigen Rolipramlösung für drei Tage inkubiert wurden. Basierend auf den Freisetzungsergebnissen wurden verschiedene Partikelsuspensionen mit Rolipramkonzentrationen von  $0.01 - 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  für die *in vitro*-Untersuchungen hergestellt. Zusätzlich zu Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh wurden NPSNP-MeOPh ohne Wirkstoff sowie Rolipram-beladene NPSNP-MeOPh, denen der Wachstumsfaktor BDNF zugesetzt wurde, getestet. In Untersuchungen von Kranz *et al.* wurde die Überlebensrate der SGNs durch eine Kombination von Rolipram und BDNF im Vergleich zu jeweils separaten Gaben deutlich erhöht.<sup>[35]</sup> Aus diesem Grund war die Untersuchung eines externen Zusatzes von BDNF ebenfalls von Interesse. Die Ergebnisse der Tests nach einer zweitägigen Kultivierung sind in Abb. 5.68 dargestellt.

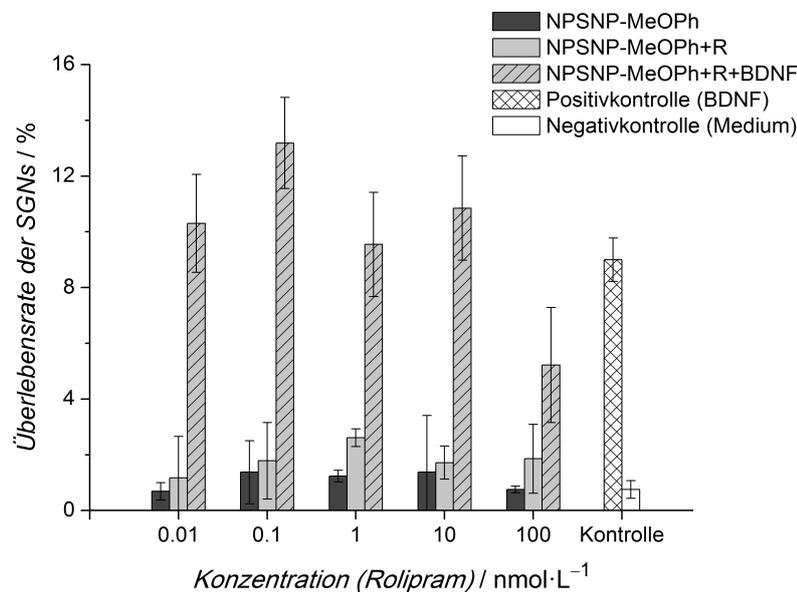


Abb. 5.68: Überlebensraten von SGNs nach einer Kultivierung über zwei Tage mit NPSNP-MeOPh, NPSNP-MeOPh + Rolipram (R) und NPSNP-MeOPh + Rolipram (R) + BDNF mit Rolipramkonzentrationen von  $0.01 - 100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Es wurde eine geringe Überlebensrate der SGNs für NPSNP-MeOPh, die im Bereich der Negativkontrolle liegen, beobachtet. Durch die Beladung mit Rolipram wurde eine Erhöhung

der Überlebensrate erreicht. Es zeigt sich eine Tendenz zur Erhöhung der Überlebensrate mit steigender Rolipramkonzentration bis  $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Bei höheren Konzentrationen sinkt diese wieder geringfügig. Durch den Zusatz von BDNF wurde bei allen Konzentrationen eine deutliche Erhöhung der Überlebensrate erreicht. Diese war besonders groß für eine Rolipramkonzentration von  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , bei der eine Erhöhung von ca. 2% auf ca. 13% erfolgte und damit höher als die Positivkontrolle lag.

Mikroskopische Aufnahmen von SGNs wurden nach einer neuronenspezifischen Färbung, einer anschließenden Färbung mit dem Elite ABC Kit und einer Visualisierung mit Peroxidase-Diaminobenzidin-Substrat aufgenommen (s. Abb. 5.69). Die Aufnahmen aus Untersuchungen mit Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh zeigen insgesamt eine größere Anzahl an SGNs als ohne Rolipram. Aufnahmen aus Untersuchungen mit Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh unter Zusatz von BDNF zeigen eine deutlich höhere Anzahl an SGNs. Häufig weisen diese zudem Verzweigungen der Dendriten auf und das Wachstum scheint ebenfalls erhöht zu sein. Dabei muss jedoch bedacht werden, dass es sich um grobe Tendenzen handelt, da nur kleine Ausschnitte betrachtet wurden. Die Länge der Dendriten ist bedeutend für die Überbrückung der Entfernung vom Zellkörper bis zu der Cochlea-Elektrode, die zwischen 0.3-2.3 mm liegen kann.<sup>[32,59]</sup> Die Übertragung der elektrischen Impulse auf die Dendriten ist maßgeblich für einen Höreindruck mit einem Cochlea-Implantat.

Bei dieser *in vitro*-Untersuchung handelte es sich um die ersten Tests an Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh. Es ist deshalb zwingend notwendig, die neuroprotektive Wirkung in Wiederholungsversuchen zu verifizieren, zumal die Qualität der Zellen ggf. von der Präparation und den Tieren abhängt. Des Weiteren muss als zusätzliche Kontrolle im Zellkulturversuch die Gruppe NPSNP-MeOPh mit einem externen Zusatz von BDNF getestet werden. Hier kann überprüft werden, ob der Anstieg der Überlebensrate tatsächlich durch die Kombination von Rolipram und BDNF verursacht wurde oder alleinig das zugesetzte BDNF für diesen Effekt verantwortlich war. Positiv verzeichnet wurde allerdings, dass die Überlebensrate der SGNs bei NPSNP-MeOPh mit  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipram unter BDNF-Zusatz deutlich erhöht war im Vergleich zur BDNF-Kontrolle.

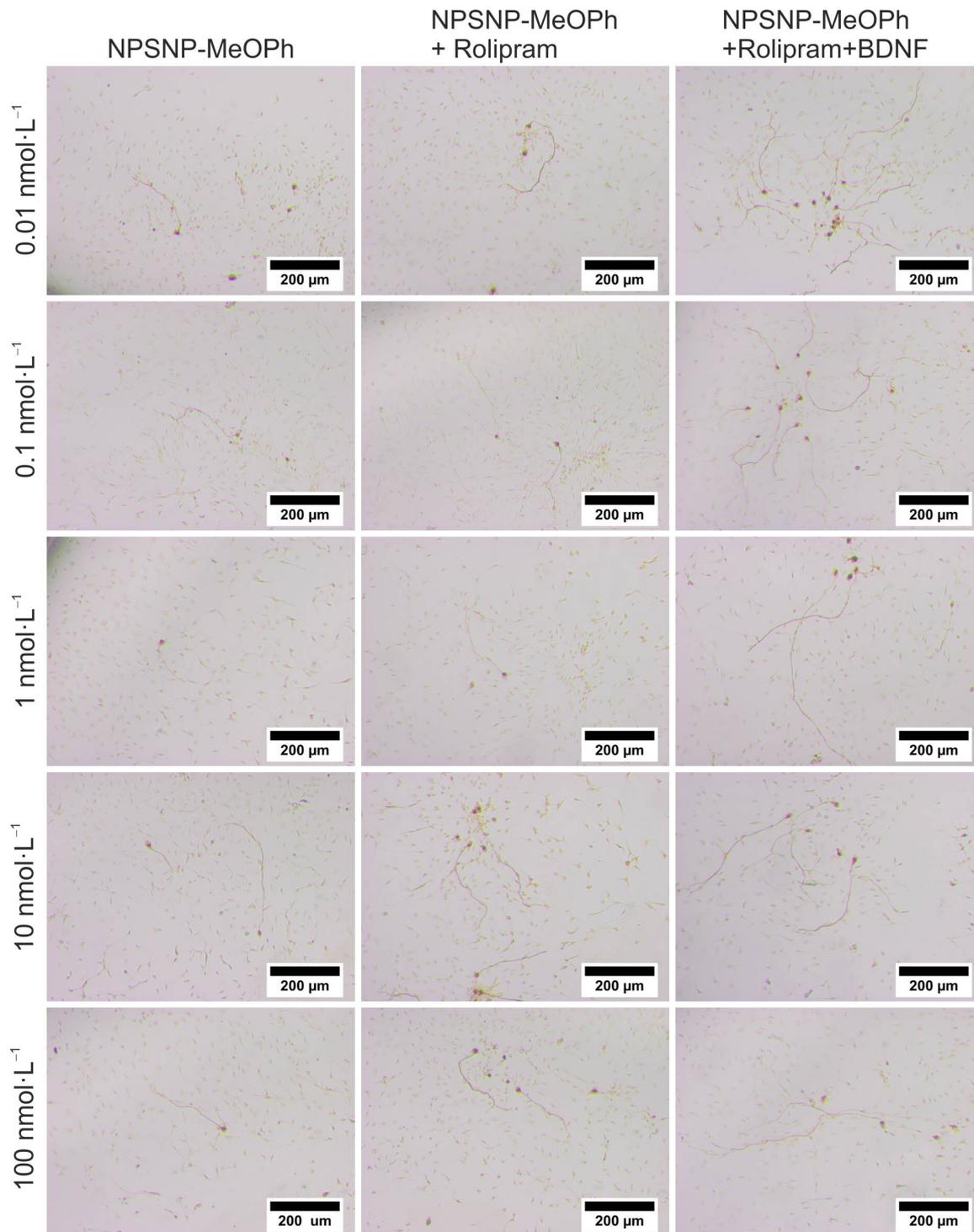


Abb. 5.69: Mikroskopische Aufnahmen von SGNs nach einer Kultivierung mit NPSNP-MeOPh, NPSNP-MeOPh + Rolipram (R) und NPSNP-MeOPh + Rolipram (R) + BDNF mit Rolipramkonzentrationen von 0.01-100 nmol·L<sup>-1</sup> über zwei Tage nach neuronenspezifischer Färbung sowie Färbung mit dem Elite ABC Kit und Visualisierung mit Peroxidase-Diaminobenzidin-Substrat.

### 5.4.5 Zusammenfassung

Es wurde die Basis für Freisetzungen des neuroprotektiven Wirkstoffs Rolipram aus NPSNPs in Silicon für eine spätere Anwendung in der Cochlea-Elektrode gelegt. In einem Freisetzungsexperiment, bei dem Rolipram zunächst direkt aus dem Silicon freigesetzt wurde, konnte gezeigt werden, dass eine nahezu vollständige Abgabe des Wirkstoffs möglich ist. In weiteren Versuchen wurden Freisetzungen aus NPSNPs untersucht, wofür sowohl NPSNP-Vi,Me als auch NPSNP-MeOPh verwendet wurden, um ein passendes System zu finden. Anschließend wurden Freisetzungsexperimente aus NPSNPs-Silicon-Kompositen durchgeführt.

Freisetzungsexperimente aus den Nanopartikeln zeigten, dass eine längerfristige Freisetzung von Rolipram aus NPSNP-Vi,Me nicht gegeben ist. Der Wirkstoff wurde schon innerhalb kurzer Zeit in Form eines *burst release* abgegeben. Dies lässt vermuten, dass der Wirkstoff auf den Partikeln mit der hydrophoben Modifizierung nur oberflächlich adsorbiert wurde und geringe Wechselwirkungen vorlagen. Freisetzungen aus diesen Partikeln in Silicon waren nicht erfolgreich.

Durch eine Modifizierung mit 4-Methoxyphenylgruppen wurden  $\pi - \pi$ -Wechselwirkungen der aromatischen Systeme im Rolipram und der 4-Methoxyphenylgruppen für eine verbesserte Wirkstoffeinlagerung und -abgabe ausgenutzt. Im Untersuchungszeitraum von 23 Tagen wurde eine verzögerte Freisetzung durch eine dreitägige Inkubation der Partikel in einer  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  wässrigen Rolipramlösung im Vergleich zu einer ethanolischen Inkubation, beobachtet. Die kumulativ freigesetzte Menge betrug nach 23 Tagen  $3.1 \pm 0.9 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$  Rolipram. Da die wesentliche Menge in den ersten Tagen freigesetzt wurde, ist die Konzentration, wie eine Studie von Kranz *et al.* zeigte, zu hoch für die geplante Verwendung im Innenohr.<sup>[35]</sup> Um einen Bereich von  $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Rolipram zu erhalten, müsste eine starke Verdünnung von ca. 10-30  $\mu\text{g}$  der Partikel in einem Liter Medium vorgenommen werden. Eine Inkubation in ethanolischer Lösung führte zu einem kürzeren Freisetzungszeitraum und Roliprambestimmungen mit größeren Standardabweichungen. Zudem wurde eine geringere Beladung der Partikel mit Rolipram festgestellt, was auf eine schlechtere Wechselwirkung von Ethanol mit den NPSNPs zurückgeführt wird.

In einem nächsten Schritt wurden die in wässriger Rolipramlösung inkubierten NPSNP-MeOPh in Silicon eingearbeitet. Um zunächst sicherzustellen, dass eine ausreichende Menge aus diesem System für einen Nachweis freigesetzt wird, wurde Silicon mit 8 wt% der Partikel hergestellt. Ähnlich wie in Vorversuchen wurde bei diesem hohen Gehalt an Partikeln, deren Inkubation zuvor in wässriger Lösung erfolgte, keine vollständige Vernetzung erreicht. Aufgrund dessen muss bedacht werden, dass sich das Freisetzungsprofil im Vergleich zu einem vollständig vernetzten Silicon hinsichtlich der Freisetzungsgeschwindigkeit und

-konzentration unterscheiden kann. Das aus den verwendeten Proben erhaltene Freisetzungprofil zeigte eine gleichmäßige diffusionskontrollierte Freisetzung über den gesamten Untersuchungszeitraum von 45 Tagen. Zu diesem Zeitpunkt wurden mit  $15.2 \pm 1.2 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  ca. 50% des enthaltenen Roliprams freigesetzt.

Die Evaluierung der Cytokompatibilität von NPSNP-MeOPh erfolgte in *in vitro*-Untersuchungen mit murinen NIH 3T3-Zellen und Nanopartikelkonzentrationen von 10-1000  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Für alle Konzentrationen wurde eine gute Zellviabilität beobachtet und das Material als cytokompatibel für diesen Zelltyp bewertet.

Die neuroprotektive Wirkung von Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh wurde in einem ersten Versuch unter Verwendung der frisch isolierten primären SGNs untersucht. Die Überlebensrate der SGNs wurde bis zu einer Rolipramkonzentration von  $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  leicht erhöht. Durch die externe Zugabe von BDNF wurde für alle getesteten Konzentrationen ein deutlicher Anstieg der Überlebensrate erreicht, wobei das beste Ergebnis mit einer Konzentration von  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Rolipram erzielt wurde. Die zusätzliche BDNF-Gabe schien zudem das Dendritenwachstum der SGNs zu erhöhen. Insgesamt zeigen diese Ergebnisse eine gute und vielversprechende Tendenz für eine neuroprotektive Wirkung auf SGNs.

## 6 Fazit und Ausblick

Diese Arbeit befasst sich mit der Entwicklung und Charakterisierung von Biomaterialien für Implantate im Mittelohr sowie im Innenohr. Ein Schwerpunkt der Arbeiten war Silbernanopartikel-haltigen Silica-Beschichtungen gewidmet, die auf Mittelohrprothesen aufgebracht werden und bei der Anwendung eine antibakterielle Wirkung entfalten können. Eine weitere im Rahmen dieser Arbeit intensiv untersuchte Materialklasse sind die Silicone, denen durch die Beimischung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln (NPSNPs) besondere Eigenschaften verliehen wurden. Die Veränderung der mechanischen Eigenschaften ist dabei für verschiedene Anwendungen von Bedeutung, z.B. im Hinblick auf die Konstruktion von Siliconkissen auf Mittelohrprothesen oder als Basismaterial für Cochlea-Elektroden. Auch die Möglichkeit, aus den NPSNPs heraus Wirkstoffe freizusetzen, ist von Interesse. Es wurden zwei unterschiedliche Typen Silbernanopartikel-haltige Beschichtungen entwickelt, eine beruhend auf nanoporösem und eine basierend auf dichtem Silica. In beiden Fällen diente als Substrat Bioverit®II, eine als Implantatmaterial im Mittelohr verwendete Glasglimmerkeramik. Silberhaltige Kompositmaterialien als Beschichtungen oder pulverförmige Feststoffe für antibakterielle Zwecke sind in verschiedenen Materialkombinationen in der Literatur beschrieben. Es wurden u.a. Komposite aus unterschiedlichen Silberverbindungen bzw. Silbernanopartikeln in Silica, Titandioxid, Polyurethan, Polyamid, Natriumsilikat und Hydroxylapatit untersucht.<sup>[17,70,79,80,161,290–293]</sup> Hierbei wurden jedoch die chemischen und biologischen Aspekte unzureichend miteinander verknüpft, sodass ganzheitliche Charakterisierungen bestehend aus der Untersuchung des Beschichtungsmaterials, des Freisetzungsverhaltens, der Cytokompatibilität und der antibakteriellen Wirksamkeit häufig fehlen. Umfassende Untersuchungen sind aber unerlässlich, um die Vielzahl an möglichen silberhaltigen Kompositen für spezielle Anwendungen anpassen und optimieren zu können. Innerhalb dieser Dissertation erfolgten diese Untersuchungen für beide entwickelten Silber-Silica-Beschichtungstypen auf Bioverit®II, welche vor allem durch das Forschungsumfeld des Sonderforschungsbereiches 599 ermöglicht wurde. Erstmals wurden zudem intensive Untersuchungen zum Degradationsverhalten der Beschichtungen unter Freisetzungsbedingungen mittels TEM vorgenommen. Hervorzuheben ist, dass durch die hier vorgestellten Herstellungsverfahren unter Verwendung von Silbernitrat sehr einfach Silbernanopartikel in den Schichten gebildet werden können und eine Herstellung dieser in einer separaten Synthese überflüssig wird. Auf diese Weise lassen sich sowohl Ressourcen, Kosten als auch Zeit sparen, was insbesondere mit der hier vorgestellten dichten Silber-Silica-Beschichtung unter Zusatz eines Kronenethers ermöglicht wird.

Die hergestellten Schichten wiesen nach einer Einfachbeschichtung Dicken von etwa 170 nm für die nanoporöse bzw. 72 nm für die dichte Silber-Silica-Schicht auf. Der erfolgreiche Nachweis von Silber erfolgte mittels optischer Spektroskopie und EDX-Messungen. Mithilfe von TEM-Aufnahmen wurden sehr gleichmäßige, sphärische Silbernanopartikel mit Durchmessern von ca. 6 nm in der nanoporösen und ca. 8 nm in der dichten Schicht ermittelt. Als besonders erfolgreich stellte sich überraschenderweise die Herstellungsmethode der dichten Silber-Silica-Schicht heraus, bei der auch ohne Platzbeschränkungen durch Porenwände sehr kleine, separierte Nanopartikel gebildet wurden. Unter Verwendung von Silbernitrat als Silberquelle und einer anschließenden Reduktion zu Silber durch einen Calcinationsprozess wurden somit in beiden Beschichtungstypen geeignete Nanopartikelgrößen für Silberfreisetzungen erzielt. Silber-Silica-Komposite, die Silbernanopartikel enthalten, deren Durchmesser unterhalb von 10 nm liegen und deshalb besonders effektiv einige Bakterien bekämpfen können, wurden bisher nur selten vorgestellt.<sup>[12,71,294,295]</sup>

Die Untersuchungen zur Degradation der Silber-Silica-Beschichtungen und zur Freisetzung von Silber aus diesen ergaben interessante und zum Teil unerwartete Ergebnisse. So wurde festgestellt, dass innerhalb von sieben Tagen aus der dichten Beschichtung mit  $0.58 \pm 0.23 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$  eine größere Menge Silber freigesetzt wurde als mit  $0.19 \pm 0.03 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$  aus der nanoporösen Beschichtung. In jedem Fall handelt es sich um sehr geringe Mengen an Silber, wie dies gewünscht ist, um cytotoxische Effekte zu vermeiden. Mit Ausnahme von Massa *et al.* wurden solch geringe Silbermengen noch nicht publiziert.<sup>[271]</sup> Die in dieser Dissertation entwickelten Herstellungsmethoden, welche insbesondere für die dichte Silber-Silica-Beschichtung bisher einzigartig ist, ermöglichten diese Ergebnisse.

Die Ursache für die im Falle der dichten Silica-Beschichtung erhöhte Standardabweichung der Silberbestimmung wird im Herstellungsprozess vermutet. Die gleichzeitige Einlagerung von Silber während der Silicabildung führt hier möglicherweise zu inhomogeneren und weniger gut reproduzierbaren Schichten als bei der nanoporösen Silber-Silica-Beschichtung. TEM-Aufnahmen von dichten Silber-Silica-Beschichtungen ließen außerdem vermuten, dass während der Freisetzungszeit auch ganze Silberpartikel aus den Beschichtungen herausgeschwemmt werden können. Mit der hier verwendeten Bestimmungsmethode, der AAS, erfolgt keine Unterscheidung zwischen verschiedenen Silberspezies, sodass auch das Silber in Silbernanopartikeln mit erfasst wurde. Eine ionenselektive Messmethode, z.B. mit silberionenspezifischen Elektroden, würde daher Aufschluss über den tatsächlichen Anteil an freigesetzten Silberionen geben. Eine solche Untersuchung wäre vor allen Dingen sinnvoll, weil Nanopartikel selbst bei der Bekämpfung von Bakterien nicht direkt aktiv sind. Bei einer Anwendung werden die Partikel möglicherweise vom Wirkungsort wegtransportiert,

bevor sie sich auflösen und die eigentlich antibakteriell wirksame Spezies, die Silberionen, bilden können.

Weitergehende Informationen über das Auflösungsverhalten der Silbernanopartikel während der Freisetzung wurden durch erstmalig an solchen Materialien durchgeführte Degradationsexperimente unter den ausgewählten Freisetzungsbedingungen gewonnen. Hierbei stellte sich überraschenderweise heraus, dass die Durchmesser der Silbernanopartikel in der nanoporösen Beschichtung über den gesamten Untersuchungszeitraum unverändert blieben, wohingegen die Partikeldurchmesser in der dichten Beschichtung kontinuierlich bis auf 2 nm nach sieben Tagen abnahmen. Diese Erkenntnisse unterstützten die Ergebnisse aus den Freisetzungsexperimenten, in denen eine größere freigesetzte Silbermenge für die dichte Beschichtung ermittelt wurde.

*In vitro*-Untersuchungen der Beschichtungen mit NIH 3T3-Zellen und MG 63-Zellen belegten eine gute Cytokompatibilität beider Beschichtungstypen für diese Zelllinien. Außerdem wurde eine erfolgreiche initiale antibakterielle Wirkung gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* mit der dichten Silber-Silica-Beschichtung erzielt, während die Silbermenge, welche aus der nanoporösen Beschichtung freigesetzt wurde, vermutlich zu gering war.

Da die Silberfreisetzungsmengen möglichst gering gewählt wurden, kann in weiteren Untersuchungen die minimal benötigte wirksame Konzentration durch schrittweises Erhöhen der Silbermenge in den Schichten ermittelt und die Wirksamkeit dadurch erhöht werden. Die Anpassung der Silbergehalte ist mit den verwendeten Herstellungsmethoden einfach zu realisieren, indem die Silberkonzentrationen in der Syntheselösung der dichten Beschichtung bzw. in der Inkubationslösung der nanoporösen Beschichtung erhöht werden. Da für den dichten Beschichtungstyp, der auch die beste Cytokompatibilität aufwies, eine antibakterielle Wirksamkeit bereits beobachtet werden konnte, erscheint eine Weiterentwicklung hier besonders erstrebenswert. Des Weiteren könnte eine Kombination der nanoporösen und dichten Silber-Silica-Schicht interessant sein, um in weitergehenden Untersuchungen ein optimales Freisetzungssystem für Silber zu finden.

Einen weiteren Schwerpunkt in dieser Arbeit stellte die Etablierung eines Kompositsystems aus biomedizinischem Silicon und nanoporösen Silica-Nanopartikeln als Füllstoffmaterial dar. Ein solch ausgestattetes Silicon soll als Siliconkissen zum Schutz des Trommelfells nach Implantation einer Mittelohrprothese dienen und kann auch die Fixierung der Prothese unterstützen. Des Weiteren soll ein solches Silicon für die Ummantelung einer Cochlea-Elektrode genutzt werden, um neue Möglichkeiten für eine verbesserte Biointegration des Cochlea-Implantats zu schaffen und um eine Wirkstofffreisetzung aus dem Siliconmantel der Prothese zu ermöglichen.

Mit der Verwendung von NPSNPs als Füllstoff für Silicon konnte eine sehr gute Alternative bzw. Ergänzung zu herkömmlich eingesetztem pyrogenem oder gefällttem Silica

herausgestellt werden. Die sphärischen NPSNPs wiesen Durchmesser von  $41 \pm 5$  nm auf. Nach der Modifizierung wurde eine spezifische BET-Oberfläche von  $1\,030\text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  bei einem Porendurchmesser von ca. 3 nm ermittelt, Parameter, die diese Partikel auch für eine Wirkstoffeinlagerung qualifizieren.<sup>[29,165]</sup> Silpuran<sup>®</sup> 2430 (WACKER CHEMIE AG) wurde als Siliconkomponente gewählt. Mit der Entwicklung eines speziellen Mischprozesses und durch eine Modifizierung der NPSNPs mit Vinyl- und Trimethylgruppen (NPSNP-Vi,Me) konnte die Einarbeitung in das Polymer sowie die Homogenität im Polymer verbessert werden. Unmodifizierte NPSNP-OH zeigten im Siliconpolymer hingegen ausgeprägte *crepe hardening*-Effekte, welche zu einer schlechten Verarbeitbarkeit der Mischungen und zu inhomogenen Proben führten, sodass sich eine Modifizierung mit den hydrophoben Gruppen als unerlässlich erwies. Solche Modifizierungen haben sich bereits für herkömmliche, nicht poröse Silica-Füllstoffe als geeignet herausgestellt, um sehr starke Wechselwirkungen zwischen den Silica-Partikeln untereinander sowie mit dem Polymer zu reduzieren.<sup>[23,26,198,204]</sup>

Der maximal in das Polymer einzuarbeitende Gehalt an NPSNP-Vi,Me betrug 10 wt%. Bei diesem Gehalt kam es zu einer deutlichen Viskositätszunahme der unvernetzten Mischung, die durch zunehmende *crepe hardening*-Effekte verursacht wurde. TEM-Aufnahmen von Dünnschnitten einer solchen Probe ließen aufgrund von sehr dicht angeordneten Partikeln auf eine Ausschöpfung des freien Volumens schließen. Um zu überprüfen, ob die Limitierung hauptsächlich auf eine Volumenausschöpfung zurückzuführen ist, kann die Verwendung von Silica-Partikeln mit einem größeren Durchmesser hilfreich sein. Große Silica-Partikel zeigen aufgrund des geringeren Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnisses weniger ausgeprägte Wechselwirkungen zwischen Silica-Silica und Silica-Polymer, wodurch die Viskosität der Mischungen verringert und eine bessere Verarbeitbarkeit erreicht werden kann. Auf diese Weise ließen sich gegebenenfalls höhere Silicafüllstoffgehalte im Polymer erzielen.<sup>[214]</sup>

Ausführliche Untersuchungen zum mechanischen Verhalten der vernetzten NPSNPs-Silicon-Komposite erfolgten mittels zyklischer Zugversuche und der Rheologie. Es wurde gezeigt, dass die mechanischen Eigenschaften durch den Gehalt an NPSNP-Vi,Me gezielt verändert und den Anforderungen angepasst werden können, wie es für nicht poröse Silica-Nanopartikel bekannt ist.<sup>[23,277]</sup> Insgesamt wurde bei einem Einsatz von 10 wt% NPSNP-Vi,Me eine Steigerung des Speichermoduls  $G'$  von  $0.14 \pm 0.02$  MPa auf  $0.30 \pm 0.03$  MPa erzielt. Der  $E$ -Modul wurde von  $0.36 \pm 0.02$  MPa auf  $0.84 \pm 0.07$  MPa erhöht. Proben mit sehr hohen Füllstoffgehalten zeigten bei großen Dehnbelastungen ein früheres Versagen als Proben mit geringen bis mittleren Gehalten. Somit wurden durch die Verwendung von 5 wt% NPSNP-Vi,Me als Füllstoff maximale Werte hinsichtlich der Zugfestigkeit ( $3.77 \pm 0.16$  MPa) und der Bruchdehnung ( $242 \pm 8\%$ ) erreicht.

Für den Einsatz in der Cochlea-Elektrode sollte das Silicon möglichst flexibel sein. Mit einem Gehalt von 3 wt% NPSNP-Vi,Me als Füllstoff wäre das hier entwickelte Material möglicherweise geeignet. Sollen die NPSNPs auch als Wirkstoffdepot dienen, wären allerdings möglichst hohe Gehalte im Silicon wünschenswert. Hierfür müsste als Ausgangssilicon ein Material mit geringerer Shore A-Härte verwendet werden, um einen entsprechend niedrigen  $E$ -Modul zu erhalten. Zur Abschätzung der benötigten Steifigkeit eines Siliconkissens für die Mittelohrprothese kann man sich an dem  $E$ -Modul des Knorpels orientieren, da in der klinischen Praxis heutzutage üblicherweise eine Knorpelscheibe verwendet wird, mit der akzeptable Hörergebnisse erzielt werden. Zwar wurde durch die Zugabe von NPSNPs der  $E$ -Modul des Knorpels nicht erreicht. Bei einem Vergleich der rheologischen Daten einer Knorpelscheibe mit denen eines Silicons mit 10 wt% NPSNP-Vi,Me wurden aber Übereinstimmungen im Verhalten unter der dynamischen Belastung, die für den geplanten Einsatz besonders wichtig ist, festgestellt. Durch die Wahl eines Silicontyps mit einer größeren Shore A-Härte als Ausgangsmaterial ließen sich die benötigten  $E$ -Moduln möglicherweise realisieren.

Eine ausführliche *in vitro*-Untersuchung der Silicone ergab eine gute Cytokompatibilität für die Zelllinien A549 und NIH 3T3 sowie für die Stammzellen des Typs hAD-MSC. Ein Herauslösen von toxischen Spezies aus dem Silicon, z.B. aufgrund von unvollständigen Vernetzungen, wurde durch Zellkulturtests an Extrakten untersucht, aber nicht bestätigt. Die vorgestellten NPSNPs-Silicon-Komposite für den biomedizinischen Einsatz sind in dieser Art bislang einzigartig. Zwar wurden nanoporöse Silica-Partikel in Silicon auch von anderen Gruppen untersucht, jedoch handelte es sich hierbei größtenteils um nicht-sphärische oder aber sehr große Partikel im Bereich von 300 - 800 nm.<sup>[209,210,212–214]</sup> Seltener wurden Partikel mit Durchmessern kleiner als 50 nm verwendet.<sup>[211,215]</sup> Bereiche, in denen diese Partikel als Füllstoff für Silicone Anwendung finden sollten, sind die Mikrofluidik, Optoelektronik (z.B. für Displays) und zum Schutz flexibler elektronischer Bauteile (z.B. Feldeffekt-Transistoren).<sup>[211,214,215]</sup> Mechanische Untersuchungen, wie sie innerhalb dieser Dissertation erfolgten, wurden für Komposite aus NPSNPs und Silicon in der Literatur bisher nicht beschrieben. Ebenso erfolgten hier erstmals Modifizierungen der Nanopartikel mit Vinylmethyl- und Trimethylgruppen, ein direkter Vergleich mit dem Verhalten unmodifizierter NPSNP-OH in Silicon sowie Zellkulturuntersuchungen an diesen Nanokompositen.

Um die NPSNPs im Silicon besser detektieren zu können, wurden fluoreszierende Kern-Schale-Nanopartikel  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  hergestellt und diese markierten Partikel erstmalig als Füllstoff in Silicon eingearbeitet. Durch die Verwendung der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}@\text{NPSNPs}$  können auf einfache Weise Untersuchungen zur Partikelverteilung im Silicon mittels fluoreszenzmikroskopischen Analysen vorgenommen werden. Außerdem wären diese Kern-Schale-

Nanopartikel für den Nachweis von Partikelakkumulationen in biologischen Systemen geeignet.<sup>[154]</sup> Häufig werden hierfür fluoreszierende organische Farbstoffmoleküle kovalent über *postgrafting*-Methoden an Silica-Partikel angebunden.<sup>[28,29,296]</sup> Nachteilig sind hierbei jedoch oft geringe Fluoreszenzlebensdauern und eine Limitierung in der Modifizierbarkeit der Partikeloberfläche für weitere Eigenschaften. Kong *et al.* gelang es bereits Kern-Schale-Partikel auf der Basis von fluoreszierenden  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kernen und einer dünnen nicht porösen Silica-Schale herzustellen.<sup>[154]</sup> In dieser Dissertation beruhte eine Weiterentwicklung dieser Partikel auf der Ausstattung der  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kerne mit einer nanoporösen Silica-Schale. Die  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ @NPSNPs bestehen aus 10 nm großen stäbchenförmigen  $\text{CeF}_3:\text{Tb}^{3+}$ -Kernen, welche entsprechend der Literatur synthetisiert wurden.<sup>[154]</sup> Diese Kerne wurden anschließend erfolgreich mit einer nanoporösen Silica-Schale versehen und mit Vinylmethyl- und Trimethylgruppen modifiziert. Hierbei wurden Partikelmorphologien, die denen der kernlosen NPSNPs ähnlich sind, erhalten. Diese Partikel eigneten sich hervorragend für Konfokal-Laser-fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen, sodass auf diese Weise eine homogenere Verteilung der Kern-Schale-Nanopartikel nach einer Modifizierung nachgewiesen werden konnte. Mithilfe dieses speziellen Kompositsystems und der Konfokal-Laser-Fluoreszenzmikroskopie wurde somit die Notwendigkeit eines Modifizierungsschrittes zusätzlich bestätigt. Um Kenntnisse über ein mögliches Ausschwemmen von Füllstoffen aus dem Silicon zu gewinnen, wären Langzeitversuche unter physiologischen Bedingungen nötig, bei denen die Partikel fluoreszenzspektroskopisch nachgewiesen werden können.

Im Weiteren sollte durch eine Beschichtung von Silicon mit Silica-Partikeln eine hydrophile Oberfläche für eine verbesserte Zelladhäsion erzeugt werden. Diese kann z.B. genutzt werden, um das Silicon einer Cochlea-Elektrode mit Wachstumsfaktoren-produzierenden Zellen zu besiedeln, was dem Überleben der Spiralganglienneuronen (SGNs) förderlich sein sollte.<sup>[36]</sup>

Für die Hydrophilierung von Siliconoberflächen wurden sphärische NPSNPs mit einem Durchmesser von 40 nm, NPSNPs von anisotroper Gestalt mit Längen im Mikrometerbereich sowie 500 nm große, sphärische Stöber-Partikel verwendet. Es wurden verschiedene Beschichtungstechniken angewandt, mit denen nachweislich Partikel auf die Oberflächen aufgebracht wurden. Dennoch wurde für keine der Beschichtungen eine wesentliche Erniedrigung des Kontaktwinkels erreicht. Der Grund hierfür ist das ausgeprägte Auftreten von bereits bekannten *hydrophobic recovery*-Effekten, welche Wissenschaftler vor das generelle Problem stellen, langzeitstabile hydrophile Siliconoberflächen zu erzeugen.<sup>[233-235]</sup> Eine durch das Aufpressen von Partikeln hergestellte Beschichtung erschien zwar inhomogen und instabil, jedoch konnte hiermit eine Abhängigkeit des Kontaktwinkels von der Schichtdicke aufgezeigt werden. Dabei war dieser umso geringer, je dünner die Silica-Schicht war. Eine

Unterschreitung von  $77^\circ$  war allerdings auch mit dieser Technik nicht möglich, sodass die angestrebte Erniedrigung des Kontaktwinkels auf unter  $60^\circ$  nicht erreicht wurde.

Hinsichtlich dieser Problemstellung könnten im Weiteren Silicone mit verschiedenen Viskositäten getestet werden. Auch die Verwendung von geringeren Silica-Schichtdicken wäre denkbar, um ein geeignetes System für eine erfolgreiche Erniedrigung des Kontaktwinkels und eine bessere Stabilität der Beschichtung zu erreichen. Eine weitere Möglichkeit wäre zudem eine Änderung der Vorgehensweise, indem zunächst ein Substrat mit einer nanoporösen Silica-Schicht versehen wird, auf der dann anschließend das Silicon vernetzt wird. Bei geeigneter Wahl des Substrats wird dann die nanoporöse Silica-Schicht durch Abziehen des Silicons vom Substrat auf das Polymer übertragen.

Das Komposit aus Silicon und NPSNPs bietet Potential für lokale Wirkstofffreisetzungen mit komplexen Freisetzungsprofilen. Hierfür wurden erste erfolgreiche Studien zu einer Freisetzung des neuroprotektiven Wirkstoffs Rolipram durchgeführt, welcher das Überleben von Spiralganglienneuronen und das Wachstum der Dendriten im Innenohr fördern soll.<sup>[35,297]</sup>

Durch eine Modifizierung der NPSNPs mit 4-Methoxyphenylgruppen (NPSNP-MeOPh) wurde eine erfolgreiche Freisetzung von Rolipram erzielt. Die Untersuchungen hierzu wurden dadurch erschwert, dass durch Hydrolyse 4-Methoxyphenylgruppen von den modifizierten NPSNPs gelöst wurden, die den UV/Vis-spektroskopischen Nachweis des Roliprams stören. Mit einer Beladung der Partikel durch eine dreitägige Inkubation in einer  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  wässrigen Rolipramlösung wurde eine Freisetzung über 23 Tage erreicht. In diesem Zeitraum wurden insgesamt  $3.1 \pm 0.9 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  Rolipram freigesetzt. Um die für das Überleben von SGNs geeignete Konzentration von  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  zu erhalten, bedarf es einer sehr starken Verdünnung dieser Partikel.<sup>[35]</sup> Durch die Einarbeitung von 8 wt% NPSNP-MeOPh in Silicon wurden weiche Proben erhalten, mit denen eine Freisetzung über mehr als 45 Tagen möglich war. Es wurden in dieser Zeit ca. 50% des Gesamtwirkstoffgehalts freigesetzt, sodass von einer weiter anhaltenden Freisetzung über mehrere Wochen ausgegangen werden kann. Die Standardabweichungen der freigesetzten Mengen lagen in einem angemessenen Bereich, sodass Signalüberlagerungen von freigesetzten Methoxyphenylresten nach einer Einarbeitung der Partikel in Silicon als nicht mehr relevant erschienen. Um das Freisetzungssystem weiter zu optimieren und Rolipram in geeigneten Konzentrationen freizusetzen, sind Versuche mit geringeren Partikelgehalten sinnvoll. Aufgrund der Erkenntnis, dass Signalüberlagerungen nicht ausschlaggebend sind, ist zudem eine Freisetzungsuntersuchung an Proben empfehlenswert, die unter Verwendung von NPSNP-MeOPh hergestellt wurden, die in einer ethanolischen Rolipramlösung beladen wurden. Bei der Freisetzung aus diesen Partikeln waren Signalüberlagerungen ausgeprägter. Durch die Verwendung der

in ethanolischer Lösung inkubierten Partikel kann eine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften des Silicons erreicht werden, wie in Vorversuchen festgestellt wurde.

Wirkstofffreisetzungen sowohl aus unterschiedlich modifizierten NPSNPs als auch aus Silicon sind vielfältig in der Literatur beschrieben.<sup>[162,164,165,187,189,190,192,217,298–300]</sup> Neu hingegen ist die Kombination beider Materialien zu einem komplexen System, sodass das Implantatmaterial direkt als Freisetzungssystem genutzt werden kann. Für Freisetzungen aus Silicon haben sich insbesondere kleine, hydrophobe Moleküle als erfolgreich erwiesen, weshalb sich auch Rolipram für diese Anwendung eignet.<sup>[190]</sup> Meyer *et al.* konnten z.B. durch eine Einkapselung von Rolipram in Lipidnanokapseln eine neuroprotektive Wirkung auf SGNs *in vitro* nachweisen.<sup>[297]</sup> Freisetzungssysteme für Rolipram zur Erzeugung von neuroprotektiven Effekten im Innenohr wurden bisher nur wenig erforscht und sind für NPSNPs noch nicht beschrieben.

*In vitro*-Untersuchungen der NPSNP-MeOPh mit murinen NIH 3T3-Fibroblasten ergaben eine exzellente Cytokompatibilität auch für sehr hohe Nanopartikelkonzentrationen von  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Erste Studien im Hinblick auf die neuroprotektive Wirksamkeit wurden mit frisch isolierten primären SGNs durchgeführt. Rolipram-beladene NPSNP-MeOPh führten zu einer deutlichen Erhöhung der Überlebensrate der SGNs, wobei eine Zunahme der Wirksamkeit bis zu Rolipramkonzentrationen von  $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  festgestellt wurde. Eine zusätzliche externe Gabe des Wachstumsfaktors BDNF bewirkte insbesondere bei einer Rolipramkonzentration von  $0.1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  eine weitere Erhöhung der Überlebensrate. Diese Konzentration erwies sich auch in einer *in vitro*-Studie von Kranz *et al.* am effektivsten für eine neuroprotektive Wirkung auf SGNs.<sup>[35]</sup> Es konnte zudem eine Tendenz für ein erhöhtes Dendritenwachstum in Anwesenheit von Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh und BDNF verzeichnet werden. Dies ist für eine Überbrückung der Distanz zwischen den Zellkörpern der SGNs und der Cochlea-Elektrode enorm wichtig und kann einem guten Höreindruck mit einem Cochlea-Implantat förderlich sein. Um sicherzustellen, dass diese Wirkung auf der Kombination aus Rolipram und BDNF beruht, müssen weitere Tests mit einer zusätzlichen Kontrollprobe erfolgen, die aus NPSNP-MeOPh mit einem externen Zusatz von BDNF besteht. Des Weiteren ist eine Verifizierung der neuroprotektiven Wirksamkeit durch mehrfache Wiederholung der Tests notwendig. Zwar sind die Zellkulturexperimente mit SGNs hierfür methodisch wohl etabliert. Die benötigten Spiralganglienneuronen sind aber nicht dauerhaft in Kultur zu halten und müssen jeweils frisch gewonnen werden. Dementsprechend unterliegen die Ergebnisse Schwankungen, auch weil es sich bei den SGNs um einen sehr empfindlichen Zelltyp handelt. Die mit den im Rahmen dieser Arbeit hergestellten wirkstofffreisetzenden NPSNPs durchgeführten *in vitro*-Untersuchungen lassen auf ein großes Potenzial für eine neuroprotektive Wirkung gegenüber SGNs schließen. In weiterführenden Untersuchungen sollte der Effekt der Rolipram-beladenen NPSNP-MeOPh

---

in Silicon überprüft werden. Diese vielversprechende Kombination stellt letztendlich das gewünschte lokale Freisetzungssystem für eine Cochlea-Elektrode zur Protektion der SGNs und zu deren gesteigertem Dendritenwachstum dar. Um die verstärkende Wirkung von Rolipram in Kombination mit BDNF auszunutzen, ist zudem eine gleichzeitige Freisetzung beider Wirkstoffe aus NPSNPs von Bedeutung und derzeit Gegenstand aktueller Arbeiten.



# Literaturverzeichnis

- [1] R. F. Schmidt, F. Lang, *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*, 30. Aufl., Springer Verlag, Heidelberg, **2007**.
- [2] *Hörgeminderte und Hörgeräte-Versorgung in Deutschland*, <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/71443/umfrage/hoergeminderte-und-hoergeraete-versorgung-in-deutschland/> Zugriffsdatum: 11.01.2016.
- [3] *Anzahl der Personen in Deutschland, die ein Hörgerät haben, von 2011 bis 2014*, <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/252153/umfrage/anzahl-der-hoergeraetetraeger-in-deutschland/> Zugriffsdatum: 11.01.2016.
- [4] *Absatz von Hörgeräten in Deutschland in den Jahren 2000 bis 2014*, <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/278043/umfrage/absatz-von-hoergeraeten-in-deutschland/> Zugriffsdatum: 11.01.2016.
- [5] N. Ehlert, T. Lüßenhop, I. Krüger, A. Feldhoff, M. Badar, *BioNanoMaterials*, **2013**, *14*, 89–100.
- [6] J. C. Vogt, G. Brandes, N. Ehlert, P. Behrens, I. Nolte, P. P. Müller, T. Lenarz, M. Stieve, *Journal of Biomaterials Applications*, **2009**, *24*, 175–191.
- [7] R. Lensing, A. Bleich, A. Smoczek, S. Glage, N. Ehlert, T. Lüßenhop, P. Behrens, P. P. Müller, M. Kietzmann, M. Stieve, *Acta Biomaterialia*, **2013**, *9*, 4815–4825.
- [8] N. Ehlert, M. Badar, A. Christel, S. J. Lohmeier, T. Lüßenhop, M. Stieve, T. Lenarz, P. P. Müller, P. Behrens, *Journal of Materials Chemistry*, **2011**, *21*, 752.
- [9] N. Ehlert, P. P. Müller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *Chemical Society Reviews*, **2013**, *42*, 3847–3861.
- [10] G. Stange, *Laryngo-Rhino-Otologie*, **1989**, *68*, 653–656.
- [11] L. Pauksch, S. Hartmann, M. Rohnke, G. Szalay, V. Alt, R. Schnettler, K. S. Lips, *Acta Biomaterialia*, **2014**, *10*, 439–449.
- [12] J. R. Morones, J. L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J. B. Kouri, J. T. Ramírez, M. J. Yacaman, *Nanotechnology*, **2005**, *16*, 2346–2353.
- [13] R. Bryaskova, D. Pencheva, S. Nikolov, T. Kantardjiev, *Journal of Chemical Biology*, **2011**, *4*, 185–191.
- [14] T. V. Duncan, *Journal of Colloid and Interface Science*, **2011**, *363*, 1–24.
- [15] D. M. Eby, N. M. Schaeublin, K. E. Farrington, S. M. Hussain, G. R. Johnson, *ACS NANO*, **2009**, *3*, 984–994.

- [16] A. Panacek, L. Kvítek, R. Prucek, M. Kolar, R. Vecerova, N. Pizúrova, V. K. Sharma, T. Nevecna, R. Zboril, *The Journal of Physical Chemistry B*, **2006**, *110*, 16248–16253.
- [17] S. Egger, R. P. Lehmann, M. J. Height, M. J. Loessner, M. Schuppler, *Applied and Environmental Microbiology*, **2009**, *75*, 2973–2976.
- [18] T. Lüßenhop, *Beiträge zur Optimierung von Mittelohrprothesen: Strategien zur antibakteriellen Modifizierung und zur Entwicklung eines Trommelfellpolsters*, Leibniz Universität Hannover, Dissertation, **2013**.
- [19] F. Duda, S. Bradel, A. Bleich, P. Abendroth, T. Heemeier, N. Ehlert, P. Behrens, K.-H. Esser, T. Lenarz, G. Brandes, N. K. Prenzler, *Journal of Biomaterials Applications*, **2015**, *30*, 17–29.
- [20] J. J. Grote, *Biomaterials in Otolaryngology*, Martinus Nijhoff Publishers, Boston u.a., **1984**.
- [21] T. Kobayashi, K. Gyo, T. Shinohara, N. Yanagihara, *American Journal of Otolaryngology - Head and Neck Medicine and Surgery*, **2002**, *23*, 222–227.
- [22] E. Steinbach, B. Karger, H. Hildmann, *Laryngo-Rhino-Otologie*, **1992**, *71*, 11–14.
- [23] B. Pachaly, F. Achenbach, C. Herzig, K. Mautner, *Silicone*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, **2005**.
- [24] R. De Jaeger, M. Gleria, *Inorganic Polymers*, Nova Science Publishers, New York, **2007**.
- [25] K. E. Polmanteer, *Rubber Chemistry and Technology*, **1981**, *54*, 1051–1080.
- [26] B. B. Boonstra, H. Cochrane, E. M. Dannenberg, *Rubber Chemistry and Technology*, **1975**, *48*, 558–576.
- [27] S. Williams, A. Neumann, I. Bremer, Y. Su, G. Dräger, C. Kasper, P. Behrens, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2015**, *125*, 1–16.
- [28] T. Asefa, Z. Tao, *Chemical Research in Toxicology*, **2012**, *25*, 2265–2284.
- [29] V. Mamaeva, C. Sahlgren, M. Lindén, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2013**, *65*, 689–702.
- [30] T. Lenarz, H.-G. Boenninghaus, *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde*, 14. Aufl., Springer Verlag, Berlin u.a., **2012**.
- [31] *Cochlear-Implantat*, <http://www.implantate-schweiz.ch/mein-implantat/cochlear-implantat.html> Zugriffsdatum: 10.02.2016.
- [32] O. Stakhovskaya, D. Sridhar, B. H. Bonham, P. A. Leake, *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, **2007**, *8*, 220–233.
- [33] T. Lenarz, *Cochlea-Implantat*, Springer Verlag, Berlin u.a., **1998**.

- [34] S. B. Shibata, C. L. Budenz, S. A. Bowling, B. E. Pfingst, Y. Raphael, *Hearing Research*, **2011**, *281*, 56–64.
- [35] K. Kranz, A. Warnecke, T. Lenarz, M. Durisin, V. Scheper, *PloS One*, **2014**, *9*, e92157.
- [36] A. Warnecke, S. Sasse, G. I. Wenzel, A. Hoffmann, G. Gross, G. Paasche, V. Scheper, U. Reich, K. H. Esser, T. Lenarz, T. Stöver, K. Wissel, *Hearing Research*, **2012**, *289*, 86–97.
- [37] E. Lüscher, *Lehrbuch der Ohrenheilkunde*, Springer Verlag, Wien, **1952**.
- [38] R. F. Schmidt, *Physiologie Kompakt*, 4. Aufl., Springer Verlag, Berlin u.a., **2001**.
- [39] R. F. Schmidt, H.-G. Schaible, *Neuro- und Sinnesphysiologie*, 5. Aufl., Springer Verlag, Heidelberg, **2006**.
- [40] W. Arnold, *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, **1977**, *216*, 369–473.
- [41] T. Zahnert, *HNO*, **2011**, *59*, 964–973.
- [42] S.-W. Ha, E. Wintermantel, *Medizintechnik - Life Science Engineering*, 5. Aufl., Springer Verlag, Berlin u.a., **2009**.
- [43] C. Turck, G. Brandes, I. Krüger, P. Behrens, H. Mojallal, T. Lenarz, M. Stieve, *Acta Oto-Laryngologica*, **2007**, *127*, 801–808.
- [44] R. Goldenberg, M. Driver, *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, **2000**, *122*, 635–642.
- [45] G. Geyer, *HNO*, **1999**, *47*, 77–91.
- [46] S. Koscielny, E. Beleites, *HNO*, **2001**, *49*, 367–371.
- [47] D. Beutner, J. C. Luers, K. B. Huttenbrink, *The Journal of Laryngology and Otology*, **2008**, *122*, 682–686.
- [48] M. Neudert, T. Beleites, M. Ney, A. Kluge, N. Lasurashvili, M. Bornitz, D. Scharnweber, T. Zahnert, *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, **2010**, *11*, 161–171.
- [49] R. Lensing, P. Behrens, P. P. Müller, T. Lenarz, M. Stieve, *Journal of Biomaterials Applications*, **2014**, *28*, 688–696.
- [50] L. Xu, G. Yu, E. Zhang, F. Pan, K. Yang, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, **2007**, *83A*, 703–711.
- [51] M. P. Staiger, A. M. Pietak, J. Huadmai, G. Dias, *Biomaterials*, **2006**, *27*, 1728–1734.
- [52] N. Ehlert, A. Hoffmann, T. Lüßenhop, G. Gross, P. P. Müller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *Acta Biomaterialia*, **2011**, *7*, 1772–1779.
- [53] N. Ehlert, M. Badar, A. Christel, S. J. Lohmeier, T. Luessenhop, M. Stieve, T. Lenarz, P. P. Mueller, P. Behrens, *Journal of Materials Chemistry*, **2011**, *21*, 752–760.

- [54] D. Hesse, N. Ehlert, T. Lüßenhop, A. Smoczek, S. Glage, P. Behrens, P. P. Müller, K.-H. Esser, T. Lenarz, M. Stieve, A. Bleich, N. K. Prenzler, *Otology and Neurotology*, **2013**, *34*, 1138–1145.
- [55] F. Duda, M. Kieke, F. Waltz, M. E. Schweinefuß, M. Badar, P. P. Müller, K.-H. Esser, T. Lenarz, P. Behrens, N. K. Prenzler, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2015**, *26*, 1–8.
- [56] D. Hesse, M. Badar, A. Bleich, A. Smoczek, S. Glage, M. Kieke, P. Behrens, P. P. Müller, K.-H. Esser, M. Stieve, N. K. Prenzler, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2013**, *24*, 129–136.
- [57] M. Schaarschmidt, *Deutsches Ärzteblatt*, **2013**, *110*, 36–39.
- [58] T. Stöver, T. Lenarz, *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery*, **2009**, *8*, 1–22.
- [59] J. H. Goldwyn, S. M. Bierer, J. A. Bierer, *Hearing Research*, **2010**, *268*, 93–104.
- [60] J. Stieghorst, K. Tegtmeier, P. Aliuos, H. Zernetsch, B. Glasmacher, T. Doll, *Physica Status Solidi (A) Applications and Materials*, **2014**, *211*, 1455–1461.
- [61] U. Reich, E. Fadeeva, A. Warnecke, G. Paasche, P. Müller, B. Chichkov, T. Stöver, T. Lenarz, G. Reuter, *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, **2012**, *100*, 940–947.
- [62] C. R. Arciola, D. Campoccia, P. Speziale, L. Montanaro, J. W. Costerton, *Biomaterials*, **2012**, *33*, 5967–5982.
- [63] T. Abee, Á. T. Kovács, O. P. Kuipers, S. Veen, *Current Opinion in Biotechnology*, **2011**, *22*, 172–179.
- [64] D. Campoccia, L. Montanaro, C. R. Arciola, *Biomaterials*, **2013**, *34*, 8533–8554.
- [65] L. Hall-Stoodley, J. Costerton, P. Stoodley, *Nature Reviews Microbiology*, **2004**, *2*, 95–108.
- [66] S. Chernousova, M. Epple, *Angewandte Chemie*, **2013**, *125*, 1678–1696.
- [67] J. W. Alexander, *Surgical Infections*, **2009**, *10*, 289–292.
- [68] V. Sambhy, M. M. MacBride, B. R. Peterson, A. Sen, *Journal of the American Chemical Society*, **2006**, *128*, 9798–9808.
- [69] A. S. Lanje, S. J. Sharma, R. B. Pode, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **2010**, *2*, 478–483.
- [70] H.-J. Jeon, S.-C. Yi, S.-G. Oh, *Biomaterials*, **2003**, *24*, 4921–4928.
- [71] R. Fries, S. Greßler, M. Simkó, A. Gzásó, M. Fiedeler, M. Nentwich, *Nano Trust Dossiers*, **2009**, *10*, 1–7.
- [72] R. M. Donlan, *Emerging Infectious Diseases*, **2001**, *7*, 277–281.

- [73] M. Bosetti, A. Massè, E. Tobin, M. Cannas, *Biomaterials*, **2002**, *23*, 887–892.
- [74] W. Badiou, J. P. Lavigne, P. J. Bousquet, D. O’Callaghan, P. Marès, R. Tayrac, *International Urogynecology Journal*, **2011**, *22*, 265–272.
- [75] T. B. Karchmer, E. T. Giannetta, C. A. Muto, B. A. Strain, B. M. Farr, *Archives of Internal Medicine*, **2000**, *160*, 3294–3298.
- [76] K. D. Secinti, H. Özalp, A. Attar, M. F. Sargon, *Journal of Clinical Neuroscience*, **2011**, *18*, 391–395.
- [77] L. Bois, F. Bessueille, F. Chassagneux, Y. Battie, N. Destouches, C. Hubert, A. Boukenter, S. Parola, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2008**, *325*, 86–92.
- [78] L. Bois, F. Chassagneux, S. Parola, F. Bessueille, Y. Battie, N. Destouches, A. Boukenter, N. Moncoffre, N. Toulhoat, *Journal of Solid State Chemistry*, **2009**, *182*, 1700–1707.
- [79] Y. Ghani, M. J. Coathup, K. A. Hing, G. W. Blunn, *Journal of Orthopaedic Research*, **2012**, *3*, 356–363.
- [80] S. H. Hsu, H. J. Tseng, Y. C. Lin, *Biomaterials*, **2010**, *31*, 6796–6808.
- [81] R. Kumar, H. Münstedt, *Biomaterials*, **2005**, *26*, 2081–2088.
- [82] S. Kittler, C. Greulich, J. Diendorf, M. Köller, M. Epple, *Chemistry of Materials*, **2010**, *22*, 4548–4554.
- [83] E. Navarro, F. Piccapietra, B. Wagner, F. Marconi, R. Kaegi, N. Odzak, L. Sigg, R. Behra, *Environmental Science and Technology*, **2008**, *42*, 8959–8964.
- [84] Z.-M. Xiu, J. Ma, P. J. J. Alvarez, *Environmental Science and Technology*, **2011**, *45*, 9003–9008.
- [85] H. T. Ratte, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **1999**, *18*, 89–108.
- [86] J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu, J.-H. Kim, S. J. Park, H. J. Lee, S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, C.-Y. Hwang, Y.-K. Kim, Y.-S. Lee, D. H. Jeong, M.-H. Cho, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **2007**, *3*, 95–101.
- [87] C.-N. Lok, C.-M. Ho, R. Chen, Q.-Y. He, W.-Y. Yu, H. Sun, P. K.-H. Tam, J.-F. Chiu, C.-M. Che, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **2007**, *12*, 527–534.
- [88] S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, D. Dash, *Nanotechnology*, **2007**, *18*, 255103–255111.
- [89] S. Pal, Y. K. Tak, J. M. Song, *Applied and Environmental Microbiology*, **2007**, *73*, 1712–1720.
- [90] Q. L. Feng, J. Wu, G. Q. Chen, F. Z. Cui, T. N. Kim, J. O. Kim, *Journal of Biomedical Materials Research*, **2000**, *52*, 662–668.

- [91] I. Sondi, B. Salopek-Sondi, *Journal of Colloid and Interface Science*, **2004**, *275*, 177–182.
- [92] R. Vasishta, S. Chhibber, M. Saxena, *Folia Microbiologica*, **1989**, *34*, 448–452.
- [93] S. L. Percival, P. G. Bowler, D. Russell, *Journal of Hospital Infection*, **2005**, *60*, 1–7.
- [94] S. Silver, *FEMS Microbiology Reviews*, **2003**, *27*, 341–353.
- [95] K. Mijndonckx, N. Leys, J. Mahillon, S. Silver, R. Van Houdt, *BioMetals*, **2013**, *26*, 609–621.
- [96] I. J. Davis, H. Richards, P. Mullany, *Oral Microbiology and Immunology*, **2005**, *20*, 191–194.
- [97] A. N. Kremer, H. Hoffmann, *Journal of Clinical Microbiology*, **2012**, *50*, 3249–3257.
- [98] G. L. McHugh, R. C. Moellering, C. C. Hopkins, M. N. Swartz, *The Lancet*, **1975**, *1*, 235–240.
- [99] C. Haefeli, C. Franklin, K. Hardy, *Journal of Bacteriology*, **1984**, *158*, 389–392.
- [100] M. V. D. Z. Park, A. M. Neigh, J. P. Vermeulen, L. J. J. Fonteyne, H. W. Verharen, J. J. Briedé, H. Loveren, W. H. Jong, *Biomaterials*, **2011**, *32*, 9810–9817.
- [101] C. Greulich, D. Braun, A. Peetsch, J. Diendorf, B. Siebers, M. Epple, M. Köller, *RSC Advances*, **2012**, *2*, 6981–6987.
- [102] C. W. Chambers, C. M. Proctor, P. W. Kabler, *Journal of the American Water Works Association*, **2014**, *54*, 208–216.
- [103] A. T. Wan, R. A. J. Conyers, C. J. Coombs, J. P. Masterton, *Clinical Chemistry*, **1991**, *37*, 1683–1687.
- [104] K. S. Tweden, J. D. Cameron, A. J. Razzouk, W. R. Holmberg, S. J. Kelly, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **1997**, *5*, 553–561.
- [105] C. Collin, M. Minami, H. Parvez, H. Saito, S. Parvez, G. A. Qureshi, C. Reiss, *Advances in Neuroregulation and Neuroprotection*, CRC Press, Leiden u.a., **2005**.
- [106] S. J. Allen, J. J. Watson, D. K. Shoemark, N. U. Barua, N. K. Patel, *Pharmacology and Therapeutics*, **2013**, *138*, 155–175.
- [107] B. E. Lonze, D. D. Ginty, *Neuron*, **2002**, *35*, 605–623.
- [108] N. Yamashita, A. Hayashi, J. Baba, A. Sawa, *Japanese Journal of Pharmacology*, **1997**, *75*, 155–159.
- [109] K. K. Jain, *The Handbook of Neuroprotection*, Springer Verlag, New York u.a., **2011**.
- [110] C. Laske, G. Eschweiler, *Nervenarzt*, **2005**, *77*, 523–537.

- [111] P. D. O’Leary, R. A. Hughes, *Journal of Biological Chemistry*, **2003**, *278*, 25738–25744.
- [112] G. Favalli, J. Li, P. Abreu, A. H. C. Wong, Z. J. Daskalakis, *Journal of Psychiatric Research*, **2012**, *46*, 1–11.
- [113] J. Xiao, *Journal of Neurology and Neurophysiology*, **2012**, *3*, 1000e108.
- [114] L. O. Narhi, R. Rosenfeld, J. Talvenheimo, S. J. Prestrelski, T. Arakawa, J. W. Lary, C. G. Kolvenbach, R. Hecht, T. Boone, J. A. Miller, D. A. Yphantis, *The Journal of Biological Chemistry*, **1993**, *268*, 13309–13317.
- [115] Ayacop, *Oberflächen-/Bändermodell des Tetramer von zwei Seiten*, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11962369> Zugriffsdatum: 19.02.2016.
- [116] S. M. Schaal, M. S. Garg, M. Ghosh, L. Lovera, M. Lopez, M. Patel, J. Louro, S. Patel, L. Tuesta, W.-M. Chan, D. D. Pearse, *PloS One*, **2012**, *7*, e43634.
- [117] L. Yang, N. Y. Calingasan, B. J. Lorenzo, M. F. Beal, *Experimental Neurology*, **2008**, *211*, 311–314.
- [118] J. Zhu, E. Mix, B. Winblad, *CNS Drug Reviews*, **2001**, *7*, 387–398.
- [119] K. Esposito, G. W. Reiersen, H. R. Luo, G. S. Wu, J. Licinio, M.-L. Wong, *Annals of Medicine*, **2009**, *41*, 177–185.
- [120] J. D. Scott, *Pharmacology and Therapeutics*, **1991**, *50*, 123–145.
- [121] L. M. Costa, J. E. Pereira, V. M. Filipe, L. G. Magalhães, P. A. Couto, J. M. Gonzalo-Orden, S. Raimondo, S. Geuna, A. C. Maurício, E. Nikulina, M. T. Filbin, A. S. P. Varejão, *Behavioural Brain Research*, **2013**, *243*, 66–73.
- [122] *Aktivierung von CREB*, [www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-23/23\\_26.jpg](http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-23/23_26.jpg) Zugriffsdatum: 29.10.2015.
- [123] A. Lamprecht, N. Ubrich, H. Yamamoto, U. Schäfer, H. Takeuchi, C.-M. Lehr, P. Maincent, Y. Kawashima, *Journal of Controlled Release*, **2001**, *71*, 297–306.
- [124] E. Zeller, H.-J. Stief, B. Pflug, M. Hernandez, *Pharmacopsychiatry*, **1984**, *17*, 188–190.
- [125] T. J. Torphy, B. J. Udem, *Thorax*, **1991**, *46*, 512–523.
- [126] J. L. Larson, M. V. Pino, L. E. Geiger, C. R. Simeone, *Pharmacology and Toxicology*, **1996**, *78*, 44–49.
- [127] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, *Journal of Colloid and Interface Science*, **1968**, *26*, 62–69.
- [128] T. Yanagisawa, T. Shimizu, K. Kuroda, C. Kato, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **1990**, *63*, 988–992.

- [129] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature*, **1992**, *359*, 710–712.
- [130] J. S. Beck, J. C. Vartuli, W. J. Roth, M. E. Leonowicz, C. T. Kresge, K. D. Schmitt, C. T.-W. Chu, D. H. Olson, E. W. Sheppard, S. B. McCullen, J. B. Higgins, J. L. Schlenker, *Journal of the American Chemical Society*, **1992**, *114*, 10834–10843.
- [131] G. J. A. A. Soler-Illia, E. L. Crepaldi, D. Grosso, C. Sanchez, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, **2003**, *8*, 145–155.
- [132] C. Sanchez, C. Boissière, D. Grosso, C. Laberty, L. Nicole, *Chemistry of Materials*, **2008**, *20*, 682–737.
- [133] J. Rouquerolt, D. Avnir, C. W. Fairbridge, D. H. Everett, J. H. Haynes, N. Pernicone, J. D. F. Ramsay, K. S. W. Sing, K. K. Unger, *Pure and Applied Chemistry*, **1994**, *66*, 1739–1758.
- [134] K. S. Rao, K. El-Hami, T. Kodaki, K. Matsushige, K. Makino, *Journal of Colloid and Interface Science*, **2005**, *289*, 125–131.
- [135] H.-T. Lu, *Colloid Journal*, **2013**, *75*, 311–318.
- [136] L. Zhou, D. Wang, W. Huang, A. Yao, C. Xia, X. Duan, *Materials Research Bulletin*, **2009**, *44*, 259–262.
- [137] G. H. Bogush, M. A. Tracy, C. F. Zukoski IV, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1988**, *104*, 95–106.
- [138] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Fröba, *Angewandte Chemie*, **2006**, *118*, 3290–3328.
- [139] C. T. Kresge, J. Roth, Wieslaw, *Chemical Society Reviews*, **2013**, *42*, 3663–3670.
- [140] U. Ciesla, F. Schüth, *Microporous and Mesoporous Materials*, **1999**, *27*, 131–149.
- [141] X. S. Zhao, G. Q. M. Lu, G. J. Millar, *Zeolites*, **1996**, *5885*, 2075–2090.
- [142] Z. A. Qiao, L. Zhang, M. Guo, Y. Liu, Q. Huo, *Chemistry of Materials*, **2009**, *21*, 3823–3829.
- [143] M. Grün, K. K. Unger, A. Matsumoto, K. Tsutsumi, *Microporous and Mesoporous Materials*, **1999**, *27*, 207–216.
- [144] J. Kobler, K. Möller, T. Bein, *ACS NANO*, **2008**, *2*, 791–799.
- [145] S. Sadasivan, D. Khushalani, S. Mann, *Journal of Materials Chemistry*, **2003**, *13*, 1023–1029.
- [146] J. Wang, C.-K. Tsung, R. C. Hayward, Y. Wu, G. D. Stucky, *Angewandte Chemie (International Edition)*, **2005**, *44*, 332–336.
- [147] S. Huh, J. W. Wiench, B. G. Trewyn, S. Song, M. Pruski, V. S. Y. Lin, *Chemical Communications*, **2003**, *2*, 2364–2365.

- [148] S. Yang, L. Zhao, C. Yu, X. Zhou, J. Tang, P. Yuan, D. Chen, D. Zhao, *Journal of the American Chemical Society*, **2006**, *128*, 10460–10466.
- [149] N. Nuraje, K. Su, H. Matsui, *New Journal of Chemistry*, **2007**, *31*, 1895–1898.
- [150] C. J. Brinker, Y. Lu, A. Sellinger, H. Fan, *Advanced Materials*, **1999**, *11*, 579–585.
- [151] N. Ehlert, P. P. Müller, M. Stieve, P. Behrens, *Microporous and Mesoporous Materials*, **2010**, *131*, 51–57.
- [152] 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 and Mesoporous Materials*, **2013**, *180*, 235–241.
- [153] M. E. McGovern, K. M. R. Kallury, M. Thompson, *Langmuir*, **1994**, *10*, 3607–3614.
- [154] D. Y. Kong, Z. L. Wang, C. K. Lin, Z. W. Quan, Y. Y. Li, C. X. Li, J. Lin, *Nanotechnology*, **2007**, *18*, 1–8.
- [155] Z. L. Wang, Z. W. Quan, P. Y. Jia, C. K. Lin, Y. Luo, Y. Chen, J. Fang, W. Zhou, C. J. O'Connor, J. Lin, *Chemistry of Materials*, **2006**, *18*, 2030–2037.
- [156] J. Kim, H. S. Kim, N. Lee, T. Kim, H. Kim, T. Yu, I. C. Song, W. K. Moon, T. Hyeon, *Angewandte Chemie (International Edition)*, **2008**, *47*, 8438–8441.
- [157] C. Argyo, V. Cauda, H. Engelke, J. Rädler, G. Bein, T. Bein, *Chemistry - A European Journal*, **2012**, *18*, 428–432.
- [158] X. Huang, N. P. Young, H. E. Townley, *Nanomaterials and Nanotechnology*, **2014**, *4*, 1–15.
- [159] M. Benezra, O. Penate-Medina, P. B. Zanzonico, D. Schaer, H. Ow, A. Burns, E. Destanchina, V. Longo, E. Herz, S. Iyer, J. Wolchok, S. M. Larson, U. Wiesner, M. S. Bradbury, *The Journal of Clinical Investigation*, **2011**, *121*, 2768–2780.
- [160] E. Phillips, O. Penate-Medina, P. B. Zanzonico, R. D. Carvajal, P. Mohan, Y. Ye, J. Humm, M. Gönen, H. Kalaigian, H. Schöder, H. W. Strauss, S. M. Larson, U. Wiesner, M. S. Bradbury, *Science Translational Medicine*, **2014**, *6*, 1–9.
- [161] J.-H. Park, J.-K. Park, H.-Y. Shin, *Materials Letters*, **2007**, *61*, 156–159.
- [162] C. Charnay, S. Bégu, C. Tourné-Péteilh, L. Nicole, D. Lerner, J. Devoisselle, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2004**, *57*, 533–540.
- [163] T. Xia, M. Kovoichich, M. Liang, H. Meng, S. Kabehie, S. George, J. I. Zink, A. E. Nel, *ACS NANO*, **2009**, *3*, 3273–3286.
- [164] C. Argyo, V. Weiss, C. Bräuchle, T. Bein, *Chemistry of Materials*, **2014**, *26*, 435–451.
- [165] F. Jia, X. Liu, L. Li, S. Mallapragada, B. Narasimhan, Q. Wang, *Journal of Controlled Release*, **2013**, *172*, 1020–1034.

- [166] S. Laurent, M. Mahmoudi, *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics*, **2011**, *2*, 367–390.
- [167] R. M. Laine, *Series E: Applied Sciences*, **1992**, *206*, 1–435.
- [168] B. D. Ratner, A. S. Hoffmann, F. J. Schone, J. E. Lemons, A. Colas, J. Curtis, *Biomaterials science: An Introduction to Materials in Medicine*, 2. Aufl., Elsevier Academic Press, Canada, **2004**.
- [169] H. R. Kricheldorf, *Silicon in Polymer Synthesis*, Springer Verlag, Berlin, **1996**.
- [170] V. Chandrasekhar, *Inorganic and Organometallic Polymers*, Springer Verlag, Berlin, **2005**.
- [171] J. Ackermann, V. Damrath, *Chemie in unserer Zeit*, **1989**, *23*, 86–99.
- [172] A. Ravve, *Principles of Polymer Chemistry*, Springer Verlag, New York, **1995**.
- [173] P. N. Prasad, J. E. Mark, T. J. Fai, *Polymers and Other Advanced Materials*, Springer Verlag, New York, **1995**.
- [174] H.-G. Elias, *Makromoleküle: Band 3: Industrielle Polymere und Synthesen*, 6. Aufl., Wiley-VCH Verlag, Weinheim u.a., **2001**.
- [175] M. D. Lechner, K. Gehrkte, E. H. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie*, 4. Aufl., Birkhäuser Verlag, Basel, **2010**.
- [176] J. Jan, A. Perdih, *Toxicological and Environmental Chemistry*, **1991**, *31*, 297–302.
- [177] B. Marciniak, *Hydrosilylation: A Comprehensive Review on Recent Advances*, Springer Verlag, Polen, **2008**.
- [178] L. N. Lewis, J. Stein, Y. Gao, R. E. Colborn, G. Hutchins, *Platinum Metals Review*, **1997**, *41*, 66–75.
- [179] Wacker Chemie AG, *Silicones for Orthopedic Technology*, München, Datenblatt.
- [180] L. B. Jaques, E. Fidler, E. T. Feldsted, M. D. Macdonals, A. G. Macdonal, *Federation Proceedings*, **1946**, *55*, 26–31.
- [181] H. Margulies, N. W. Barker, *American Journal of the Medical Sciences*, **1949**, *218*, 42–51.
- [182] A. B. Swanson, *Surgical Clinics of North America*, **1968**, *48*, 1113–1127.
- [183] F. B. Mazas, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **1973**, *94*, 211–221.
- [184] K. J. Quinn, J. M. Courtney, *British Polymer Journal*, **1988**, *20*, 25–32.
- [185] J. Folkman, D. M. Long, *Journal of Surgical Research*, **1964**, *4*, 139–142.
- [186] T. Roseman, W. Higuchi, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1970**, *59*, 353–357.
- [187] S. L. Semenkow, N. M. Johnson, D. J. Maggs, B. J. Margulies, *Virology Journal*, **2014**, *11*, 1–6.

- [188] B. S. Snorradóttir, P. I. Gudnason, F. Thorsteinsson, M. Másson, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2011**, *42*, 559–567.
- [189] B. S. Snorradóttir, P. I. Gudnason, R. Scheving, F. Thorsteinsson, M. Másson, *Pharmazie*, **2009**, *64*, 19–25.
- [190] A. Mashak, A. Rahimi, *Iranian Polymer Journal*, **2009**, *18*, 279–295.
- [191] A. Mashak, *Silicon Chemistry*, **2007**, *3*, 295–301.
- [192] P. Nemati, M. Imani, F. Farahmandghavi, H. Mirzadeh, E. Marzban-Rad, A. M. Nasrabadi, *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2014**, *66*, 624–638.
- [193] M. A. Osman, A. Atallah, M. Müller, U. W. Suter, *Polymer*, **2001**, *42*, 6545–6556.
- [194] H. Takeuchi, C. Cohen, *Macromolecules*, **1999**, *32*, 6792–6799.
- [195] S. Wang, C. Long, X. Wang, Q. Li, Z. Qi, *Journal of Applied Polymer Science*, **1998**, *69*, 1557–1561.
- [196] S. E. Shim, A. I. Isayev, *Rheologica Acta*, **2004**, *43*, 127–136.
- [197] A. Voet, *Journal of Polymer Science*, **1980**, *15*, 327–373.
- [198] H. Cochrane, C. S. Lin, *Rubber Chemistry and Technology*, **1993**, *66*, 48–60.
- [199] K. E. Osaheni, J. A. Truby, S. Norberto, *Macromolecular Symposia*, **2001**, *169*, 261–268.
- [200] J. DeGroot, C. Macosko, *Journal of Colloid and Interface Science*, **1999**, *217*, 86–93.
- [201] M. I. Aranguren, E. Mora, C. W. Macosko, *Journal of Colloid and Interface Science*, **1997**, *195*, 329–337.
- [202] A. Camenzind, T. Schweizer, M. Sztucki, S. E. Pratsinis, *Polymer*, **2010**, *51*, 1796–1804.
- [203] Y. Yue, H. Zhang, Z. Zhang, Y. Chen, *Composites Science and Technology*, **2013**, *86*, 1–8.
- [204] Q. W. Yuan, J. E. Mark, *Macromolecular Chemistry and Physics*, **1999**, *200*, 206–220.
- [205] H. Barthel, L. Rösch, J. Weis, A. Khalfi, H. Ballard, E. Papirer, *Composite Interfaces*, **2012**, *6*, 27–34.
- [206] J. Herzig, *Polyorganosiloxanes containing homogeneously distributed fillers*, Bayer Aktiengesellschaft, Patent US4101499, **1978**.
- [207] S. Ansorge, K. Papailiou, *Journal of Elastomers and Plastics*, **2015**, 1–29.
- [208] J. Floess, R. Field, S. Rouanet, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2001**, *285*, 101–108.
- [209] N. Suzuki, S. Kiba, Y. Kamachi, N. Miyamoto, Y. Yamauchi, *Journal of Materials Chemistry*, **2011**, *21*, 5338–5344.

- [210] N. Suzuki, S. Kiba, Y. Kamachi, N. Miyamoto, Y. Yamauchi, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2012**, *14*, 3400–3407.
- [211] N. Suzuki, M. B. Zakaria, Y.-D. Chiang, K. C.-W. Wu, Y. Yamauchi, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2012**, *14*, 7427–7432.
- [212] N. Suzuki, Y. Kamachi, K. Takai, S. Kiba, Y. Sakka, N. Miyamoto, Y. Yamauchi, *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2014**, 2773–2778.
- [213] Y. Huang, D. Zhou, Y. Xie, J. Yang, J. Kong, *RSC Advances*, **2014**, *4*, 15171–15179.
- [214] J. Liu, G. Zong, L. He, Y. Zhang, C. Liu, L. Wang, *Micromachines*, **2015**, *6*, 855–864.
- [215] S. Gupta, P. C. Ramamurthy, G. Madras, *Polymer Chemistry*, **2011**, *2*, 26432650.
- [216] H. Zhang, D. R. Dunphy, X. Jiang, H. Meng, B. Sun, D. Tarn, M. Xue, X. Wang, S. Lin, Z. Ji, R. Li, F. L. Garcia, J. Yang, M. L. Kirk, T. Xia, J. I. Zink, A. Nel, C. J. Brinker, *Journal of the American Chemical Society*, **2012**, *134*, 15790–15804.
- [217] A. Neumann, A. Christel, C. Kasper, P. Behrens, *RSC Advances*, **2013**, *3*, 24222–24232.
- [218] Y. S. Lin, C. L. Haynes, *Chemistry of Materials*, **2009**, *21*, 3979–3986.
- [219] S. Fischer, W. Mueller, M. Schulte, J. Kiefer, C. Hirche, S. Heimer, E. Köllensperger, G. Germann, M. A. Reichenberger, *Ultrasound in Medicine and Biology*, **2015**, *41*, 781–789.
- [220] J. Hauser, J. Zietlow, M. Köller, S. A. Esenwein, H. Halfmann, P. Awakowicz, H. U. Steinau, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2009**, *20*, 2541–2548.
- [221] F. Abbasi, H. Mirzadeh, A. A. Katbab, *Polymer International*, **2001**, *50*, 1279–1287.
- [222] J. Zhang, Y. Chen, M. A. Brook, *Langmuir*, **2013**, *29*, 12432–12442.
- [223] Q. Tu, J. C. Wang, Y. Zhang, R. Liu, W. Liu, L. Ren, S. Shen, J. Xu, L. Zhao, J. Wang, *Reviews in Analytical Chemistry*, **2012**, *31*, 177–192.
- [224] I. Hoek, F. Tho, W. M. Arnold, *Lab on a Chip*, **2010**, *10*, 2283–2285.
- [225] Z. Yue, X. Liu, P. J. Molino, G. G. Wallace, *Biomaterials*, **2011**, *32*, 4714–4724.
- [226] D. S. Bodas, C. Khan-Malek, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2007**, *120*, 719–723.
- [227] D. Bodas, C. Khan-Malek, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2007**, *123*, 368–373.
- [228] N. Völcker, D. Klee, H. Höcker, S. Langefeld, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2001**, *12*, 111–119.
- [229] T. Okada, Y. Ikada, *Journal of Biomedical Materials Research*, **1992**, *26*, 1569–1581.
- [230] D. Bodas, C. Khan-Malek, *Microelectronic Engineering*, **2006**, *83*, 1277–1279.
- [231] F. Abbasi, H. Mirzadeh, *International Journal of Adhesion and Adhesives*, **2004**, *24*, 247–257.

- [232] W. Wang, L. Zhao, J. R. Zhang, X. M. Wang, J. J. Zhu, H. Y. Chen, *Journal of Chromatography A*, **2006**, *1136*, 111–117.
- [233] J. L. Fritz, M. J. Owen, *The Journal of Adhesion*, **1995**, *54*, 33–45.
- [234] M. J. Owen, P. J. Smith, *Journal of Adhesion Science and Technology*, **1994**, *8*, 1063–1075.
- [235] H. Hillborgl, U. W. Gedde, *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, **1999**, *6*, 703–717.
- [236] C.-F. Lee, L.-P. Hsu, P.-R. Chen, Y.-F. Chou, J.-H. Chen, T.-C. Liu, *Audiology and Neurotology*, **2006**, *11*, 380–388.
- [237] R. H. Lv, W. F. Xu, B. Na, B. B. Chen, *Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics*, **2008**, *47*, 774–782.
- [238] M.-J. Wang, *Rubber Chemistry and Technology*, **1999**, *72*, 430–448.
- [239] Y. S. Lim, S. I. Park, Y. H. Kim, S. H. Oh, S. J. Kim, *Medical Engineering and Physics*, **2005**, *27*, 695–703.
- [240] Y. Wang, A. K. Wise, J. Tan, J. W. Maina, R. K. Shepherd, F. Caruso, *Small*, **2014**, *10*, 4244–4248.
- [241] Normenausschuss Materialprüfung (NMP) im DIN, *DIN 32645, Chemische Analytik - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen unter Wiederholbedingungen*, **2008**.
- [242] Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN, *DIN 38402-51, Kalibrierung von Analysenverfahren, Auswertung von Analyseergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen*, **1986**.
- [243] T. G. Mezger, *Das Rheologie Handbuch*, 4. Aufl., Vincentz Network, Hannover, **2012**.
- [244] T. G. Mezger, *Angewandte Rheologie - Mit Joe Flow auf der Rheologie-Straße*, Anton Paar GmbH, Österreich, **2014**.
- [245] Normenausschuss Materialprüfung (NMP) im DIN, Normenausschuss Kautschuktechnik (FAKAU) im DIN, *DIN 53504, Prüfung von Kautschuk und Elastomeren - Bestimmung von Reißfestigkeit, Zugfestigkeit, Reißdehnung und Spannungswerten im Zugversuch*, **2009**.
- [246] E. Delebecq, N. Hermeline, A. Flers, F. Ganachaud, *ACS Applied Materials and Interfaces*, **2012**, *4*, 3353–3363.
- [247] F. Clément, L. Bokobza, L. Monnerie, *Rubber Chemistry and Technology*, **2001**, *74*, 847–870.
- [248] J. E. Mark, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers*, **1994**, *4*, 31–44.

- [249] S.-J. Pan, J. E. Mark, *Polymer Bulletin*, **1982**, *7*, 553–559.
- [250] H.-G. Kilian, *Colloid and Polymer Science*, **1981**, *259*, 1151–1160.
- [251] *CellTiter-Blue<sup>®</sup> Cell Viability Assay*, [www.promega.de/products/cell-health-and-metabolism/cell-viability-assays/celltiter\\_blue-cell-viability-assay/](http://www.promega.de/products/cell-health-and-metabolism/cell-viability-assays/celltiter_blue-cell-viability-assay/) Zugriffsdatum: 09.10.2015.
- [252] G. Fuchs, *Allgemeine Mikrobiologie*, 8. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2007**.
- [253] W. Strober, *Current Protocols in Immunology*, **2001**, *Appendix 3*.
- [254] Normenausschuss Feinmechanik und Optik (NAFuO) im DIN, *DIN EN ISO 10993-5, Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 5: Prüfung auf In-vitro-Zytotoxizität*, **2009**.
- [255] E. Borenfreund, J. A. Puerner, *Toxicology Letters*, **1985**, *24*, 119–124.
- [256] P. Wefstaedt, V. Scheper, T. Lenarz, T. Stöver, *Neuroreport*, **2005**, *16*, 19–22.
- [257] L. N. Gillespie, G. M. Clark, P. F. Bartlett, P. L. Marzella, *Neuroreport*, **2001**, *12*, 275–279.
- [258] M. Suh, H.-J. Lee, J.-Y. Park, U.-H. Lee, Y.-U. Kwon, D. J. Kim, *A European Journal of Chemical Physics and Physical Chemistry*, **2008**, *9*, 1402–1408.
- [259] N. Schmidt, *Entwicklung von Drug Delivery-Systemen für die Freisetzung neuroprotektiver Faktoren*, Leibniz Universität Hannover, Masterarbeit, **2014**.
- [260] A. Christel, *Kontrollierte Abgabe von Antibiotika aus mesoporösen Filmen*, Leibniz Universität Hannover, Diplomarbeit, **2009**.
- [261] P. Abendroth, *Untersuchungen zur Freisetzung von Silber aus implantatgebundenen Beschichtungen*, Leibniz Universität Hannover, Masterarbeit, **2013**.
- [262] Datenbank Powder Diffraction File (PDF), *Card No. 4-783*, JCPDS (Joined Committee on Powder Diffraction Data), **1953**.
- [263] J. D. Bass, D. Grosso, C. Boissiere, E. Belamie, T. Coradin, C. Sanchez, *Chemistry of Materials*, **2007**, *19*, 4349–4356.
- [264] I. O. Sosa, C. Noguez, R. G. Barrera, *Journal of Physical Chemistry B*, **2003**, *107*, 6269–6275.
- [265] K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, G. C. Schatz, *Journal of Physical Chemistry B*, **2003**, *107*, 668–677.
- [266] W. Cai, H. Hofmeister, T. Rainer, *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, **2001**, *11*, 339–344.
- [267] C. Sönnichsen, B. M. Reinhard, J. Liphardt, A. P. Alivisatos, *Nature Biotechnology*, **2005**, *23*, 741–745.

- [268] W. Cai, L. Zhang, H. Zhong, G. He, *Journal of Materials Research*, **1998**, *13*, 2888–2895.
- [269] W. Cai, T. Ming, Z. Lide, *Journal of Physics: Condensed Matter*, **1997**, *9*, 1995–2008.
- [270] W. Cai, Z. Lide, *Journal of Physics: Condensed Matter*, **1997**, *9*, 7257–7267.
- [271] M. A. Massa, C. Covarrubias, M. Bittner, I. A. Fuentevilla, P. Capetillo, A. V. Marttens, J. C. Carvajal, *Materials Science and Engineering C*, **2014**, *45*, 146–153.
- [272] Q. He, J. Shi, M. Zhu, Y. Chen, F. Chen, *Microporous and Mesoporous Materials*, **2010**, *131*, 314–320.
- [273] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 6. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2002**.
- [274] B. Malvi, B. R. Sarkar, D. Pati, R. Mathew, T. G. Ajithkumar, S. S. Gupta, *Journal of Materials Chemistry*, **2009**, *19*, 1409–1416.
- [275] E. F. Vansant, P. van der Voort, K. C. Vrancken, *Studies in Surface Science and Catalysis*, **1995**, *93*, 3–556.
- [276] A. H. Bui, *Verschiedene Modifizierungsstrategien für die verbesserte Dispergierung von nanoporösen Silica - Nanopartikeln in Siliconharze*, Leibniz Universität Hannover, Bachelorarbeit, **2014**.
- [277] Y. Yue, H. Zhang, Z. Zhang, Y. Chen, *Composites - Part A: Applied Science and Manufacturing*, **2013**, *54*, 20–27.
- [278] Q. Deng, J. R. Hahn, J. Stasser, J. D. Preston, G. T. Burns, *Rubber Chemistry and Technology*, **2000**, *73*, 647–665.
- [279] F. Heinroth, R. Münnekhoff, C. Panz, R. Schmoll, J. Behnisch, P. Behrens, *Microporous and Mesoporous Materials*, **2008**, *116*, 95–100.
- [280] C. Elschenbroich, *Organometallchemie*, 6. Aufl., Teubner Verlag, Wiesbaden, **2008**.
- [281] Datenbank Powder Diffraction File (PDF), *Card No. 8-45*, JCPDS (Joined Committee on Powder Diffraction Data), **1959**.
- [282] R. K. Schneider, R. Knüchel-Clarke, S. Neuss, *Der Pathologe*, **2011**, *32*, 296–303.
- [283] L. Bačáková, E. Filová, F. Rypáček, V. Švorčík, V. Starý, *Physiological Research*, **2004**, *53*, S35–S45.
- [284] L. Bačáková, E. Filová, M. Parizek, T. Ruml, V. Švorčík, *Biotechnology Advances*, **2011**, *29*, 739–767.
- [285] R. Marschall, I. Bannat, J. Caro, M. Wark, *Microporous and Mesoporous Materials*, **2007**, *99*, 190–196.
- [286] F. Rambaud, K. Vallé, S. Thibaud, B. Julián-López, C. Sanchez, *Advanced Functional Materials*, **2009**, *19*, 2896–2905.

- [287] H. M. Shang, Y. Wang, K. Takahashi, G. Z. Cao, D. Li, Y. N. Xia, *Journal of Materials Science*, **2005**, *40*, 3587–3591.
- [288] A. V. Krasnoslobodtsev, S. N. Smirnov, *Langmuir*, **2002**, *18*, 3181–3184.
- [289] W. He, D. Wu, J. Li, K. Zhang, Y. Xiang, L. Long, S. Qin, J. Yu, Q. Zhang, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2013**, *34*, 2747–2752.
- [290] C.-C. Chang, J.-Y. Chen, T.-L. Hsu, C.-K. Lin, C.-C. Chan, *Thin Solid Films*, **2008**, *516*, 1743–1747.
- [291] R. Kumar, H. Münstedt, *Biomaterials*, **2005**, *26*, 2081–2088.
- [292] A. Hilonga, J. Kim, P. Sarawade, H. Kim, *Applied Surface Science*, **2009**, *255*, 8239–8245.
- [293] M. Epifani, C. Giannini, L. Tapfer, L. Vasanelli, *Journal of the American Ceramic Society*, **2000**, *83*, 2385–2393.
- [294] X.-G. Zhao, J.-L. Shi, B. Hu, L.-X. Zhang, Z.-L. Hua, *Materials Letters*, **2004**, *58*, 2152–2156.
- [295] R.-S. Huang, B.-F. Hou, H.-T. Li, X.-C. Fu, C.-G. Xie, *RSC Advances*, **2015**, *5*, 61184–61190.
- [296] M. Vallet-Regí, F. Balas, D. Arcos, *Angewandte Chemie (International Edition)*, **2007**, *46*, 7548–7558.
- [297] H. Meyer, T. Stöver, F. Fouchet, G. Bastiat, P. Saulnier, W. Bäumer, T. Lenarz, V. Scheper, *International Journal of Nanomedicine*, **2012**, *7*, 2449–2464.
- [298] S. Kwon, R. K. Singh, R. A. Perez, E. A. Abou Neel, H.-W. Kim, W. Chrzanowski, *Journal of Tissue Engineering*, **2013**, *4*, 2041731413503357.
- [299] H. Aliyar, R. Huber, G. Loubert, G. Schalaus, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2014**, *103*, 2005–2011.
- [300] A. G. Andreopoulos, M. Plytaria, *Journal of Biomaterials Applications*, **1998**, *12*, 258–271.

# Anhang

## Chemikalienverzeichnis

Tab. A.1: Verwendete Chemikalien.

Chemikalie	Reinheit / %	Bezugsquelle
3-Aminopropyltrimethoxysilan	97	Sigma-Aldrich
4-Methoxyphenyltrimethoxysilan	93	ABCR
18-Krone-6	99	ABCR
Ammoniaklösung	28-30	Sigma-Aldrich
Ammoniumfluorid	$\geq 98.0$	Sigma-Aldrich
Chloroform	$\geq 99.9$	Roth
Cer(III)nitrat-Hexahydrat	99.99	Sigma-Aldrich
Cetyltrimethylammoniumbromid	$\geq 96$	Sigma-Aldrich
Chlordimethylvinylsilan	98	ABCR
Chlortrimethylsilan	$\geq 99$	Sigma-Aldrich
Cyclohexan	$\geq 99$	Sigma-Aldrich
Dichlordimethylsilan	$\geq 99.5$	Sigma-Aldrich
Diethanolamin	$\geq 99$	Sigma-Aldrich
Diethylenglykol	$\geq 99.0$	Sigma-Aldrich
Dimethylsulfoxid	99.5	Grüssing GmbH
DBU	$\geq 99$	Sigma-Aldrich
Ethanol (absolut)	$\geq 99$	Merck
PBS		Sigma-Aldrich
Pluronic <sup>®</sup> F127	BioReagent	Sigma-Aldrich
Rolipram	$\geq 98$	Tocris bioscience
Salpetersäure	65	Sigma-Aldrich
Salzsäure	32	Sigma-Aldrich
Silpuran <sup>®</sup> 2430		Wacker Chemie AG
Silbernitrat	99.9	ABCR
Terbium(III)nitrat-Hexahydrat	$\geq 99.999$	Sigma-Aldrich
Tetraethylorthosilicat	$\geq 99$	Sigma-Aldrich
Tetramethylorthosilicat	$\geq 99$	Sigma-Aldrich
Toluol	$\geq 99.5$	Roth

## Charakterisierung von Silber-Silica-Beschichtungen

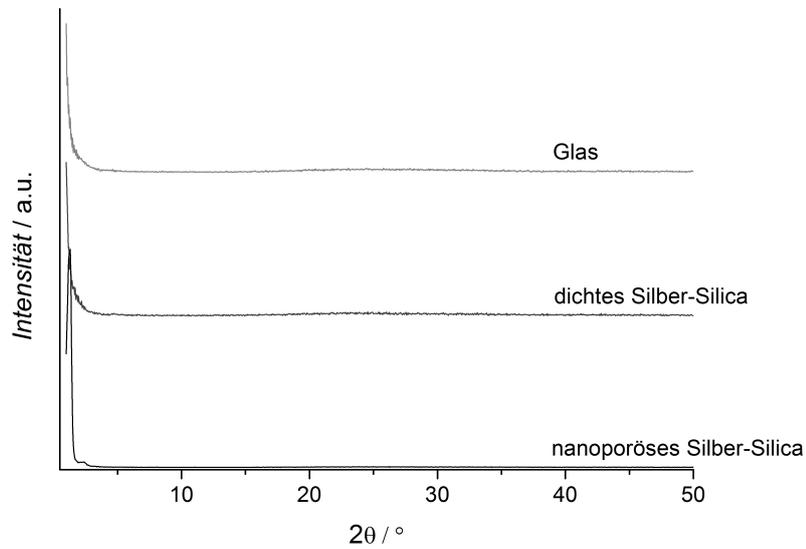


Abb. A.1: Röntgen-Diffraktogramme von nanoporösen und dichten Silber-Silica-Beschichtungen auf Glas. Es handelt sich um Dreifachbeschichtungen.<sup>[261]</sup>

## Charakterisierung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln

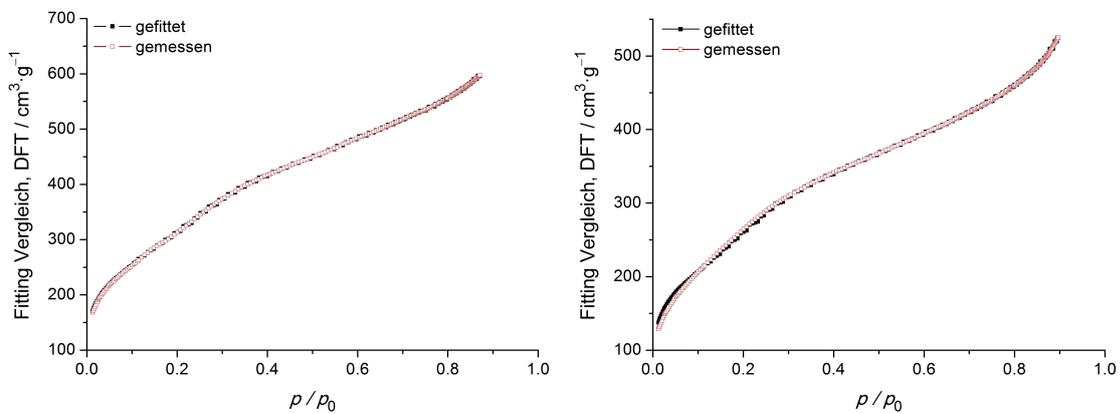


Abb. A.2: DFT-Fits zu den Porenweitenverteilungen von NPSNP-OH (links) und NPSNP-Vi,Me (rechts).

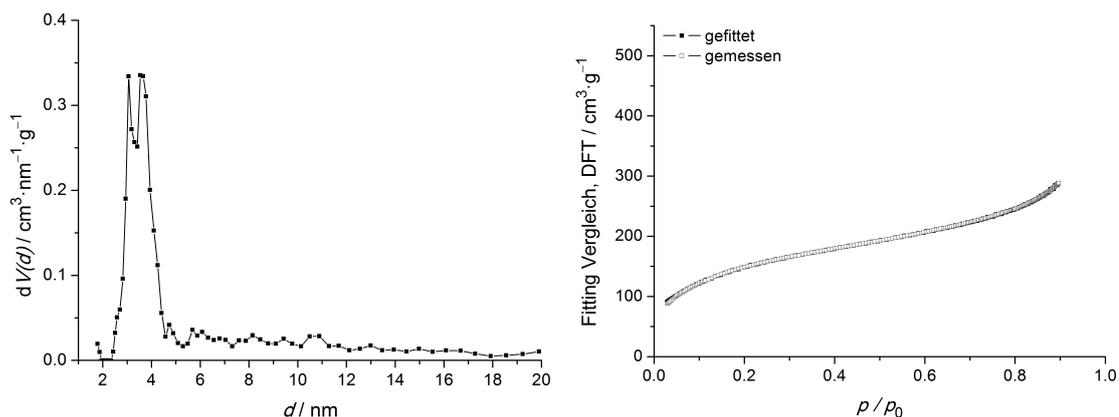


Abb. A.3: Porenweitenverteilung (links) und DFT-Fit (rechts) von NPSNP-MeOPh.

### Zugversuche an Siliconen mit NPSNP-Vi,Me

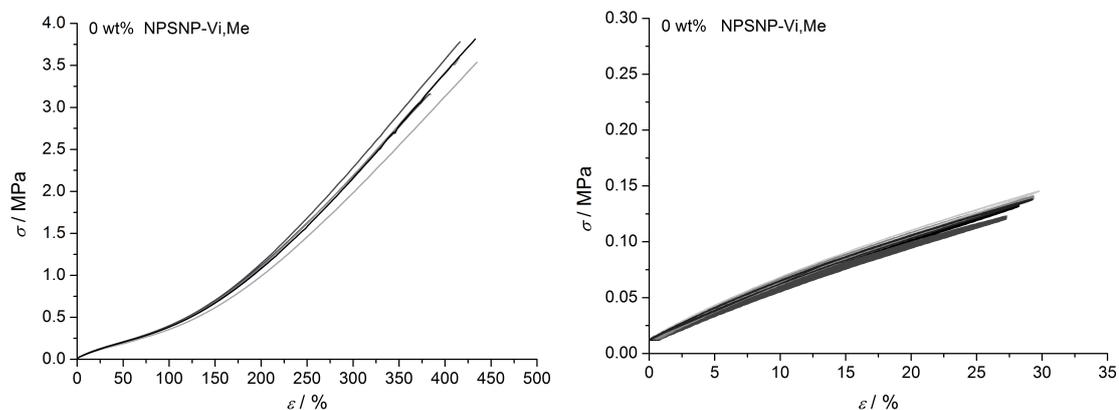


Abb. A.4: Spannungs-Dehnungs-Kurven (links) und Messkurven von zyklischen Messungen mit einer Belastung bis 30% Dehnung und anschließender Entlastung auf 0.1 N (rechts) für Proben mit einem Gehalt von 0 wt% NPSNP-Vi,Me.

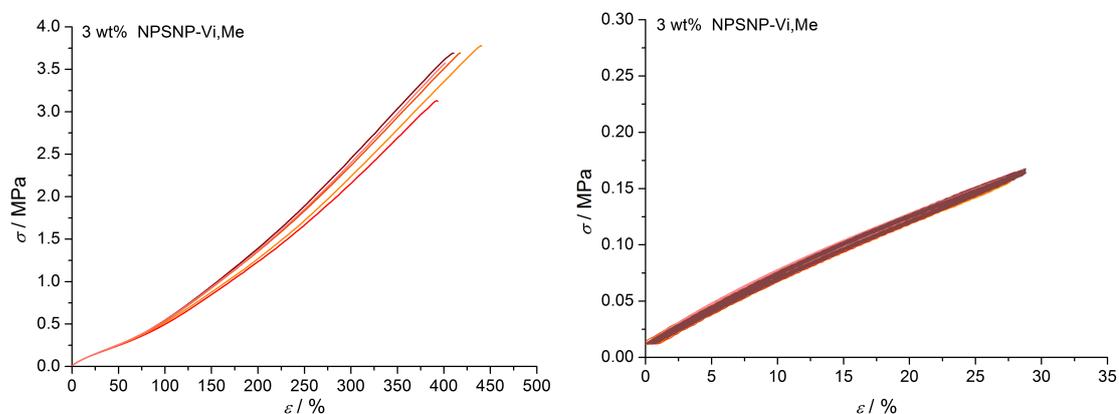


Abb. A.5: Spannungs-Dehnungs-Kurven (links) und Messkurven von zyklischen Messungen mit einer Belastung bis 30% Dehnung und anschließender Entlastung auf 0.1 N (rechts) für Proben mit einem Gehalt von 3 wt% NPSNP-Vi,Me.

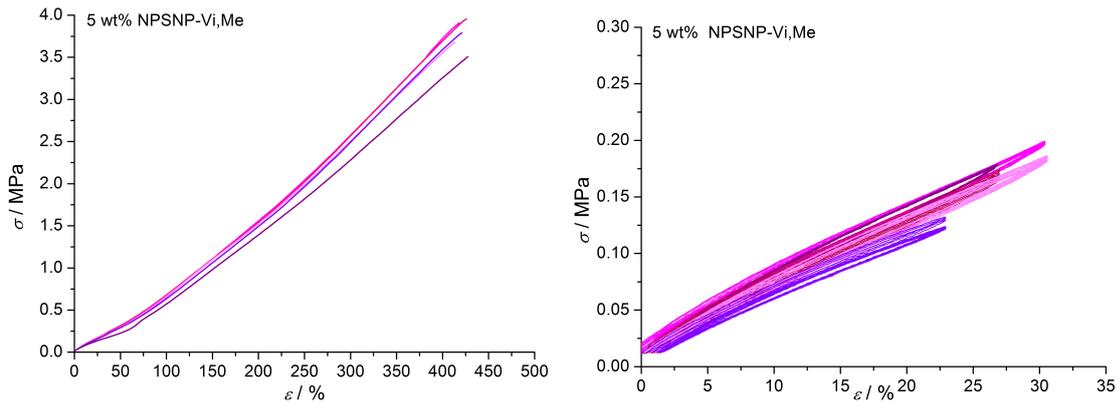


Abb. A.6: Spannungs-Dehnungs-Kurven (links) und Messkurven von zyklischen Messungen mit einer Belastung bis 30% Dehnung und anschließender Entlastung auf 0.1 N (rechts) für Proben mit einem Gehalt von 5 wt% NPSNP-Vi,Me.

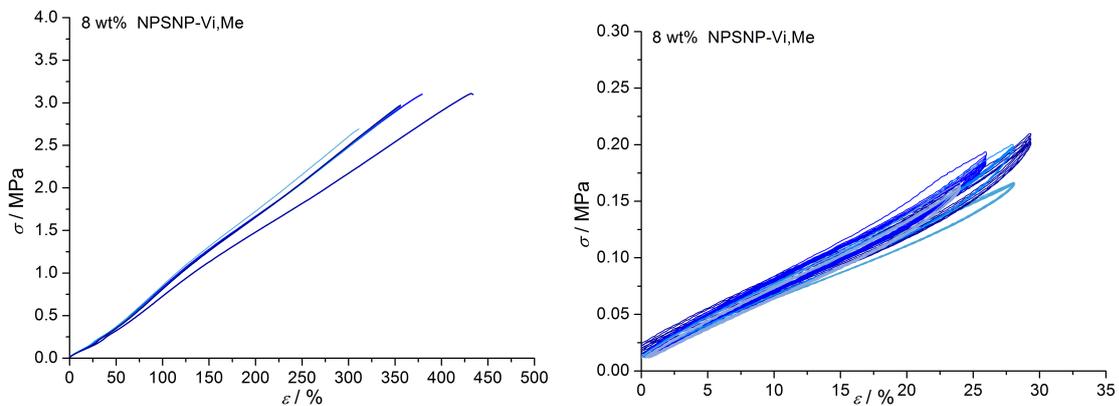


Abb. A.7: Spannungs-Dehnungs-Kurven (links) und Messkurven von zyklischen Messungen mit einer Belastung bis 30% Dehnung und anschließender Entlastung auf 0.1 N (rechts) für Proben mit einem Gehalt von 8 wt% NPSNP-Vi,Me.

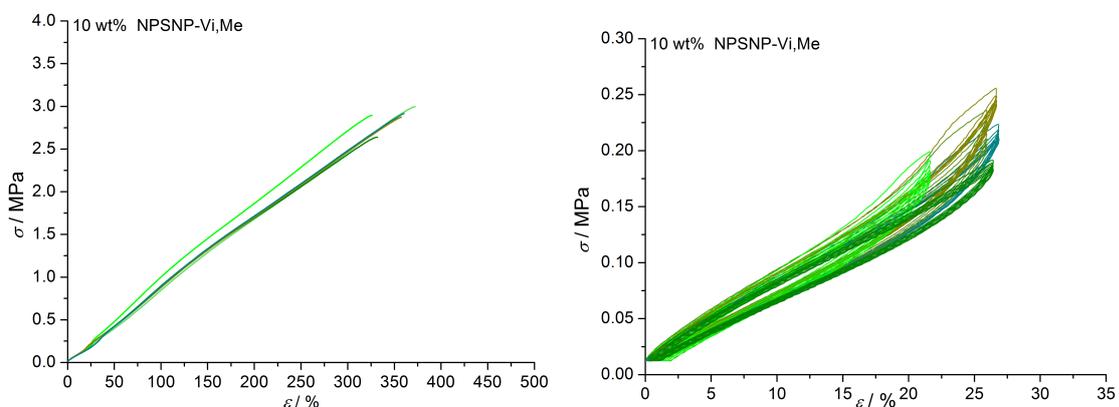


Abb. A.8: Spannungs-Dehnungs-Kurven (links) und Messkurven von zyklischen Messungen mit einer Belastung bis 30% Dehnung und anschließender Entlastung auf 0.1 N (rechts) für Proben mit einem Gehalt von 10 wt% NPSNP-Vi,Me.

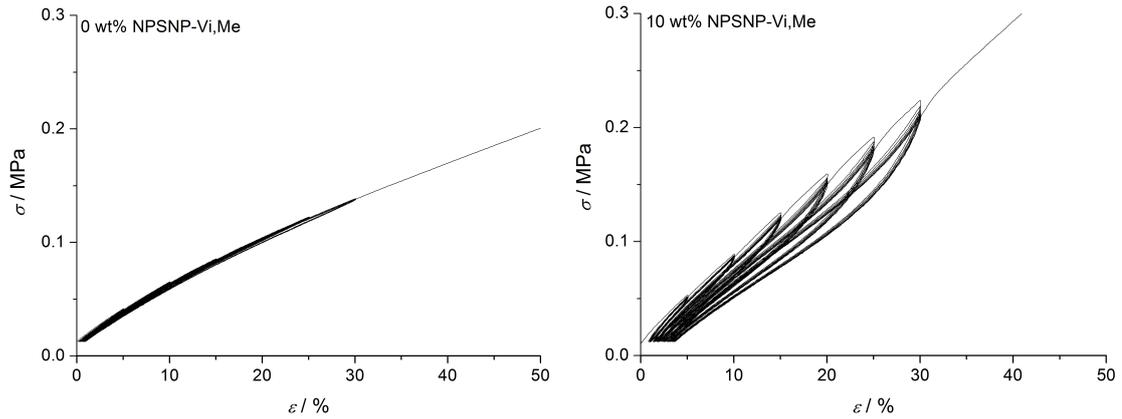


Abb. A.9: Spannungs-Dehnungs-Kurven von Siliconproben mit 0 wt% NPSNPs (links) und 10 wt% NPSNP-Vi,Me (rechts) aus zyklischen Zugversuchen mit verschiedenen Dehnungswiederholungen.

### Einfluss von Lösungsmittelbehandlungen

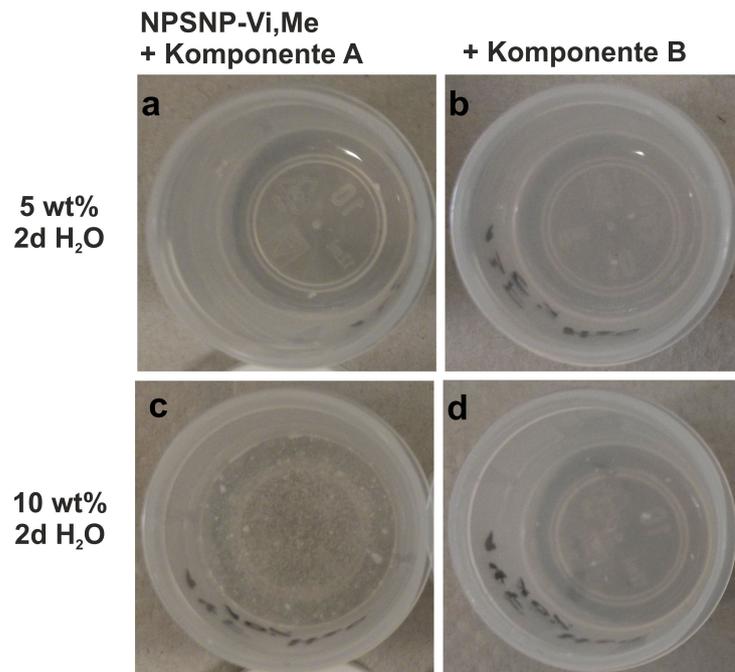


Abb. A.10: Verhalten der Siliconmischungen bei der Herstellung von Siliconen mit wasserbehandelten NPSNP-Vi,Me.

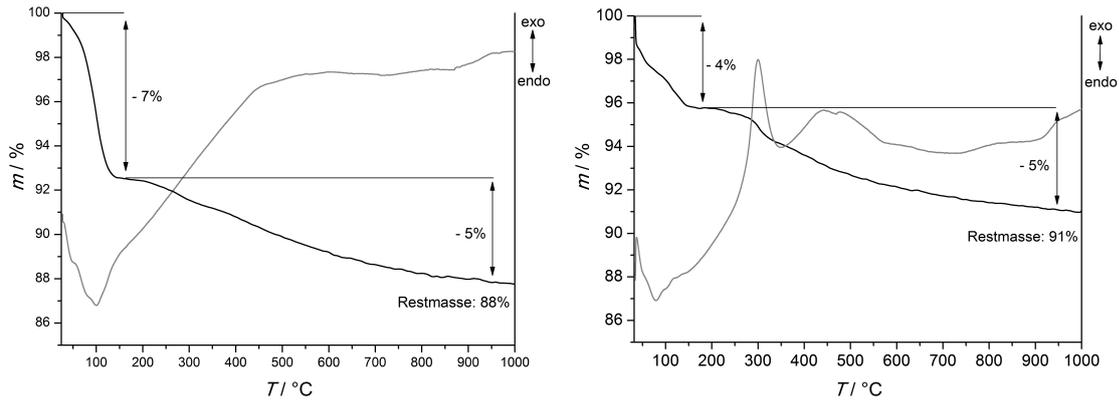


Abb. A.11: TG- (dunkle Linie) und DTA-Messungen (helle Linie) von NPSNP-Vi,Me nach einer Behandlung mit Ethanol (links) und Wasser (rechts).

### Freisetzung von Rolipram

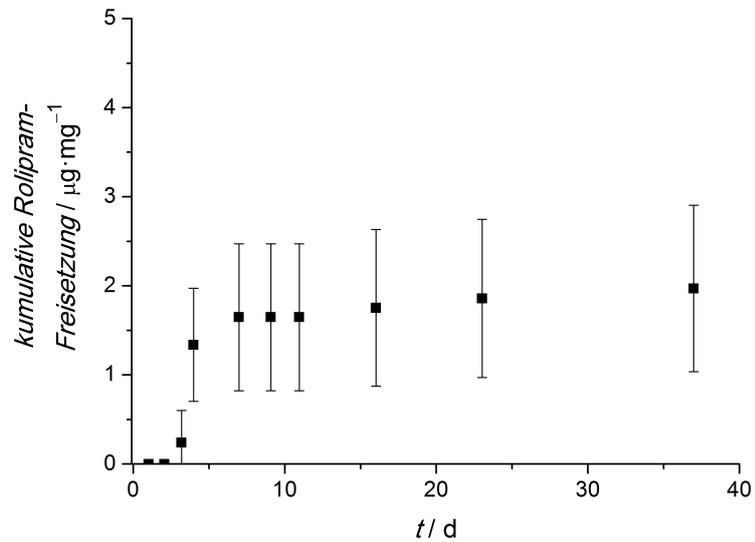


Abb. A.12: Kumulative Freisetzung von Rolipram nach einer eintägigen Inkubation von NPSNP-MeOPh in einer  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  wässrigen Rolipramlösung.

## Cytokompatibilität von Silicon mit nanoporösen Silica-Nanopartikeln

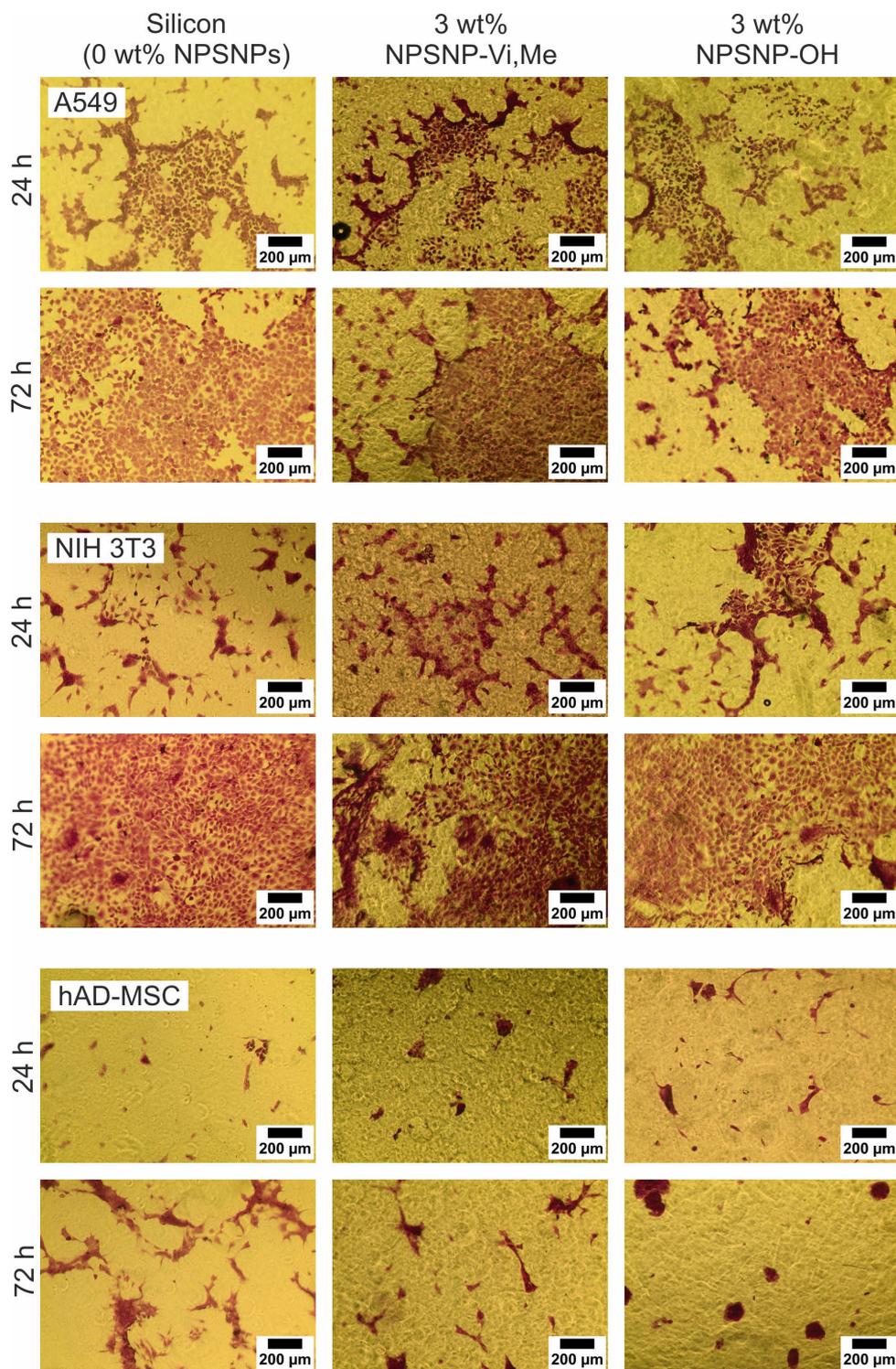


Abb. A.13: Mikroskopische Aufnahmen von A549-Zellen, NIH 3T3-Zellen und hAD-MSCs nach einer Kristallviolett-färbung. Die Aufnahmen zeigen die Zellen nach einer Kultivierung für 24 h und 72 h auf Silicon ohne NPSNPs sowie Silicon mit 3 wt% NPSNP-OH bzw. NPSNP-Vi,Me.



# Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge

## Begutachtete Veröffentlichungen

### **Biocompatibility of Silver Containing Silica Films on Bioverit®II Middle Ear Prosthesis in Rabbits**

F. Duda, S. Bradel, A. Bleich, P. Abendroth, T. Heemeier, N. Ehlert, P. Behrens, K.-H. Esser, T. Lenarz, G. Brandes, N. K. Prenzler

*Journal of Biomaterials Applications*, **2015**, *30*, 17-29, DOI: 10.1177/0885328215570103

## Nicht begutachtete Veröffentlichungen

### **Improvement of Biomedical Silicone by the Use of Nanoporous Silica Nanoparticles**

T. Heemeier, K. Besecke, S. Noyun, S. Besdo, L. Doniga-Crivat, A. Lavrentieva, C. Blume, P. Wriggers, P. Behrens

*BioNanoMaterials*, **2015**, *16*, 97, DOI: 10.1515/bnm-2015-9005

### **Phagocytic Activity of Epithelium in the Middle Ear - A Comparative Electron Microscopical Study in Rabbits Implanted with Various Silica-coated Bioverit®II-TORPs for 21 Days**

M. Wullstein, F. Duda, P. Abendroth, T. Heemeier, K. H. Esser, P. Behrens, N. Prenzler, T. Lenarz, G. Brandes

*Biomedizinische Technik*, **2014**, *59*, (Suppl. 1), DOI: 10.1515/bmt-2014-5000

### **Simulation of an Ossicular Chain and Middle Ear Implants with Pad**

S. Besdo, L. Doniga-Crivat, T. Heemeier, S. Bradel, N. Prenzler, P. Behrens, P. Wriggers

*Biomedizinische Technik*, **2014**, *59*, (Suppl. 1), DOI: 10.1515/bmt-2014-5000

### **Experimental Study on the Biocompatibility of Middle Ear Prosthesis with Silver Nanoparticle Containing Silica Coatings in Rabbits**

N. K. Prenzler, F. Duda, G. Brandes, S. Bradel, P. Abendroth, T. Heemeier, M. I. Rahim, B. Rais, P. Müller, P. Behrens, K. Esser, T. Lenarz

*Biomedizinische Technik*, **2014**, 59, (Suppl. 1), DOI: 10.1515/bmt-2014-5000

### **Adjustment of the Mechanical Properties of Silicone for Applications in the Middle Ear**

T. Heemeier, T. Lüßenhop, P. Behrens

*Biomedizinische Technik*, **2013**, 58, (Suppl. 1), DOI: 10.1515/bmt-2013-4096

## **Vorträge**

### **Improvement of Biomedical Silicone by the Use of Nanoporous Silica Nanoparticles**

T. Heemeier, K. Besecke, S. Noyun, S. Besdo, L. Doniga-Crivat, A. Lavrentieva, C. Blume, P. Wriggers, P. Behrens

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), 2015, Freiburg

### **Improving Biomedical Silicone by Sophisticated Silica Particles**

T. Heemeier, K. Besecke, S. Noyun, S. Besdo, L. Doniga-Crivat, A. Lavrentieva, C. Blume, P. Wriggers, P. Behrens

11. Nanoday des Laboratoriums für Nano- und Quantenengineering, 2015, Hannover

### **Development of an Ear-drum Pad Based on Silicones with Incorporated Nanoporous Silica Nanoparticles**

T. Heemeier, M. Jahns, S. Noyun, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Behrens

Tagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (DGBMT), 2014, Hannover

## **Posterbeiträge (als Hauptautorin)**

### **Improvement of Biomedical Silicone by the Use of Nanoporous Silica Nanoparticles**

T. Heemeier, K. Besecke, S. Noyun, S. Besdo, L. Doniga-Crivat, A. Lavrentieva, C. Blume, P. Wriggers, P. Behrens

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), 2015, Freiburg

### **Modification of Silicone with Nanoporous Silica Nanoparticles for Adjustment of the Mechanical Properties and Potential Drug Delivery**

T. Heemeier, K. Besecke, S. Noyun, N. Schmidt, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Behrens

European Symposium and Exhibition on Biomaterials and Related Areas (EuroBioMat), 2015, Weimar

**Improvement of Silicones for Applications in the Ear**

T. Heemeier, M. Jahns, S. Noyun, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Behrens  
Architectural Biomaterials, Medical and Tissue Engineering, 2014, Berlin

**Silicone as Implant Material for the Application in the Middle Ear: Incorporation of Functionalized Nanoporous Silica Nanoparticles**

T. Heemeier, M. Jahns, S. Noyun, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Behrens  
10. Nanoday des Laboratoriums für Nano- und Quantenengineering, 2014, Hannover

**Development of an Ear-drum Pad Based on Silicones with Incorporated Nanoporous Silica Nanoparticles**

T. Heemeier, M. Jahns, S. Noyun, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Behrens  
Tagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (DGBMT), 2014, Hannover

**Optimization of Silicone as Implant Material for the Application in the Middle Ear: Incorporation of Functionalized Nanoporous Silica Nanoparticles**

T. Heemeier, M. Jahns, S. Noyun, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Behrens  
European Society for Biomaterials (ESB), 2014, Liverpool

**Development of an Ear-drum Pad Made of Silicone for the Optimization of Middle Ear Protheses**

T. Heemeier, T. Lüßenhop, P. Behrens  
International Conference on Biomedical Technology (ICBT), 2013, Hannover

**Adjustment of the Mechanical Properties of Silicone for Applications in the Middle Ear**

T. Heemeier, T. Lüßenhop, P. Behrens  
9. Nanoday des Laboratoriums für Nano- und Quantenengineering, 2013, Hannover

**Adjustment of the Mechanical Properties of Silicone for Applications in the Middle Ear**

T. Heemeier, T. Lüßenhop, P. Behrens  
Dreiländertagung der Deutschen, Schweizerischen und Österreichischen Gesellschaft für Biomedizinische Technik (BMT), 2013, Graz



# Lebenslauf

Vor- und Zuname	Tanja Heemeier
Geburtsdatum	17.10.1984
Geburtsort	Minden
Staatsangehörigkeit	deutsch
12/2012 – 03/2016	<b>Promotion</b> zur Dr. rer. nat. im Fach Chemie am Institut für Anorganische Chemie Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Titel der Dissertation: <i>Biomaterialien für Implantate im Ohrbereich</i>
09/2010 – 10/2012	<b>Masterstudium</b> im Fach Material- und Nanochemie Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover Titel der Masterarbeit: <i>Modulierte Synthese von Zirkonium-basierten metall-organischen Gerüsten</i>
10/2007 – 09/2010	<b>Bachelorstudium</b> im Fach Chemie Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover und Abbott Products GmbH Titel der Bachelorarbeit: <i>Untersuchung der Enzymatischen Kinetischen Racematspaltung als Potentieller Zugang zu Chiralen Bausteinen</i>
06/2007 – 09/2010	<b>Chemielaborantin</b> bei Solvay Pharmaceuticals GmbH, später Abbott Products GmbH in Hannover
08/2004 – 06/2007	<b>Ausbildung</b> zur Chemielaborantin bei Solvay Pharmaceuticals GmbH in Hannover
1991 – 2004	<b>Schulausbildung</b> Abitur 2004 am Herder-Gymnasium in Minden