

Magnetische multifunktionale
Nanopartikel für die Implantat-dirigierte
Wirkstoffanlieferung

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation

von

Dawid Peter Warwas, M. Sc.

2023

Referentin: Prof. Dr. rer. nat. Nadja-Carola Bigall

Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. Denis Gebauer

Tag der Promotion: 09.11.2023

**Für meine Familie
und
Peter[†] Behrens**

Kurzzusammenfassung

Die zielgerichtete Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen und Organerkrankungen stellt die Mediziner in Anbetracht des demographischen Wandels vor große Herausforderungen. So sind für eine systemische Behandlung häufig hohe Wirkspiegel für das Erreichen einer adäquaten Konzentration am Zielort notwendig, welche wiederum das Risiko von unerwünschten Nebenwirkungen und zunehmenden Resistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen erhöhen.

Der Fokus der vorliegenden Dissertation liegt daher in der Entwicklung, Herstellung und Charakterisierung von unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Partikelsystemen als Wirkstoffträger für eine zielgerichtete effektive Behandlung. Das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (ID-MDT) bietet hier einen vielversprechenden Ansatz zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen. Bei diesem Prinzip dienen magnetische Nanopartikel als Wirkstoffträger unter kombinierten Einsatz eines externen angelegten magnetischen Feldes und magnetisierbaren Implantaten.

Im ersten Teil dieser Arbeit werden magnetische nanoporöse Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) mit superparamagnetischen Kernen und einer multifunktionalen hochporösen Silica-Schale als Wirkstoffträger vorgestellt. Dabei liegt der Schwerpunkt in der Partikel- und Porengrößeneinstellung sowie der gezielten Funktionalisierung mit organischen Fluorophoren, Polyethylenglycol (PEG), periodisch mesoporösem Organosilica (PMO) sowie der Charakterisierung der damit verbundenen Materialeigenschaften.

Der zweite Teil beschreibt den Einsatz der vorgestellten multifunktionalen Partikel als Wirkstofffreisetzungssysteme. Anhand des Antibiotikums Enrofloxacin wird dabei der Einfluss unterschiedlicher Modifizierungen auf das Freisetzungsprofil gezeigt.

Im dritten und letzten Teil dieser Dissertation dienen magnetische Silica-Partikel (MSPs) als Wirkstoffträger für eine weitere Variante des magnetischen Wirkstoff-Targetings (MDT). Hierbei ist nach einer Partikelaufnahme durch Makrophagen unter Einsatz von Hyperthermie eine gesteuerte Freisetzung von Wirkstoffen für die zielgerichtete Behandlung von Organerkrankungen möglich.

Stichworte: Wirkstoff-Targeting, Kern-Schale-Nanopartikel, nanoporöses Silica, Superparamagnetismus, Fluoreszenz, PEGylierung, Biokompatibilität

Abstract

The targeted treatment of implant-associated infections and organ diseases represents great challenges for physicians concerning the demographic change. For systemic treatment, high drug levels are often necessary to achieve an adequate concentration at the target location, which in turn increases the risk of undesirable side effects and resistance to antimicrobial drugs.

The focus of this dissertation is therefore the development, production and characterization of different magnetic core-shell particle systems as drug carriers for targeted, effective treatment. Implant-directed magnetic drug targeting (ID-MDT) offers a promising approach for the selective treatment of implant-associated infections. In this concept, magnetic nanoparticles serve as drug carriers with the combined utilization of an external magnetic field and magnetizable implants.

In the first part of this work, magnetic nanoporous silica nanoparticles (MNPSNPs) with superparamagnetic cores and a multifunctional highly porous silica shell as drug carriers are presented. Here, the focus is on particle and pore size adjustment as well as a specific modification with organic fluorophores, polyethylene glycol (PEG), periodic mesoporous organosilica (PMO) and the characterization of the associated material properties.

The second part describes the application of the presented multifunctional particles as drug release systems. Using the antibiotic drug enrofloxacin, the influence of different modifications on the release profile is shown.

In the third and final part of this thesis, magnetic silica particles (MSPs) serve as drug carriers for another variant of magnetic drug targeting (MDT). Here, after particle uptake by macrophages, a controlled release of drugs for the targeted treatment of organ diseases using hyperthermia is possible.

Keywords: drug targeting, core-shell nanoparticles, nanoporous silica, superparamagnetism, fluorescence, PEGylation, biocompatibility

Danksagung

Die Entstehung der vorliegenden Arbeit wäre ohne die Unterstützung und Begleitung zahlreicher Personen und Institutionen nicht möglich gewesen, weswegen ich an dieser Stelle meinen großen Dank aussprechen möchte.

Dabei gilt zuerst ein besonderer Dank Professor Dr. Peter[†] Behrens, welcher mir die Möglichkeit nach meiner Masterarbeit für die Promotion gegeben hat. Ich danke ihm für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis, seine Betreuung und Unterstützung in unserer interdisziplinären Kooperation und die Möglichkeit zur Teilnahme an zahlreichen wissenschaftlichen Konferenzen und den damit verbundenen Gelegenheiten zur Präsentation unserer Ergebnisse sowie dem wissenschaftlichen Austausch. Unsere persönlichen Gespräche abseits der Wissenschaft werde ich mit ihrem unschätzbaren Wert immer in Erinnerung behalten.

Professor Dr. Nadja-Carola Bigall danke ich für die Übernahme der Betreuung der Promotion.

Professor Dr. Denis Gebauer danke ich für die Übernahme des Korreferats. Zudem gilt mein Dank Professor Dr. Franz Renz für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) danke ich für die finanzielle Unterstützung in dem interdisziplinären Projekt „Implantat-gerichtetes magnetisches Drug Targeting: Antibiotische Therapie peri-implantärer Infektionen“, Projektnummer: 280642759.

An dieser Stelle möchte ich meinen Kooperationspartnern für die sehr gute und konstruktive Zusammenarbeit danken. Dabei gilt mein Dank PD Dr. Janin Reifenrath, Dr. Nina Angrisani, Dr. Hilke Catherina Janßen von der Medizinischen Hochschule Hannover sowie Professor Dr. Manfred Kietzmann, Dr. Jessica Meißner, Dr. David Dahlhaus, Dr. Stefanie Mielke-Kuschow und Dr. Paula Hagedorn von der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Zudem möchte ich mich bei meinen weiteren Kooperationspartnern Professor Dr. Dagmar Wirth, Dr. Mario Köster und Dr. Sami Ullah vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig bedanken.

Weiterer Dank gebührt meinen Kollegen und Kooperationspartnern für die Unterstützung, zahlreichen Messungen und Diskussionen, die ein wichtiger Bestandteil dieser Arbeit sind. Für die Physisorptionsmessungen danke ich Dr. Mandy Jahns, Dr. Nadeschda Schmidt, Dr. Alexander Mohmeyer, Malte Schäfer, Songül Noyun,

Dr. Marcel Schulz und Christina Schrand. Zudem danke ich Dr. Dennes Nettelroth für REM-Aufnahmen, Dr. Karen Fabienne Wilhelmine Besecke und dem NIFE für die Zellviabilitätstests und fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen und Dr. Franziska Lübke-Warwas vom Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie für die Messungen mittels Röntgen-Pulverdiffraktometrie, UV/Vis- und Fluoreszenzspektroskopie. Für die Messungen mittels Thermogravimetrie danke ich Marc Robert Krey. Dr. Mona Oltmanns und Professor Dr. Andreas Kirschning vom Institut für Organische Chemie danke ich für die Möglichkeit zur Durchführung von Hyperthermie-Messungen. Bei Katharina Petrović (geb. Nolte) möchte ich mich auch für die Durchführung von HPLC-Messungen bedanken. Für den Zugang zum Vibrationsmagnetometer und die ausführliche Diskussion der Ergebnisse danke ich Dr.-Ing. Piriya Taptimthong und Professor Dr.-Ing Marc Christopher Wurz vom Institut für Mikroproduktionstechnik. Für die Anfertigung der Probenhalter für das Vibrationsmagnetometer bedanke ich mich bei Gian Luigi Angrisani und Dr.-Ing Christian Klose vom Institut für Werkstoffkunde. Dr. Alexandra Satalov danke ich für die Anfertigung von TEM-Aufnahmen. An dieser Stelle bedanke ich mich auch bei Dr. Fritz Schulze-Wischeler und dem LNQE für den Zugang und die Einweisung am TEM. Weiterer Dank gebührt der IT-Crew um Dr. Thomas Ashe, Lauritz Theodor Bußfeld, Malte Schäfer, Marvin Träger und Dr. Mirja Duderstaedt. Auch bei den guten Seelen im Sekretariat, Birgit Zekoll, Merle Feldt (mittlerweile im Promotionsbüro) und Simonetta Ruggieri, sowie Songül Noyun bedanke ich mich für die Unterstützung. Zudem danke ich Dr. Andreas Michael Schneider, Dr. Nina Ehlert, Dr. Andreas Schaate, Dr. Hans-Christoph Schwarz und Dr. Bastian Hoppe für die zahlreichen konstruktiven Diskussionen und die Unterstützung. Dem gesamten BioMed-Team sowie dem NIFE-Team danke ich darüber hinaus für die sehr gute Zusammenarbeit, die konstruktiven Diskussionen sowie die freundliche Aufnahme in den NIFE-Laboren.

Einen großen Dank möchte ich auch dem gesamten Arbeitskreis Behrens für die Unterstützung und die fachlichen Diskussionen aussprechen. Auch abseits der Wissenschaft durfte ich mit euch zusammen viele unvergessliche Momente auf Gemeinschaftsabenden, Tagungen, Boßeltouren und zugehörigen anschließenden Feiern sowie auch Nachprüfungen erleben, wofür ich sehr dankbar bin. Auch bedanke ich mich für die zahlreichen geschossenen Tore und Erfolge mit der Lokomotive Behrens

und dem Fußballteam der Anorganischen Chemie sowie die zurückgelegten Kilometer mit der Laufomotive Behrens, die wir zusammen erreicht haben.

Meinen Bacheloranden Niclas Lindemann und Timo Herrmann sowie meinen Forschungspraktikanten Julia Stadler und Denis Pluta möchte ich für ihre Arbeit und Unterstützung danken.

Zudem danke ich Dr. Franziska Lübke-Warwas und Dr. Mandy Jahns für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Dem JungChemikerForum Hannover danke für die vielen schönen Abende und sehr erfolgreiche Zusammenarbeit bei der Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses und der Organisation der Winterfeldt-Preise und Karriereforen.

Meinem Pubquiz-Team möchte ich herzlich für die grandiosen Abende danken, welche wöchentlich zur Horizonterweiterung geführt und den Gewinn unserer Meisterschaften ermöglicht haben. Insbesondere danke ich hierbei Dr. Franziska Lübke-Warwas, Jan Frederik Miethe, Dr. Mandy Jahns, Björn Schremmer, Dr. Pascal Rusch und Max Niemeyer für die vielen schönen Momente und die langjährige Unterstützung abseits der Universität. Ich danke euch für eure Freundschaft und freue mich auf unzählige weitere unvergessliche Erlebnisse mit euch.

Meiner langjährigen Laborpartnerin Dr. Mandy Jahns gebührt ein besonderer Dank. Ich danke dir für die tolle gemeinsame Zeit, dein immer offenes Ohr und deine Unterstützung.

Abschließend möchte ich meinen Eltern Regina[†] und Peter[†] Warwas, meiner Schwester Sabrina Warwas mit ihrem Mann Tobias und ihrer Tochter Finja sowie meiner Oma Helene[†] Ociepka für ihre Unterstützung und ihren Rückhalt danken, denn sie haben mir meinen Weg erst möglich gemacht. Auch gebührt ein großer Dank Familie Lübke-Warwas für ihre Unterstützung.

Den wichtigsten Dank richte ich an meine Frau Franzi und unserem Sohn Teofil, welche mich immer mit ihrer Liebe, ihrem Verständnis und ihrer Geduld unterstützen. Ihr seid mein größter Rückhalt und ich freue mich auf unsere gemeinsame Zukunft. Ich danke euch von ganzem Herzen!

Inhaltsverzeichnis

Widmung	III
Kurzzusammenfassung	IV
Abstract	V
Danksagung	VI
Inhaltsverzeichnis	IX
Abkürzungsverzeichnis	XIII
1 Einleitung	1
2 Theoretische Grundlagen	8
2.1 Implantat-assoziierte Infektionen	8
2.2 Wirkstoff-Targeting	11
2.3 Magnetische Nanopartikel	15
2.3.1 Magnetismus	16
2.3.2 Eisenoxid-Nanopartikel	24
2.4 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel	28
2.4.1 Nanoporöses Silica	29
2.4.2 Periodisch mesoporöses Organosilica	33
2.4.3 Modifizierung von nanoporösem Silica und periodisch mesoporösem Organosilica	36
2.4.4 Kern-Schale-Nanopartikel für biomedizinische Anwendungen	39
2.5 Fluoreszenz	45
2.5.1 Organische Fluorophore	48
2.5.2 Fluoreszenzlöschung	49
2.6 Freisetzungssysteme	52
2.6.1 Enrofloxacin	55
3 Analytische Methoden	57
3.1 Elektronenmikroskopie	57
3.1.1 Transmissionselektronenmikroskopie	57
3.1.2 Rasterelektronenmikroskopie	59
3.2 Optische Spektroskopie	60

3.2.1 UV/Vis-Spektroskopie	60
3.2.2 Fluoreszenzspektroskopie	60
3.2.3 Infrarotspektroskopie	61
3.3 Physisorption	61
3.4 Thermogravimetrie	62
3.5 Röntgen-Pulverdiffraktometrie	62
3.6 Dynamische Lichtstreuung	63
3.7 Zeta-Potential-Messung	64
3.8 Vibrationsmagnetometer	64
3.9 Hyperthermie-Messung	66
3.10 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	66
3.11 Fluoreszenzmikroskopie	67
3.12 Zellviabilitätstest	67
4 Experimenteller Teil	69
4.1 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophoben Eisenoxid-Kernen	69
4.1.1 Synthese von hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikeln	69
4.1.2 Synthese von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln	70
4.1.3 Synthesen zur Partikelgrößeneinstellung von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln	71
4.1.4 Synthese von großporigen magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln	73
4.1.5 Synthese von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln mit periodisch mesoporöser Organosilica-Schale	74
4.1.6 Modifizierung von magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln	74
4.2 Untersuchung der Zellaufnahme von Fluorophor-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln an HGF-Zellen	78
4.3 Untersuchung der Zellviabilität von Fluorophor-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln an HGF-Zellen	79
4.4 Beladung der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mit Enrofloxacin	80
4.4.1 Umhüllung der mit Enrofloxacin beladenen magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit Lipid	80
4.5 Freisetzungsuntersuchungen	81

4.6 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophilen Eisenoxid-Kernen	82
4.6.1 Synthese von hydrophilen Eisenoxid-Nanopartikeln	83
4.6.2 Synthese von magnetischen Silica-Partikeln	83
4.6.3 Simultane Synthese und Modifizierung der magnetischen Silica-Partikel	83
5 Ergebnisse und Diskussion	85
5.1 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophoben Eisenoxid-Kernen	85
5.1.1 Charakterisierung der hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikel	86
5.1.2 Charakterisierung der unmodifizierten und modifizierten magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel	91
5.1.3 Größenkontrolle der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel	115
5.1.4 Großporige magnetische nanoporöse Silica-Nanopartikel	121
5.1.5 Charakterisierung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit periodisch mesoporöser Organosilica-Schale	125
5.1.6 Untersuchung der Fluoreszenzeigenschaften und Biokompatibilität	131
5.1.7 Zusammenfassung	157
5.2 Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung aus den magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln sowie <i>in vitro</i> - und <i>in vivo</i> -Untersuchungen für das ID-MDT-Prinzip	162
5.2.1 Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung aus den magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln	162
5.2.2 <i>In vitro</i> - und <i>in vivo</i> -Untersuchungen der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel für das ID-MDT-Prinzip	177
5.2.3 Zusammenfassung	179
5.3 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophilen Eisenoxid-Nanopartikeln	181
5.3.1 Charakterisierung der hydrophilen Eisenoxid-Nanopartikel	181
5.3.2 Charakterisierung der unmodifizierten und modifizierten magnetischen Silica-Partikel	187
5.3.3 Zusammenfassung	198

6 Zusammenfassung und Ausblick	200
7 Literaturverzeichnis	209
8 Anhang	XVIII
8.1 Chemikalienverzeichnis	XVIII
8.2 Zusatzinformationen	XIX
8.3 Lebenslauf	XXIII
8.4 Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge	XXIV

Abkürzungsverzeichnis

A	Absorption
A	Ampere
Å	Ångström
APTMS	3-Aminopropyltrimethoxysilan
a.u.	<i>arbitrary unit</i> , willkürliche Einheit
β	Reflexhalbwidthsbreite
BDNF	<i>brain-derived neurotrophic factor</i>
BET	Brunauer, Emmet und Teller
BMP-2	<i>bone morphogenetic protein 2</i>
BTEB	1,4-Bis(triethoxysilyl)benzol
°C	Grad Celcius
	<i>correction of chromatic aberration</i> , Korrektur chromatischer
C _c	Abberation
CCD	<i>charge coupled device</i>
CD47	<i>Cluster of Differentiation 47</i>
C _{krit}	kritische Konzentration
cm	Centimeter
cm ³	Kubikcentimeter
CMC	<i>critical micelle concentration</i> , kritische Mizellbildungskonzentration
Corp.	<i>corporation</i>
cos	Cosinus
C _s	<i>correction of spherical aberration</i> , Korrektur sphärischer Abberation
C _s	Sättigungskonzentration
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
CTB	CellTiter-Blue®
CVD	<i>chemical vapor deposition</i> , chemische Gasphasenabscheidung
Cy5	Cyanin 5
D	Kristallitgröße
d	Durchmesser
d	Netzebenenabstand
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol

D _c	kritischer materialabhängiger Durchmesser
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
DNA	<i>desoxyribonucleic acid</i> , Desoxyribonucleinsäure
DOPC	1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
D _{SP}	superparamagnetischer Durchmesser
EFX	Enrofloxacin
emu	<i>electromagnetic unit</i> , elektromagnetische Einheit
EPS	extrazelluläre polymere Substanzen
et al.	<i>et alii</i> , und andere
F	Fluoreszenz
FBS	<i>fetal bovine serum</i> , fötales Rinderserum
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i>
FEG	<i>field emission gun</i> , Feldemissionskathode
γ-Fe ₂ O ₃	Maghemit
Fe ₃ O ₄	Magnetit
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
FMR	<i>ferromagnetic resonance</i> , ferromagnetische Resonanz
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
FT-IR	Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer
g	Gramm
G	Gauss
GFP	grün fluoreszierende Proteine
H	magnetische Felsstärke
h	<i>hour</i> , Stunde
h	planksches Wirkungsquantum
H _c	Koerzitivfeldstärke
HGF	<i>primary human gingival fibroblasts</i> , primäre humane Gingivafibroblasten
HOMO	<i>highest occupied molecular orbital</i> , höchstes besetztes Molekülorbital

HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i> , Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IC	<i>internal conversion</i> , innere Umwandlung
ICP-OES	<i>inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> , optische Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppeltem Plasma
ID-MDT	<i>implant-directed magnetic drug targeting</i> , Implantat-dirigiertes magnetisches Wirkstoff-Targeting
IR	Infrarot
ISC	<i>intersystem crossing</i> , Interkombination
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
K	Formfaktor
kG	Kilogauss
kHz	Kilohertz
kV	Kilovolt
λ	Wellenlänge
LCT	<i>liquid crystal templating</i> , Flüssigkristall-Templat
LP	<i>large pores</i>
LUMO	<i>lowest unoccupied molecular orbital</i> , niedrigstes unbesetztes Molekülorbital
μ_0	magnetischen Feldkonstante
M	Magnetisierung
M	molar
m ²	Quadratmeter
MCM-41	<i>Mobil Composition of Mater No. 41</i>
MDT	<i>magnetic drug targeting</i> , magnetisches Wirkstoff-Targeting
μg	Mikrogramm
MIC	<i>minimum inhibitory concentration</i> , minimale Hemmkonzentration
min	Minute
μl	Mikroliter
mL	Milliliter
μm	Mikrometer
mm ³	Kubikmillimeter
MNPs	magnetische Nanopartikel

MNPSNP	magnetische nanoporöse Silica-Nanopartikel
MPS	mononukleäres Phagozyten-System
M _R	Remanenzmagnetisierung
MRI	<i>magnetic resonance imaging</i> , Magnetresonanzbildgebung
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i> , Boten-Ribonukleinsäure
M _S	Sättigungsmagnetisierung
μS	Mikrosiemens
MSPs	magnetische Silica-Partikel
v	Frequenz
n	Beugungsordnung
N	Nordpol
NLDFT	nicht-lokale Dichtefunktionaltheorie
nm	Nanometer
NPs	Nanopartikel
NPSNPs	nanoporöse Silica-Nanopartikel
ζ	Zeta-Potential
O	Oktaederumgebung
P	Phosphoreszenz
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> , phosphatgepufferte Salzlösung
PD	Privatdozent
PDI	Polydispersitätsindex
PEG	Polyethylenglycol
PEI	Polyethylenimin
Pen	Penicillin
PFA	Paraformaldehyd
PDI	Polydispersitätsindex
PMO	periodisch meosporöses Organosilica
PNIPAM	Poly(N-isopropylacrylamid)
QDs	<i>quantum dots</i> , Quantenpunkte
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RES	retikuloendotheliales System
RITC	Rhodamin B Isothiocyanat
RNA	<i>ribonucleic acid</i> , Ribonukleinsäure

rpm	<i>rounds per minute</i> , Umdrehungen pro Minute
S	Singulett
S	Südpol
SAM	<i>self-assembled monolayer</i>
S _{BET}	BET-Oberfläche
SBA-15	<i>Santa Barbara Amorphous-15</i>
SDA	strukturdirigierendes Agens
sin	Sinus
siRNA	small interfering ribonucleic acid
SPIONs	<i>superparamagnetic iron oxide nanoparticles</i> , superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel
SQUID	<i>superconducting quantum interference device</i> , supraleitende Quanteninterferenzeinheit
Strep	Streptomycin
θ	Beugungswinkel
T	Tetraederumgebung
T	Triplett
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEOS	Tetraethylorthosilicat
TG	Thermogravimetrie
TGF- β 3	<i>transforming growth factor-β3</i>
u.a.	unter anderem
UV	Ultraviolett
V	Volt
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
V _{EtOH}	Volumen Ethanol
V _{H₂O}	Volumen Wasser
Vis	<i>visible</i> , sichtbar
VR	Vibrationsrelaxation
VSM	vibrating sample magnetometer, Vibrationsmagnetometer
wt%	Massenprozent
χ	Suszeptibilität
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Der Einsatz medizinischer Implantate auf diversen klinischen Anwendungsgebieten gewinnt durch den demographischen Wandel, neue Materialien, Technologien sowie neuer medizinischer Erkenntnisse und der damit verbundenen steigenden Nachfrage zunehmend an Bedeutung in Forschung und Industrie. So ist durch Unterstützung oder Ersatz von nicht (vollständig) funktionsfähigen Bestandteilen des Körpers eine Steigerung der Lebensqualität sowie eine Verlängerung des Lebens realisierbar.^[1,2] In der Human- und Veterinärmedizin bietet insbesondere die orthopädische Chirurgie zahlreiche Operationsmöglichkeiten, in denen medizinische Implantate eingesetzt werden. Neben einfacheren Komponenten wie Drähten, Nägeln, Schrauben und Platten in der Osteosynthese bei Frakturen, finden auch komplexere Systeme wie Gelenksendoprothesen Anwendung. Diese Prothesen finden häufig Einsatz in Knie- und Hüftgelenken. In Deutschland finden jährlich ca. 450.000 endoprothetische Knie- und Hüfteingriffe statt. Während die Erstimplantation dieser Endoprothesen einen Anteil von knapp 90% (39.7% Knie-Erstimplantation, 50.1% Hüft-Erstimplantation) bei diesen Eingriffen hat, weisen Folgeeingriffe einen Anteil von knapp 10% (4.5% Knie-Folgeeingriffe, 5.7% Hüft-Folgeeingriffe) auf.^[3]

Für die behandelnden Mediziner stellen hierbei Infektionen der Implantate sowie nicht oder schlecht heilende Frakturen eine sehr große Herausforderung dar.^[4-10] Verantwortlich für diese Infektionen ist die Besiedelung von offenen Wunden sowie der Implantatoberflächen mit Bakterien, welche Biofilme ausbilden und zu Implantatverlusten und Revisionsoperationen führen können. Abhängig von prädisponierenden Faktoren kommen Implantat-assoziierte Infektionen bei 1 – 7% der Implantationen vor.^[11,12] Bei einfachen Frakturen treten in über 8% der Fälle Infektionen auf. Dagegen steigt bei komplizierteren Frakturen nach einer chirurgischen Fixation die Infektionsrate auf 14 – 21%, bei Risikopatienten sogar auf bis zu 40% der Implantationen.^[13-15]

Die gezielte Behandlung dieser Infektionen stellt eine komplexe und herausfordernde Aufgabe in der Medizin dar. Neben der systemischen Verabreichung von Antibiotika,^[7] können antimikrobielle Wirkstoffe während der Operation direkt am Implantationsort geliefert werden, z.B. über Antibiotika-Ketten,^[16] Implantatbeschichtungen^[12] oder bei Gelenkersatz mittels Antibiotika beladenem Zement.^[17] Allerdings ist die Therapie aufgrund häufig unzureichender Wirkstoffakkumulation am Infektionsort sowie

zunehmender Resistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen sehr problembehaftet. So sind bei einer systemischen Behandlung mit Antibiotika bei akutem Auftreten von Infektionen häufig hohe Wirkspiegel für den Gesamtorganismus notwendig, um eine adäquate Konzentration am Infektionsort zu erreichen. Dabei ist das Risiko unerwünschter Nebenwirkungen deutlich erhöht und eine erfolgreiche Therapie in vielen Fällen nicht gesichert.^[18,19] Zudem ist das Skelett ein System, welches nur sehr schwer mit systemischen Medikamenten zugänglich ist und bei welchem die damit verbundene Aufrechterhaltung einer adäquaten Wirkdosis schwierig ist.^[20] Die bakterielle Biofilmbildung auf Implantatoberflächen erschwert zusätzlich die Infektionstherapie.^[21] Neben dem unerwünschten Entfernen der betroffenen Implantate zur Behandlung dieser Komplikationen in der Orthopädie, bietet die lokale antibiotische Therapie über spezielle Implantatbeschichtungen, Antibiotika beladene Zemente oder Antibiotikaketten weitere Möglichkeiten zur Infektionsbehandlung.^[12,22,23] Allerdings stellen die hierfür erforderlichen chirurgischen Eingriffe eine zusätzliche Belastung für die Patienten dar. Darüber hinaus kann hierbei eine unerwünschte und unkontrollierte Antibiotika-Freisetzung, auch ohne vorhandene Infektion, erfolgen, die wiederum zu Nebenwirkungen sowie erhöhten Resistenzen der Krankheitserreger gegenüber den Medikamenten führen kann.^[24,25]

Ein vielversprechender Ansatz zur lokalen Therapie stellt die Nanotechnologie dar, welche in den letzten Jahren in der Medizin und Biotechnologie zunehmend an Bedeutung gewinnt. Die Nanotechnologie beinhaltet die Entwicklung von Materialien, wie z.B. Nanopartikel (NPs), Filme oder Komposite, mit Größen von 1 – 100 nm.^[26–29] Der große Vorteil der Nanotechnologie besteht darin, dass die Materialien durch ihre nanoskalige Größe auf dem gleichen molekularen Maßstab agieren können, wie biologische Moleküle oder Zellen. Dadurch ist eine selektivere und folglich effektivere Behandlung z.B. durch mit Wirkstoffen beladene Nanopartikel möglich. Diese können gezielt am Infektionsort eingesetzt werden, um das Risiko von unerwünschten Nebenwirkungen zu reduzieren und nicht betroffenes Gewebe zu schützen.^[30–32] Im Zusammenhang mit der Nanotechnologie und dem Einsatz von Nanopartikeln als Wirkstoffträger ist ein vielversprechender Ansatz die Anwendung des sogenannten magnetischen Wirkstoff-Targeting (*magnetic drug targeting*, MDT). Bei dieser Methode werden die Wirkstoffe über magnetische Nanopartikel (MNPs) und einem externen angelegten Magnetfeld gezielt zum Infektionsort geleitet und lokal angereichert. Die Wirkstoffe können dabei direkt an das magnetische Material

gekoppelt oder in magnetische Kompositmaterialien eingelagert und dann dem Patienten intravenös verabreicht werden, sodass folglich in Kombination mit einem externen angelegten magnetischen Feld eine hohe Wirkstoffkonzentration am Infektionsort akkumuliert werden kann.^[33–36] Der Vorteil dieses Prinzips liegt in der verringerten Konzentration des antibiotischen Wirkstoffs im Gesamtorganismus des Patienten und der Minimierung unerwünschter Arzneimittel-Nebenwirkungen. Ein Hindernis für das MDT-Prinzip könnte hierbei aber eine unzureichende konstante Behandlung am Infektionsort sein, da die Partikel als Wirkstoffträger durch den Blutfluss sowie durch Phagozytose mittels Makrophagen vom gewünschten Target wegtransportiert werden können.^[37–39]

Ein weiterentwickeltes Prinzip zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektion stellt hierbei das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (*implant-directed magnetic drug targeting*, ID-MDT) dar. Hierbei werden multifunktionale magnetische Nanopartikel als Wirkstoffträger in Kombination mit magnetisierbaren Implantaten sowie einem externen angelegten magnetischen Feld eingesetzt.^[40–44] Die Vorteile dieses Konzeptes liegen in der hohen Konzentration der Antibiotika am Infektionsort bei gleichzeitiger Reduzierung der systemischen Dosierung und der damit verbundenen Minimierung von unerwünschten Nebenwirkungen. Darüber hinaus ist die Therapie mit der ID-MDT-Methode zu jedem postoperativen Zeitpunkt sowie in jeder Region des Körpers möglich. Eine große Herausforderung stellt allerdings das Erreichen ausreichend hoher magnetischer Feldstärken für die Überwindung der Blutflusskräfte im Zielgewebe dar.^[38] Zur Unterstützung dienen hierbei magnetisierbare Implantatmaterialien, die dazu in der Lage sind, die magnetische Feldstärke eines externen angelegten Magnetfeldes zu verstärken und somit die Akkumulation der magnetischen Wirkstoffträger zu fördern.^[45–47] Durch die zusätzliche Anziehung der magnetischen Implantate können die MNPs in den Biofilm auf der Implantatoberfläche eindringen und so die Infektion effektiver behandeln. Studien zeigen zudem, dass magnetische Felder selbst antimikrobielle Eigenschaften besitzen sowie für die Knochenregeneration förderlich sind.^[48–51]

Die vorliegende Dissertation ist Teil des Forschungsprojektes „Implantat-gerichtetes magnetisches Drug Targeting: Antibiotische Therapie peri-implantärer Infektionen“ der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) (Projektnummer: 280642759), eine Kooperation der Leibniz Universität Hannover, Medizinische Hochschule Hannover sowie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Sie beschäftigt sich im ersten Teil mit der

Entwicklung und Charakterisierung von geeigneten magnetischen Nanopartikeln für das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (ID-MDT) zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen. Hierfür werden magnetische nanoporöse Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) eingesetzt, die als Kern-Schale-Systeme eine hohe Multifunktionalität sowie Biokompatibilität aufweisen.^[52–54] Als Kernmaterial werden hierbei hydrophobe superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (*superparamagnetic iron oxide nanoparticles*, SPIONs) verwendet, welche nach dem Entfernen eines externen angelegten magnetischen Feldes keine Restmagnetisierung, die sogenannte Remanenz, aufweisen. Diese Eigenschaft ist für das ID-MDT-Prinzip essenziell, da die MNPSNPs ohne die superparamagnetischen Eigenschaften mit einer Restmagnetisierung und der damit verbundenen gegenseitigen Anziehung agglomerieren würden. Als Schalenmaterial dient nanoporöses Silica, welches sich durch eine hohe spezifische Oberfläche und einem großen Porenvolumen (bis zu 50%) auszeichnet und somit ideal als Reservoir für Wirkstoffe und Biomoleküle zur Infektionsbehandlung geeignet ist.^[55–57] Darüber hinaus ist die Silica-Matrix über ihre Silanol-Gruppen leicht mit zahlreichen Funktionalitäten modifizierbar. Silica weist zudem eine sehr gute Biokompatibilität sowie eine gute Degradierbarkeit in physiologischen Medien auf.^[58] Zur Erhöhung der Biokompatibilität und Prävention eines frühzeitigen Abfangens durch das mononukleäre Phagozyten-System (MPS) wird die Schale der MNPSNPs mit Polyethylenglycol (PEG) funktionalisiert.^[59,60] Für eine Detektion der MNPSNPs in *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen werden die MNPSNPs zudem mit fluoreszierenden organischen Molekülen, hier grün fluoreszierendes Fluoresceinisothiocyanat (FITC) oder orange fluoreszierendes Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) modifiziert. Die funktionalisierten MNPSNPs sind schematisch in Abbildung 1.1 dargestellt.

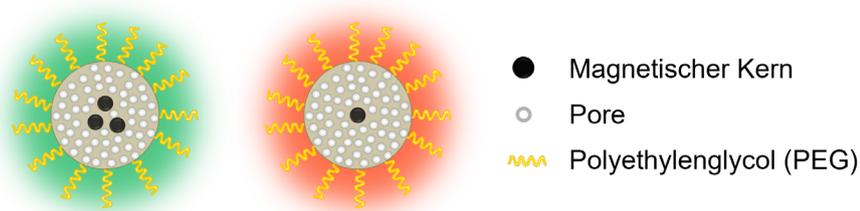


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der funktionalisierten magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs). Links: MNPSNP mit FITC- und PEG-Funktionalisierung. Rechts: MNPSNP mit RITC- und PEG-Funktionalisierung.

Die funktionalisierten MNPSNPs besitzen als magnetisches und fluoreszierendes Hybridmaterial folglich großes Potential für die Biobildgebung durch Detektion mittels Magnetresonanzbildgebung (*magnetic resonance imaging*, MRI) und Fluoreszenzmikroskopie sowie einer Kombination dieser Bildgebungstechnologien.^[61-63]

Neben der Entwicklung und Modifizierung der MNPSNPs als multifunktionales Hybridmaterial, ist ein weiterer wichtiger Aspekt dieser Arbeit die Untersuchung zur Partikel- und Porengrößeneinstellung sowie die damit verbundenen Eigenschaften der MNPSNPs. Die Partikelgröße lässt sich hierbei durch Variation der eingesetzten Eisenoxid-Menge sowie der Synthesetemperatur einstellen, sodass Partikel mit unterschiedlich starken Magnetisierungen sowie Hyperthermie-Eigenschaften zugänglich sind. Die Veränderung der Porenform und Porengröße der Silica-Schale der MNPSNPs ist durch Variation der eingesetzten Menge an Ethylacetat als Quellungsmittel möglich.^[64] Neben den MNPSNPs werden zudem Kern-Schale-Schale-Nanopartikel als potenzielle Wirkstoffträger für das ID-MDT vorgestellt, welche aus MNPSNPs als Kernmaterial und einer weiteren Schale aus periodisch mesoporösem Organosilica (PMO) bestehen.^[65,66]

Die Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften in einem Hybridmaterial ist eine große Herausforderung aufgrund des potenziellen Risikos einer Fluoreszenzabschwächung oder gar einer Fluoreszenzlöschung (*fluorescence quenching*).^[63,67] Aus diesem Grund erfolgt in dieser Arbeit, nach einer Funktionalisierung der unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mit dem fluoreszierenden organischen Farbstoff RITC, die ausführliche spektroskopische Charakterisierung der optischen Eigenschaften unter Berücksichtigung der magnetischen Eigenschaften.

Im zweiten Teil dieser Arbeit werden die unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel auf ihre Eignung als Wirkstofffreisetzungssysteme im Hinblick auf eine Anwendung im ID-MDT zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen untersucht. Als Wirkstoff und Modellschleife wird Enrofloxacin eingesetzt, welches ein Antibiotikum aus der Wirkstoffgruppe der Fluorchinolone ist und zur Infektionsbehandlung in der Veterinärmedizin eingesetzt wird.^[68,69] Bei den Freisetzungstudien wird hierbei auch ein Augenmerk auf den Einfluss der unterschiedlichen Materialien und Oberflächenmodifizierungen bezüglich der Freisetzungskinetik gelegt.^[70] Während bei akuten Infektionen am Implantat eine schnelle Freisetzung des Wirkstoffs zur Behandlung vorteilhaft ist, kann bei chronischen Infektionen eine zeitverzögerte Freisetzung zu einer erfolgreichen Therapie führen.

Insbesondere *Stimuli-Response*-Systeme sind von großem Interesse, da diese Systeme durch einen externen Stimulus, wie z.B. pH-Wert, Temperatur, Bestrahlung, Redox-Potential oder enzymatische Aktivität eine Freisetzung zum gewünschten Zeitpunkt ermöglichen.^[71,72] Fullriede et al. konnten ein reversibles *Stimulus-Response*-System auf Basis von nanoporösen Silica-Nanopartikel (*nanoporous silica nanoparticles*, NPSNPs) und einem pH-sensitiven Polymer als Oberflächenmodifizierung für eine kontrollierte Freisetzung des Antiseptikums Chlorhexidin entwickeln.^[73] Bei diesem Wirkstofffreisetzungssystem liegen bei neutralen Bedingungen die Polymere in einer komprimierten geknäulten Form vor, sodass die Porenöffnungen der Silica-Matrix verschlossen sind und der Wirkstoff nicht freigesetzt werden kann. Durch eine Verringerung des pH-Wertes, wie sie bei einer bakteriellen Infektion auftreten kann, werden die Polymerstränge protoniert. Dabei werden die Ketten durch elektrostatische Repulsion der positiven Ladungen entknäult und aufgerichtet, sodass das Medikament zur Infektionsbekämpfung abgegeben werden kann. Nach erfolgter Infektionsbehandlung und Rückkehr zu einem physiologischen pH-Wert, liegen die Polymere wieder deprotoniert und geknäult vor, sodass mit diesem System eine Freisetzung des Wirkstoffs bei Bedarf möglich ist. Eine weitere Möglichkeit für eine gesteuerte Freisetzung von Wirkstoffen aus porösen Silica-Systemen ist der Einschluss der beladenen Partikel in Liposomen durch die Oberflächenmodifizierung mit einer Doppellipidschicht.^[74] Neben dem Verhindern der vorzeitigen Abgabe des Medikamentes durch die Liposom-Hülle sind weitere Vorteile dieser Modifizierung die Erhöhung der Biokompatibilität, die geringe Toxizität sowie die Erhöhung der Blutzirkulationszeit mangels eines frühzeitigen Abfangens durch das mononukleäre Phagozyten-System.^[75] Eine gesteuerte Abgabe von Wirkstoffen aus Liposom-modifizierten Silica-Systemen im physiologischen Medium kann durch die Zerstörung der Liposom-Hülle durch den Einsatz eines Tensids oder Ethanol erfolgen. Dieses Prinzip soll im Rahmen dieser Arbeit auf Enrofloxacin-beladene MNPSNPs für eine effektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen übertragen werden.

Der dritte und letzte Teil dieser Dissertation befasst sich mit der Entwicklung von geeigneten magnetischen Silica-Partikeln (MSPs) als Kern-Schale-Systeme für magnetisches Wirkstoff-Targeting (MDT) durch gezielte Aufnahme der Partikel von Makrophagen durch das mononukleäre Phagozyten-System (MPS). Nach Phagozytose von Wirkstoff-beladenen magnetischen Silica-Partikeln fungieren die Makrophagen als Trägermaterial, welches über das MPS in die Leber transportiert werden können.^[76] Durch

Anlegen eines externen angelegten magnetischen Wechselfeldes und damit erzeugter Hyperthermie der MSPs kann die Zellwand der Makrophagen zerstört werden, sodass eine gesteuerte Freisetzung von Wirkstoffen erzielt wird und dadurch eine selektive Behandlung von Organerkrankungen möglich ist. Im Gegensatz zu den MNPSNPs mit hydrophoben magnetischen Kernen zur Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen nach der ID-MDT-Methode, basieren die MSPs auf hydrophilen Eisenoxid-Nanopartikeln mit superparamagnetischen Eigenschaften. Als Wirkstoffträgermaterial wird ebenfalls nanoporöses Silica eingesetzt, welches zur Detektion mit dem organischen fluoreszierenden FITC funktionalisiert ist.^[77] Die Arbeiten hierzu basieren auf einer Kooperation mit dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig.

Somit besteht das Gesamtziel dieser Arbeit in der Entwicklung, Herstellung und Charakterisierung von unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Partikeln mit hoher Multifunktionalität und Biokompatibilität als potenzielle Wirkstoffträger-Systeme für ein effektives magnetisches Wirkstoff-Targeting zur Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen und Organerkrankungen.

2 Theoretische Grundlagen

Für das Verständnis der vorliegenden Dissertation werden in diesem Kapitel die theoretischen Grundlagen beschrieben. Nach einer Einleitung zu Implantat-assoziierten Infektionen, wird auf das Wirkstoff-Targeting und insbesondere auf das sogenannte Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting eingegangen. Zudem werden Grundlagen zu magnetischen Nanopartikeln sowie Magnetismus vermittelt. Für die effektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen werden magnetische Kern-Schale-Nanopartikel eingesetzt, weswegen nanoporöses Silica sowie periodisches mesoporöses Organosilica als Schalenmaterial mit ihren Möglichkeiten zur weiteren Modifizierung vorgestellt werden. Mit der Fluoreszenz wird darüber hinaus eingehender eine wichtige Eigenschaft der Kern-Schale-Nanopartikel nach ihrer Modifizierung mit organischen Fluorophoren sowie mögliche Fluoreszenzlöschung von magnetischen fluoreszierenden Hybridsystemen behandelt. Das Kapitel wird mit Informationen zu Freisetzungssystemen und dem antibakteriellen Wirkstoff Enrofloxacin abgeschlossen.

2.1 Implantat-assoziierte Infektionen

In der modernen Medizin ist der Einsatz von Biomaterialien in Form von Implantaten ein Standardeingriff. Die Implantate sollen dabei spezifische Funktionen beim Patienten unterstützen oder erfüllen, zu denen der Körper nicht mehr in der Lage ist. So werden zum Beispiel Zahnimplantate in der Zahnmedizin, Cochlea-Implantate und Nasennebenhöhlen-Stents in der Hals-Nasen-Ohrenmedizin oder künstliche Herzschrittmacher sowie Herzklappen zunehmend eingesetzt. Aber auch in der orthopädischen Chirurgie werden medizinische Implantate, wie zum Beispiel Drähte, Nägel, Schrauben, Platten in der Osteosynthese, aber auch komplexere Implantatsysteme wie Gelenkendoprothesen routinemäßig verwendet. Bedingt durch den demographischen Wandel, neue Technologien sowie Materialien steigt zudem kontinuierlich die Nachfrage. Allerdings stellen in diesem Zusammenhang Implantat-assoziierte Infektionen eine sehr große Herausforderung für die Mediziner in der orthopädischen Chirurgie dar. Die Ursachen dieser Infektionen liegen vorrangig in der Kontamination der Implantatoberflächen und offenen Wunden mit Keimen und Krankheitserregern sowie in der durch die Eingriffe bedingten Minderung der lokalen und systemischen Körperabwehr.^[15] Bezüglich der Keimbefestigung der Implantate wird grundsätzlich zwischen zwei mögliche

Infektionswege unterschieden, die peri-operative Kontamination sowie die hämatogene Besiedelung.^[15,78,79] Bei der peri-operativen Kontamination können früh post-operative akute Infektionen entstehen, welche sich innerhalb der ersten vier Wochen nach operativem Eingriff manifestieren. Ursache für diese Infektionen sind hochvirulente Erreger wie *Staphylococcus aureus*, Streptokokken, Enterokokken und gramnegative Erreger, welche über den exogenen Infektionsweg auf das Implantat gelangen.^[79,80] Zu den Infektionsfolgen gehören bei diesen Infektionen persistierende Sekretion aus der Infektionswunde, eine zunehmende Schwellung, Überwärmung und Rötung sowie Schmerzen am Operationsgebiet. Neben diesen frühzeitigen Infektionen treten bei der peri-operativen Kontamination auch verzögerte („*low-grade*“) Infektionen nach wenigen Monaten bis wenigen Jahren (3 – 36 Monate) nach der Operation durch niedrig virulente Erreger wie *Staphylococcus epidermis* und *Cutibacterium*, auf.^[79] Bei diesen chronischen Infektionen liegen neu aufgetretene oder zunehmende Gelenkschmerzen und Knochenabbau, die Osteolyse, vor.

Bei der hämatogenen Besiedelung erfolgt eine Streuung der Erreger auf die Implantate von einem entfernten Infektionsherd, wie zum Beispiel Infektionen an Weichteilen (*Staphylococcus aureus*), der Atemwege (*Streptococcus pneumoniae*), des Darmes (Salmonellen, Bacteroides, *Streptococcus gallolyticus*) oder der Harnwege (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*). Im Rahmen einer Zahnbehandlung oder auch –prophylaxe kann eine hämatogene Besiedelung auch über sogenannte vergrünende Streptokokken erfolgen. Zudem können niedrig virulente Erreger (*Staphylococcus epidermis*) bei infizierten intravaskulären Anwendungen (z.B. Schrittmacher, Kunstherzklappe, intravaskulärer Katheter und venöser Port) auf die Implantate streuen. Hämatogene Infektionen können jederzeit auftreten und zeigen sich durch Fieber und lokale Symptome.^[79-81] Generell sind die Antwort des Körpers des Patienten auf das Implantat sowie seine immunologische Verfassung wichtige Faktoren bezüglich einer Infektionsentstehung. Hierbei löst schon allein die Anwesenheit eines Implantates eine Vermehrung der normalen Phagozytoseaktivität der neutrophilen Granulozyten aus, was eine Vermehrung von Erregern begünstigt.^[82] Die Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen wird insbesondere durch Bildung eines Biofilmes an der Implantatoberfläche erschwert, welche durch Bakterien verursacht wird. Dieser bakterielle Biofilm besteht aus einem schützenden Mantel aus bakterieneigenen Proteinen und Zuckern, welcher vor Einwirkungen von außen schützt. Durch diese selbst gebildete Matrix können sich die Bakterien ungehindert

vermehrten. Darüber hinaus sind die Bakterien durch den Film nahezu resistent gegenüber Antibiotika, Desinfektionsmittel sowie Phagozytose.^[83,84] So ist für eine Penetration der Antibiotika im Biofilm eine 100 – 1000-fach höhere Konzentration notwendig als normalerweise der Wirkspiegel im Blut beträgt.^[80,85,86] Die Bildung des Biofilmes wird durch materialspezifische Eigenschaften wie das Ausgangsmaterial selbst,^[87–89] die Rauigkeit,^[90] die Oberflächenladung^[91] sowie die Hydrophobizität^[91,92] beeinflusst und kann in fünf Schritte unterteilt werden, die in Abbildung 2.1 dargestellt sind.^[93]

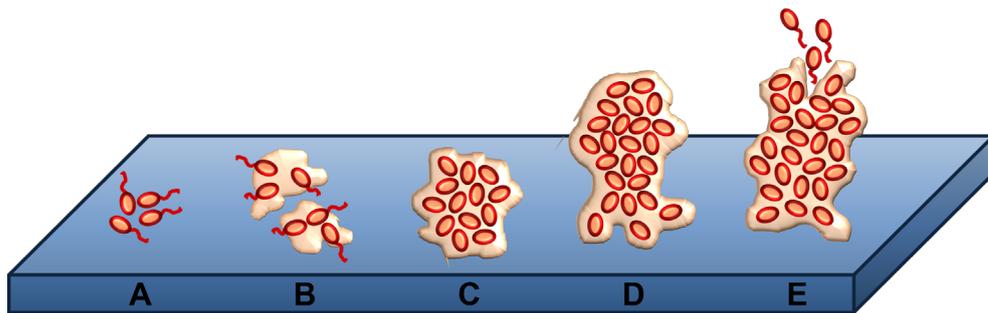


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung zur Bildung eines Biofilmes auf einer Oberfläche. (A) initiale Adhäsion, (B) irreversible Adhäsion, (C) Reifephase I, (D) Reifephase II, (E) Dispersion. Nach ^[93].

Im ersten Schritt, der initialen Adhäsion (A), werden Bakterien auf der Implantatoberfläche angelagert. Hierbei müssen die jeweiligen Keime für eine Anlagerung nahe genug an der Oberfläche des Implantatmaterials sein. Basierend auf einem Gleichgewicht zwischen Van-der-Waals-Kräften und anziehenden oder repulsiven elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Substratoberfläche und Keim wird die Anlagerung der Bakterien begünstigt.^[10] Im nächsten Schritt, der irreversiblen Adhäsion (B), erfolgt durch Rezeptor-vermittelte Wechselwirkungen zwischen Bakterium und Implantatoberfläche die Anbindung weiterer Mikroorganismen. In den Reifephase I und II (C und D) wird durch Differenzierung der Bakterien mittels Veränderung des genetischen Expressionsmusters die Überlebenschance erhöht. Dieser Prozess, welcher als „*Quorum Sensing*“ bezeichnet wird, stellt eine Kommunikation der Keime untereinander dar.^[94] Hierbei wird die Sekretion von umhüllenden Matrixsubstanzen eingeleitet, welche als extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) bezeichnet werden. In Abhängigkeit der jeweiligen Mikroorganismen, variiert die Zusammensetzung der EPS, welche im Wesentlichen aus Proteinen, Polysacchariden, bakterieller Desoxyribonukleinsäure (*desoxyribonucleic acid*, DNA) und Glycolipiden besteht. Über Proteine und Enzyme wird

zudem die Verankerung der Biofilme auf der Implantatoberfläche gefördert. Im letzten Schritt, der sogenannten Dispersionsphase (E), sondern die Biofilme Bakterien sowie Biofilmfragmente aus der Matrix ab, welche auf der Implantatoberfläche verteilt werden und durch Wiederholung des Zyklus zur erneuten Biofilmbildung führen. Dadurch wird die Implantatoberfläche möglichst komplett mit dem Biofilm bedeckt, wodurch die Behandlung der Implantat-assoziierten Infektionen zusätzlich erschwert wird.^[93,95]

2.2 Wirkstoff-Targeting

Die gezielte Behandlung von Krankheiten im menschlichen Körper stellt die Mediziner vor große Herausforderungen. Dabei ist insbesondere die systemische Wirkstoffverabreichung nachteilig für den Patienten, da häufig hohe Wirkstoffkonzentrationen notwendig sind, um adäquate Mengen für eine erfolgreiche Behandlung zu gewährleisten. Damit verbunden sind allerdings mögliche unerwünschte Nebenwirkungen, ohne dass überhaupt eine erfolgreiche Therapie gewährleistet ist. Aus diesem Grund gibt es zunehmend Bestrebungen die selektive Behandlung von Krankheiten mittels eines gezielten Wirkstoff-Targetings mit höherer Effizienz bei gleichzeitiger Reduzierung der Nebenwirkungen zu ermöglichen. Für den Transport der Wirkstoffe werden hierbei geeignete Trägersysteme benötigt, die zahlreiche Anforderungen erfüllen müssen. So sollten die Trägersysteme biochemisch inert und folglich ungiftig sowie chemisch und physikalisch stabil unter *in vitro*- und *in vivo*-Bedingungen sein. Aber auch bei biodegradierbaren Materialien sollten die Abbauprodukte keine toxikologischen Eigenschaften besitzen. Die Wirkstoffverteilung sollte auf die anzusteuernenden Zellen, Gewebe oder Organe beschränkt sein und eine gleichmäßige Verteilung sowie eine kontrollierbare und vorhersehbare Freisetzungsrates ohne Einfluss auf die Wirkung des Arzneimittels aufweisen. Zudem sollten die Trägersysteme eine therapeutische Menge an Wirkstoff enthalten und dabei gleichzeitig einen minimalen Verlust an Arzneimittel während dem Transport vorweisen. Darüber hinaus sollten die Wirkstoffträger aber auch biologisch abbaubar sein oder problemlos aus dem Körper entfernt werden können. Abschließend sollte die Herstellung der Trägersysteme auch einfach, reproduktiv und kostengünstig sein.^[96]

Das Wirkstoff-Targeting kann im Allgemeinen in passives Targeting und aktives Targeting unterschieden werden.^[97,98] Das passive Targeting basiert auf den

Verteilungsvorgängen der Trägersysteme im Körper und wird maßgeblich durch den systemischen Blutkreislauf beeinflusst. Nach Applikation der Trägersysteme erfolgt dabei eine Wechselwirkung mit Makrophagen des mononukleären Phagozyten-Systems (MPS), wodurch die Wirkstoffträger über Lunge, Leber und Milz aus dem Körperkreislauf entfernt werden und folglich nicht mehr zur Verfügung stehen.^[99,100] Dieses Prinzip kann allerdings auch zur Anreicherung der Trägersysteme in den Zellen des MPS genutzt werden, um durch passives Targeting die Behandlung von Erkrankungen in gewünschten Organen zu verbessern.^[101] Durch Funktionalisierung der Wirkstoffträger kann die Elimination durch das MPS aber auch verzögert und eine Erhöhung der Blutzirkulationszeit erzielt werden, sodass auch eine Anreicherung der Wirkstoffe in anderen Geweben möglich ist.

Im Gegensatz zum passiven Targeting ist beim aktiven Targeting die Verteilung der Trägersysteme nicht nur auf die Verteilungsvorgänge beschränkt. Stattdessen wird durch eine Modifizierung der Oberfläche der Wirkstoffträger eine gezielte und spezifische Wechselwirkung mit dem zu behandelten Zielgewebe angestrebt.^[96,98] So kann zum Beispiel bei Krebserkrankungen ein Oberflächenmolekül als Zielstruktur dienen, welches überexprimiert auf dem Tumorgewebe vorliegt oder charakteristisch für dieses Gewebe ist.^[102-104] Durch eine Funktionalisierung der Wirkstoffträger können diese gezielt an die Oberflächenmoleküle des Tumorgewebes angebunden werden, wodurch eine gezielte Wirkstoff-Freisetzung und eine Reduzierung der Schädigung von gesundem Gewebe bei der Behandlung ermöglicht wird. Insbesondere in der Onkologie sind bei den Zytostatika die starken unerwünschten Arzneimittelnebenwirkungen auf das gesunde Gewebe limitierend bezüglich der einzusetzenden Dosis und folglich auch limitierend auf die Menge an eingesetztem Zytostatikum, welche effektiv das Tumorgewebe erreichen.

Ein vielversprechender Ansatz für ein effektives Wirkstoff-Targeting ist das sogenannte magnetische Wirkstoff-Targeting (*magnetic drug targeting*, MDT), bei dem magnetische Nanopartikel als Trägersysteme für die Wirkstoffe fungieren und mit Hilfe eines externen angelegten Magnetfeldes zum Zielgewebe geleitet und lokal angereichert werden.^[20,43,45,105] Da magnetische Felder keinen negativen Einfluss auf die meisten biologischen Gewebe haben und die Patienten wenig belastet werden, ist dieses Prinzip eine vielversprechende und elegante Methode.^[40,45] Als sehr gut geeignete magnetische Nanopartikel für das MDT gelten superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (SPIONs) aufgrund ihrer starken Magnetisierung sowie geringen Toxizität.^[106] Neben den Materialeigenschaften der SPIONs ist allerdings die Stärke des magnetischen Feldes ein weiterer essenzieller Faktor für die

erfolgreiche Behandlung mittels MDT, da die Stärke mit zunehmender Distanz zum Magneten deutlich abnimmt und folglich eine geringe Gewebeeindringtiefe des Feldes vorliegt.^[20,107,108] Allerdings können unter Einsatz von Permanentmagneten aus Neodym-Eisen-Bor-Verbindungen Bereiche mit einer Eindringtiefe von 8 – 12 cm magnetisiert werden.^[109] In *in vivo*-Studien konnten zum Beispiel magnetische Nanopartikel in den Nieren von New-Zealand-White-Kaninchen mit Hilfe eines Magnetfeldes mit einer magnetischen Flussdichte von 0.6 T erfolgreich akkumuliert werden.^[106] In einer weiteren Studie wurde ein Permanentmagnet zur Akkumulierung von magnetischen Nanopartikel bei Ratten verwendet. Hierbei wurde der Magnet mit einer magnetischen Flussdichte von 0.2 – 0.3 T auf Höhe der Nieren mit einem Abstand von 10 – 20 mm vom Pol eingesetzt.^[105] Durch den Einsatz von Elektromagneten sind Magnetfelder mit einer wesentlich höheren magnetischen Flussdichte zugänglich. So konnten von Obermeier et al. Magnetfelder mit einer magnetischen Feldstärke von 1.7 T für *in vitro*-Studien zur Anreicherung von magnetischen Nanopartikeln für eine potenzielle effektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen eingesetzt werden.^[43] Die Studien zeigten jedoch einen starken Abfall der Partikelkonzentration bei einer Distanz von 15 mm vom Magnetpol. Aus diesem Grund wird für eine effektive Partikelakkumulation für *in vivo*-Experimente eine Eindringtiefe des magnetischen Feldes von 70 mm empfohlen. Ohne ein ausreichend starkes Magnetfeld besteht die Gefahr eines frühzeitigen Abtransportes aus dem Zielgewebe durch den Blutfluss.^[38]

Zur Verbesserung der selektiven Behandlung speziell für Implantat-assoziierten Infektionen im Rahmen des MDT stellt das weiterentwickelte Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (*implant-directed magnetic drug targeting*, ID-MDT) einen vielversprechenden Ansatz dar. Neben dem Einsatz von magnetischen Nanopartikeln als Wirkstoffträger und einem externen angelegten magnetischen Feld, werden zur Überwindung der Blutflusskräfte und zur effizienteren Akkumulation der Partikel magnetisierbare Implantate verwendet.^[40–44] Dabei werden die magnetisierbaren Implantate durch das externe Magnetfeld selbst magnetisch, sodass durch einen starken Feldgradienten die Anziehung und somit Anreicherung der ebenfalls magnetisierten Partikel auf dem Implantat gefördert wird.^[45–47] Das Prinzip des ID-MDT zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen unter Einsatz von multifunktionalen magnetischen Silica-Nanopartikeln als potenzielle Wirkstoffträger ist schematisch in Abbildung 2.2 dargestellt.^[52–54]

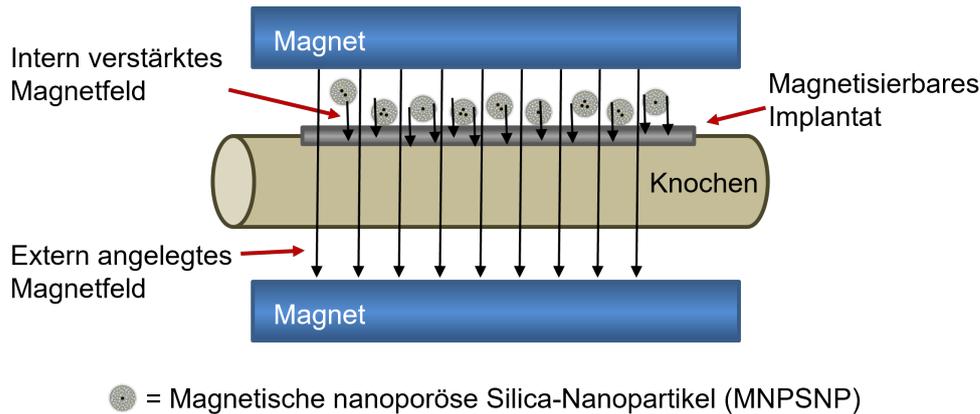


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung des Implantat-dirigierten magnetischen Wirkstoff-Targetings (ID-MDT). Magnetische nanoporöse Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) werden als Wirkstoffträger in Kombination mit magnetisierbaren Implantaten sowie einem externen angelegten magnetischen Feld zur effektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen eingesetzt.

Die Anreicherung von Wirkstoff-beladenen Partikeln mit Hilfe von magnetisierbaren Implantaten in Form von Gefäßprothesen wurde bereits von Makhudov et al. in *in vivo*-Versuchen bei Hunden vorgestellt.^[110] In Arbeiten von Mangual et al. wurden magnetische Nanopartikel als magnetisches Material eingesetzt, um Träger-Partikel zielgerichtet zu akkumulieren.^[41] Eine Verbesserung des Wirkstoff-Targetings wurde auch von Yellen et al. mit Hilfe von magnetischen Nanopartikeln und magnetisierbaren Netzen im kardiovaskulären System beschrieben.^[40] Hierbei wurde auch der Einfluss des Blutflusses durch die nicht zu unterschätzende Strömungsgeschwindigkeit untersucht, dem die Partikelsysteme in den Blutgefäßen ausgesetzt sind. Im Blut befinden sich die Partikel in einer Umgebung mit einer hohen Konzentration an Erythrozyten, welche in diesem Falle ca. 24-fach größer sind. Die Trägersysteme sind folglich aufgrund der Zellen einem starken Widerstand ausgesetzt und werden leicht aus dem Zielgebiet mitgerissen. Für ein erfolgreiches ID-MDT sind somit ausreichend starke magnetische Kräfte erforderlich, um die Blutflusskräfte zu überwinden und die Bewegungsrichtung der Wirkstoffträger gezielt zu steuern.^[111] In Kapillaren des Blutkreislaufes liegen Strömungsgeschwindigkeiten von ca. $0.5 - 1.5 \text{ mm s}^{-1}$ vor.^[112] Dagegen können in Arterien Strömungsgeschwindigkeit von bis zu 100 cm s^{-1} vorliegen.^[113] Die Arbeiten von Yellen et al. zeigten allerdings eine erfolgreiche Akkumulation von magnetischen Nanopartikeln in Gefäßen der Größe von Koronararterien am Herzen.^[40] Obermeier et al. erzielten eine erfolgreiche Anreicherung von magnetischen Nanopartikeln bei einer Flussrate von 260 mL min^{-1} , welche ähnlich zum physiologischen Blutfluss ist.^[43] Die Arbeiten mit den vielsprechenden Ergebnissen

bezüglich der Anreicherung der magnetischen Nanopartikel in Kombination mit einem externen magnetischen Feld und magnetisierbaren Implantatmaterialien zeigen das große Potential des ID-MDT.

2.3 Magnetische Nanopartikel

Für die Anwendung des magnetischen Wirkstoff-Targetings (MDT) und speziell des Implantat-dirigierten magnetischen Wirkstoff-Targetings (ID-MDT) sind Wirkstoffträgersysteme mit magnetischen Eigenschaften notwendig, um diese über ein externes angelegtes magnetisches Feld am Zielort für die selektive Behandlung zu akkumulieren. Zu diesem Zweck werden magnetische Nanopartikel eingesetzt. Im Allgemeinen weisen Nanopartikel eine Größe von 1 – 100 nm auf und unterscheiden sich aufgrund ihrer nanoskaligen Größe deutlich in ihren physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften gegenüber denen des Bulkmaterials.^[114–116] Die Veränderungen der Eigenschaften bei Nanopartikeln basieren auf dem Oberflächen- und Volumeneffekt. Im Vergleich zum Bulkmaterial haben die Partikel eine hohe spezifische Oberfläche und folglich eine hohe Anzahl an Oberflächenatomen. Die relative Anzahl an Oberflächenatomen steigt mit abnehmender Partikelgröße. Da die äußeren Atome verglichen mit den inneren Atomen weniger nächste Nachbarn aufweisen, mit denen sie in Wechselwirkung treten können, liegen die Oberflächenatome in einem erhöhten energetischen Zustand vor. Durch diesen Oberflächeneffekt besitzen Nanopartikel eine höhere Reaktivität. Der Volumeneffekt resultiert aus der Tatsache, dass in Nanopartikeln relativ wenige Atome vorhanden sind. Dadurch verringert sich auch die Anzahl an Elektronen gegenüber grobkörnigeren Teilchen aus dem Bulkmaterial. Somit vergrößert sich der Abstand zwischen den einzelnen Energieniveaus, sodass diskrete Niveaus und kein quasi kontinuierlicher Zustand im Festkörper mehr vorliegen. Der Volumeneffekt hat hierbei großen Einfluss auf optische und magnetische Eigenschaften in Nanomaterialien und ist folglich von wichtiger Bedeutung für magnetische Nanopartikel.^[117,118] Aufgrund der hohen Biokompatibilität und guten Biodegradierbarkeit werden magnetische Nanopartikel zunehmend in der Medizin und Biologie für Wirkstoff-Targeting,^[119,120] Bildgebung,^[121,122] Zell-Tracking und Zell-Markierung,^[123,124] magnetischer Trennung^[125,126] sowie Hyperthermie eingesetzt.^[127,128] Hierfür stehen zahlreiche magnetische Materialien wie klassischen Eisenoxide, Magnetit (Fe_3O_4) und Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), sowie auch

Nanopartikel aus Eisen-Platin-Legierungen und Ferrite wie ZnFe_2O_4 zur Verfügung.^[117,129] Für biomedizinische Anwendungen werden vorrangig Magnetit und Maghemit eingesetzt.^[130,131] Für die Anwendung des ID-MDT unter Einsatz von magnetischen Nanopartikeln werden in den folgenden Kapiteln der Magnetismus mit den unterschiedlichen Arten einschließlich dem Superparamagnetismus sowie die Hyperthermie detaillierter beschrieben. Darüber hinaus werden die Eisenoxide sowie deren Herstellungs- und Stabilisierungsmöglichkeiten als Nanopartikel näher betrachtet, da diese in der vorliegenden Arbeit als Kernmaterial für die magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln dienen.

2.3.1 Magnetismus

Die magnetischen Eigenschaften eines Materials beruhen auf zwei Phänomenen, aus dem Kernmagnetismus und dem Magnetismus des Elektrons. Das magnetische Feld des Kernmagnetismus beruht auf den Elektronen um den Atomkern, welche ein magnetisches Moment besitzen. Betroffen hiervon sind die p-, d- und f-Elektronen eines Elementes, da diese einen Bahndrehimpuls aufweisen. Der Magnetismus des Elektrons basiert auf dem Eigendrehimpuls (Spin) und dem magnetischen Spinnmoment, folglich dem Spindrehimpuls. Dabei koppeln die Bahn- und Spindrehimpulse der Elektronen in Atomen, Ionen und Molekülen miteinander zu einem Gesamtdrehimpuls, woraus der magnetische Gesamtmoment resultiert.^[132-134]

Bei Betrachtung der magnetischen Flussdichte B , welche auch als Magnetfeld bezeichnet wird und durch einen Permanentmagneten oder eine stromdurchflossene Spule gebildet werden kann, und der magnetischen Feldstärke H liegt in Kombination mit der magnetischen Feldkonstante μ_0 im Vakuum folgender Zusammenhang in Gleichung (1) vor.

$$B = \mu_0 \cdot H \quad (1)$$

Durch Einbringen von Materie mit der Magnetisierung M in dieses magnetische Feld wird die magnetische Flussdichte B durch Gleichung (2) dargestellt.

$$B = \mu_0 \cdot (H + M) \quad (2)$$

Die Magnetisierung M ist auch das mittlere magnetische Moment pro Volumeinheit. In einem externen angelegten Magnetfeld dient die sogenannte magnetische Suszeptibilität χ zur Charakterisierung der Magnetisierbarkeit von Materie. Die Abhängigkeit der Magnetisierung M von der magnetischen Feldstärke H und der magnetischen Suszeptibilität χ wird durch Gleichung (3) beschrieben.

$$M = \chi \cdot H \quad (3)$$

Abhängig vom Verhalten in einem Magnetfeld und der magnetischen Suszeptibilität werden Stoffe in unterschiedliche Klassen unterteilt. Wenn die magnetischen Suszeptibilitäten unabhängig von der Magnetfeldstärke sind, so liegt diamagnetisches oder paramagnetisches Verhalten vor. Bei einer Abhängigkeit der magnetischen Suszeptibilität von der Magnetfeldstärke besitzen die Stoffe kooperative magnetische Eigenschaften. Abhängig von der Anordnung der Spins wird hierbei noch in ferro-, antiferro- oder ferrimagnetische Stoffe unterschieden.^[132–134]

Bei diamagnetischen Materialien ist die Magnetisierung M der magnetischen Feldstärke H entgegengerichtet. Dadurch wird ein externes angelegtes Magnetfeld nach außen verdrängt und abgeschwächt wie es in Abbildung 2.3 links schematisch dargestellt ist.

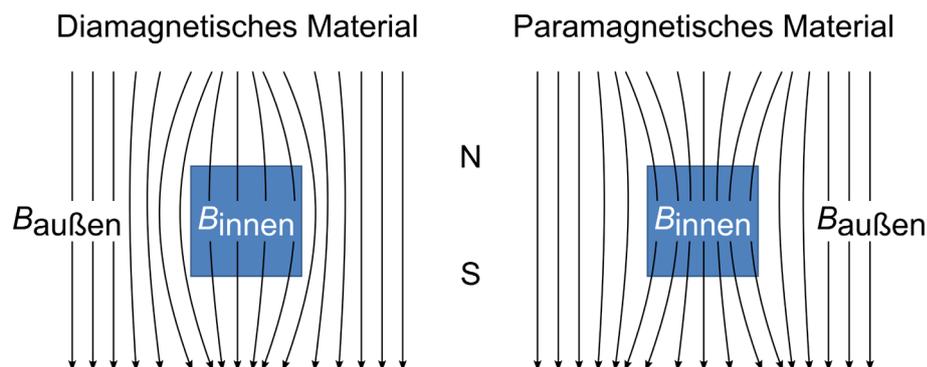


Abbildung 2.3: Verhalten von diamagnetischem und paramagnetischem Material in einem externen angelegten Magnetfeld. Links: Diamagnetisches Material. Rechts: Paramagnetisches Material. Nach ^[132].

Diamagnetismus tritt bei Atomen, Molekülen oder Ionen mit abgeschlossenen Elektronenschalen und gepaarten Elektronen auf. Da sich die magnetischen Momente der gepaarten Elektronen gegenseitig kompensieren, liegt folglich kein Gesamtdrehimpuls vor.

Aufgrund der Abwesenheit weiterer Momente resultiert eine Abnahme der Feldstärke und die Suszeptibilität bei diamagnetischen Stoffen ist negativ. Diamagnetische Eigenschaften sind in allen Stoffen vorhanden, jedoch werden sie leicht von stärkeren Magnetismusformen überdeckt. Edelgase sowie alle Stoffe mit edelgasähnlichen Ionen, wie z.B. K^+ , Ca^{2+} , Cl^- und S^{2-} oder edelgasähnlichen Atomen, wie sie bei den meisten organischen Verbindungen vorkommen, besitzen diamagnetische Eigenschaften.^[129,132–134]

Beim sogenannten Paramagnetismus weisen die Atome, Moleküle oder Ionen ungepaarte Elektronen auf. Dabei ist die Magnetisierung M und die magnetische Feldstärke H gleich ausgerichtet und die Feldlinien werden nach innen gezogen, was basierend auf dem Gesamtdrehimpuls zu einer Verstärkung der magnetischen Eigenschaften führt. Das Verhalten von paramagnetischen Materialien in einem externen angelegten magnetischen Feld ist schematisch in Abbildung 2.3 rechts dargestellt. Paramagnetische Stoffe besitzen eine geringe positive Suszeptibilität, welche im Gegensatz zur diamagnetischen Suszeptibilität temperaturabhängig ist und mit steigender Temperatur abnimmt. Zu den Stoffen mit paramagnetischen Eigenschaften zählen Sauerstoff (O_2), einige Nichtmetallverbindungen, wie z.B. NO , NO_2 und ClO_2 , aber auch Metalle wie Natrium oder Aluminium und zahlreiche Verbindungen der Übergangsmetalle.^[129,132–134]

In ferromagnetischen Materialien liegt eine Austauschwechselwirkung der magnetischen Momente in den Atomen, Molekülen oder Ionen untereinander vor. Bei diesem kooperativen Phänomen sind die magnetischen Momente in einem bestimmten Bereich parallel ausgerichtet. Diese Bereiche mit gleicher Magnetisierung werden als magnetische Domänen oder auch Weiss-Bezirke bezeichnet, welche durch sogenannte Bloch-Wände voneinander abgegrenzt sind. Dabei ist die Ausrichtung der Weiss-Bezirke zunächst zufällig. Unter Einfluss eines externen angelegten magnetischen Feldes mit der Feldstärke H , erfolgt jedoch eine Ausrichtung der magnetischen Domänen in Magnetfeldrichtung, was zu einer Erhöhung der Magnetisierung M des betreffenden Materials führt. Der Einfluss der magnetischen Feldstärke H auf die Magnetisierung M wird in Abbildung 2.4 anhand einer Magnetisierungskurve verdeutlicht. In der Magnetisierungskurve steigt die Magnetisierung M mit zunehmender magnetischer Feldstärke des externen angelegten Magnetfeldes bis zu einem Maximum, der sogenannten Sättigungsmagnetisierung M_S , an dem mit der Feldstärke H_S eine vollständige Elektronenspinausrichtung vorliegt. Durch Entfernung des externen Magnetfeldes und

folglich Reduzierung der magnetischen Feldstärke H auf Null, weist die Magnetisierung nicht den gleichen Verlauf wie die ursprüngliche Neukurve auf. Stattdessen verläuft die Magnetisierungskurve entlang einer Hystereseschleife, wie sie in Pfeilrichtung in Abbildung 2.4 dargestellt ist. Bei einer Feldstärke $H = 0$ liegt hierbei eine Restmagnetisierung vor, bei der das ferromagnetische Material Eigenschaften eines Permanentmagneten aufweist. Die Restmagnetisierung wird auch als Remanenzmagnetisierung M_R oder auch kurz Remanenz bezeichnet. Diese Remanenz kann erst durch ein externes entgegengesetzt gerichtetes Magnetfeld mit der Feldstärke $-H$ aufgehoben werden. Bei der sogenannten Koerzitivfeldstärke $-H_C$ besitzt die Magnetisierung $M = 0$ und das Material ist unmagnetisch. Durch weitere Erhöhung der Feldstärke $-H$ wird bei der Stärke $-H_S$ die negative Sättigungsmagnetisierung $-M_S$ erreicht. Wird durch Umkehrung des Magnetfeldes wieder die Feldstärke verringert und anschließend in positive Richtung sukzessive wieder vergrößert, so verläuft die Magnetisierungskurve eines ferromagnetischen Stoffes, wie in Abbildung 2.4 dargestellt, in Pfeilrichtung von $-M_S$ wiederum zu M_S .^[129,132–134]

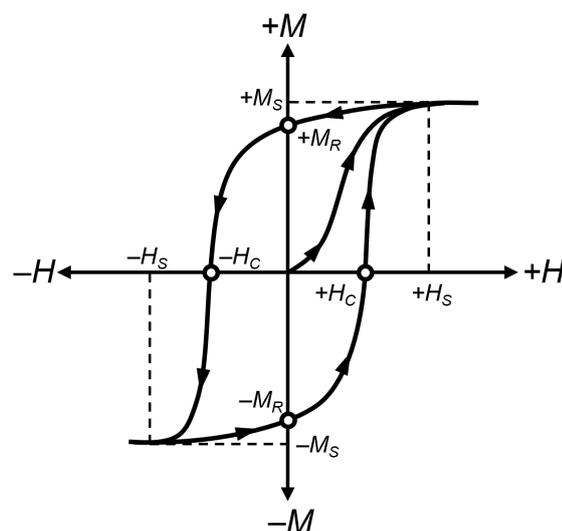


Abbildung 2.4: Magnetisierungskurve eines ferromagnetischen Materials. H : magnetische Feldstärke. M : Magnetisierung. M_S : Sättigungsmagnetisierung. M_R : Remanenzmagnetisierung. H_C : Koerzitivfeldstärke. Nach ^[132].

Bei ferromagnetischen Materialien wird auch zwischen hartmagnetischen und weichmagnetischen Stoffen unterschieden. Bei sogenannten Hartmagneten haben die Materialien eine hohe Remanenzmagnetisierung sowie eine hohe Koerzitivfeldstärke.

Folglich liegt bei Hartmagneten eine breite Hystereseschleife vor. Weichmagnetische Stoffe besitzen unter Einfluss eines externen angelegten magnetischen Feldes eine geringe Remanenzmagnetisierung sowie Koerzitivfeldstärke und dadurch eine schmale Hystereseschleife. Die Suszeptibilität von Stoffen mit Ferromagnetismus, wie z.B. Eisen, Cobalt, Nickel oder Gadolinium, ist im Gegensatz zu paramagnetischen Materialien ca. sieben bis zehn Größenordnungen stärker. Ähnlich wie beim Paramagnetismus sinkt die magnetische Suszeptibilität mit steigender Temperatur. Je nach Material wird die energetisch günstige parallele Ausrichtung der magnetischen Momente innerhalb der Weiss-Bezirke bei einer bestimmten Temperatur, der sogenannten Curie-Temperatur, gestört. Bei dieser stoffspezifischen Temperatur verliert der Ferromagnet seine magnetische Eigenschaft und geht in einen paramagnetischen Zustand über.^[129,132-134]

Neben dem Ferromagnetismus besitzen auch der Antiferromagnetismus sowie der Ferrimagnetismus kooperative Eigenschaften. Allerdings liegt bei allen drei Phänomenen eine unterschiedliche Spinanordnung vor, die zur Veranschaulichung in Abbildung 2.5 dargestellt sind.

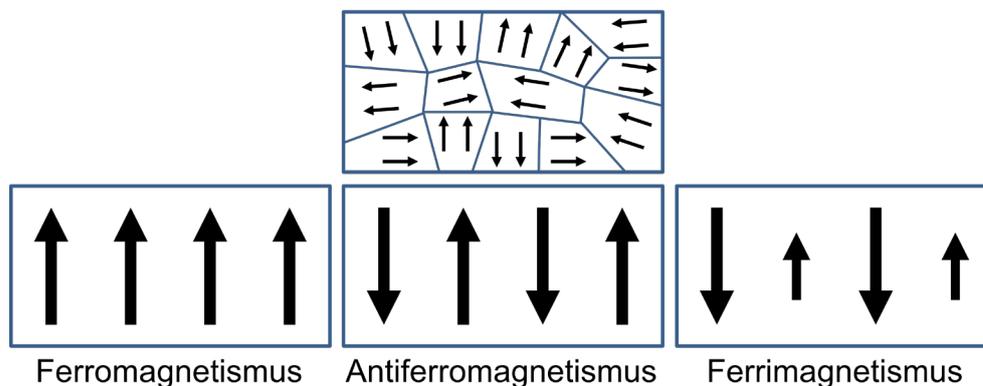


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung der Anordnungsmöglichkeiten der magnetischen Momente. Oben Mitte: Weiss-Bezirke in einem ferromagnetischen Material. Links: Ferromagnetismus. Unten Mitte: Antiferromagnetismus. Rechts: Ferrimagnetismus. Nach ^[132].

Anders als beim Ferromagnetismus (Abbildung 2.5 links), bei dem alle Spinmomente in einem Weiss-Bezirk parallel ausgerichtet sind, liegen beim Antiferromagnetismus auch antiparallel ausgerichtete Spins vor (Abbildung 2.5 unten Mitte). Dabei gleicht die Anzahl der parallel ausgerichteten Spins der Anzahl der antiparallel ausgerichteten Spins und durch die antiparallele Kopplung der Spinmomente liegt keine Magnetisierung vor. Dieses Phänomen kann bei antiferromagnetischen Materialien durch Überschreiten der

sogenannten Néel-Temperatur aufgehoben werden. Oberhalb dieser Temperatur wird die antiparallele Kopplung der Spinmomente unterbrochen und es resultiert paramagnetisches Verhalten. Beispiele für antiferromagnetische Materialien sind die Eisenverbindungen Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), Wüstit (FeO) und Goethit ($\alpha\text{-FeO(OH)}$) sowie viele Übergangsmetalle und deren Oxide.^[129,132–134]

Materialien mit ferrimagnetischen Eigenschaften verhalten sich ähnlich wie antiferromagnetische Materialien hinsichtlich der Ausrichtung der magnetischen Momente. Neben parallel ausgerichteten Momenten liegen auch hier antiparallel ausgerichtete Spins vor. Allerdings ist in den Weiss-Bezirken der Betrag der antiparallel ausgerichteten Spins ungleich groß gegenüber den parallel ausgerichteten Momenten, sodass die Sättigungsmagnetisierung kleiner als bei ferromagnetischen Materialien ist (Abbildung 2.5 rechts). Ähnlich wie bei Ferromagnetika ist auch bei ferrimagnetischen Stoffen bei Anlegen eines externen magnetischen Feldes ein Hysterese-Verhalten möglich und bei Überschreitung der stoffspezifischen Curie-Temperatur erfolgt ein Übergang in eine paramagnetische Phase. Zu den ferrimagnetischen Materialien zählen zum Beispiel die Ferrite wie Magnetit (Fe_3O_4), Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) und Cobaltferrit (CoFe_2O_4).^[129–134]

Die beschriebenen Magnetismusarten basieren auf den jeweiligen Bulk-Materialien. Die magnetischen Eigenschaften eines Stoffes sind stark von der Korn- bzw. Partikelgröße abhängig. Durch Verkleinerung der Partikelgröße folgt auch eine Reduzierung der Anzahl an Weiss-Bezirken. Dadurch resultiert eine Verringerung der magnetischen Domänen, was wiederum zu einem Anstieg der Koerzitivfeldstärke und Senkung der Suszeptibilität führt. Die Bildung von Bloch-Wänden ist unterhalb einer kritischen, stoffspezifischen Korngröße energetisch ungünstig. Dadurch entstehen nanoskalige Einzeldomänen-Kristallite, welche voneinander getrennt vorliegen und parallel ausgerichtete magnetische Momente aufweisen.^[129–131] Dieses Phänomen ist zusammen mit der Abhängigkeit der Koerzitivfeldstärke von der Partikelgröße in Abbildung 2.6 veranschaulicht. Nanopartikel solcher Materialien besitzen in diesem Fall sogenannten Superparamagnetismus. Hierbei liegt bei einem ferro- oder ferrimagnetischen Stoff aufgrund seiner nanoskaligen Domänen Paramagnetismus-artiges Verhalten vor, allerdings wird auch deren charakteristische ferromagnetische Sättigungsmagnetisierung erreicht. Anders als bei Bulk-Ferromagneten weisen die Nanopartikel bei Entfernung eines externen angelegten Magnetfeldes keine Restmagnetisierung auf.^[129–131] Eine charakteristische Magnetisierungskurve von superparamagnetischem Material ohne Remanenz ist Abbildung 2.7 dargestellt.

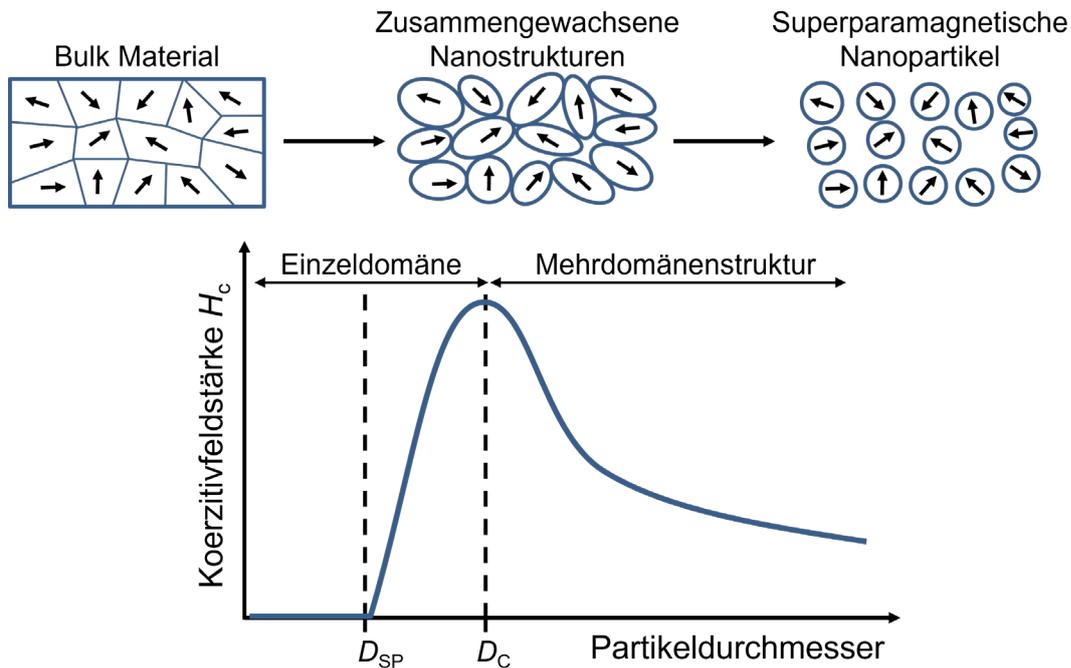


Abbildung 2.6: Oben: Vergleich der magnetischen Momente vom Bulk-Material über zusammengewachsene Strukturen zu superparamagnetischen Nanopartikeln. Unten: Abhängigkeit der Koerzitivfeldstärke H_c vom Partikeldurchmesser. D_{SP} : superparamagnetischer Durchmesser. D_C : kritischer materialabhängiger Durchmesser. Nach ^[131].

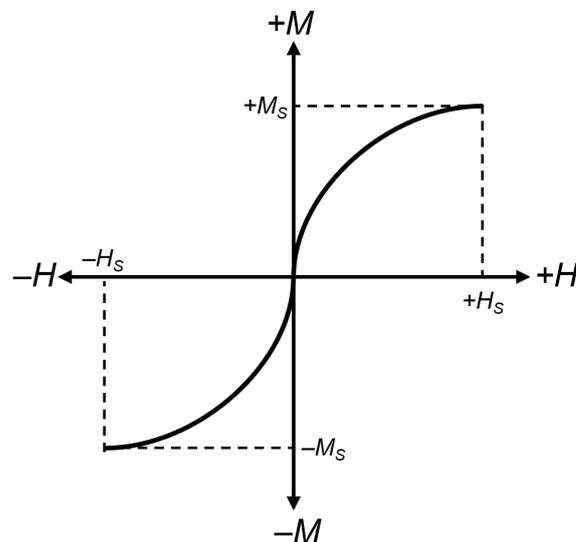


Abbildung 2.7: Magnetisierungskurve eines superparamagnetischen Materials. H : magnetische Feldstärke. M : Magnetisierung. M_s : Sättigungsmagnetisierung. H_c : Koerzitivfeldstärke. Nach ^[131].

Superparamagnetismus tritt bei ferrimagnetischen Materialien aus Eisenoxid ab einer Partikelgröße von unter 30 nm und unterhalb der Curie-Temperatur auf. Speziell

Eisenoxid-Nanopartikel mit diesen magnetischen Eigenschaften werden auch als SPIONs (*superparamagnetic iron oxide nanoparticles*) bezeichnet.^[130,135]

Werden superparamagnetische Nanopartikel anstelle eines magnetischen Gleichfeldes einem magnetischen Wechselfeld mit ausreichender Frequenz ausgesetzt, so besitzen diese Materialien eine weitere, für die Biomedizin interessante Eigenschaft, die sogenannte Hyperthermie. Bei diesem Phänomen erfolgt eine Temperaturerhöhung durch die magnetischen Nanopartikel unter Einfluss des Wechselfeldes. Hierbei erfolgt durch das Wechselfeld eine wiederholende Umkehrung der Magnetisierung, bei der die magnetische Energie in Wärmeenergie umgewandelt wird, welche wiederum direkt an die betroffene Umgebung abgegeben wird. Diese Wärmeerzeugung ist durch die Néel-Relaxation und die Brown-Relaxation begründet, welche schematisch in Abbildung 2.8 dargestellt sind.

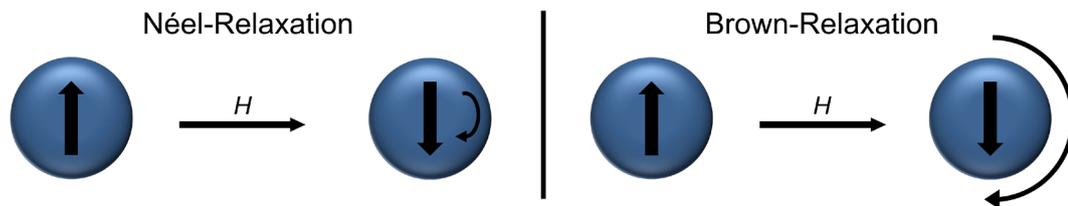


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung der Mechanismen zur Hyperthermie von superparamagnetischen Nanopartikeln unter Einfluss eines externen angelegten magnetischen Wechselfeldes. Links: Néel-Relaxation. Rechts: Brown-Relaxation. Nach ^[131].

Bei der Néel-Relaxation wird durch das Wechselfeld eine Rotation der magnetischen Momente in den superparamagnetischen Nanopartikeln induziert. Diese Relaxation hängt zum einen von der intrinsischen Anisotropie, also vom Material, der Oberfläche und der Form und zum anderen vom Volumen der superparamagnetischen Nanopartikel ab. Diese Faktoren sind entscheidend für die benötigte Energie zur Umkehrung der Magnetisierung. Bei der Brown-Relaxation wiederum erfolgt im magnetischen Wechselfeld eine physikalische Rotation der superparamagnetischen Nanopartikel selbst. Bei diesem Mechanismus ist die Kapazität des Partikels zur Umkehrung der Magnetisierung durch physikalische Rotation im ausgesetzten Medium entscheidend. Die Rotation des Partikels wird hierbei durch die Viskosität des Mediums sowie dem hydrodynamischen Radius des Partikels bestimmt, wozu neben dem magnetischen Kernmaterial auch jegliche Art von organischem oder anorganischem Schalenmaterial beiträgt. Beide Relaxations-Mechanismen beeinflussen zusammen die Hyperthermie eines superparamagnetischen Nanopartikels im magnetischen Wechselfeld. Insbesondere für biomedizinische

Anwendungen haben superparamagnetische Nanopartikel aufgrund ihrer Hyperthermie-Eigenschaften großes Potential im Bereich der Krebstherapie sowie des Wirkstoff-Targetings in Kombination mit einer wärmeinduzierten Wirkstofffreisetzung durch ein externes angelegtes magnetisches Wechselfeld als Stimulus.^[77,131,136,137]

2.3.2 Eisenoxid-Nanopartikel

Für die magnetischen nanoporöse Silica-Nanopartikel als Wirkstoffträgersysteme für das ID-MDT werden superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (SPIONs) in Form von Magnetit als magnetische Kerne eingesetzt. Die Verwendung von magnetischen Nanopartikeln wurde in den vergangenen Jahrzehnten intensiv untersucht und der Einsatz wurde in medizinischen Anwendungen wie z.B. bildgebende Verfahren, Krebstherapie oder Drug-Delivery-Systeme etabliert.^[138–140] Insbesondere SPIONs aus Magnetit (Fe_3O_4) bzw. Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) zeichnen sich durch eine sehr gute Biokompatibilität, starke magnetische Eigenschaften sowie einer hohen Vielseitigkeit an Funktionalisierungsmöglichkeiten im Hinblick auf die Weiterverwendung als Kompositmaterial für biomedizinische Anwendungen aus. Unterhalb einer Partikelgröße von 30 nm weisen diese Eisenoxid-Nanopartikel superparamagnetische Eigenschaften auf, bei denen nach Entfernen eines externen angelegten Magnetfeldes keine Restmagnetisierung und folglich das Risiko einer Agglomeration dieser NPs vorliegt.^[130,131,135] Die Strukturen von Magnetit und Maghemit sind in Abbildung 2.9 dargestellt.

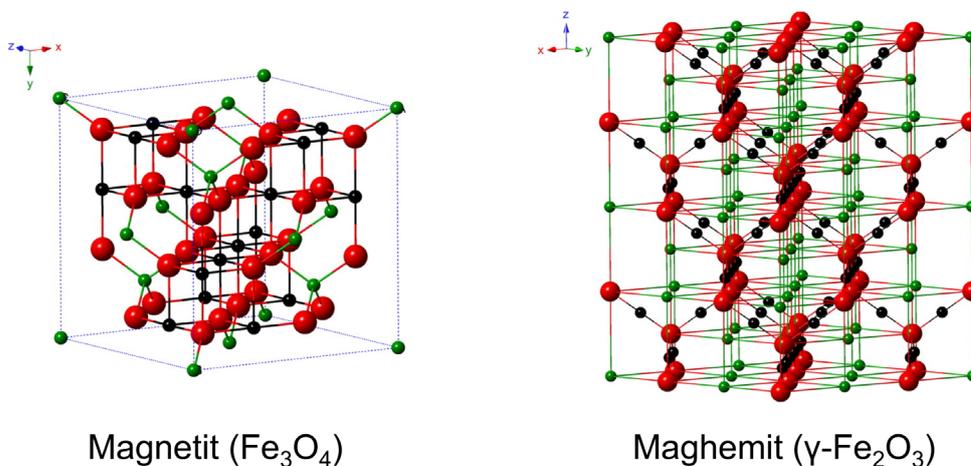


Abbildung 2.9: Struktur von Magnetit (Fe_3O_4) (links) und Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (rechts). Schwarze Kugeln: Fe^{2+} . Grüne Kugeln: Fe^{3+} . Rote Kugeln: O^{2-} . Nach ^[141].

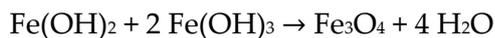
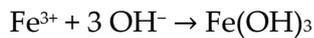
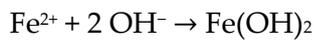
Magnetit (Fe_3O_4) ist ein schwarzes Mischoxid aus Eisen(II)- und Eisen(III)-Ionen mit ferrimagnetischen Eigenschaften. Dieses Eisenoxid kristallisiert in der inversen Spinellstruktur, bei der die Oxid-Ionen eine kubisch dichteste Kugelpackung bilden. Die Hälfte der Oktaederlücken wird durch Eisen(II)-Ionen besetzt. Dagegen werden je zur Hälfte die Tetraederlücken und Oktaederlücken durch Eisen(III)-Ionen belegt. Basierend darauf kann die Formel für Magnetit folglich auch als $\text{Fe}_T^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}^{\text{III}}]_O\text{O}_4$ (T = Tetraederumgebung, O = Oktaederumgebung) beschrieben werden.^[141,142]

Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) besitzt ebenfalls ferrimagnetischen Eigenschaften und hat eine ähnliche Struktur wie Magnetit. Allerdings liegt hier im Vergleich zum Magnetit nahezu ausschließlich Eisen(III)-Ionen vor. Jede Elementarzelle des Maghemits ist aus 32 Oxid-Ionen, $21\frac{1}{3}$ Eisen(III)-Ionen sowie $2\frac{1}{3}$ Leerstellen aufgebaut. Die Oxid-Ionen bilden auch hier eine kubisch dichteste Packung. Die Eisen(III)-Ionen besetzen alle Tetraederlücken sowie zufällig die restlichen Oktaederlücken. Mittels der Leerstellen in den Oktaederlücken wird der Ladungsunterschied durch die oxidierten Eisen(II)-Ionen kompensiert. Maghemit kann hierbei auch als vollständig oxidiertes Magnetit angesehen werden. Eine Rückreaktion von Maghemit zu Magnetit ist über eine Erhitzung bei $200\text{ }^\circ\text{C}$ im Vakuum möglich.^[132,141]

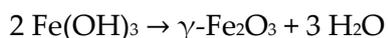
Für die Herstellung von SPIONs können grundsätzlich zwei Methoden angewendet werden, die *Top-Down*- und die *Bottom-Up*-Methode.^[130] Bei der *Top-Down*-Methode werden makroskopische Materialien durch Mahl- oder Ätzprozesse oder Laserablation zerkleinert. Ein großer Nachteil dieser Methode besteht allerdings in einer resultierenden breiten Größenverteilung sowie Aggregation der SPIONs, welche die magnetischen Eigenschaften stark beeinflussen. Bei der *Bottom-Up*-Methode wiederum werden kleinere Vorläuferverbindungen über unterschiedliche Synthesewege zu Nanomaterialien mit kontrollierten Partikelgrößen, Formen sowie Oberflächeneigenschaften umgesetzt. Zu den *Bottom-Up*-Methoden zählen zum Beispiel die Elektronenstrahlolithographie, Sprühpolymerisation sowie die chemische Gasphasenabscheidung (*chemical vapor deposition*, CVD).^[143–146] Bei diesen Ansätzen sind allerdings die Partikelausbeuten sehr gering und die Herstellungsprozesse sehr kostenintensiv.^[147] Für die Herstellung von höheren Ausbeuten stehen chemische Techniken wie die Co-Präzipitations-Methode,^[148–153] die Mikroemulsions-Methode,^[154,155] Sol-Gel-Reaktionen,^[156] Hydrothermal-Reaktionen,^[157–159]

aber auch Hochtemperatursynthesen,^[160-162] Ultraschall-Methoden^[163] und biologische Synthesen^[164] zur Verfügung.

Für die Synthese der superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel als Kernmaterial für die magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) wird die sogenannte Massart-Methode eingesetzt.^[165] Bei dieser Co-Präzipitations-Methode werden unter Inertgas-Atmosphäre und alkalischen Bedingungen mit Hilfe von Eisen(II)- und Eisen(III)-Salzen SPIONs hergestellt. Dabei können als Eisen-Präkursoren entsprechende Chloride, Sulfate oder Nitrate verwendet werden. Als Basen dienen Ammoniumhydroxid, Natriumhydroxid oder auch Methylamin. Die Massart-Methode kann durch folgende Reaktionen beschrieben werden.^[166]



Bei der Massart-Reaktion wird eine vollständige Präzipitation von Fe_3O_4 zwischen $\text{pH} = 9$ und 14 mit einem molaren Verhältnis für Fe(III) und Fe(II) von 2:1 bei einer nicht oxidierenden sauerstofffreien Umgebung erwartet. In Gegenwart von Sauerstoff ist Fe_3O_4 nicht sehr stabil. Dabei erfolgt eine Umwandlung zu $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, welches durch folgende Reaktionen dargestellt werden kann.^[166]



Zur Prävention dieser Oxidation des Magnetits zum Maghemit wird mittels Stickstoff-Strom in der Reaktionslösung eine sauerstofffreie Umgebung vorgelegt. Zudem wird durch den Stickstoff die Partikelgröße reduziert.^[167,168]

Bei der Co-Präzipitations-Methode sind für die Herstellung von monodispersen Nanopartikeln der Keimbildungs- und der Wachstumsprozess von entscheidender Bedeutung. Diese beiden Prozesse wurden von LaMer et al. zur Beschreibung von Kristallisationsprozessen und Fällungsreaktionen aus wässrigen Medien beschrieben.^[169] In diesem Modell werden bei der Fällungsreaktion die Keimbildungs- und Wachstumsphase getrennt voneinander betrachtet. Für eine enge Partikelgrößenverteilung sind hierbei eine

kurze Keimbildung (Nukleation) und ein langsames Wachstum ohne weitere Nukleation wichtig. Zur Veranschaulichung ist das sogenannte LaMer-Diagramm in Abbildung 2.10 dargestellt, in welchem der gesamte Prozess in drei Phasen unterteilt ist.

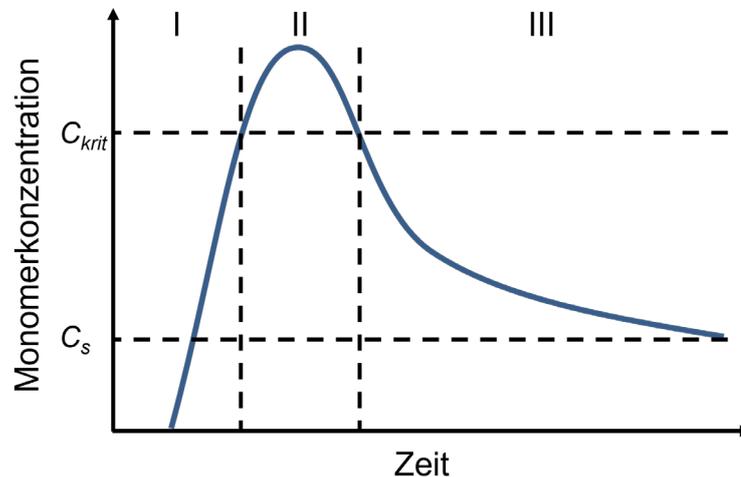


Abbildung 2.10: LaMer-Diagramm zur Beschreibung von Kristallisationsprozessen und Fällungsreaktionen. Phase I: Vorstufe. Phase II: Nukleation. Phase III: Wachstumsphase. C_s : Sättigungskonzentration. C_{krit} : kritische Konzentration. Nach ^[169].

Im Modell von LaMer liegen die Reaktanden in der ersten Phase, der Vorstufe, in Lösung vor. Durch eine chemische Reaktion erfolgt die Formation von Monomeren, sodass die Konzentration dieser Monomere mit fortschreitender Zeit ansteigt. Bei Erreichen der Sättigungskonzentration C_s erfolgt eine Übersättigung der Lösung durch die Monomere. Durch einen weiteren Konzentrationsanstieg und Überschreiten der sogenannten kritischen Konzentration C_{krit} , resultiert in der zweiten Phase die spontane Nukleation der Monomere aus einer sehr stark übersättigten Lösung. Hierbei werden in kurzer Zeit viele Nukleationskeime gebildet. Wenn dadurch die Konzentration der Monomere unter den kritischen Wert fällt, können keine weiteren Keime entstehen. Aufgrund des Konzentrationsabfalls ist dann die Nukleationsphase kurz. Die dritte Phase besteht aus der Wachstumsphase, in welcher ein diffusionskontrolliertes Kristallwachstum der Nanopartikel stattfindet. Die Konzentration sinkt hierbei über einen längeren Zeitraum durch weiteren Verbrauch der Monomere im Medium und das Kristallwachstum erfolgt bis die Konzentration unter die Löslichkeitsgrenze fällt. Für die Herstellung von monodispersen Nanopartikeln sollten die Nukleation und das Wachstum getrennt voneinander ablaufen. Dabei sind eine hohe Nukleationsrate und ein langsamer Wachstumsprozess notwendig.^[169-171]

Eine weitere Möglichkeit zur Größenkontrolle von SPIONs und Prävention gegen Oxidation sowie Agglomeration ist die Funktionalisierung der magnetischen Nanopartikel mit organischen Verbindungen während der Partikelsynthese. Zu diesem Zweck werden Carboxylate, Phosphate, Amine aber auch Polymere wie Polyethylenglycole, Polyvinylalkohole und Polysaccharide für die Stabilisierung der magnetischen Nanopartikel eingesetzt.^[172–174] In Abhängigkeit von ihrem Verhältnis zu den Eisensalzen können die organischen Verbindungen unterschiedliche Einflüsse auf die Größe der entstehenden Partikel haben. So können die Eisenkationen durch organische Anionen komplexiert werden, wodurch die Nukleation gehemmt und somit ein Wachstum zu großen Partikeln begünstigt wird. Dagegen kann aber auch durch adsorbierte Moleküle das Partikelwachstum verhindert werden, was wiederum die Formation von vorrangig kleinen Partikeln fördert.^[147,172,175–177]

Eine beliebte organische Verbindung zur Stabilisierung von Eisenoxid-Nanopartikeln und Prävention vor Oxidation ist Ölsäure, welche auch in dieser Arbeit für die Synthese von Fe₃O₄ NPs eingesetzt wird. Aufgrund der langen Kohlenwasserstoffe-Kette besitzt Ölsäure stark hydrophobe Eigenschaften. Als Kopfgruppe liegt bei diesem langkettigen Molekül ein Carboxylat vor, welches eine starke kovalente Bindung an die Oberfläche der Eisenoxid-Nanopartikel ausbildet. Zudem liegt durch die langen Ketten eine sterische Hinderung der angelagerten Moleküle vor, wodurch die Nanopartikel zusätzlich stabilisiert werden.^[178,179]

Ein weiteres Molekül, welches im Rahmen dieser Arbeit zur Stabilisierung von Eisenoxid-Nanopartikeln verwendet wird, ist Trinatriumcitrat. Durch die Adsorption von Citrat-Anionen an die Oberfläche der magnetischen Kerne erhalten die Partikel hydrophile Eigenschaften sowie eine hohe negative Oberflächenladung. Die Stabilität wird dabei durch elektrostatische Abstoßung der Partikel im Dispersionsmittel erzielt.^[180,181] Während hydrophobe Kolloide bei saurem und basischem pH-Wert zum Ausflocken der Partikel neigen, haben hydrophile Kolloide eine hohe Stabilität gegenüber Elektrolyten und pH-Wert-Änderungen in der Lösung.

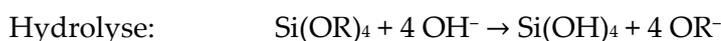
2.4 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel

Für die selektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen im Rahmen des Implantat-dirigierten magnetischen Wirkstoff-Targetings (ID-MDT) dienen magnetische

Kern-Schale-Nanopartikel als potenzielle Wirkstoffträgersysteme. Kern-Schale-Nanopartikel bestehen hierbei aus einem oder mehreren Kernmaterialien. Die Kernmaterialien wiederum können von einer Schale, einem mehrlagigen Schalensystem aber auch Schalensystemen mit Hohlräumen umgeben sein. Insbesondere für biomedizinische Anwendungen haben Kern-Schale-Nanopartikel gegenüber simplen Nanopartikeln große Vorteile durch verbesserte Eigenschaften, wie z.B. geringere Zytotoxizität, höhere Dispersibilität und Biokompatibilität, verbesserte Konjugation mit anderen bioaktiven Molekülen sowie höhere thermische und chemische Stabilität.^[182-184] Je nach Anforderung und gewünschte Anwendung können Kern-Schale-Systeme auf einer Vielzahl von unterschiedlichen Materialkombinationen basieren. Die Partikel beruhen hierbei vorrangig aus anorganisch/anorganisch, anorganisch/organisch, organisch/anorganisch sowie organisch/organisch bestehenden Kern-Schale-Systemen.^[185] Für die Kern-Schale-Partikel in dieser Arbeit werden anorganische Eisenoxid-Nanopartikel als Kerne sowie nanoporöses Silica als anorganisches Schalenmaterial eingesetzt. Darüber hinaus dient periodisches mesoporöses Organosilica (PMO) als anorganisches-organisches Hybridmaterial für eine zusätzliche Schale für ein Multischalen-Partikelsystem. In den folgenden Kapiteln werden daher nanoporöses Silica, periodisch mesoporöses Organosilica sowie deren Oberflächenmodifizierung und die Anwendungen von Kern-Schale-Nanopartikeln in der Biomedizin näher betrachtet.

2.4.1 Nanoporöses Silica

Bei den magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) für das ID-MDT-Prinzip dient Silica als Schalenmaterial zur Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung. Silica ist amorphes Siliciumdioxid, welches sich durch seine mechanische und thermische Stabilität auszeichnet.^[186] Dieses Material kann z.B. als pyrogenes Silica durch kontrolliertes Verbrennen von Siliciumtetrachlorid hergestellt werden und findet häufig Einsatz als Füllstoff für Polymere.^[187-189] Zudem sind Silica-Materialien im Rahmen eines Sol-Gel-Prozesses über die Hydrolyse und Kondensation von Alkoxysilanen zugänglich.^[190,191]



Insbesondere die Stöber-Methode stellt eine der bekanntesten nasschemischen Herstellungsverfahren dar, bei der monodisperse unporöse Silica-Partikel mit Hilfe von Tetraethylorthosilicat (TEOS), Ammoniak, Wasser und Alkohol hergestellt werden. Durch Variation der unterschiedlichen Syntheseparameter ist dabei eine Partikelgrößeneinstellung mit Durchmessern von 50 nm bis 2 μ m möglich.^[190,192]

Von sehr großem Interesse sind insbesondere poröse Silica-Materialien, da diese aufgrund ihrer Eigenschaften für viele Anwendungsgebiete eingesetzt werden können. Hierzu gehören die Katalyse,^[193–195] die Chromatographie,^[196,197] die Adsorption^[197,198] sowie die Photochemie und Optik.^[199,200] Durch die generelle Biokompatibilität sowie Degradierbarkeit wird die Anwendung von porösen Silica-Materialien in der Biomedizin in Bereichen des Bioimaging,^[201,202] der Biosensorik,^[203,204] der Theranostik^[202] und der Medikamenten-Freisetzung intensiv erforscht.^[57,74,205–208] Die Herstellung von porösen Silica-Materialien wurde bereits um 1970 in Patenten beschrieben, jedoch fehlten zu den Materialien detaillierte Charakterisierungen. Aus diesem Grund ist die eigentliche Entdeckung dieser Silica-Materialien auf die frühen 1990er Jahre zurückzuführen. Die erfolgreiche Synthese von nanoporösem Silica wurde hier relativ zeitgleich von der Arbeitsgruppe Yanagisawa et al. und der Mobil Oil Company beschrieben.^[209,210] Nanoporöses Silica zeichnet sich vor allem durch eine große spezifische Oberfläche, ein großes Porenvolumen sowie eine kontrollierbare Porenweitenverteilung aus.^[211–213] Durch diese Porosität besitzen sie eine kontrollierbare und variable Oberflächenchemie.^[74,208,214] Seit 2015 werden alle Porendurchmesser bis zu 100 nm durch die neue IUPAC-Nomenklatur als „nanoporös“ bezeichnet.^[215] Bei den Porengrößen wurde zuvor nach IUPAC-Nomenklatur eine Unterteilung in mikroporöse (< 2 nm), mesoporöse (2 – 50 nm) und makroporöse Systeme vorgenommen, weshalb für die porösen Silica-Materialien in der Literatur häufig die Bezeichnung „mesoporös“ vertreten ist.^[216]

Für die Herstellung von nanoporösen Silica-Materialien wird wie bei der Stöber-Methode ein Silica-Präkursor wie TEOS, Wasser, ein Alkohol sowie eine Base eingesetzt. Zur Formation des Porensystems wird allerdings ein strukturdirigierendes Agens (SDA) verwendet. Dazu dienen Tenside wie zum Beispiel ionische Moleküle wie Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) oder nicht-ionische Moleküle wie das Blockcopolymer Pluronic® F-127. In Abhängigkeit der SDA-Konzentration liegen bei der Silica-Synthese zwei Mechanismen vor, die in Abbildung 2.11 dargestellt sind.

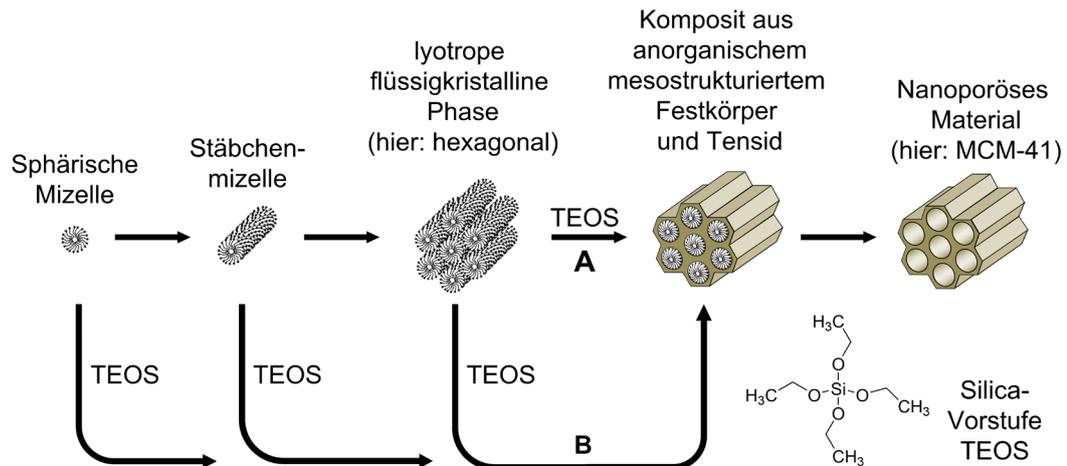


Abbildung 2.11: Bildungsmechanismen von nanoporösen Silica-Materialien unter Einsatz von strukturdirigierenden Agentien. A: echter Flüssigkristall-Templat-Mechanismus. B: kooperativer Flüssigkristall-Templat-Mechanismus. Nach [217].

Bei hohen SDA-Konzentrationen basiert die Silica-Herstellung auf dem echten Flüssigkristall-Templat-Mechanismus (*liquid crystal templating*, LCT), bei welchem die Tensid-Moleküle bei Überschreitung der kritischen Mizellbildungskonzentration (*critical micelle concentration*, CMC) sphärische Mizellen ausbilden. In Abhängigkeit von der Konzentration, der Temperatur und dem Lösungsmittel ordnen sich diese Mizellen zu größeren Aggregaten, den sogenannten lyotropen, flüssigkristallinen Phasen, an. Diese Phasen können kubische, hexagonale oder lamellare Strukturen annehmen. Nach Ausbildung der lyotropen, flüssigkristallinen Phasen erfolgt durch Zugabe eines Silica-Präkursors aufgrund von attraktiven Wechselwirkungen die Anordnung der Silica-Vorläufer um die Grenzfläche der Strukturen. In einem Sol-Gel-Prozess erfolgen die Hydrolyse und Kondensation eines amorphen Silica-Netzwerkes um die organischen Template. Dagegen bildet sich beim kooperativen Flüssigkristall-Templat-Mechanismus die flüssigkristalline Phase auch bei geringen SDA-Konzentrationen aus. Dabei findet eine kooperative Selbstorganisation des Tensids mit der direkt verwendeten Silica-Vorstufe statt. Das nanoporöse Silica-Netzwerk wird nach der Synthese durch Entfernung des SDAs mittels einer Calcination, einer Extraktion mit einem geeigneten Lösemittel oder durch einen Ionenaustausch erhalten.^[217–219]

Durch Variation der Synthesebedingungen bei der Silica-Herstellung sind zahlreiche Partikelsysteme erhältlich. Ähnlich wie bei Stöber-Partikeln können durch die Art und die Konzentration der Reaktanden unterschiedliche Partikelgrößen eingestellt werden. Auch die Art der eingesetzten Base hat einen Einfluss auf die Partikelgröße. Die Verwendung

von organischen Basen, wie Diethanolamin oder Triethanolamin, als Alternative zu Ammoniak begünstigt die Formation von Nanopartikeln. Hierbei hat die Pufferwirkung dieser Additive einen Einfluss auf die kontrollierte Hydrolyse und Kondensation der Silica-Vorstufe.^[56,220,221] Eine weitere Möglichkeit zur Beeinflussung der Partikelgröße besteht in dem Einsatz von zwei Tensiden mit unterschiedlichen Affinitäten zum Silica. So verwendeten Suzuki et al. für die Herstellung von nanoporösen Silica-Nanopartikeln ein ionisches Tensid zur Mizellenbildung sowie ein neutrales Blockcopolymer zur Abschirmung der Silica-Oberfläche.^[222] Der Einsatz von Mikroemulsionen bestehend aus einem hydrophilen und hydrophoben Lösungsmittel unter Zusatz von Tensiden bietet eine weitere Synthesestrategie zu einem kontrollierten Wachstum von Silica-Partikeln. Dabei unterstützen die sich bildenden, inversen Mizellen als Nanoreaktoren die Formation von Nanopartikeln.^[223]

Neben der Partikelgröße ist durch Variation der Syntheseparameter oder durch Einsatz von co-strukturdirigierenden Agenzien ein Einfluss auf die Morphologie der Silica-Partikel möglich. Dadurch sind neben sphärischen Systemen auch anisotrope Formen zugänglich, wie zum Beispiel Würfel,^[224] Plättchen,^[225] Fasern,^[226] Bänder,^[227] Helices,^[228] Stäbchen,^[229] Ellipsoide,^[230] Röhrchen^[231] oder Rhombendodekaeder.^[232] Auch die Herstellung von virus-ähnlichen Silica-Nanopartikeln ist mit geeigneten Syntheseparametern möglich.^[233]

Die Porengröße im Silica-Gerüst kann über die Kettenlänge des Tensids eingestellt werden. So sind je nach verwendetem SDA Porengrößen von 2 – 10 nm zugänglich. Unter Einsatz von Quellungsagenzien sind darüber hinaus auch größere Porensysteme realisierbar, welche eine Einlagerung und Freisetzung von größeren Biomolekülen mit einem großen Potential für die Gentherapie ermöglicht.^[57,217,234,235] Ein Beispiel für ein Quellungsagens zur Herstellung von großporigen Silica-Systemen ist 1,3,5-Trimethylbenzol.^[234–236] Eine weitere Möglichkeit besteht in der Synthese in einem Öl-Wasser-Gemisch unter Einsatz von Polystyrol als Templat.^[237] Aber auch die Herstellung von hohlen Silica-Nanopartikelsystemen zur weiteren Vergrößerung des Porenvolumens wird in der Literatur diskutiert.^[238,239]

Ein weiteres Quellungsagens für die Herstellung von großporigen Systemen liegt in Ethylacetat vor, welches auch in dieser Arbeit für die Synthese der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) eingesetzt wird. Kim et al. konnten bei der Synthese von magnetischen Silica-Nanopartikeln zeigen, dass der Einsatz einer geringen Menge Ethylacetat die Formation von sphärischen Kern-Schale-Systemen mit einer

nanoporösen Silica-Schale mit Porendurchmessern von 3.5 nm begünstigt, wogegen ohne den Einsatz des Ethylacetats, verzweigte magnetische Silica-Netzwerke gebildet werden. Hierbei liegen während der Silica-Sol-Gel-Synthese innerhalb der Öl-Wasser-Emulsion, Wechselwirkungen zwischen dem Ethylacetat und den hydrophoben Ölsäure-Liganden der magnetischen Kerne vor.^[240] Die Synthese der Silica-Schale um die magnetischen Kerne unter Einfluss von Ethylacetat ist schematisch in Abbildung 2.12 dargestellt.

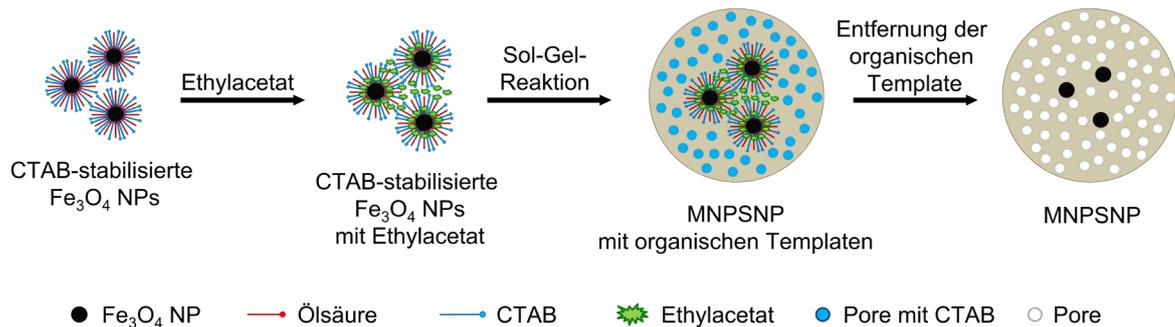


Abbildung 2.12: Schematische Darstellung der Synthese der Silica-Schale um magnetische Kerne unter Einfluss von Ethylacetat. Nach ^[240].

Durch den Einsatz einer großen Menge an Ethylacetat konnten Kwon et al. großporige magnetische Silica-Nanopartikel mit Porengrößen von bis zu über 30 nm realisieren. Die Formation dieser großen Mesoporen wird durch die hohen Mengen Ethylacetat als organisches Additiv gefördert, da dadurch in den strukturdirigierenden CTAB-Mizellen große Emulsionen vorliegen. Diese großen Emulsionen begünstigen hierbei die Porenexpansion und ermöglichen somit die Herstellung von großporigen magnetischen Silica-Systemen, welche insbesondere für die Einlagerung und Freisetzung von großen Molekülen interessant sind.^[241] Durch die Variation der Synthesebedingungen bei der Herstellung nanoporöser Silica-Systeme sind folglich vielseitige Materialien mit einer großen Breite an Einsatzmöglichkeiten zugänglich.

2.4.2 Periodisch mesoporöses Organosilica

Als ein weiteres Schalenmaterial zur Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung für das ID-MDT-Prinzip dient periodisch mesoporöses Organosilica (PMO). Die erfolgreiche Synthese eines PMOs mittels Sol-Gel-Verfahren und strukturdirigierender Agenzien (SDA) wurde erstmals unabhängig voneinander 1999 von Inagaki et al.,^[242] Asefa et al.^[243] und Melde et al.^[244] beschrieben. Dieses organisch-anorganische Hybridmaterial besteht aus

periodisch alternierenden anorganischen Siloxan-Gruppen und verbrückenden organischen Gruppen, welche meist aus Vorstufen des Typs $(R'O)_3Si-R-Si(OR')_3$ hergestellt werden. Die Synthese von PMO-Materialien ist in Abbildung 2.13 dargestellt.

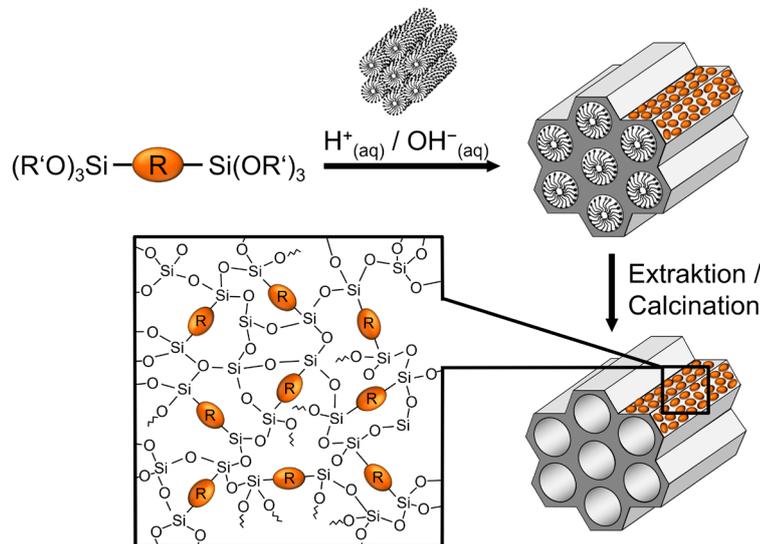


Abbildung 2.13: Schematische Darstellung der Synthese von periodisch mesoporösem Organosilica (PMO). Nach ^[217].

Die organischen Gruppen sind kovalent an die Siloxane gebunden, sodass eine gleichmäßige Verteilung der organischen Gruppen über das gesamte PMO-Netzwerk vorliegt. Durch die gleichmäßige Verteilung dieser Linker-Moleküle zeichnen sich PMOs durch die bereits vorhandenen organischen Modifikationen, eine hohe spezifische Oberfläche sowie Porenvolumina aus. Zudem weisen PMOs eine hohe Biokompatibilität auf und ermöglichen weitere Modifizierungen mittels post-synthetischer Modifikation der oberflächlichen Silanol-Gruppen sowie durch Funktionalisierung der organischen Gruppen.^[190,217,245,246] Da die organischen Gruppen in den Porenwänden angebonden sind, ist die Gefahr einer Porenblockierung reduziert, wodurch eine verbesserte Diffusion in den Poren gefördert wird. Die hohe Modifikationsdichte innerhalb der PMOs unterstützt darüber hinaus eine hohe Wirkstoffbeladung.^[246,247] Verglichen mit nanoporösem Silica sind PMO-Materialien hydrophober, wodurch Wirkstoffe mit hydrophoben Gruppen besser eingelagert werden können.^[190]

Für die Herstellung von PMOs werden häufig kurzkettige und starre verbrückende Moleküle mit Methylen-, Ethylen-, Ethenylen-, Phenyl- und Biphenylen-Gruppen verwendet.^[245,247–249] Für die Formation von geordneten Strukturen mit inhärenten

Modifikationen mit Hilfe von größeren verbrückenden organischen Einheiten ist in Abhängigkeit der Größe und der Flexibilität des Moleküls zunehmend eine Co-Kondensation mit Silica-Präkursoren wie TEOS notwendig.^[245] So sind auch Hybrid-Systeme mit vergleichsweise großen organischen Brückeneinheiten, wie z.B. Tetraphenylpyren-PMO,^[250] aber auch speziellere PMOs mit Metallkomplexen (z.B. Porphyrineinheiten),^[245,248,251] Heteroatomen (z.B. Thiophen-PMO)^[217,245] oder Farbstoffeinheiten (z.B. Acridon-PMO),^[245,252] zugänglich.

Verglichen zu rein anorganischen Silica-Materialien sind PMOs mit ihren verbrückenden organischen Einheiten thermisch anfälliger. Je nach Art des Linker-Moleküls sowie der Calcinationsatmosphäre können PMOs jedoch auch bis zu 500 °C stabil sein.^[217,245] In PMOs können über eine gezielte thermische Behandlung durch Spaltung der Si-C-Bindungen funktionelle Gruppen gebildet werden.^[217,245-247] Aufgrund der inhärenten organischen Modifikationen der PMOs sind diese Hybridmaterialien hydrophober sowie auch mechanisch stabiler und unempfindlicher gegenüber Hydrolyse, im Vergleich zu anorganischen Silica-Materialien.^[217,245,246]

Ähnlich wie bei Silica-Materialien kann durch Variation der Syntheseparameter die Größe, Morphologie und Porosität der PMOs beeinflusst werden. Wichtige Parameter sind hierbei u.a. die Konzentrationen der Synthesekomponenten, das eingesetzte (Co-)strukturdirigierende Agens, das Lösungsmittel, die Restgruppen des Präkursors, aber auch die Bedingungen wie Temperatur, pH-Wert, Einsatz von Additiven und die Rührgeschwindigkeit.^[246] Für die Herstellung von PMOs kommen als SDAs vorrangig langkettige Alkyltrimethylammoniumhalogenide mit einer Kettenlänge von 8 – 18 sowie Triblockcopolymere zum Einsatz.^[245] Großporige PMOs sind durch Verwendung von Quellungsagenzien wie z.B. 1,3,5-Trimethylbenzol zugänglich.^[245,246] Wie bei den Silica-Systemen sind für PMOs neben sphärischen Partikeln verschiedene Morphologien bekannt, wie z.B. Plättchen, Stäbchen, Fasern, Gyroide sowie hohle Partikel.^[217,245,248,253]

Durch ihre Materialeigenschaften besteht für PMOs großes Interesse für die Anwendung in der Katalyse, als Adsorbens, in der Chromatographie, als low-*k*-Material sowie auch als Wirkstofffreisetzungssystem in der Biomedizin.^[186,217,245,253] Bezüglich der Anwendung als Katalysator können PMOs für zahlreiche organische Reaktionen wie z.B. Kondensationen, Acetylierungen und Veresterungen eingesetzt werden. Durch ihre stärkere Hydrophobie und der damit verbundenen Stabilität sind diese Organosilica-Systeme in der Katalyse resistenter gegenüber einem Verlust der Aktivität.^[245,248] PMOs mit

Tetrasulfid-Gruppen können durch selektive Adsorption von Quecksilber-Ionen zur Reinigung wässriger Lösungen als Adsorbens eingesetzt werden.^[217,247,248] Insbesondere für den Einsatz als Wirkstofffreisetzungssystem können PMOs durch ihren hydrophoben Charakter über Wechselwirkungen zwischen den verbrückenden organischen Einheiten und hydrophoben Wirkstoffen vorteilhaft für eine hohe Beladung sowie langsameren Freisetzungsraten im Vergleich zu rein anorganischen porösen Silica-Materialien sein.^[245] Zu diesem Zweck wurden PMOs mit Wirkstoffen (u.a. Ibuprofen), Enzymen (u.a. Lipasen) sowie auch Proteinen (u.a. Hämoglobin) beladen.^[245]

2.4.3 Modifizierung von nanoporösem Silica und periodisch mesoporösem Organosilica

Zur Steuerung der physikalischen und chemischen Eigenschaften von nanoporösem Silica und periodisch mesoporösem Organosilica ist die gezielte Modifizierung der Oberfläche des eingesetzten Materials mit unterschiedlichen organischen Gruppen oder Polymeren eine simple und vielfältig genutzte Methode. Mögliche Anwendungsgebiete von modifizierten Silica-Materialien finden sich hierbei in der Katalyse, Sensorik, Separation, Chromatographie, als Absorptionsmittel in der Wasseraufbereitung oder als Ionenaustauscher sowie in der Biomedizin für die Wirkstofffreisetzung oder zur Immobilisierung von Biomolekülen.^[56,217,254] Bei Partikelsystemen ist durch Oberflächenmodifizierung die Minimierung des Agglomerationsverhaltens, die Steuerung der Interaktion mit Zellen sowie die Erhöhung der Beladungskapazität und Freisetzungsmenge von Wirkstoffmolekülen über die zielgerichtete Nutzung entsprechender Wechselwirkungen zwischen modifiziertem Trägermaterial und eingesetztem Medikament möglich.^[217,218,255] Häufig werden hierfür Trialkoxyorganosilane eingesetzt, wobei die Modifizierung über zwei Synthesestrategien realisiert werden kann, die Co-Kondensation- sowie die *post-grafting*-Methode.^[217,230,256] Die beiden Methoden für die Modifizierung sind in Abbildung 2.14 dargestellt

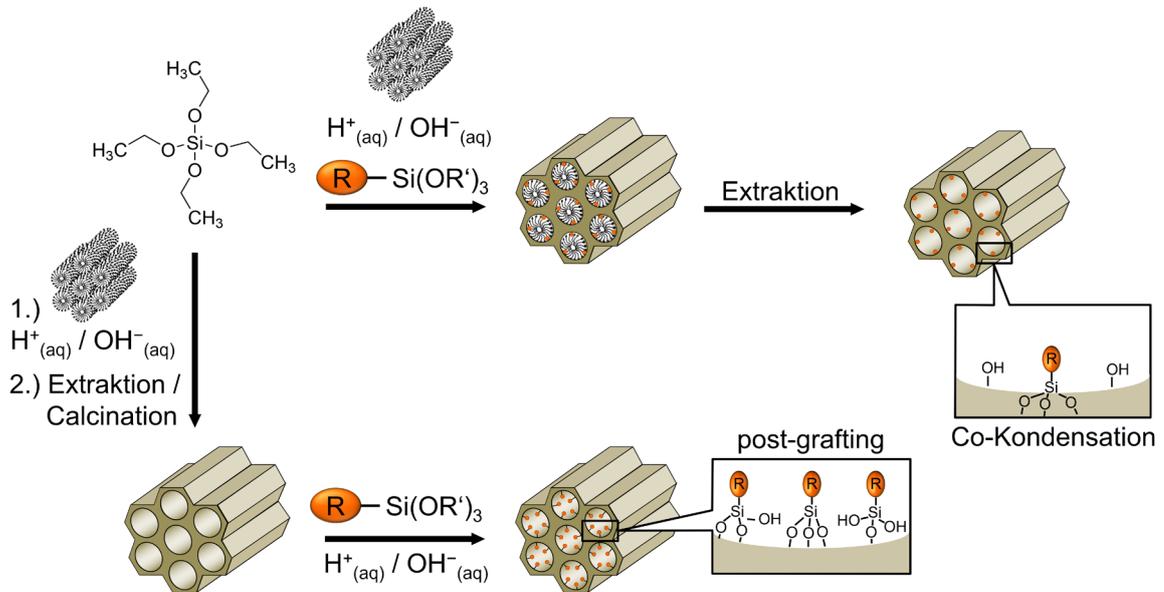


Abbildung 2.14: Schematische Darstellung der Modifizierung von Silica mit organischen Gruppen ausgehend von der Silica-Vorstufe TEOS. Oben: Co-Kondensation. Unten *post-grafting*. Nach ^[217].

Bei der Modifizierung mit Hilfe der Co-Kondensation-Methode werden bei der Silica-Synthese neben dem Silica-Präkursor simultan Trialkoxyorganosilane eingesetzt. Dadurch hydrolysieren und kondensieren die Organosilane zusammen mit den Silica-Vorstufen, sodass die funktionellen Gruppen direkt in die Silica-Matrix eingebunden und homogen verteilt sind. Bei dieser Methode kann durch den zeitverzögerten Einsatz zweier unterschiedlicher Organosilane in der Reaktionsmischung der Kern und die äußere Oberfläche der Nanopartikel mit unterschiedlichen Gruppen modifiziert werden.^[57] Durch unterschiedliche Hydrolyse- und Kondensationsgeschwindigkeiten der eingesetzten Silica-Präkursoren und Organosilane kann allerdings neben der Co-Kondensation der Silica-Vorstufen auch die Homokondensation der verwendeten Silane erfolgen. Dadurch ist die Menge der in das Netzwerk eingebauten Trialkoxyorganosilane häufig geringer als die Ausgangsmenge in der Reaktionsmischung. Zudem sind die Methoden zur Entfernung des eingesetzten SDAs limitiert, da durch eine Calcination auch die gewünschten funktionellen Gruppen in der Silica-Matrix zerstört werden können.^[217,218] Somit ist zur SDA-Entfernung eine Extraktion mit einem geeigneten Lösemittel oder ein Ionenaustausch notwendig. Insbesondere für biomedizinische Anwendungen ist hierfür allerdings die vollständige Entfernung des SDAs essenziell, da Tenside schon in geringen Mengen zytotoxische Eigenschaften besitzen.^[214]

Bei der *post-grafting*-Methode erfolgt die Modifizierung der Silica-Oberfläche in einem weiteren Schritt nach der Synthese der Materialien. Hierzu werden die reaktiven Silanol-Gruppen (Si–OH) auf der Oberfläche der Silica-Matrix genutzt, an welchen Trialkoxysilane mit gewünschten funktionellen Gruppen einfach über Silylierungsreaktionen kovalent angebunden werden können. Neben Organosilanen des Typs (R'O)₃Si–R werden für die Modifizierungen auch Chlorsilane und Silazane eingesetzt. Während der Modifizierung wird auf der Silica-Oberfläche zunächst eine stabile monomolekulare Adsorptionsschicht ausgebildet, welche auch als *self-assembled monolayer* (SAM) bezeichnet wird.^[257,258] Im weiteren Prozess werden dann mittels Kondensationsreaktionen kovalente Siloxanbindungen (Si–O–Si) zwischen der Oberfläche und dem Silan gebildet, sodass unterschiedliche funktionelle Gruppen an die Silica-Matrix angebunden werden können. Ein Vorteil der *post-grafting*-Methode besteht darin, dass die Struktur der Silica-Materialien weitestgehend erhalten bleibt. Allerdings kann auf der Oberfläche eine inhomogene Verteilung der funktionellen Gruppen vorliegen. Durch einen zu geringen Wassergehalt in der Syntheselösung können die SAM unvollständig ausgebildet werden, sodass die funktionellen Gruppen auf der Oberfläche nicht gleichmäßig über Siloxanbindungen verteilt werden. Zudem besteht das Risiko, dass im Falle von nanoporösen Silica-Nanopartikeln oder auch Kern-Schale-Systemen nur die äußere Oberfläche der Partikel sowie die Porenöffnungen modifiziert werden, wobei die Poren blockiert werden und folglich nicht mehr funktionalisiert werden können.^[217,218,259] Darüber hinaus kann eine inhomogene Verteilung der funktionellen Gruppen durch Homokondensationen der eingesetzten Trialkoxyorganosilane möglich sein, welche bei einem Überschuss an Wasser sowie hohen Konzentrationen an Silanen auftreten können.^[257] Als Folge daraus können größere Oligomere oder dichte ungeordnete Multischichten auf der Silica-Oberfläche entstehen, welche die Porensysteme der Silica-Materialien blockieren. Aus diesem Grund werden Modifikationen mittels der *post-grafting*-Methode häufig in Toluol sowie mit geringen Mengen an Organosilanen durchgeführt.^[260] Die Verwendung des Lösemittels Toluol für die Modifizierung von Silica-Materialien ist durch einen optimalen Wassergehalt begründet, wodurch die Ausbildung der SAM begünstigt wird.^[260,261] Mit Hilfe der *post-grafting*-Methode ist auch eine selektive Modifizierung der inneren und äußeren Oberfläche von Silica-Materialien realisierbar. Dazu wird zunächst in einem ersten Modifizierungsschritt die äußere Oberfläche der Silica-Matrix vor der Entfernung des SDAs funktionalisiert. Durch anschließende Entfernung des SDAs mittels Extraktion werden

somit die Poren freigegeben, sodass die innere Oberfläche der Silica-Matrix mit einem anderen Organosilan mit funktioneller Gruppe modifiziert werden kann.^[262,263]

Im Falle der Modifizierung von PMO-Materialien besteht neben der *post-grafting*-Methode der oberflächlichen Silanolgruppen, wie sie auch schon für Silica beschrieben wurde, auch die Möglichkeit der direkten Synthese von modifizierten PMOs mit Hilfen von verbrückenden organischen Einheiten mit bereits vorhandenen gewünschten funktionellen Gruppen.^[217,245,264] Zudem können nach Herstellung der PMOs die verbrückenden organischen Einheiten funktionalisiert werden.^[245] So können bei ungesättigten organischen Linker-Molekülen, wie z.B. bei Ethenylen-PMOs, Reaktionen zur Bromierung und anschließenden Substitution mit anderen funktionellen Gruppen durchgeführt werden.^[190,217,245] PMOs mit aromatischen Linker-Molekülen, wie z.B. Phenylen-PMOs, können nitriert und aminiert sowie sulfoniert werden.^[190,217,265,266] Darüber hinaus können aber auch die Modifizierungsmethoden mittels *post-grafting*, Funktionalisierung der organischen Linker-Moleküle oder Co-Kondensation unterschiedlicher funktioneller bissilylierter Vorstufen kombiniert werden, sodass multifunktionale PMO-Materialien hergestellt werden können.^[190]

2.4.4 Kern-Schale-Nanopartikel für biomedizinische Anwendungen

Der Einsatz von Nanopartikeln in biomedizinischen Anwendungen ist ein stetig wachsendes Forschungsgebiet. Insbesondere multifunktionale Kern-Schale-Nanopartikel treten dabei zunehmend in den Vordergrund, da diese Hybrid-Systeme in der Biomedizin eine bessere Eignung und Leistung gegenüber einfachen Nanopartikeln aufweisen können. So können Problemstellungen, welche durch einfache Nanopartikel verursacht werden, durch den Einsatz von Kern-Schale-Systemen gelöst werden.^[182] Im Bereich der biomedizinischen Anwendungen werden Kern-Schale-Nanopartikel vorrangig für die Wirkstofffreisetzung,^[172,184,267,268] die Biobildgebung,^[172,184,269–271] die Zellmarkierung,^[184,272] als Biosensor^[271,273,274] sowie für das Tissue Engineering^[185] eingesetzt. Für die Anwendung dieser Partikelsysteme in der Biomedizin ist die Oberflächenchemie ein wichtiger Faktor, durch dessen gezieltes Design die Bindungsaffinität zu Wirkstoffen, Rezeptoren und Liganden erhöht wird.^[275,276] Für eine maximale Effektivität können dadurch Eigenschaften verbessert werden, wie die Erhöhung der Verweilzeit, der Bioverfügbarkeit und der Spezifität sowie die Reduzierung der notwendigen Dosierungsmenge und Häufigkeit der

Therapie.^[182] In Abbildung 2.15 ist eine schematische Darstellung für einen multifunktionalen Kern-Schale-Nanopartikel und dessen Möglichkeiten zur Einstellung der Materialeigenschaften für den Einsatz in biomedizinischen Anwendungen abgebildet.

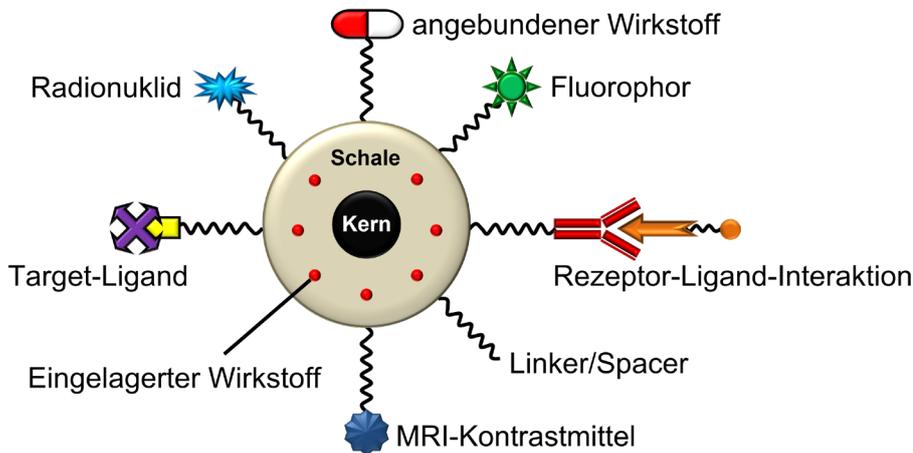


Abbildung 2.15: Schematische Darstellung eines multifunktionalen Kern-Schale-Nanopartikels und dessen Möglichkeiten zur Einstellung der Materialeigenschaften für den Einsatz in biomedizinischen Anwendungen. Nach ^[182].

Die Biokompatibilität ist eine wichtige Grundvoraussetzung für den Einsatz von Kern-Schale-Nanopartikeln in der Biomedizin. Dabei ist die Biokompatibilität eines Materials bisher nicht eindeutig definiert. Als eine allgemeine Definition für die Biokompatibilität kann jedoch die Fähigkeit beschrieben werden, mit welcher das Material mit einer geeigneten Wirtsreaktion in einer bestimmten Anwendung agiert.^[277] Dadurch, dass die Biokompatibilität in diesem Zusammenhang am exakten Einsatzort der Anwendung betrachtet wird, existiert kein universelles biokompatibles Material.^[278] Im Falle von Nanopartikeln aus einer nanoporösen Silica-Matrix, welches auch als Schalenmaterial für die MNPSNPs in dieser Arbeit eingesetzt wird, beschreiben Tang et al. die Biokompatibilität sowohl mit den positiven als auch den negativen Effekten sowie der Zytotoxizität und *in vivo*-Toxizität, die durch das Material verursacht werden. Zudem sind auch alle Veränderungen von Zellen und Gewebe auf molekularer, zellulärer und histologischer Ebene in der Biokompatibilität zusammengefasst.^[279] Bei unmagnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln (NPSNPs) wird die Biokompatibilität vor allem durch die Partikelgröße,^[280–282] die Konzentration,^[214,283,284] die Morphologie,^[285] die Oberflächeneigenschaften^[286–290] sowie der Porosität^[291,292] entscheidend beeinflusst. Aber auch die Degradation und somit die hydrolytische Stabilität der nanoporösen Silica-Matrix

spielt speziell in der Biomedizin eine wichtige Rolle und muss deshalb auch für den Einsatz der MNPSNPs mit nanoporöser Silica-Schale für das ID-MDT betrachtet werden. Durch die Degradation wird dabei neben dem Abbau der Nanopartikel in biologischen Systemen auch die Freisetzungskinetik von Wirkstoffen beeinflusst. In Abhängigkeit der physikochemischen Eigenschaften degradieren Silica-NPs im wässrigen Medium innerhalb von einigen Tagen bis Wochen. Der Auflösungsprozess von amorphem nanoporösem Silica kann hierbei in drei Stufen unterteilt werden und ist in Abbildung 2.16 schematisch dargestellt.

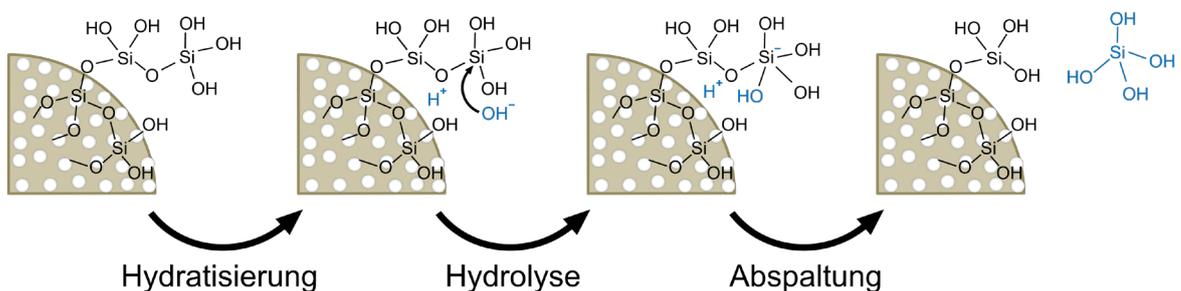


Abbildung 2.16: Schematische Darstellung des Auflösungsprozesses von amorphem nanoporösem Silica. Schritt 1: Hydratisierung. Schritt 2: Hydrolyse. Schritt 3: Abspaltung. Nach ^[293].

Im ersten Schritt erfolgt die Hydratisierung, bei welcher Wasser in der Silica-Matrix adsorbiert wird. Nach dem zweiten Schritt, der Hydrolyse, wird im dritten und letzten Schritt nach einem nucleophilen Angriff eines Hydroxid-Ions ein Kieselsäure-Molekül aus dem Silica-Netzwerk abgespalten.^[293] Dieses Kieselsäure-Molekül diffundiert über den Blutstrom bzw. über das Lymphsystem und wird anschließend über den Urin ausgeschieden.^[294–296] Im wässrigen Milieu ist der Abbau von Silica stark vom pH-Wert abhängig. So wird der Abbau unter basischen Bedingungen durch eine zunehmende Deprotonierung der Silanolgruppen deutlich gefördert. Damit verbunden ist eine verstärkte Hydrolyse der Siloxan-Bindungen, welche durch nucleophile Angriffe der Hydroxid-Ionen katalysiert wird.^[297]

Für den *in vitro*-Abbau von Silica-Nanopartikeln sind neben dem pH-Wert weitere Faktoren bestimmend, wie die Morphologie, die spezifische Oberfläche, die Konzentration, die chemische Zusammensetzung, die Oberflächenfunktionalisierung sowie das Medium.^[58,293] Yamada et al. konnten in ihrer Studie zur Degradation von kolloidalen Silica-Nanopartikeln in wässrigem Medium zeigen, dass die Degradationsrate unabhängig von unterschiedlichen Partikelgrößen (20 – 80 nm) bei gleicher spezifischer Oberfläche war.

Allerdings war die Degradation bei unporösen Nanopartikeln sowie Nanopartikelaggregaten deutlich verlangsamt, sodass die Porosität einen entscheidenden Einfluss für den Abbau der Silica-Matrix hat.^[298] Auch Chen et al. konnten die Größenunabhängigkeit des Abbaus von NPSNPs mit Partikeldurchmessern von 150 – 390 nm in simulierter Körperflüssigkeit bestätigen.^[299] Die Arbeiten von He et al. bestätigten die Abhängigkeit des Degradationsverhalten von mesoporösem Silica von der Konzentration und der spezifischen Oberfläche.^[296]

Der Abbau von NPSNPs wurde von Li et al. in unterschiedlichen simulierten Körperflüssigkeiten untersucht. Dabei wurden Partikel mit einem Durchmesser von 80 nm bei 37 °C für 7 Tage in simulierter Magen- (pH 1.2), Darm- (pH 6.8) sowie Körperflüssigkeit (pH 7) dispergiert. Bei den Studien konnte ein starker Abbau der Partikel von 50 – 60% in der Darm- und Körperflüssigkeit festgestellt werden. Dagegen lag bei der simulierten Magenflüssigkeit nur eine geringe Degradation von ca. 10% vor.^[300] In den Arbeiten von Braun et al. konnte ein ähnliches Verhalten an NPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen in unterschiedlichen simulierten Körperflüssigkeiten beobachtet werden. Für die Auflösungsrate der NPSNPs ergab sich in den verschiedenen Medien folgende Reihenfolge: simulierte Lungenflüssigkeit (pH 7.4) > simulierte Körperflüssigkeit (pH 7.25) \approx PBS (pH 7.4) > simulierte Magenflüssigkeit (pH 1.6). Die höhere Auflösungsrate der Partikel in simulierte Lungenflüssigkeit wird von Braun et al. durch eine Beschleunigung des Abbaus aufgrund der organischen Säure begründet. Dagegen verlangsamt der niedrige pH-Wert der simulierten Magenflüssigkeit die Auflösungsprozesse.^[297]

Für die Degradation besteht ein weiterer wichtiger Faktor in der Nanopartikelkonzentration. Hierbei liegt die Sättigungskonzentration von amorphem Silica unter neutralen Bedingungen und 25 °C bei ~ 115 ppm (~ 0.1 mg mL⁻¹).^[58,294] Die Löslichkeit von Silica kann jedoch durch unterschiedliche Bedingungen, wie den pH-Wert, die Ionenstärke, die Gegenwart von auflösenden Agenzien sowie die Proteinkonzentration beeinflusst werden.^[301] Die Abhängigkeit der Degradation von der Partikelkonzentration von NPSNPs in simulierter Körperflüssigkeit bei 37 °C wurde auch von He et al. tiefergehend untersucht. Bei diesen Arbeiten wurden Degradationsversuche mit Partikelkonzentrationen zwischen 0.1 mg mL⁻¹ und 0.5 mg mL⁻¹ durchgeführt. Bei der quantitativen Analyse des gelösten Silica mittels induktiv gekoppelten Plasmas wurden hierbei deutliche Unterschiede bezüglich der Auflösungsgeschwindigkeit ermittelt.

Während bei der stärksten Verdünnung 90% der Partikel innerhalb von zwei Stunden aufgelöst waren, lag bei der höchsten Partikelkonzentration eine Degradation von 35% der NPSNPs vor. Generell lag bei allen Proben eine vollständige Degradation nach 15 Tagen vor. Für die Degradation der NPSNPs wurde hierbei ein dreistufiger Prozess postuliert. Während in den ersten Stunden eine schnelle Auflösung des Bulk-Materials stattfindet, folgt darauf eine Formation von Calcium- und Magnesiumsilicaten. Auf der Partikeloberfläche verursacht diese Silicatschicht in Folge eine langsamere Degradation innerhalb von Tagen.^[296]

Auch die Modifizierung von nanoporösen Silica-Systemen hat einen Einfluss auf die Degradation. Arbeiten von Cauda et al. zeigten zum Beispiel unterschiedliche Degradationskinetiken in simulierter Körperflüssigkeit an NPSNPs mit verschiedenen Modifizierungen. Insbesondere die Modifizierung der NPSNPs mit PEG, die sogenannte PEGylierung, führte zu einer deutlich langsameren Degradation.^[302] Eine PEGylierung der Partikel mit längeren Kettenlängen, welche zu einer dichteren Polymerschicht auf der Partikeloberfläche führten, konnte die Degradation in simulierter Körperflüssigkeit zusätzlichen verlangsamen.^[289] Möller et al. zeigten jedoch auch, dass eine Verlangsamung der Degradation durch PEGylierung bei niedrigen Partikelkonzentrationen von 0.1 mg mL^{-1} nicht signifikant zu sein scheint. Bei dieser Partikelkonzentration lag nach vier Stunden ein Auflösungsgrad zwischen 60% und 75% vor.^[58]

Für die Anwendung in der Biomedizin und für die Degradation der Partikelsysteme spielt auch die Anwesenheit von Proteinen sowie die Bildung einer Proteinkorona eine wichtige Rolle. So befinden sich im Blut zahlreiche verschiedene Proteine, welche sich in ihren Konzentrationen um mehrere Größenordnungen differenzieren. Nach erfolgter Partikelinjektion adsorbieren Serumproteine auf der Partikeloberfläche. Die daraus resultierende Proteinkorona beeinflusst nicht nur die Partikelgröße, sondern auch die biologische Identität sowie auch physiologische Reaktionen wie die Zellaufnahme, Transport, Akkumulation, Zirkulationslebensdauer und Toxizität.^[303,304] Im Falle einer Adsorption von Blutproteinen (z.B. Opsonine) folgt eine verbesserte Erkennung durch Zellen des Immunsystems, wodurch eine rasche Entfernung aus der Blutbahn und damit eine Verringerung der Zirkulationsdauer gefördert werden. Insbesondere Partikelsysteme mit einer positiven Oberflächenladung oder mit hydrophoben Eigenschaften sind hiervon betroffen.^[304] Zur Prävention einer verkürzten Zirkulationsdauer kann die zuvor beschriebene PEGylierung der Nanopartikel zur Reduzierung der Affinität gegenüber

Blutproteinen eingesetzt werden. Durch Verhinderung der Opsonierung kann somit die Blutzirkulationszeit erhöht werden.^[305] Die Zusammensetzung und Struktur der Proteinkorona wird maßgeblich von den physikochemischen Eigenschaften der Partikelsysteme beeinflusst. Zu diesen Eigenschaften gehören Partikelgröße, Morphologie, Oberflächenladungen und funktionelle Oberflächengruppen sowie auch die Hydrophobizität. Allerdings haben neben den Partikeleigenschaften auch die physiologische Umgebung und die Expositionsdauer großen Einfluss auf die Zusammensetzung der Proteinkorona. Aufgrund dieser Komplexität ist eine Vorhersage des Einflusses von Partikelsystemen, wie z.B. NPSNPs, in biologischen Systemen schwierig.^[305]

Generell sind die Abbauprodukte des Silicas nicht toxisch, weswegen sie auch als ungefährlich eingestuft werden. Im menschlichen Körper ist Silicium das dritthäufigste Spurenelement. Das Element unterstützt die Knochenbildung sowie deren Heilung, weswegen ein Mangel sogar nachteilig sein kann.^[293,294] Je nach Gehalt an Gemüse und Meeresfrüchten werden über die Nahrung täglich 20 – 200 mg Silicium aufgenommen.^[293] Von der *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) ist Silica als Zusatzstoff in Lebensmitteln, Kosmetika sowie Arzneimitteln zugelassen.^[306] Darüber hinaus wurden von der FDA multifunktionale Silica-Nanopartikel für eine klinische Phase I-Studie zur Biobildgebung von Tumoren freigegeben. Diese sogenannten „C-Dots“ (Cornell-Punkte) sind Partikel mit einer Größe von 6 – 7 nm, einem fluoreszierenden Kern sowie einer PEG-Hülle mit einem Iod-124-markierten Peptid.^[307,308] Ein weiterer wichtiger Aspekt ist neben der Degradation auch die Verteilung der Partikel im Körper sowie der Verbleib nicht abgebauter Materialien. Anhand von Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass Silica *in vivo* keine Zytotoxizität zeigte. Zudem wurde das Material zu 73% über den Urin und zu 21% über den Kot in einem Zeitraum von einer Woche (meist nach 2 Tagen) ausgeschieden.^[293] Dabei werden über das renale System der Nieren kleine Nanopartikel (< 5 – 5.5 nm) über den Urin entfernt.^[293,309] Größere Partikel mit Durchmessern von > 10 nm werden mittels Phagozytose durch das retikuloendotheliale System in der Leber und der Milz angereichert und anschließend in den Verdauungstrakt transportiert.^[293,310] Je nach ladungsabhängiger erhöhter Adsorption von Blutproteinen kann der Partikeltransport umso schneller erfolgen. Negativ geladene Partikel haben eine längere Verweilzeit als Partikel mit einer positiven Oberflächenladung.^[293,311] Aber auch die Porosität der Partikelsysteme hat einen Einfluss auf die Anreicherung in den Organen. So konnten Yu et al. in ihren Arbeiten

zeigen, dass poröse Silica-Nanopartikel vorrangig in der Lunge angereichert wurden. Dagegen war für unporöse Silica-Systeme die Anreicherung in der Leber erhöht.^[312]

Im Falle der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) erfolgt nach Degradation der nanoporösen Silica-Schale der Abbau des magnetischen Kernes. Levy et al. konnten in ihren Arbeiten zeigen, dass superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel im Rahmen einer Biotransformation in eine für den Körper verwendbare Form umgewandelt werden. Dabei konnten anhand von Analysen mittels ferromagnetischer Resonanz (*ferromagnetic resonance*, FMR), supraleitender Quanteninterferenzeinheit (*superconducting quantum interference device*, SQUID) und optischer Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppeltem Plasma (*inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, ICP-OES) das magnetische Verhalten von Eisenoxid-Nanopartikeln, deren Transformation sowie Abbau *in vivo* innerhalb von Leber und Milz im Maus-Modell durch den Verlust der superparamagnetischen Eigenschaften charakterisiert werden. Weitere Analysen mittels Transmissionselektronenmikroskopie unterstützen hierbei die Theorie der Biotransformation und des Abbaus der Nanopartikel in unterschiedliche Eisenspezies innerhalb intrazellulärer Lysosomen.^[313] Über den Eisenstoffwechsel des Körpers kann der weitere Abbau durch Transferrin, Transferrinrezeptoren sowie Ferritin erfolgen.^[314]

Die zelluläre Aufnahme, die Verteilung sowie der Abbau von Eisenoxid-Nanopartikeln konnte auch in Studien von Feng et al. gezeigt werden. In diesen Arbeiten wurden Eisenoxid-Nanopartikel mit unterschiedlichen Funktionalisierungen und Partikelgrößen untersucht. Neben PEG-funktionalisierten Partikeln wurden zudem Partikel mit einer Polyethylenimin-Beschichtung (PEI) untersucht. Verglichen zu den PEG-funktionalisierten Partikeln zeigten die Eisenoxid-NPs mit PEI eine höhere zelluläre Aufnahme, eine höhere Toxizität sowie einen schnelleren Partikelabbau. PEG-funktionalisierte NPs mit einer Partikelgröße von 10 nm wiesen eine stärkere zelluläre Aufnahme als 30 nm große NPs mit PEG auf.^[315]

2.5 Fluoreszenz

Die Fluoreszenz ist eine Form der Lumineszenz, bei welcher nach Anregung eines Moleküls oder Atoms, dem sogenannten Fluorophor, innerhalb kurzer Zeit Licht emittiert wird. Bei diesem Phänomen wird der Fluorophor durch Absorption eines Photons in einen

elektronisch angeregten Zustand versetzt. Unter Abgabe eines Photons erfolgt die Rückkehr des Fluorophors in den elektronischen Grundzustand.^[316] Das Prinzip der Fluoreszenz kann anhand des Jabłoński-Schemas veranschaulicht werden, welches in Abbildung 2.17 dargestellt ist.

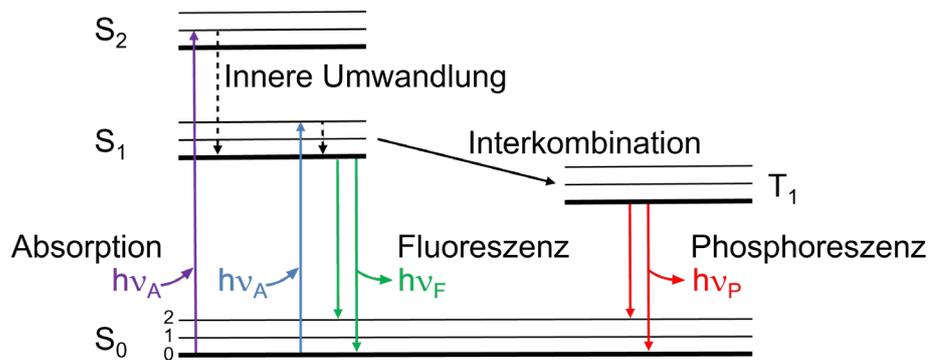


Abbildung 2.17: Jabłoński-Schema. Die durchgezogenen vertikalen Pfeile repräsentieren strahlungsgekoppelte Prozesse unter Absorption und Emission von Photonen. Die Energie wird durch die Länge und Farbe der Pfeile angedeutet. Violett, Blau: Absorption. Grün: Fluoreszenz. Rot: Phosphoreszenz. Innere Umwandlung: Spin-erlaubter Übergang zwischen Zuständen gleicher Multiplizität. Interkombination: Spin-verbotener Übergang zwischen Zuständen verschiedener Multiplizität. S: Singulett-Zustand. T: Triplett-Zustand. Nach ^[316].

Nach energetischer Anregung eines Moleküls oder Atoms durch Absorption eines Photons können grundsätzlich strahlungslose und strahlungsgekoppelte Übergänge erfolgen. Die strahlungslosen Übergänge stellen zum einen Vibrationsrelaxationen (VR) in die jeweiligen elektronischen Grundzustände dar. Zum anderen können innere Umwandlungen (*internal conversion*, IC) und Interkombinationen (*intersystem crossing*, ISC) vorliegen. Bei beiden Prozessen erfolgt ein Übergang zu einem hoch angeregten Schwingungslevel eines niedrigeren elektronischen Zustands. Bei der inneren Umwandlung ist die Multiplizität mit einem Spin-erlaubten Übergang unverändert. Dagegen resultiert bei der Interkombination mit einem Spin-verbotenen Übergang ein Multiplizitätswechsel. Die strahlungsgekoppelten Übergänge treten in Form der Fluoreszenz oder Phosphoreszenz auf. Bei der Fluoreszenz erfolgt ein Spin-erlaubter Übergang vom vibronischen Grundzustand des Singulett-Zustands S_1 in einen höher angeregten Schwingungszustand vom Singulett-Zustand S_0 . Verglichen zur Fluoreszenz liegt bei der Phosphoreszenz ein Spin-verbotener Übergang des vibronischen Grundzustands des Triplett-Zustands T_1 in einen Schwingungszustand vom Singulett-Zustand S_0 vor.

Das emittierte Photon ist bei der Fluoreszenz meist energieärmer als das eingestrahlte Photon, da meist höhere Schwingungszustände beim Wechsel in ein neues Anregungsniveau besetzt werden. Bevor eine Fluoreszenzemission erfolgt, wird ein kleiner Teil der eingestrahnten Energie mittels rascher Vibrationsrelaxation strahlungslos abgegeben. Durch diesen Prozess haben die emittierten Photonen eine größere Wellenlänge und sind verglichen mit den eingestrahnten Photonen rotverschoben. Diese Verschiebung der Wellenlänge aufgrund der energetischen Differenz wird auch als Stokes-Verschiebung bezeichnet.^[316]

In der Natur kann Fluoreszenz in geologischen Materialien wie Fluorit (CaF_2) sowie auch in biologischen oder organischen Materialien wie zum Beispiel Chinin, Porphyrinen oder grün fluoreszierenden Proteinen (GFP) auftreten.^[316,317] Aber auch synthetische anorganische Materialien wie Lanthanoid-Komplexe und Quantenpunkte sowie synthetische organische Verbindungen wie zum Beispiel Fluoresceine, Rhodamine, Cumarine oder auch Cyanine können Fluoreszenz erzeugen.^[61–63,316,318,319]

Während bei der instrumentellen Analyse von Absorption und Transmission die Lichtschwächung beim Probendurchtritt charakterisiert wird, erfolgt die Analyse von Fluoreszenz in der Regel in einem Winkel von 90° zur Lichtquelle. Durch die rechtwinklige Anordnung kann dabei das eingestrahlte Licht vom emittierten Licht getrennt werden. Die Charakterisierung der Fluoreszenz kann sehr sensitiv durchgeführt werden, da die Detektion von emittiertem Licht deutlich empfindlicher ist als die Lichtschwächung bei Transmission. Basierend auf der Stokes-Verschiebung ist zudem eine Differenzierung der Fluoreszenz vom Anregungslicht unter Anwendung von Filtern realisierbar. Obwohl die meisten Stoffe Anteile des Lichts im elektromagnetischen Spektrum absorbieren, sind jedoch nicht alle davon in der Lage zu fluoreszieren. Dadurch ist bei der Charakterisierung der Untergrund im Spektrum unwesentlich gering. Fluorophore mit Anregungswellenlängen im sichtbaren Bereich zwischen 400 – 700 nm sind insbesondere zur Analyse von komplexeren Proben wie zum Beispiel Zellen oder Gewebe von großem Interesse. Durch Markierung dieser Proben mit unterschiedlichen Fluorophoren ist eine Visualisierung verschiedener Komponenten mittels Fluoreszenzmikroskopie möglich.^[316]

2.5.1 Organische Fluorophore

Organische Fluorophore sind synthetische fluoreszierende Moleküle, welche in der Regel planar und polyaromatisch aufgebaut sind sowie ein π -System aus konjugierten Doppelbindungen aufweisen. Aufgrund der starren Struktur dieser Fluorophore ist nach Anregung die Wahrscheinlichkeit einer Abgabe in Form von Schwingungsenergie verringert. Dadurch wird die Emission von Fluoreszenzlicht stark gefördert. Durch den polyaromatischen Aufbau dieser organischen Moleküle liegt eine geringere Energiedifferenz zwischen dem höchsten besetzten Molekülorbital (*highest occupied molecular orbital*, HOMO) und dem niedrigsten unbesetzten Molekülorbital (*lowest unoccupied molecular orbital*, LUMO) vor, wodurch Fluoreszenz im sichtbaren Bereich von 400 – 700 nm des elektromagnetischen Spektrums ermöglicht wird.^[320] Dabei sind die optischen Eigenschaften abhängig von der Struktur der Fluorophore und können folglich durch Anpassung des strukturellen Aufbaus beeinflusst werden. Die Emission bei organischen Fluorophoren resultiert aus optischen Übergängen innerhalb des Moleküls oder durch intramolekulare *Charge-Transfer*-Übergänge. Der Großteil der Fluorophore besitzt eine schmale Absorptions- und Emissionsbande, kleine lösemittelbedingte Stokes-Verschiebungen, hohe molare Absorptionskoeffizienten sowie gute Quantenausbeuten.^[321]

Insbesondere in der Biomedizin im Bereich der Biobildgebung werden organische Fluorophore mit ihren Eigenschaften als Marker oder Photon-Quelle eingesetzt. In dieser Arbeit werden die beiden organischen Fluorophore Fluoresceinisothiocyanat (FITC) und Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) für die Modifizierung der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel verwendet, um eine Detektion der Partikel in *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen zu ermöglichen. In Abbildung 2.18 sind die Moleküle sowie Farbfotographien der Lösungen der beiden Fluorophore unter UV-Licht dargestellt.

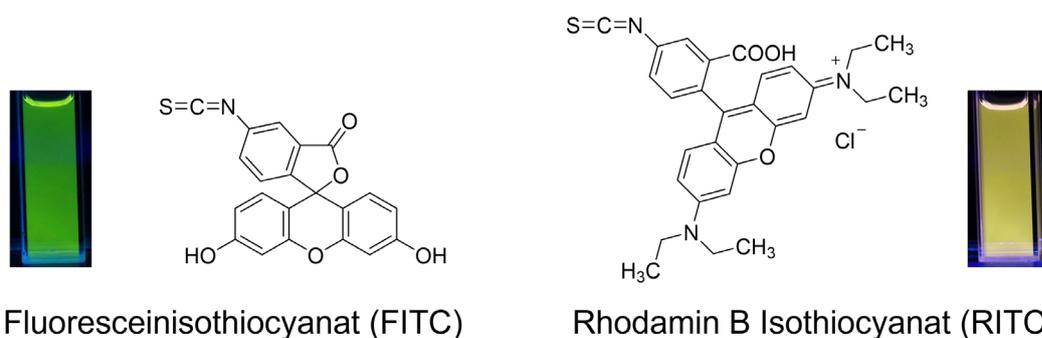


Abbildung 2.18: Strukturformeln und Farbfotographien der Lösungen der organischen fluoreszierenden Farbstoffe unter UV-Licht. Links: Fluoresceinisothiocyanat (FITC). Rechts: Rhodamin B Isothiocyanat (RITC).

FITC zeichnet sich durch eine Anregungswellenlänge von 450 nm und eine Emissionswellenlänge von 525 nm sowie einer charakteristischen grünen Fluoreszenz aus. RITC ist ein organischer Farbstoff mit einer charakteristischen orangen Fluoreszenz bei einer Anregungswellenlänge von 525 nm und einer Emissionswellenlänge von 575 nm.^[62] Beide Fluorophore besitzen eine sehr gute Löslichkeit in Wasser sowie eine starke Fluoreszenz, weswegen sie häufig zur Markierung eingesetzt werden.^[322,323]

2.5.2 Fluoreszenzlöschung

Das Fluoreszenzverhalten eines Fluorophors in einem Lösemittel wird durch zahlreiche Einflüsse bestimmt. Diese Einflüsse können in einer Veränderung der Emissionswellenlänge, der Struktur des Spektrums sowie auch der Quantenausbeute resultieren. So können generelle Effekte durch Interaktionen wie zum Beispiel eine lösungsmittelabhängige Stokes-Verschiebung durch Wechselwirkungen des Fluorophordipols mit dem Lösungsmittel auftreten. Das Lösungsmittel hat aber auch mit Eigenschaften wie der Temperatur, der Viskosität sowie chemischen Wechselwirkungen mittels Wasserstoffbrücken Einfluss auf die Emission eines Fluorophors. Zudem sind Emissionsspektren auch von der Fluorophorstruktur und den damit verbundenen Solvens-Wechselwirkungen sowie auch Fluorophor-Fluorophor-Wechselwirkungen abhängig. Die Anregung von Fluoreszenz mittels energiereicher Strahlung kann darüber hinaus zu Fotoreaktionen des Fluorophors führen, welche das Molekül zerstören und weitere Fluoreszenz verhindern. Dieser Prozess ist als Ausbleichen (*photobleaching*) bekannt. Der Verlust der Fluoreszenz eines Fluorophors durch äußere Faktoren wird auch allgemein als Fluoreszenzlöschung (*fluorescence quenching*) bezeichnet. Bei der Fluoreszenzlöschung steht die Emission von Licht eines Fluorophors in Konkurrenz mit den strahlungsfreien Prozessen bezüglich der Freisetzung von Energie. Dabei ist der Verlust des Fluoreszenzvermögens in der Regel durch einen sogenannten Quencher begründet.^[316]

Bei der genaueren Betrachtung der Fluoreszenzlöschung wird grundsätzlich zwischen statischem und dynamischen Quenchen unterschieden. In beiden Prozessen ist auf molekularer Ebene eine räumliche Nähe zwischen Fluorophor und Quencher notwendig. Bei dem statischen Quenchen wird aus dem Fluorophor und dem Quencher ein nicht fluoreszierender Komplex gebildet. Dieser Komplex kehrt nach Absorption von

Anregungslicht umgehend in seinen Grundzustand zurück, wobei keine Emission von Photonen erfolgt. Die Formation der nicht fluoreszierenden Komplexe führt somit zu einer Reduzierung der Konzentration an verfügbarem Fluorophor.^[316]

Im Falle des dynamischen Quenchens wird die Quantenausbeute oder die Lebensdauer des angeregten Zustandes des Fluorophors negativ beeinflusst. Anders als beim statischen Quenchen werden hier Fluorophor und Quencher nicht kombiniert oder verändert. Das dynamische Quenchen kann durch unterschiedliche Mechanismen beschrieben werden. Das sogenannte Kollisions-Quenchen stellt dabei die einfachste Variante dar. Bei diesem Prozess erfolgt eine Kollision des Quenchers mit dem angeregten Fluorophor innerhalb seiner Lebenszeit. Aufgrund der Kollision zwischen Quencher und angeregtem Fluorophor wird die Anregungsenergie strahlungsfrei bei der Rückkehr in den Grundzustand abgegeben.^[316] Als Quencher fungieren einfache Substanzen wie zum Beispiel Sauerstoff, Halogenid-Anionen sowie Elektronenmangelverbindungen.^[316,324–326] Im Zusammenhang mit dem Kollisions-Quenchen hat auch das Lösungsmittel einen Einfluss, da die Energie des angeregten Fluorophors an Moleküle des Lösungsmittels abgegeben werden können. Je nach Aufnahmevermögen der Moleküle fällt die Fluoreszenzlöschung unterschiedlich stark aus. So können zum Beispiel Wasser und Methanol mit ihren weit auseinanderliegenden Vibrationsniveaus große Mengen an Energie aufnehmen. Aufgrund von thermischer Abgabe der Energie wird dadurch die Emission von Fluoreszenzlicht erschwert.^[316]

Eine weitere Art des dynamischen Quenchens basiert auf den sogenannten Dexter-Elektronentransfer. Bei dieser Fluoreszenzlöschung erfolgt eine Kollision eines angeregten Moleküls mit einem Quencher und einer anschließenden Elektronenübertragung. Dabei wird das Elektron des angeregten Moleküls auf den Quencher übertragen. Aus dem Grundzustand des Quenchers wiederum erfolgt ein Elektronentransfer in den Grundzustand des Fluorophors. Der Prozess wird durch eine Abgabe der Energie des angeregten Quenchers abgeschlossen, welche strahlungsfrei oder durch Emission auf einer anderen Wellenlänge ablaufen kann.^[316,327]

Mit dem sogenannten Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) liegt ein weiterer Mechanismus des dynamischen Quenchens vor.^[328] Dabei wird die Energie von zuvor absorbierter Strahlung eines Fluorophors, der Donor, mittels Dipol-Dipol-Wechselwirkungen strahlungslos an einen zweiten Fluorophor, der Akzeptor, abgegeben. Der nun angeregte Akzeptor kann in Folge die Energie strahlungslos oder auch unter

Emission von Fluoreszenzlicht freisetzen. Bei diesem Prozess sind ein gleicher Energieniveauabstand sowie auch eine gleiche räumliche Orientierung der Schwingungsebenen notwendig. Die Effizienz des FRET wird stark durch den Abstand von Donor und Akzeptor beeinflusst. Typische Abstände für einen FRET sind 15 bis 60 Å.^[316,328,329]

Neben dem statischen und dynamischen Quenchen kann eine Fluoreszenzlöschung auch durch Absorption der Anregungsstrahlung begründet sein. Die Absorption verringert dabei die Energie für die Anregung des Fluorophors und folglich auch die Emission. Ebenso kann eine Absorption des emittierten Lichtes die messbare Fluoreszenz schwächen. Begründet sind diese konkurrierenden Lichtabsorptionen durch die absorbierenden Nebenkomponten.^[63,67,316] Zudem können auch zu hohe Konzentrationen an Fluorophor das Fluoreszenzvermögen vermindern. Die Fluoreszenzlöschung aufgrund des Fluorophors selbst wird auch als sogenanntes *Self-Quenching* bezeichnet.^[316,330]

Die Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften in einem Nanokomposit stellt eine große Herausforderung im Hinblick auf das Risiko des Quenchens des Fluorophors auf der Oberfläche des Hybridmaterials durch die magnetischen Nanopartikel dar.^[63,331] Zum einen können intermolekulare Löschungseffekte durch eine hohe Menge an organischen Fluorophoren auftreten. So zeigen zum Beispiel Partikel, welche mit einer geringeren Anzahl des Fluorophors Cyanin 5 (Cy5) modifiziert sind, eine höhere Fluoreszenzintensität verglichen mit Partikeln, welche mit einer höheren Anzahl an Molekülen funktionalisiert sind. Dabei konnten auch die Löschungseigenschaften von kolloidalen Materialien, wie Goldnanopartikel, an verschiedenen organischen Fluorophoren gezeigt werden. Die Ausstattung von Goldnanopartikeln mit fluoreszierenden Farbstoffen führte zu Löschungseffekten aufgrund von nichtstrahlenden Energietransfers über die metallische Oberfläche.^[332] Ein Prozess des Energietransfers wurde auch von Bertorelle et al. an magnetischen fluoreszierenden Nanokompositen beschrieben.^[333] Unter Anwendung der Fluorophore Fluorescein und Rhodamin wurde eine Fluoreszenzlöschung durch den Kontakt der Moleküle mit der Oberfläche von Eisenoxid-Partikeln begründet. Ähnlich wie beim Quenchen durch den Kontakt des Farbstoffs mit der metallischen Oberfläche kann ein Energietransfer auch über die Oberfläche des Metalloxids erfolgen. Mandal et al. präsentierten eine Verringerung der Fluoreszenzintensität mit Öl-Wasser-Emulsionen, welche Ölsäure-stabilisierte Eisenoxid-NPs und fluoreszierende Halbleiter-Quantenpunkte

(*quantum dots*, QDs) enthielten.^[334] Dabei wurde die Fluoreszenzverringerng mit steigender Konzentration der magnetischen Nanopartikel mit der steigenden Absorption des transmittierten Lichtes durch die Eisenoxid-NPs erklärt, welche zu einem statischen und dynamischen Quenchen der QDs führte. Folglich hat die konkurrierende Absorption des Lichtes einen großen Einfluss auf die Fluoreszenz, da durch eine größere Menge an Nanopartikeln mehr Anregungslicht absorbiert werden kann. Darüber hinaus wird auch durch eine verstärkte Absorption des emittierten Lichtes die Fluoreszenzintensität zusätzlich verringert.^[67,335] Zur Prävention einer Fluoreszenzlöschung in magnetischen fluoreszierenden Hybridmaterialien kann ein molekularer Abstandhalter oder eine stabile schützende Schale, wie zum Beispiel Silica, um die magnetischen Kerne vor Modifizierung mit einem Fluorophor eingesetzt werden.^[63] Die großen Vorteile einer Silica-Schale sind dabei die exzellente Biokompatibilität, die geringe Toxizität sowie die optische Transparenz insbesondere im Hinblick auf den Einsatz in magnetischen fluoreszierenden Partikelsystemen.^[279,298,336]

2.6 Freisetzungssysteme

Die in dieser Arbeit beschriebenen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel dienen mit ihren hochporösen Silica- sowie auch PMO-Schalen als Freisetzungssysteme für Wirkstoffe. Das Ziel für den Einsatz solcher Systeme besteht in einer lokalen Behandlung am Wirkort und einer kontrollierten Medikamenten-Freisetzung. Mittels der kontrollierten Freisetzung soll eine Reduzierung der benötigten Wirkstoffmenge und folglich eine Verringerung potenzieller toxischer Nebenwirkungen unter Aufrechterhaltung einer ausreichenden Wirkstoffkonzentration für die therapeutische Behandlung erreicht werden.^[70,337,338] Dabei können auch Systeme zur Verabreichung von schlecht wasserlöslichen Wirkstoffen eingesetzt werden.^[339] Das Freisetzungssystem muss für einen Einsatz in der Biomedizin wichtige Voraussetzungen wie eine hohe Biokompatibilität sowie eine hohe Porosität erfüllen, um eine möglichst hohe Wirkstoffbeladung im Porensystem für eine effektive Behandlung zu ermöglichen.^[70] Für die Beladung werden die Trägersysteme in eine konzentrierte Wirkstofflösung dispergiert, sodass eine Adsorption der Moleküle an der Oberfläche sowie in den Poren erfolgt.^[340]

Im Jahr 2001 wurde mit MCM-41 (*Mobil Composition of Mater No. 41*) ein nanoporöses Silica-Material als Freisetzungssystem von Ibuprofen vorgestellt.^[341] Seitdem wird

intensiv an Silica-Materialien als Trägersystem geforscht, da sie sich durch große spezifische Oberflächen sowie einstellbaren Partikel- und Porengrößen auszeichnen. Darüber hinaus sind durch die Möglichkeit der Oberflächenmodifizierung von Silica hohe Beladungen und kontrollierte Freisetzungen realisierbar.^[342] Die erfolgreiche Beladung und Freisetzung aus nanoporösen Silica-Systemen konnte in zahlreichen Studien an verschiedenen Wirkstoffen präsentiert werden.^[70] In Arbeiten von Song et al. konnte gezeigt werden, dass eine Modifizierung des Silica-Materials SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous-15*) mit Amino-Gruppen eine erhöhte Wirkstoff-Beladung sowie eine kontrollierte Freisetzung von Ibuprofen ermöglichte.^[343] Durch die Modifizierung von nanoporösen Silica-Schichten mittels Sulfonsäure-Gruppen konnten Ehlert et al. einen ähnlichen positiven Effekt bezüglich der Beladung und Freisetzung des Wirkstoffes Ciprofloxacin erzielen.^[205] So konnte die Menge an beladenen Wirkstoff erhöht und die Freisetzung durch den Einsatz einer zusätzlichen Beschichtung von hydrophoben Organosilanen verlangsamt und effektiver kontrolliert werden. Weitere Möglichkeiten zur Regulation der Freisetzung bieten Modifizierungen mit Polymeren und Doppellipidschichten.^[70,74,290] Die Freisetzungskinetik der unterschiedlichen Wirkstoffe kann generell durch zahlreiche Parameter beeinflusst werden. Ein wichtiger Faktor bei einer diffusionskontrollierten Freisetzung besteht in der Partikelgröße der Freisetzungssysteme. Dabei kann eine raschere Wirkstofffreisetzung durch eine Verringerung der Partikelgröße erzielt werden.^[340] Eine Vergrößerung der Poren bei gleicher Morphologie der Partikel steigert wiederum die Freisetzungsrates.^[344,345] Zudem bestehen zur Regulation der Freisetzung weitere Möglichkeiten in gezielten Modifizierungen der Partikeloberfläche und daraus resultierenden Wechselwirkungen mit dem Wirkstoff. Unter Nutzung von Wasserstoffbrückenbindungen, aromatischen oder hydrophoben Wechselwirkungen kann dabei die Beladungsmenge des Wirkstoffes erhöht sowie die Freisetzungskinetik beeinflusst werden.^[70] In Abbildung 2.19 sind unterschiedliche Freisetzungsprofile für nanoporöse Silica-Materialien dargestellt. Das Profil A zeigt die charakteristische Freisetzungskurve von unmodifizierten Systemen, welche auf schwachen Wechselwirkungen zwischen Wirkstoff und Träger basieren. Dabei liegt zu Beginn durch einen sogenannten *initial burst release* eine Abgabe einer großen Menge an Wirkstoff vor. Die Freisetzung wird danach durch eine geringe Freisetzungsrates abgeschlossen. Diese Art der Freisetzung ist vor allem für die Behandlung von akuten Infektionen geeignet, bei welcher eine hohe Wirkstoffdosis in einem kurzen Zeitraum

notwendig ist.^[341] Im Falle von Freisetzungskurve B wird in Bezug auf die Konzentration des Wirkstoffes eine Freisetzungskinetik erster Ordnung beschrieben. Hierbei wird die Freisetzung durch Prozesse wie Diffusion, Auflösung des Silica-Systems oder Wechselwirkungen zwischen dem Träger und dem Wirkstoff bestimmt.^[205,343,346] Eine Freisetzungskurve gemäß Profil C wird bei kontinuierlichen Wirkstofffreisetzungen mit einer Kinetik nullter Ordnung angestrebt, um eine Behandlung über einen längeren Zeitraum zu ermöglichen.^[347] Von besonders großem Interesse für biomedizinische Anwendungen sind Freisetzungssysteme, welche anhand von Profil D zu erkennen sind. Bei diesen Systemen handelt es sich um sogenannte Stimulus-Response-Systeme, deren Freisetzung durch äußere Einflüsse initiiert wird. Äußere Einflüsse für diese reversiblen Wirkstoffabgaben sind hierbei zum Beispiel die Änderungen von pH-Wert, Temperatur, Magnetismus, Lichteinwirkung, Redoxreaktionen sowie enzymatische Aktivität.^[73,348,349]



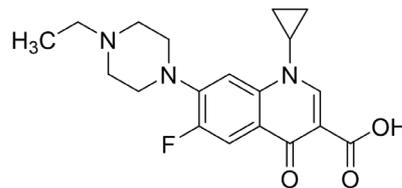
Abbildung 2.19: Wirkstofffreisetzungsprofile für nanoporöse Silica-Materialien. A: *initial burst release*. B: diffusionsgesteuerte Freisetzung. C: lineare kontinuierliche Freisetzung. D: Stimulus-Response-System. Nach ^[70].

Neben dem Einsatz von Wirkstoffen wie Antibiotika oder Entzündungshemmern in Freisetzungssystemen aus Silica-Materialien können auch Proteine, Enzyme, Wachstumsfaktoren, antibakterielle Silbernanopartikel sowie auch DNA- und siRNA-Moleküle eingesetzt werden.^[64,279,286,350–353] Insbesondere multifunktionale Freisetzungssysteme, wie die in dieser Arbeit beschriebenen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel, sind für die oben genannten Therapiemöglichkeiten von großem Interesse, da hierbei auch eine Kombination der gewünschten Behandlungen mit einer Steigerung der

Effektivität ermöglicht werden kann. So können die magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit ihren magnetischen Kernen zum Beispiel in der Krebstherapie eingesetzt werden. Unter Verwendung eines externen magnetischen Feldes können die Partikel zu bestimmten Körperregionen für eine gezielte Wirkstofffreisetzung dirigiert werden.^[354] Zudem können die magnetischen Kerne der Hybridmaterialien mittels eines externen magnetischen Feldes und einer damit verbunden Hyperthermie als temperatur-sensitive Freisetzungssysteme verwendet werden.^[355] Besonders für eine Tumorthherapie ist diese gezielte Behandlung vorteilhaft, da Nebenwirkungen der meist toxischen Wirkstoffe reduziert werden können.^[356]

2.6.1 Enrofloxacin

Der Wirkstoff Enrofloxacin (EFX) ist ein Antibiotikum, welches in der Veterinärmedizin eingesetzt wird. Es gehört zu der Gruppe der Fluorchinolone und damit allgemein zu den Chinolonen. Die Strukturformel von Enrofloxacin ist in Abbildung 2.20 dargestellt.



Enrofloxacin (EFX)

Abbildung 2.20: Strukturformel des Wirkstoffes Enrofloxacin (EFX)

Aufgrund einer niedrigen minimalen Hemmkonzentration (*minimum inhibitory concentration*, MIC) weisen Fluorchinolone eine hohe Effektivität gegenüber Bakterien auf. Dabei können sie sowohl gegen grampositive als auch gramnegative Bakterien eingesetzt werden.^[68,69,357] Die Wirkung von Chinolonen beruht auf der Hemmung des bakteriellen Enzyms Topoisomerase (DNA-Gyrase). Durch die DNA-Gyrase erfolgen in Bakterien eine Replikation von DNA und eine Transkription von mRNA (*messenger ribonucleic acid*) durch eine Entwindung der doppelsträngigen DNA. Zudem erfolgt ein Brechen der DNA in einzelne Fragmente gefolgt von einer erneuten Zusammenfügung. Unter Einsatz eines Chinolons wird dagegen der DNA-Enzym-Komplex gestört, sodass keine Freigabe eines DNA-Stranges und Zusammenfügung zu einem Doppelstrang erfolgen kann. Dadurch folgen eine Hemmung des Zellwachstums sowie der Zelltod.^[68,69,358] Nach Verabreichung

von Enrofloxacin wird über den Metabolismus ein großer Anteil des Wirkstoffes zu dem Fluorchinolon Ciprofloxacin umgewandelt, welches ebenfalls antibakteriell wirkt.^[69,359]

3 Analytische Methoden

Dieses Kapitel beschreibt die analytischen Methoden, welche zur Charakterisierung der magnetischen Kerne sowie der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel eingesetzt wurden. Der Fokus liegt dabei insbesondere auf der Probenpräparation und der verwendeten Messparameter. Die Transmissionselektronenmikroskopie zur Analyse der Struktur, Morphologie und Partikelgrößenbestimmung sowie die Charakterisierung der magnetischen Eigenschaften der eingesetzten Partikel mittels Vibrationsmagnetometer werden ausführlicher erläutert.

3.1 Elektronenmikroskopie

Die Elektronenmikroskopie ist eine weit verbreitete Methode zur Aufklärung der Zusammensetzung, Morphologie und Struktur unterschiedlichster Materialien, die folglich in den Materialwissenschaften von großer Bedeutung ist. Analog zu Lichtmikroskopen ist das Auflösungsvermögen von Elektronenmikroskopen von der eingesetzten Wellenlänge abhängig. Aufgrund des eingesetzten Elektronenstrahls und der kürzeren Wellenlänge als sichtbares Licht ist das Auflösungsvermögen dieser bildgebenden Methode deutlich höher. Im Folgenden werden die Transmissionselektronenmikroskopie sowie die Rasterelektronenmikroskopie vorgestellt.

3.1.1 Transmissionselektronenmikroskopie

Die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ist eine bildgebende Methode, welche mit Hilfe eines Elektronenstrahls die Analyse von Strukturen im Mikro- und Nanomaterbereich ermöglicht. In dieser Arbeit wurde die Methode zur Aufklärung von Struktur, Morphologie und Partikelgrößenbestimmung der magnetischen Kerne sowie Kern-Schale-Nanopartikel eingesetzt. Die Transmissionselektronenmikroskopie beruht auf Arbeiten von Ruska und Knoll in den 1930er Jahren, welche zum ersten Mal das Auflösungsvermögen von optischen Mikroskopen unterschritten.^[360] Bei dieser Methode wird ein hoch beschleunigter, fokussierter Elektronenstrahl eingesetzt, welcher ein elektronentransparentes, dünnes Objekt durchdringt. Dabei wird an einem dahinter angeordneten Leuchtschirm, einer CCD-Kamera (*charge coupled device*), eine Abbildung erzeugt. Die de-Broglie-Wellenlänge der Elektronen ermöglicht eine Auflösung, die

deutlich kleiner als Atomabstände ist. Der schematische Aufbau eines Transmissionselektronenmikroskops ist in Abbildung 3.1 dargestellt.

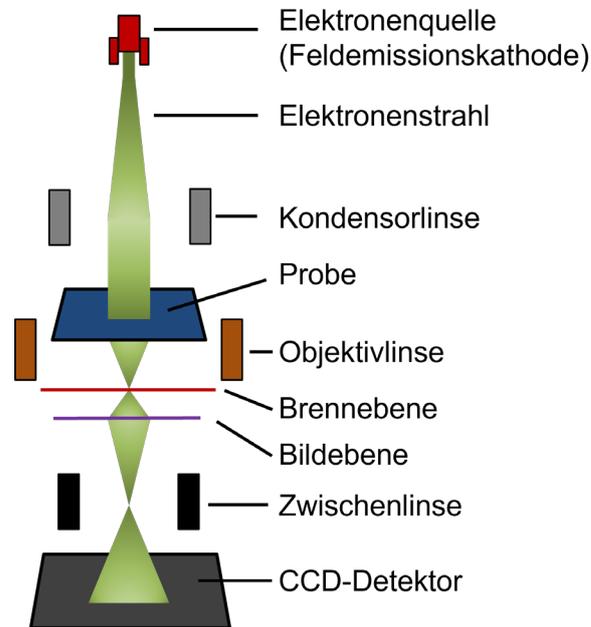


Abbildung 3.1: Schematischer Aufbau eines Transmissionselektronenmikroskops. Nach ^[360].

Mittels einer Feldemissionskathode (*field emission gun*, FEG) wird der Elektronenstrahl erzeugt. Über ein Kondensorlinsensystem erfolgt die Strahlformung. Dabei können achsferne Strahlen, welche Abbildungsfehler, sogenannte Aberration, verursachen, über eine Apertur ausgeblendet werden. Zudem kann der Konvergenzwinkel des Strahls festgelegt werden. Nach erfolgter Korrektur der Aberrationen ist die Erzeugung eines Elektronenstrahls mit geringer Ausdehnung realisierbar, welcher hohe Auflösungen ermöglicht. Das Kondensorlinsensystem sorgt im TEM-Modus für ein paralleles Auftreffen des Elektronenstrahls. In einem Goniometer befindet sich die zu untersuchende Probe. Mit Hilfe des Goniometers kann die Probe in alle drei Raumrichtungen bewegt sowie um zwei Achsen relativ zum Strahl verkippt werden. In Probennähe befindet sich das Objektivlinsensystem, welches die größte Vergrößerung ermöglicht, aber auch durch Aberrationen die erreichbare Auflösung limitiert. Das Beugungsbild entsteht in der hinteren Brennebene der Objektivlinse. Über zusätzliche Korrektoren werden die Aberrationen des Objektivlinsensystems korrigiert, sodass in der hinteren Bildebene ein aberrationsbereinigtes Bild entsteht. Durch nachfolgende Zwischenlinsen mit unterschiedlichen Stärken sind weitere Vergrößerungen des Realbildes in der Bildebene

oder des Beugungsbildes in der hinteren Brennebene zugänglich. Über die CCD-Kamera wird schließlich die Abbildung der Probe erzeugt.^[360]

In dieser Arbeit wurden die Aufnahmen mit Unterstützung von Dr. Alexandra Satalov an einem Transmissionselektronenmikroskop des Typs Tecnai G2 F20 TMP ($C_s = 2$ mm, $C_c = 2$ mm) der Firma FEI mit einer Feldemissionskathode mit einer Beschleunigungsspannung von 200 kV im Hellfeld-Modus angefertigt. Für die Probenpräparation wurden Probenträger der Firma Quantifoil bestehend aus einem Kupfernetz (400 Maschen) und einem 10 nm dicken Kohlenstofffilm eingesetzt. Die zu analysierenden pulverförmigen Proben wurden zunächst mit Hilfe eines Ultraschallbades in Ethanol dispergiert, anschließend auf die Träger getropft und über Nacht getrocknet. Für die graphische Auswertung der TEM-Aufnahmen sowie die Bestimmung der Partikelgrößenverteilungen wurde das Programm ImageJ verwendet.

3.1.2 Rasterelektronenmikroskopie

Mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie (REM) wurde eine weitere bildgebende Methode verwendet, um die Morphologie und Struktur der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel zu untersuchen. Bei dieser Methode wird über eine Elektronenkanone ein Elektronenstrahl erzeugt, welcher über elektromagnetische Linsen fokussiert wird und durch Ablenkspulen über den Bildausschnitt der zu untersuchenden Oberfläche zeilenweise rastert. Dabei entstehen Wechselwirkungen zwischen den sogenannten Primärelektronen des Strahls sowie der zur untersuchenden Oberfläche, was zu elastischen sowie auch inelastischen Streuprozessen führt. Die dabei entstehenden Rückstreu- und Sekundärelektronen werden jeweils durch einen Detektor registriert.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden in dieser Arbeit von Dr. Dennes Nettelroth an einem Feld-Emission-Rasterelektronenmikroskop des Typs JSM-6700F der Firma JEOL am Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie durchgeführt. Hierzu wurde eine kleine Spatelspitze der Nanopartikel mit einem Ultraschallbad in Ethanol dispergiert, auf einen polierten Graphit-Träger getropft und schließlich bei Raumtemperatur getrocknet.

3.2 Optische Spektroskopie

Die optische Spektroskopie stellt eine Gruppe von physikalischen Messmethoden dar, mit welcher die Wechselwirkung von Molekülen oder Stoffen mit elektromagnetischer Strahlung untersucht wird. Die dabei erhaltene Intensitätsverteilung, wie z.B: der Energie, der Absorption oder Transmission, wird als Spektrum bezeichnet. In diesem Kapitel wird die Charakterisierung mittels UV/Vis-Spektroskopie, Fluoreszenzspektroskopie sowie Infrarotspektroskopie beschrieben.

3.2.1 UV/Vis-Spektroskopie

Die optischen Eigenschaften der RITC-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel wurden mit der UV/Vis-Spektroskopie in Zusammenarbeit mit Dr. Franziska Lübke-Warwas aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Nadja-Carola Bigall aus dem Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie untersucht. Bei dieser Methode wird die Probe mit Licht im sichtbaren und ultravioletten Wellenlängenbereich durchstrahlt. Durch kontinuierliche Veränderung der Wellenlänge des einstrahlenden Lichtes kann hierbei ein Spektrum erhalten werden, welches Aufschluss über das Absorptionsverhalten der zu untersuchenden Probe ermöglicht.

Die Messungen erfolgten hierbei in einem Wellenlängenbereich von 350 – 800 nm an einem Agilent Cary 5000 Absorptionsspektrometer, welches zur Messung der reinen Absorption mit einer Ulbricht-Kugel des Typs Agilent DRA-2500 ausgestattet war. Für die Probenpräparation wurden die modifizierten Nanopartikel in Ethanol mit einer Massenkonzentration von 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ mit einem Ultraschallbad dispergiert. Anschließend wurden 3 mL der erhaltenen Dispersion in Quartz-Küvetten (1 cm) überführt und vermessen. Zuvor wurde eine Basislinien-Korrektur mit reinem Ethanol durchgeführt.

3.2.2 Fluoreszenzspektroskopie

Eine weitere Methode für die Analyse der optischen Eigenschaften, hier genauer der Fluoreszenzeigenschaften, besteht in der Fluoreszenzspektroskopie. Diese Methode wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Franziska Lübke-Warwas aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Nadja-Carola Bigall aus dem Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie für die Fluorophor-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel zur qualitativen und quantitativen Analyse eingesetzt. Nach Anregung der Probe bei einer bestimmten

Wellenlänge wird ein charakteristisches Emissionsspektrum erhalten. Dabei wird die Emission in einem Winkel von 90° gemessen, um die Anregungsstrahlung nicht zu erfassen.

In dieser Arbeit wurden die Fluoreszenzspektren an einem FLS 1000 Photoluminescence Spectrometer der Firma Edinburg gemessen. Die Fluorophor-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel wurden zur Probenpräparation mit einer Massenkonzentration von $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ in Ethanol mit einem Ultraschallbad dispergiert. Danach wurden 3 mL der erhaltenen Dispersion in Quartz-Küvetten (1 cm) überführt und vermessen.

3.2.3 Infrarotspektroskopie

Zur Aufklärung der chemischen Zusammensetzung der MNPSNPs sowie zum Nachweis der durchgeführten Modifizierungen und Wirkstoffeinlagerungen wurde die Infrarotspektroskopie (IR-Spektroskopie) eingesetzt. Dabei wird ausgenutzt, dass IR-Strahlung Molekülschwingungen und -rotationen bei der zu analysierenden Probe anregt. In Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung und den funktionellen Gruppen der organischen Modifizierungen wird IR-Strahlung mit charakteristischer Energie absorbiert. Somit können die Absorptionsbanden des resultierenden Spektrums einzelnen Molekülen und Teilstrukturen zugeordnet werden. Bei der Methode in dieser Arbeit wird die Transmission detektiert und gegen die Wellenzahl aufgetragen.

Für die Messungen wurde ein Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer (FT-IR) des Typs Tensor 27 der Firma Bruker eingesetzt. Hierfür wurde eine kleine Menge der Probe mit einem Überschuss an Kaliumbromid (KBr) zu Presslingen gepresst und in Transmission in einem Bereich von 4000 cm^{-1} bis 400 cm^{-1} gemessen. Für die Auswertung der Spektren wurde die Software OPUS 5.0 der Firma Bruker verwendet.

3.3 Physisorption

Mit Hilfe der Physisorption wurde die Porosität der unmodifizierten und modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel untersucht. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden die spezifische Oberflächen, die Porenvolumina sowie die Porenweitenverteilungen der Partikelsysteme bestimmt. Die Messungen wurden von Dr. Mandy Jahns, Dr. Alexander Mohmeyer, Malte Schäfer, Songül Noyun, Dr. Nadeschda Schmidt, Dr. Marcel C. Schulz und Christina Schrand an einem

Gassorptionssystem des Typs Autosorb-3 der Firma Quantachrome durchgeführt. Hierfür wurden ungefähr 30 mg der jeweiligen Probe in ein Messröhrchen gefüllt und für 24 h bei 100 – 110 °C im Vakuum ausgegast. Als Adsorptiv wurde Stickstoff bei 77 K eingesetzt. Für die Auswertungen wurde die Software ASi-Qwin 2.0 der Firma Quantachrome verwendet. Die spezifische Oberfläche wurde mithilfe des BET-Modells (nach Brunauer, Emmett und Teller) berechnet.^[215] Die Porenvolumina wurden bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.95$ ermittelt. Die Porenweitenverteilung wurde über die nicht-lokale Dichtefunktionaltheorie bestimmt (NLDFT).^[361] Hierfür wurde der Kernel „N₂ at 77 K on silica (cylinder/sphere pore, NLDFT ads. Model) verwendet.

3.4 Thermogravimetrie

Mit der Thermogravimetrie (TG) wurde die Zusammensetzung der magnetischen Eisenoxid-Kerne und der unmodifizierten sowie der modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel untersucht. Neben einer Bestimmung der Masse an organischen funktionellen Gruppen konnten mit dieser Methode zudem die Einlagerungsmengen der Enrofloxacin beladenen Partikelsysteme bestimmt werden. Bei der TG unterliegt die Probe einem Temperatur-Zeit-Programm, bei dem die Gewichtsänderung über eine Thermowaage detektiert wird.

Die TG-Messungen wurden in dieser Arbeit von Marc Robert Krey an einem STA 409 PC/PG Thermoanalysator der Firma Netzsch durchgeführt. Dabei wurde in einer Argon/Sauerstoff-Atmosphäre (80% Ar, 20% O₂) in einem Temperaturbereich von 40 – 1000 °C mit einer Heizrate von 5 °C min⁻¹ gemessen. Für die Datenauswertung wurde das Programm Proteus Thermal Analysis 4.3.1 der Firma Netzsch verwendet.

3.5 Röntgen-Pulverdiffraktometrie

Die Röntgen-Pulverdiffraktometrie wurde in dieser Arbeit zur Charakterisierung der Struktur und Zusammensetzung der magnetischen Kern-Nanopartikel sowie der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel eingesetzt. Die Beugung von Röntgenstrahlung an Netzebenen, die aus den Gitterbausteinen im Kristall resultieren, sind die Grundlage für diese Messmethode. Bei Materialien mit geordneten Strukturen ist durch die Abhängigkeit des Einfallswinkels der Röntgenstrahlung, der Wellenlänge sowie des

Netzebenenabstandes konstruktive Interferenz möglich. Der Zusammenhang wird hierbei durch die Bragg-Gleichung beschrieben (siehe Gleichung (4)).^[362]

$$2 \cdot d \cdot \sin\theta = n \cdot \lambda \quad (4)$$

Dabei beschreibt d den Netzebenenabstand, θ den Beugungswinkel, n die Beugungsordnung (ganzzahlig) und λ die Wellenlänge.

Neben der Messung der Röntgen-Pulverdiffraktogramme ist mit Hilfe der Scherrer-Gleichung eine Berechnung der Kristallitgrößen der Kern-Nanopartikel möglich. Diese Berechnung beruht auf einer Reflexverbreiterung aufgrund von weniger vorhandenen Netzebenen (siehe Gleichung (5)).^[363]

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta} \quad (5)$$

Hierbei ist D die Kristallitgröße, K ein Formfaktor (für annähernd sphärische Partikel $K=0.9$), λ die Wellenlänge, β die ermittelte Reflexhalbwidthsbreite und θ der Beugungswinkel.

Die Messungen der Röntgen-Pulverdiffraktogramme erfolgten in Reflexion mit $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung mit einer Wellenlänge von 1.54060 \AA und Ge(111)-Monochromator in Zusammenarbeit mit Dr. Franziska Lübke-Warwas aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Nadja-Carola Bigall und Prof. Dr. Armin Feldhoff aus dem Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie an einem Gerät des Typs D8 Advance der Firma Bruker. Für die Probenpräparation wurden die Pulver gemörsert und anschließend in die dafür vorgesehenen Pulverträger gefüllt und verdichtet. Es wurde im Bereich von $15 - 70 \text{ }^\circ 2\theta$ mit Hilfe des Programms Diffrac plus gemessen und ausgewertet.

3.6 Dynamische Lichtstreuung

Die dynamische Lichtstreuung (DLS) ist eine optische Methode, welche basierend auf dem Streulicht eines Laser dazu genutzt werden kann, um hydrodynamische Radien und Größenverteilungen von Partikeldispersionen sowie Molekulargewichte und Diffusionskoeffizienten zu bestimmen. Hierzu wird die Brown'sche Teilchenbewegung und die damit verbundene Fluktuation des Streulichts bei ausreichend kleinem Streuvolumen

genutzt. In dieser Arbeit diente die Methode zur Bestimmung der hydrodynamischen Radien der unmodifizierten und modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel sowie zur Stabilitätsbeurteilung der Partikeldispersionen.

Die Messungen wurden an einem Gerät des Typs Zetasizer Nano ZSP der Firma Malvern Instruments bei Raumtemperatur durchgeführt. Für die Probenpräparation wurden die Partikelsysteme mit einer Massenkonzentration von $230 \mu\text{g mL}^{-1}$ in Wasser mittels Ultraschallbad dispergiert. Bei den Ölsäure-stabilisierte Fe_3O_4 NPs diente Heptan als Medium. Für die Kern-Schale-Partikel wurde der Brechungsindex von Silica und für die Fe_3O_4 NPs der Brechungsindex von Eisenoxid verwendet. Für die Datenauswertung wurde die Software Zetasizer 7.11 der Firma Malvern genutzt.

3.7 Zeta-Potential-Messung

Die elektrophoretische Lichtstreuung wurde zur Bestimmung des Zeta-Potentials der Partikelsysteme eingesetzt. Das Zeta-Potential, welches auch als elektrokinetisches Potential bezeichnet wird, liegt an der Scherebene der elektrochemischen Doppelschicht vor. Für die Potentialbestimmung werden die Partikel in einem elektrischen Feld beschleunigt. Dabei ist die Beschleunigung vom Zeta-Potential abhängig. Die damit verbundene Partikelbewegung während der Messung wird mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung detektiert. Die Zeta-Potential-Messungen wurden ebenfalls mit dem Gerät des Typs Zetasizer Nano ZSP der Firma Malvern Instruments bei Raumtemperatur durchgeführt. Auch hier wurden die Partikelsysteme mit einer Massenkonzentration von $230 \mu\text{g mL}^{-1}$ in Wasser mittels Ultraschallbad dispergiert. Die Datenverarbeitung erfolgte ebenfalls mit die Software Zetasizer 7.11 der Firma Malvern.

3.8 Vibrationsmagnetometer

Die magnetischen Eigenschaften der magnetischen Kerne und Kern-Schale-Nanopartikel wurden mit einem Vibrationsmagnetometer (*vibrating sample magnetometer*, VSM) analysiert. Bei dieser Methode, welche Ende der 1950er Jahre von Foner et al. entwickelt wurde, werden die magnetischen Eigenschaften in Abhängigkeit einer externen magnetischen Feldstärke gemessen.^[364] Die Methode ist für Feststoffe sowie Flüssigkeiten geeignet. Der schematische Aufbau eines VSM ist in Abbildung 3.2 dargestellt.

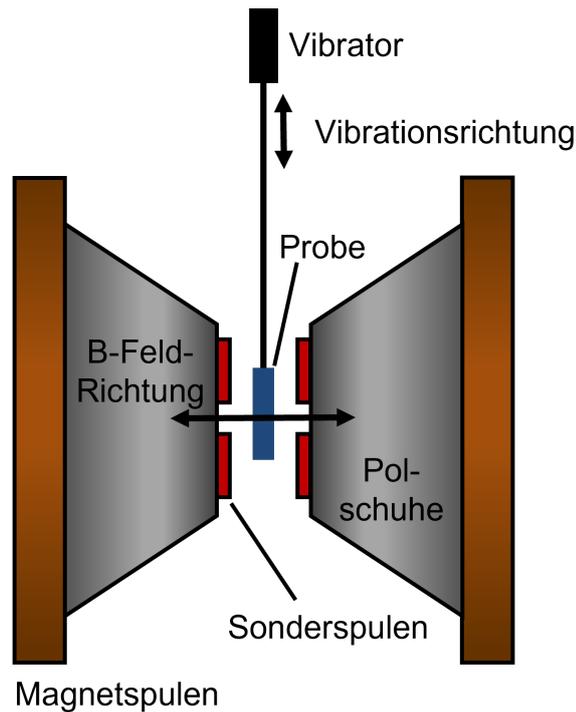


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau eines Vibrationsmagnetometers. Nach ^[365].

Die Probe wird hierbei an einer langen Probenhalterung befestigt und anschließend in ein homogenes Magnetfeld mit der Feldstärke H positioniert, welches durch Elektromagnete erzeugt wird. Die Probe wird durch das magnetische Feld magnetisiert. Mittels eines Vibrators erfolgt eine Anregung des Probenhalters mit der zu messenden Probe zu periodischen Schwingungen längs der Vibrationsrichtung mit einer konstanten Frequenz. Über die oszillierende Bewegung der Probe wird das magnetische Dipolmoment über eine induzierte Spannung in räumlich nah angeordneten Detektionsspulen gemessen. Die induzierte Spannung ist dabei direkt proportional zum magnetischen Moment der Probe, welches als Funktion der äußeren magnetischen Feldstärke H ermittelbar ist und somit sind Magnetisierungskurven darstellbar. Ein großer Vorteil dieser Analysemethode ist die leichte Bedienbarkeit sowie die hohe Auflösung von 1 bis $5 \cdot 10^{-7}$ emu.^[365] Die Einheit emu steht hierbei für *electromagnetic units* und es gilt $1 \text{ emu} = 0.001 \text{ A m}^2$.

Die Magnetisierungskurven wurden mit einem Vibrationsmagnetometer (VSM) des Typs 7407 der Firma Lake Shore Cryotronics, Inc. in Zusammenarbeit mit Dr.-Ing. Piriya Taptimthong und Professor Dr.-Ing. Marc Christopher Wurz des Instituts für Mikroproduktionstechnik der Leibniz Universität Hannover bei Raumtemperatur aufgenommen. Die Pulverprobenhalter bestanden dabei aus PLEXIGLAS GS/XT und wurden von Gian Luigi Angrisani sowie Dr.-Ing. Christian Klose vom Institut für

Werkstoffkunde der Leibniz Universität Hannover angefertigt. Sie hatten ähnliche Geometrien wie *730931 Kel-F bulk/powder upper/bottom cup* Probenhalter mit einem Volumen von 30 mm³. Das Probengewicht der Pulver lag bei 3 – 6 mg. Für die Messungen der Sättigungsmagnetisierung und der Restmagnetisierung wurden zwei Messbereiche ausgewählt. Dabei wurde im Hochfeld (15 kG) und Niedrigfeld (100 G oder 500 G) mit Rampenraten der Felder von 75 G s⁻¹ und 5 G s⁻¹ gemessen. Als Messsoftware wurde das Programm IDEAS VSM der Firma Lake Shore Cryotronics, Inc. verwendet.

3.9 Hyperthermie-Messung

Magnetische Nanopartikel erzeugen in einem magnetischen Wechselfeld mittels Hyperthermie Wärme. Zur Beurteilung der Hyperthermie-Eigenschaften der magnetischen Kerne und der unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel wurden Hyperthermie-Messungen an Partikeldispersionen der Proben in Zusammenarbeit mit Dr. Mona Oltmanns aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Andreas Kirschning des Instituts für Organische Chemie der Leibniz Universität Hannover durchgeführt. Hierfür wurden ein Hochfrequenz-Umrichter des Modells HU 2000+ der Firma Himmel mit einer Frequenz von 814 kHz und ein Induktor bestehend aus einem externen Schwingkreis in Kombination mit einer daran befestigten Kupferspule (je drei Windungen, Länge = 52 mm, Innendurchmesser = 12 mm) verwendet. Die Temperatur wurde kontaktlos mit einem handbetriebenen Infrarot-Thermometer der Firma Testo sowie einem stationären Infrarot-Thermometer der Firma Optris ermittelt. Für die Probenpräparation wurden 10 mg der jeweiligen Probe in 5 mL Wasser dispergiert und in einem Schraubdeckelglas in die Wasser-gekühlte Kupferspule platziert. Anschließend wurden die Partikeldispersionen einem elektromagnetischen Wechselfeld ausgesetzt und die Temperatur nach unterschiedlichen Zeitabständen gemessen.

3.10 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Zur Bestimmung der freigesetzten Wirkstoffmengen an Enrofloxacin aus den unmodifizierten und modifizierten magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln (MNPSNPs) wurde die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*high performance liquid chromatography*, HPLC) eingesetzt. Bei diesem physikalisch-chemischen Trennverfahren ist durch unterschiedlich starke Wechselwirkungen der Analyten mit einer stationären und

einer mobilen Phase eine Trennung der Substanzen sowie auch eine Identifizierung und Quantifizierung möglich. Hierbei verbleiben Komponenten mit stärkeren Wechselwirkungen länger in der stationären Phase im Vergleich zu Analyten mit schwachen Wechselwirkungen, was zu unterschiedlichen Retentionszeiten im Chromatogramm führt.

Die HPLC-Messungen wurden von Katharina Petrović (geb. Nolte) an einem Gerät der 1100 HPLC Series der Firma Agilent mit Sciencix DAD-Detektor mit Deuteriumlampe über eine Raptor™ C18 5 µm Säule (1560x4.6 mm; Porenweite 90 Å) bei 35 °C gemessen. Dabei wurden als Laufmittel Wasser und Acetonitril (Verhältnis_{Beginn} = 95:5; Verhältnis_{Ende} = 5:95) verwendet. Mit Hilfe der Software Chemstation für LC 3D Systems Version Rev. B.04.03[16] der Firma Agilent Technologies wurden die Daten ausgewertet.

3.11 Fluoreszenzmikroskopie

Die Untersuchung der Zellaufnahme von RITC-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) wurde mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie von Dr. Karen Fabienne Wilhemine Besecke durchgeführt. Diese Mikroskopie ist eine spezielle Art der Lichtmikroskopie, die auf Fluoreszenz beruht. Neben der Ausstattung einer gewöhnlichen Lampe für Durchlichtmikroskopie verfügt ein Fluoreszenzmikroskop darüber hinaus über eine Quecksilberdampf Lampe, welche Licht über das gesamte sichtbare Spektrum sowie UV-Licht liefert, um eine Detektion der Fluoreszenz zu ermöglichen. Das Objektiv des Mikroskops dient neben der Beleuchtung der Probe auch als Detektor des emittierten Fluoreszenzlichtes. Für die Analyse der Zellaufnahme wurde ein Fluoreszenzmikroskop des Typs CKX53 der Firma Olympus mit der Software cellsens Standard und einem Laser von Excelitas Technologies Corp. verwendet. Die experimentelle Durchführung der Probenpräparation für die Zellaufnahmeuntersuchungen ist in Kapitel 4.2 beschrieben.

3.12 Zellviabilitätstest

Die Zellviabilität der RITC-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel wurde an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) mit einem CellTiter-Blue®-Test untersucht. Hierfür erfolgten Analysen von Dr. Karen Fabienne Wilhemine Besecke an einem Multiplattenreader des Typs Infinite F200 Pro der Firma Tecan in Kombination mit

der Software i-control 1.12. Als Anregungswellenlänge wurden 540 nm eingesetzt und die Emissionwellenlänge betrug 595 nm. Die experimentelle Durchführung der Probenpräparation für den CellTiter-Blue®-Tests für die Zellviabilitätsstudien ist in Kapitel 4.3 erläutert.

4 Experimenteller Teil

In diesem Kapitel werden die Synthesevorschriften für die in dieser Arbeit verwendeten magnetischen Kerne sowie magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel beschrieben. Darüber hinaus werden Methoden zur Ausstattung der Kern-Schale-Nanopartikel mit organischen Fluorophoren sowie mit Polyethylenglycol oder Lipiden zur Erhöhung der Biokompatibilität erläutert. Da diese Partikelsysteme als Wirkstoffträger für das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (ID-MDT) dienen, werden zudem die experimentellen Methoden zur Untersuchung der Zellaufnahme und Zellviabilität sowie der Einlagerung und Freisetzung von Enrofloxacin als Wirkstoff vorgestellt. Abschließend zu diesem Kapitel werden die Synthesen für weitere magnetische Silica-Systeme beschrieben, welche im Rahmen des magnetischen Drug-Targetings (MDT) als Wirkstofffreisetzungssysteme fungieren.

In allen experimentellen Arbeiten wurden absoluter Ethanol und Reinstwasser mit einer maximalen Leitfähigkeit von $0.055 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$ aus einer Reinstwasseranlage des Typs MicroPure der Firma Thermo Electron GmbH oder des Typs Milli-Q® Integral System der Firma Merck Millipore verwendet.

4.1 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophoben Eisenoxid-Kernen

Im Folgenden werden die Synthesen für hydrophobe Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel als Kernmaterial sowie von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln (MNPSNPs) als multifunktionale Kern-Schale-Systeme für das ID-MDT-Prinzip vorgestellt. Darüber hinaus werden die experimentellen Vorschriften zur Partikelgrößen- sowie Porengrößeneinstellung beschrieben sowie die Synthesevorschrift zur Herstellung von MNPSNPs mit einer zusätzlichen Schale aus periodisch mesoporösen Organosilica (PMO) erläutert.

4.1.1 Synthese von hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikeln

Für die Herstellung von hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln (Fe_3O_4 NPs) als Kernmaterial für die magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel wurde eine abgewandelte Vorschrift von Haynes et al. verwendet.^[62]

Hierfür wurden zunächst 30 mL Wasser unter Rühren für 10 min mit Stickstoff gespült. Anschließend wurden unter Rühren bei 500 rpm und Stickstoffatmosphäre 4.8 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 2.0 g $\text{FeCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ sowie 0.8 mL Ölsäure hinzugegeben. Unter Rückfluss wurde die Reaktionsmischung auf 90 °C erhitzt. Für die Reaktion wurden 20 mL Ammoniumhydroxid-Lösung (14 wt%) rasch zugegeben, was zu einer sofortigen Schwarzfärbung führte. Das Reaktionsgemisch wurde für 2.5 h bei 90 °C und unter kontinuierlichem Stickstoff-Strom gerührt und anschließend auf Raumtemperatur abkühlen gelassen. Danach wurde das schwarze Präzipitat mit dem Magneten Dynamag 15 der Firma Life Technologies magnetisch abgetrennt und dreimal mit Wasser gewaschen. Abschließend wurden die Fe_3O_4 NPs in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet.

4.1.2 Synthese von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Die Synthese von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln (MNPSNPs) ist schematisch in Abbildung 4.1 dargestellt und erfolgte nach einer Vorschrift von Janßen und Warwas et al.^[52]

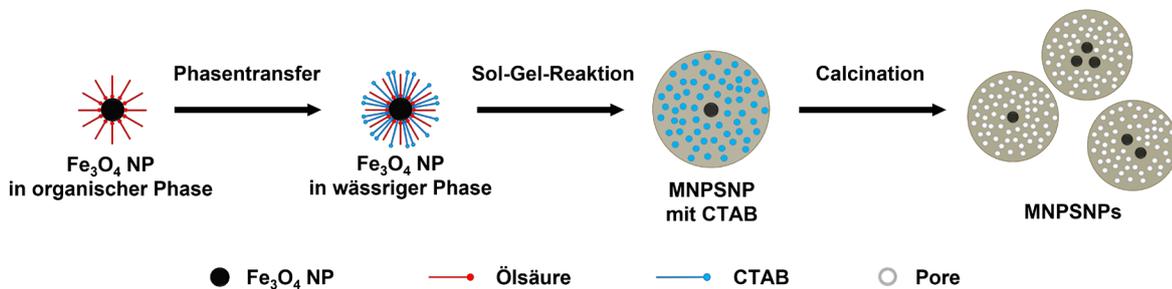


Abbildung 4.1: Schema zur Synthese der MNPSNPs. Nach ^[52].

22.5 mg der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln (Fe_3O_4 NPs) wurden in 3 mL Chloroform (CHCl_3) mit einem Ultraschallbad dispergiert. Zudem wurden 0.3 g Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) in 30 mL Wasser mit Hilfe des Ultraschallbades gelöst. Für einen Phasentransfer wurden anschließend die dispergierten Fe_3O_4 NPs sowie die CTAB-Lösung miteinander in einem offenen Schraubdeckelglas vereint. Für die Verdampfung des Chloroforms von der CTAB- Fe_3O_4 -Dispersion wurde das Gemisch für 1 h bei 65 °C im offenen Schraubdeckelglas unter Rühren bei 500 rpm erhitzt. Die CTAB- Fe_3O_4 -Dispersion wurde anschließend in einen Einhals-Rundkolben überführt,

mit 270 mL Wasser versetzt und bei 40 °C für 0.5 h bei 500 rpm gerührt. Für die Synthese der Silica-Schale wurden danach 9 mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25 wt%), 1.5 mL Tetraethylorthosilicat (TEOS) sowie 15 mL Ethylacetat innerhalb 1 min zur Reaktionsmischung gegeben und für 3 h bei 40 °C gerührt. Nachdem die Mischung Raumtemperatur erreicht hatte, erfolgte die Abtrennung der Partikel von der Syntheselösung durch Zentrifugation. Die Partikel wurden dreimal mit Ethanol gewaschen und in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Zur Entfernung des CTAB wurden die MNPSNPs bei 550 °C für 5 h und einer Heizrate von 1 °C min⁻¹ calciniert.

4.1.3 Synthesen zur Partikelgrößeneinstellung von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Die Synthesen der MNPSNPs mit Partikelgrößeneinstellung erfolgte nach einer modifizierten Vorschrift von Janßen und Warwas et al.^[52] Basierend auf der Variation der Syntheseparameter sind MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen zugänglich. Die Synthese der MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen ist schematisch in Abbildung 4.2 gezeigt. Die Syntheseparameter mit zugehöriger Probenbezeichnung (Partikelgröße in Klammern) sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

Vor den Synthesen der MNPSNPs erfolgte ein Phasentransfer der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln (Fe₃O₄ NPs) von der organischen in die wässrige Phase. Hierzu wurden die Fe₃O₄ NPs mit einem Ultraschallbad in Chloroform dispergiert. Außerdem wurden 0.1 g CTAB in 10 mL Wasser mit Hilfe eines Ultraschallbades gelöst. Die dispergierten Fe₃O₄ NPs sowie die CTAB-Lösung wurden anschließend miteinander in einem offenen Schraubdeckelglas vereint und für 0.5 h zur Verdampfung des Chloroforms bei 65 °C unter Rühren bei 500 rpm erhitzt. Die CTAB-Fe₃O₄-Dispersion wurde anschließend in einen Einhals-Rundkolben überführt, mit 90 mL Wasser versetzt und bei der Synthesetemperatur aus Tabelle 4.1 für 0.5 h bei 500 rpm gerührt. Für die Synthese der Silica-Schale wurden danach 3 mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25 wt%), TEOS sowie 5 mL Ethylacetat innerhalb 1 min zur Reaktionsmischung gegeben und für 3 h bei der Synthesetemperatur gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur erfolgte die Abtrennung der Partikel von der Syntheselösung durch Zentrifugation. Die Partikel wurden dreimal mit Ethanol gewaschen und in einem

Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Zur Entfernung des CTAB wurden die MNPSNPs bei 550 °C für 5 h und einer Heizrate von 1 °C min⁻¹ calciniert.

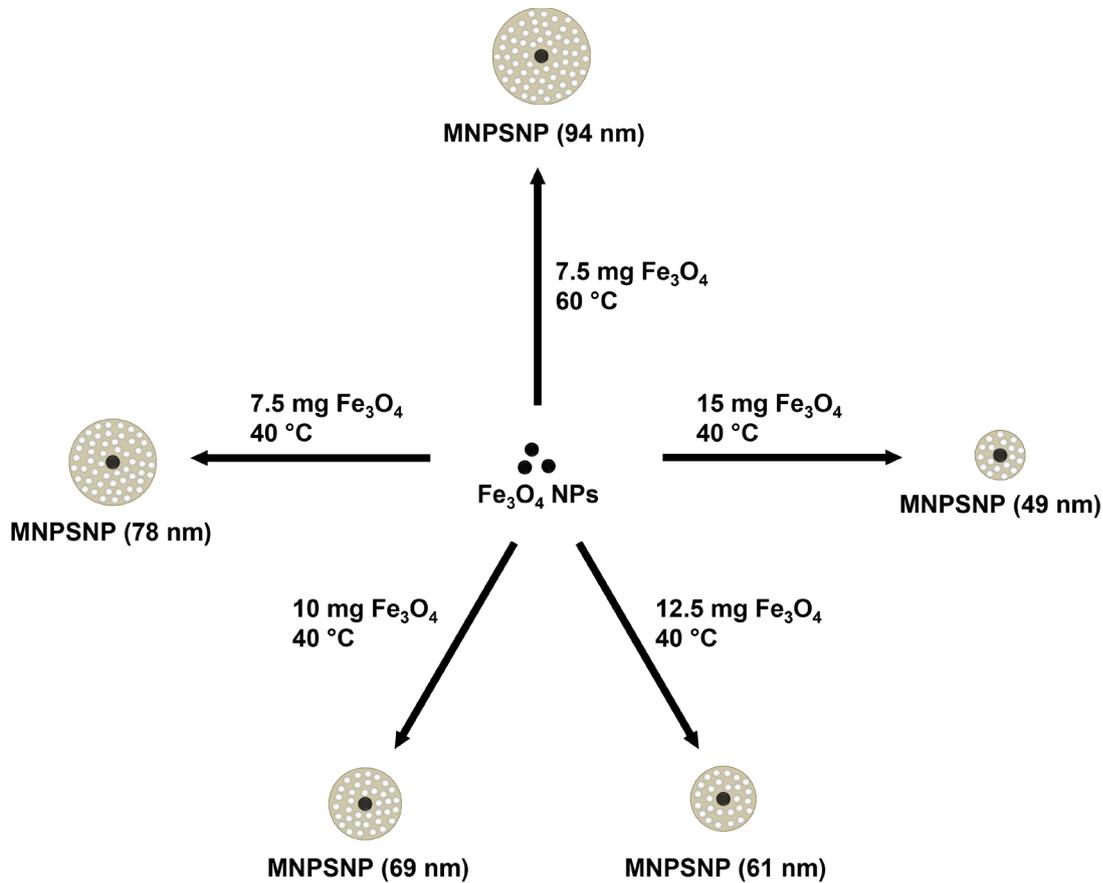


Abbildung 4.2: Schema zur Synthese der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) mit unterschiedlichen Partikelgrößen.

Tabelle 4.1: Syntheseparameter für der Herstellung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit unterschiedlichen Partikelgrößen

Probe	m (Fe ₃ O ₄) [mg]	V (CHCl ₃) [mL]	V (TEOS) [mL]	T [°C]
MNPSNP (49 nm)	15	2	0.5	40
MNPSNP (61 nm)	12.5	1.66	0.5	40
MNPSNP (69 nm)	10	1.33	0.5	40
MNPSNP (78 nm)	7.5	1	0.5	40
MNPSNP (94 nm)	7.5	1	0.5	60

4.1.4 Synthese von großporigen magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln

Für die Synthese von großporigen MNPSNPs wurde eine modifizierte Vorschrift von Janßen und Warwas et al.^[52] unter Einsatz von einem Überschuss von Ethylacetat als Quellungsmittel verwendet. Die Herstellung dieser Partikelsysteme wird schematisch in Abbildung 4.3 gezeigt.

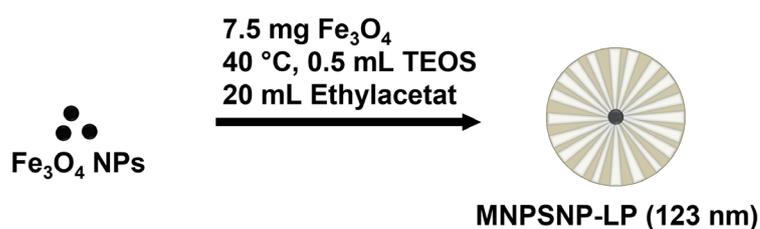


Abbildung 4.3: Schema zur Synthese der großporigen magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel MNPSNP-LP (123 nm).

Hierfür wurde ebenfalls ein Phasentransfer der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln (Fe₃O₄ NPs) von der organischen in die wässrige Phase durchgeführt. Dazu wurden 7.5 mg der Fe₃O₄ NPs mit einem Ultraschallbad in 1 mL Chloroform dispergiert. Zudem wurden 0.1 g CTAB in 10 mL Wasser mit Hilfe eines Ultraschallbades gelöst. Nach Vereinigung der dispergierten Fe₃O₄ NPs und der CTAB-Lösung in einem offenen Schraubdeckelglas, wurden die Partikel anschließend für 0.5 h zur Verdampfung des Chloroforms bei 65 °C unter Rühren bei 500 rpm erhitzt. Danach wurde die CTAB-Fe₃O₄-Dispersion in einen Einhals-Rundkolben überführt, mit 90 mL Wasser versetzt und bei 40 °C für 0.5 h bei 500 rpm gerührt. Für die Synthese der großporigen Silica-Schale wurden 3 mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25 wt%), 0.5 mL TEOS sowie 20 mL Ethylacetat innerhalb 1 min zur Reaktionsmischung zugesetzt und für 3 h bei 40 °C gerührt. Nach erfolgter Synthese und Abkühlen auf Raumtemperatur, wurden die Partikel durch Zentrifugation von der Syntheselösung getrennt, dreimal mit Ethanol gewaschen und in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur über Nacht getrocknet. Anschließend wurden die Partikel zur Entfernung des CTAB bei 550 °C für 5 h und einer Heizrate von 1 °C min⁻¹ calciniert. Die großporigen (*large pores*, LP) MNPSNPs haben im Folgenden die Bezeichnung MNPSNP-LP (123 nm).

4.1.5 Synthese von magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln mit periodisch mesoporöser Organosilica-Schale

Die Umhüllung der MNPSNPs mit einer weiteren Schale aus periodisch mesoporösem Organosilica (PMO) basiert auf einer modifizierten Synthese von Jahns et al. und ist in Abbildung 4.4 schematisch dargestellt.^[66]

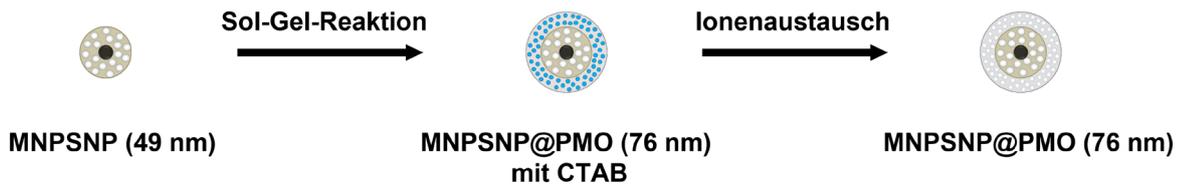


Abbildung 4.4: Schema zur Synthese der Kern-Schale-Schale-Nanopartikel MNPSNP@PMO (76 nm) mit zusätzlicher PMO-Schale.

Hierfür wurden 0.1 g MNPSNPs mit Partikelgrößen von 49 nm (MNPSNP (49 nm)) in einem Gemisch aus 9 mL Ethanol und 113 μ L Wasser in einem verschlossenen Schraubdeckelglas mit einem Ultraschallbad für 2 h dispergiert. Danach wurden 1 mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25 wt%), 20 mL Wasser und 3 mL einer CTAB-Lösung (0.11 M in Ethanol/Wasser, $V_{\text{EtOH}} : V_{\text{H}_2\text{O}} = 1 : 2$) zugegeben und bei Raumtemperatur für 4 h bei 500 rpm gerührt. Anschließend wurden 220 μ L 1,4-Bis(triethoxysilyl)benzol (BTEB) zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur und 500 rpm gerührt. Am nächsten Tag wurden die Partikel im Schraubdeckelglas ohne Rührer für 24 h bei 60 °C in einem Ofen gelagert. Nach der Synthese und dem Abkühlen wurde das Produkt zentrifugiert und einmal mit Wasser und zweimal mit Ethanol gewaschen. Die Entfernung des CTABs erfolgte mit Hilfe einer Ionenaustausch-Methode.^[219] Hierfür wurden die Partikel in einem Gemisch aus 50 mL Ethanol und 0.3 g NH_4NO_3 bei 60 °C für 1.5 h unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen und Zentrifugation wurde der Ionenaustausch zweimal wiederholt. Die Kern-Schale-Schale-Nanopartikel wurden dreimal mit Ethanol gewaschen und schließlich in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Die MNPSNPs mit zusätzlicher PMO-Schale haben im Folgenden die Bezeichnung MNPSNP@PMO (76 nm).

4.1.6 Modifizierung von magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln

In diesem Abschnitt werden die Synthesevorschriften zur Modifizierung der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mit organischen Fluorophoren und

Polyethylenglycol (PEG) beschrieben. Als fluoreszierende Moleküle wurden hierbei Fluoresceinisothiocyanat (FITC) oder Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) eingesetzt, welche zuvor zu Thioharnstoffen umgesetzt wurden. Zur Herstellung multifunktionaler Kern-Schale-Nanopartikel wurden zudem die Fluorophore mit PEG simultan eingesetzt.

4.1.6.1 Modifizierung der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mit organischen Fluorophoren

Die Modifizierung der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mit den organischen Fluorophoren Fluoresceinisothiocyanat (FITC) oder Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) erfolgte nach einer Vorschrift von Janßen und Warwas et al.^[52] Hierzu wurden die Farbstoffe zunächst mit einer Co-Kondensations-Reaktion mit 3-Aminopropyltrimethoxysilan (APTMS) zu den Thioharnstoffen FITC-APTMS und RITC-APTMS umgesetzt, die anschließend an die Silica- oder PMO-Schalen angebunden wurden. Die Reaktionen sind schematisch in Abbildung 4.5 dargestellt.

Für die Herstellung von FITC-APTMS und RITC-APTMS wurden 18 mg FITC oder 25 mg RITC in 2 mL Ethanol in einem Schnappdeckelglas gelöst und 5 µL APMTS zugegeben. Die Mischungen wurden unter Lichtausschluss für 24 h bei Raumtemperatur und 500 rpm gerührt.

Für die Anbindung der organischen Fluorophore an die Schale der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mittels *post-grafting*-Methode wurden 120 mg der jeweiligen Partikel in 42 mL Ethanol in einem Einhals-Rundkolben mit einem Ultraschallbad dispergiert und anschließend unter Rühren bei 500 rpm auf 50 °C erhitzt. Anschließend wurden 502 µL von FITC-APTMS oder RITC-APTMS nacheinander zugegeben und für 24 h bei 50 °C und 500 rpm unter Lichtausschluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die jeweiligen Partikel zentrifugiert, viermal mit Ethanol gewaschen und in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Die modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel haben in der Probenbezeichnung je nach verwendeten Farbstoff die Endung „@FITC“ oder „@RITC“.

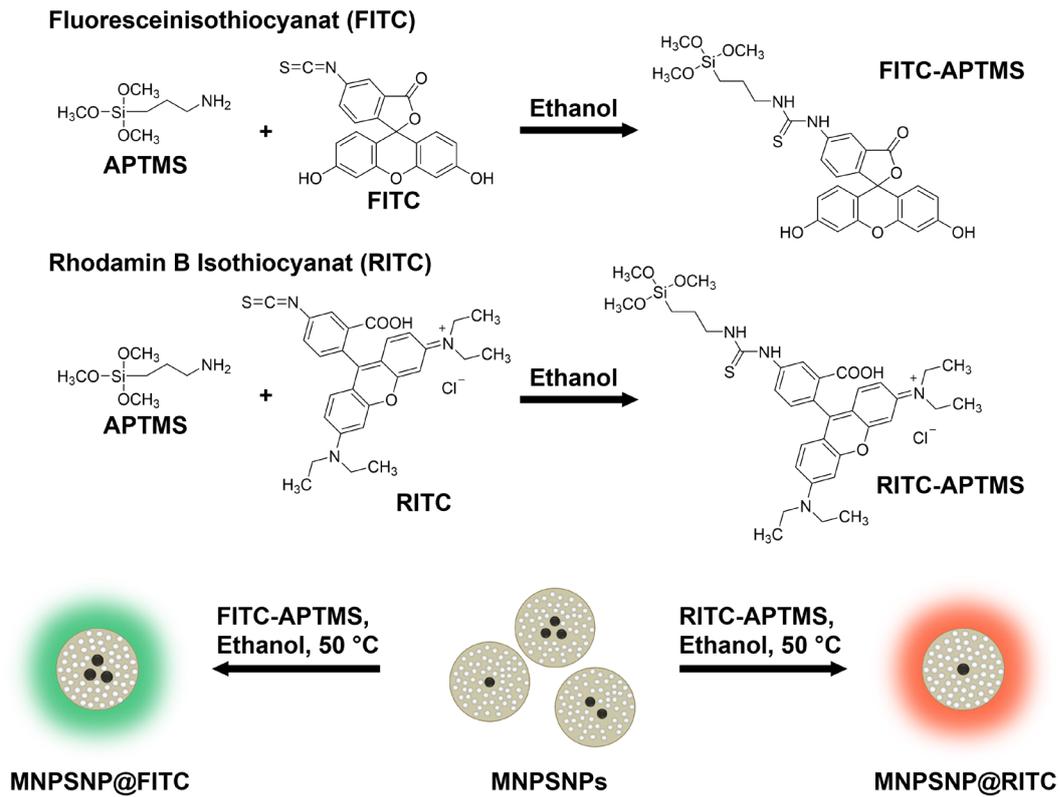


Abbildung 4.5: Schema zur Modifizierung der MNPSNPs mit den organischen Fluorophoren FITC und RITC.

4.1.6.2 Modifizierung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit Polyethylenglycol

Für die Modifizierung der MNPSNPs mit Polyethylenglycol (PEG) wurde eine modifizierte Vorschrift von Janßen und Warwas et al. verwendet.^[52] Die Reaktion ist schematisch in Abbildung 4.6 dargestellt.

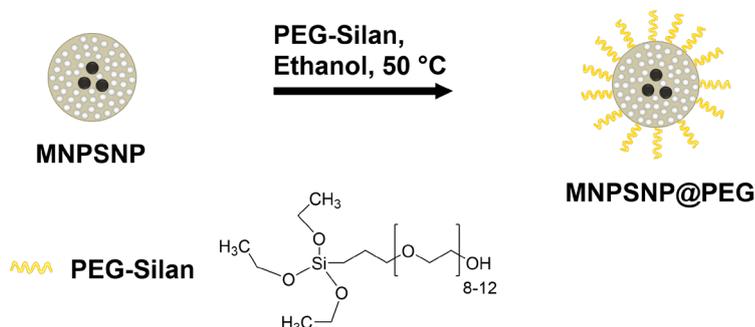


Abbildung 4.6: Schema zur Modifizierung der MNPSNPs mit PEG.

Hierzu wurden 120 mg der MNPSNPs in 42 mL Ethanol in einem Einhals-Rundkolben mit einem Ultraschallbad dispergiert und auf 50 °C bei 500 rpm erhitzt. Anschließend wurden 1.08 mL [Hydroxy(polyethylenoxy)propyl] triethoxysilan (PEG-Silan) zugegeben und für 24 h bei 50 °C und 500 rpm gerührt. Die Partikel wurden nach dem Abkühlen zentrifugiert, dreimal mit Ethanol gewaschen und in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Die PEG-modifizierten MNPSNPs werden im Folgenden als MNPSNP@PEG bezeichnet.

4.1.6.3 Simultane Modifizierung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit organischem Fluorophor und Polyethylenglycol

Die simultane Modifizierung der MNPSNPs mit einem organischen Fluorophor und PEG erfolgte nach einer Vorschrift von Janßen und Warwas et al..^[52] Die Modifizierungen sind schematisch in Abbildung 4.7 dargestellt.

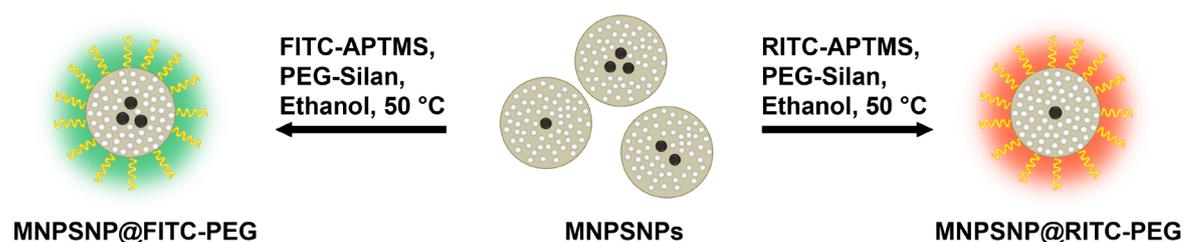


Abbildung 4.7: Schema zur simultanen Modifizierung der MNPSNPs mit PEG und den organischen Fluorophoren FITC oder RITC. Nach ^[52].

Die Herstellung von FITC-APTMS und RITC-APTMS erfolgte nach der Synthesevorschrift in Kapitel 4.1.6.1. Für die Modifizierung der MNPSNPs wurden 120 mg der Partikel in 42 mL Ethanol in einem Einhals-Rundkolben mit einem Ultraschallbad dispergiert und unter Rühren bei 500 rpm auf 50 °C erhitzt. Anschließend wurden 502 µL FITC-APTMS oder RITC-APTMS sowie 1.08 mL PEG-Silan zugegeben und unter Lichtausschluss für 24 h bei 50 °C und 500 rpm gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die jeweiligen Partikel zentrifugiert, viermal mit Ethanol gewaschen und in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Die MNPSNPs nach simultaner Modifizierung haben je nach verwendetem Farbstoff die Probenbezeichnung MNPSNPs@FITC-PEG oder MNPSNP@RITC-PEG.

4.2 Untersuchung der Zellaufnahme von Fluorophor-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln an HGF-Zellen

Die Zellaufnahme von RITC-modifizierten MNPSNPs und MNPSNP@PMOs wurde an primären humanen Gingivafibroblasten (*primary human gingival fibroblasts*, HGF) untersucht. Die Zellen wurden von der Arbeitsgruppe Stiesch der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover zur Verfügung gestellt. Die Probenpräparation für die Zellaufnahmeuntersuchungen sowie die mikroskopischen Analysen wurden von Dr. Karen Fabienne Wilhemine Besecke durchgeführt. Hierfür wurden die HGF in *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) ergänzt mit 10% fötalem Rinderserum (*fetal bovine serum*, FBS) und Penicillin/Streptomycin (Pen/Strep) (1% V/V) bei 37 °C in befeuchteter Atmosphäre mit 5% Kohlenstoffdioxid in einem Brutschrank kultiviert. Auf 4-Kammer-Objektträgern (Nunc™ Lab-Tek™ II Chamber Slides™) der Firma Thermo Fischer Scientific wurden 25.000 Zellen in 1 mL Medium pro Kammer mit einer Dichte von 1.5×10^4 Zellen cm^{-2} ausgesät. Zuvor wurden die jeweiligen verwendeten RITC-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel unter UV-Licht sterilisiert. In 800 μL des Inkubationsmediums wurden 400 μg der Partikel dispergiert, um eine Dispersion mit einer Massenkonzentration von $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ zu erhalten. 24 h nach der Aussaat der Zellen wurden 600 μL des Medium über den Zellen entfernt. 100 μL der jeweiligen Partikeldispersion wurden zu 400 μL des Mediumüberstandes zugegeben, um eine Massenkonzentration von $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ zu erhalten. Die Zellen wurden 24 h mit den Nanopartikeln inkubiert. Nach der Inkubation wurde der Überstand des Zellkulturmediums entfernt und die Zellen dreimal mit phosphatgepufferter Salzlösung (*phosphate buffered saline*, PBS) gewaschen. Für die Fixierung der Zellen wurden 500 μL einer Paraformaldehyd-Lösung (PFA) (0.5% in PBS) in jeder Kammer zugegeben und 10 min inkubiert. Anschließend wurden die Zellen dreimal mit PBS gewaschen. Nach dem letzten Waschschrift wurde der Überstand entfernt und die Zellen wurden mit 500 μL einer Triton-X100 (0.1% in PBS) für 5 min permeabilisiert. Anschließend wurde erneut dreimal mit PBS gewaschen. Für die Anfärbung des Zytoskeletts wurde das Reagenz Phalloidin-iFluor 488 verwendet. Die Stammlösung wurde 1 : 1000 mit PBS verdünnt. Von dieser Lösung wurden 500 μL in jede Kammer pipettiert und für 10 min bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss inkubiert. Danach wurden die Zellen erneut dreimal mit 500 μL PBS gewaschen. Für die Anfärbung der Zellkerne wurde 4',6-diamidino-2-phenylindol (DAPI) eingesetzt. Die Stammlösung wurde

1 : 1000 mit PBS verdünnt und 500 μL der erhaltenen Lösung wurde zu den Zellen gegeben. Die Zellen wurden 10 min bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss inkubiert. Anschließend wurden die Zellen erneut dreimal mit PBS gewaschen und nach dem letzten Waschschrift wurde der Überstand entfernt. Für die Probenpräparation und Fixierung der Zellen für die Mikroskopie wurden die Kammern entfernt, 50 μL Fluoromount-G™ (Thermi Fischer Scientific) auf jedes Segment der Objektträger zugegeben und schließlich Deckglässchen auf den Zellen positioniert. Dabei wurden durch vorsichtiges Andrücken Luftsinschlüsse entfernt. Die präparierten Proben wurden bis zur Mikroskopie unter Lichtausschluss im Kühlschrank gelagert. Die Zellaufnahme wurde mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie analysiert (siehe Kapitel 3.11).

4.3 Untersuchung der Zellviabilität von Fluorophor-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln an HGF-Zellen

Die Zellviabilität von RITC-modifizierten MNPSNPs sowie MNPSNP@PMOs wurde mit Hilfe von CellTiter-Blue®-Test untersucht. Hierbei wird der Farbstoff Resazurin von lebenden Zellen mittels Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) über die Atmungskette in den Fluoreszenzfarbstoff Resofurin umgesetzt.

Die Probenpräparation und Analyse der Zellviabilität wurde von Dr. Karen Fabienne Wilhemine Besecke durchgeführt. Dafür wurden analog zu den Zellaufnahmeuntersuchungen HGF-Zellen mit dem gleichen Verfahren für die Zellaussaat eingesetzt (siehe Kapitel 4.2). Die Zellen wurden von der Arbeitsgruppe Stiesch der Klinik für Zahnärztliche Prothetik und Biomedizinische Werkstoffkunde der Medizinischen Hochschule Hannover zur Verfügung gestellt. Für die Präparation wurden die Zellen mit einer Dichte von 1.5×10^4 Zellen cm^{-2} in einer 96-Well-Platte (4.5×10^3 Zellen in 0.3 cm^2 , 200 μL Medium) ausgesät. 24 h nach der Aussaat wurden 120 μL Medium entnommen. Anschließend wurden 20 μL der jeweiligen RITC-modifizierten Partikeldispersion ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) aus Kapitel 4.2 zu den restlichen 80 μL des Zellmediums zugegeben, um eine finale Massenkonzentration von $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ zu erhalten. Zudem wurden 10 μL der jeweiligen RITC-modifizierten Partikeldispersion ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) zu 90 μL des Zellmediums in einem weiteren Well zugegeben, um eine finale Massenkonzentration von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ zu erzielen. Als Kontrolle wurden 20 μL des Inkubationsmediums ohne Nanopartikel zu den Zellen in weitere Wells gegeben. Die Evaluation erfolgte hierbei als Dreifachbestimmung.

Nach 24 h des Inkubationsbeginns wurde das Zellmedium gewechselt. Für den CellTiter-Blue®-Test wurde das Medium oberhalb der Zellen vier Tage nach der Inkubation entnommen. Anschließend wurden 100 µL eines Gemisches aus 1.67 mL CellTiter-Blue®-Reagenzes (CTB, Promega) und 8.33 mL Medium (DMEM + FBS + Pen/Strep) jedem Well zugegeben. Die Inkubation erfolgte für 4 h bei 37 °C in einem Inkubationsschrank. Die quantitative Bestimmung der umgesetzten Farbstoffmengen und somit die Zellviabilität wurde mit Hilfe eines Multiplattenreaders analysiert (siehe Kapitel 3.12).

4.4 Beladung der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mit Enrofloxacin

Für die Untersuchungen zur Eignung der unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs und MNPSNP@PMOs als Wirkstofffreisetzung-Systeme für das ID-MDT-Prinzip wurde Enrofloxacin (EFX) als Modellemolekül verwendet. Für die MNPSNPs wurden für die Einlagerung des Wirkstoffs EFX-Lösungen mit einer Massenkonzentration von 3 mg ml⁻¹ und einem pH-Wert von 8.5 eingesetzt. Die MNPSNP@PMOs wurden in einer EFX-Lösung mit einer Massenkonzentration von 2 mg mL⁻¹ und einem pH-Wert von 5.0 beladen. 120 mg der jeweiligen Partikel wurden zunächst in 17.9 mL der EFX-Lösung mit einem Ultraschallbad in einem Schraubdeckelglas dispergiert, anschließend unter Rühren bei 500 rpm auf 37 °C erhitzt und unter Lichtausschluss für 24 h bei 500 rpm gerührt. Nach Zentrifugation erfolgte ein Waschschrift mit Wasser sowie die Trocknung im Vakuumofen unter Lichtausschluss und bei Raumtemperatur. Die Enrofloxacin beladenen MNPSNPs haben in der Probenbezeichnung die Endung „-EFX“. Für die Referenzproben wurde jeweils eine Partikelprobe unter gleichen Bedingungen ohne Enrofloxacin behandelt.

4.4.1 Umhüllung der mit Enrofloxacin beladenen magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit Lipid

Die Umhüllung von Enrofloxacin beladenen RITC-modifizierten MNPSNPs mit dem Lipid 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (DOPC) erfolgte nach einer modifizierten Vorschrift von Cauda et al.^[74] Die Syntheseroute für die RITC-Modifizierung der MNPSNPs, die Beladung mit Enrofloxacin sowie die Umhüllung mit DOPC ist in Abbildung 4.8 dargestellt.

aufweist, welche in vielen biologischen Systemen vorzufinden ist. Für die Simulation körperähnlicher physiologischer Bedingungen erfolgten die Freisetzungen bei einer Temperatur von 37 °C. Dabei wurde für jede Probe eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Die experimentelle Durchführung ist schematisch in Abbildung 4.9 dargestellt.

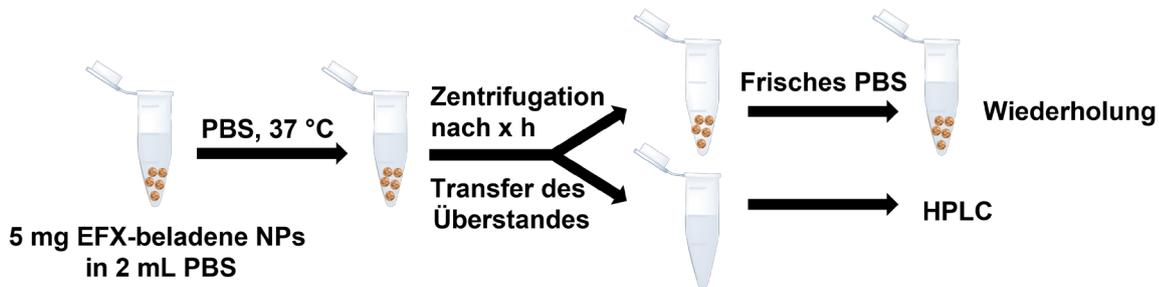


Abbildung 4.9: Schema der Freisetzungsexperimente mit EFX-beladenen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln.

5 mg der jeweiligen Partikel wurden in 2 mL PBS in Polypropylen-Röhrchen mit Hilfe eines Vortexers kurz dispergiert und anschließend in einen 37 °C temperierten Ofen gestellt. Nach bestimmten Zeitabständen wurden die Partikel zentrifugiert, der Überstand abgenommen und 2 mL frisches PBS zugegeben. Bis zum Ende der Freisetzungsexperimente wurde dieser Schritt wiederholt. Für die Freisetzungsexperimente des Partikelsystems MNPSNP@RITC-EFX@DOPC wurde nach 2 h eine PBS-Lösung mit 2.5% Triton X-100 bis zum Ende der Freisetzungsexperimente zugegeben. Die Überstände wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (siehe Kapitel 3.10) analysiert.

4.6 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophilen Eisenoxid-Kernen

In diesem Abschnitt werden die Synthesen von magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln mit hydrophilen Citrat-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln als Kernmaterial beschrieben. Diese Partikelsysteme dienen als Wirkstoffträger für magnetisches Wirkstoff-Targeting mit gezielter Freisetzung über Hyperthermie. Neben der Synthese des Kern- und des Schalenmaterials wird die Ausstattung der magnetischen Silica-Systeme mit dem organischen Fluorophor FITC beschrieben.

4.6.1 Synthese von hydrophilen Eisenoxid-Nanopartikeln

Die Synthese von hydrophilen Citrat-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikeln (Fe_3O_4 NPs) als Kernmaterial für die magnetischen Silica-Partikel (MSPs) erfolgte nach einer modifizierten Vorschrift von Ullah et al.^[77] In einem Dreihalskolben wurden zu Beginn 50 mL Wasser und 50 mL Ethanol vermischt. Die Lösung wurde für 15 min unter Rühren bei 500 rpm mit Stickstoff gespült. Anschließend wurden 0.71 g Eisen(III)-acetylacetonat zugegeben und für weitere 1.5 h unter Rühren bei 500 rpm Stickstoff eingeleitet. Danach wurden 0.76 g Natriumborhydrid der Mischung zugefügt, was zu einer sofortigen Schwarzfärbung führte. Das schwarze Präzipitat wurde weitere 1.5 h unter Stickstoffstrom gerührt und anschließend mit einem Magneten des Typs Dynamag 15 der Firma Life Technologies magnetisch abgetrennt. Die Partikel wurden viermal mit Wasser gewaschen. Zur Stabilisierung wurden die hergestellten Eisenoxid-Nanopartikel in einem Schraubdeckelglas in 40 mL einer Trinatriumcitrat-Lösung (0.5 M) mit einem Ultraschallbad dispergiert. Anschließend wurden die Partikel für 20 h bei 60 °C und 500 rpm gerührt. Nach dem Abkühlen wurden die Partikel magnetisch getrennt und einmal mit Wasser und einmal mit Ethanol gewaschen. Die hydrophilen Fe_3O_4 NPs wurden in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet.

4.6.2 Synthese von magnetischen Silica-Partikeln

Die Synthese der magnetischen Silica-Partikel (MSPs) unter Einsatz von Ammoniak als Base erfolgte nach einer Vorschrift von Zhang et al.^[180] Hierzu wurden 36 mg der Citrat-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel (Kapitel 4.6.1) in 246 mL Wasser und 120 mL Ethanol in einem Dreihalskolben mit einem Ultraschallbad dispergiert. Anschließend wurden unter Rühren bei 500 rpm 0.5 g CTAB, 3 mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25 wt%) und tropfenweise 3 mL TEOS zugegeben. Das Gemisch wurde 17 h bei Raumtemperatur gerührt, danach zentrifugiert und dreimal mit Ethanol gewaschen. Die Partikel wurden in einem Vakuumschrank bei Raumtemperatur getrocknet. Zur Entfernung des CTAB wurden die MSPs bei 550 °C für 5 h und einer Heizrate von 1 °C min⁻¹ calciniert.

4.6.3 Simultane Synthese und Modifizierung der magnetischen Silica-Partikel

Die simultane Synthese und Modifizierung von magnetischen Silica-Partikeln mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC) erfolgte nach einer Synthesevorschrift von Ullah et al.^[77]

Die Herstellung von FITC-APTMS für die Anbindung des Fluorophors an die Silica-Matrix erfolgte nach der Synthesevorschrift in Kapitel 4.1.6.1

Für die Synthese der modifizierten magnetischen Silica-Partikel wurden 36 mg der Citrat-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel (Kapitel 4.6.1) in 246 mL Wasser und 120 mL Ethanol in einem Dreihalskolben mit einem Ultraschallbad dispergiert. Anschließend wurden unter Rühren bei 500 rpm 0.5 g CTAB, 3 mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25 wt%) und tropfenweise 226 μ L FITC-APTMS sowie 3 mL TEOS zugegeben. Das Gemisch wurde 17 h bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluss gerührt, danach zentrifugiert und dreimal mit Ethanol gewaschen. Die Entfernung des CTABs erfolgte mit Hilfe einer Ionenaustausch-Methode.^[219] Hierfür wurden die Partikel in einem Gemisch aus 50 mL Ethanol und 0.3 g NH_4NO_3 bei 60 °C für 1.5 h unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen und Zentrifugation wurde der Ionenaustausch zweimal wiederholt. Die Kern-Schale-Partikel wurden dreimal mit Ethanol gewaschen und schließlich in einem Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Die Partikel nach simultaner Synthese und Modifizierung mit FITC haben die Probenbezeichnung MSP@FITC.

5 Ergebnisse und Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Entwicklung geeigneter magnetischer Kern-Schale-Systeme für eine zielgerichtete Wirkstoffanlieferung vorgestellt und diskutiert. Im ersten Teil werden hierbei die magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophoben Eisenoxid-Kernen behandelt, welche für das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (ID-MDT) eingesetzt werden. Im zweiten Part dieses Kapitels werden die Ergebnisse der Einlagerung und Freisetzung des Wirkstoffes Enrofloxacin aus den unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln beschrieben. Für die Begutachtung der Eignung als Wirkstofffreisetzungssysteme liegt dabei auch ein Augenmerk auf die unterschiedlichen Modifizierungen und die damit verbundenen Freisetzungsprofile. Der dritte und letzte Part dieses Kapitels beinhaltet die Ergebnisse und Diskussionen der magnetischen Kern-Schale-Partikel mit hydrophilen Eisenoxid-Kernen, die für das magnetische Wirkstoff-Targeting (MDT) eingesetzt werden.

5.1 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophoben Eisenoxid-Kernen

Zunächst werden die Eigenschaften der magnetischen hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel (Fe_3O_4 NPs) beschrieben. Im nächsten Schritt werden die magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) vorgestellt, welche als Wirkstofffreisetzungssysteme für das ID-MDT fungieren. Zudem werden unterschiedliche Funktionalisierungen der Kern-Schale-Systeme beschrieben, welche die Multifunktionalität der Partikel erhöhen. Durch Variation der Syntheseparameter wird eine Größenkontrolle sowie eine Variation des Porensystems der MNPSNPs erzielt. Darüber hinaus ist durch Verwendung von Organosilanen ein weiteres magnetisches Wirkstoffträgersystem in Form von MNPSNPs mit einer weiteren Schale aus periodisch mesoporösem Organosilica (PMO) zugänglich. Die unterschiedlichen Partikeleigenschaften sowie der damit verbundene Einfluss auf die Fluoreszenz der Fluorophor-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel werden abschließend in diesem Kapitel diskutiert.

5.1.1 Charakterisierung der hydrophoben Eisenoxid-Nanopartikel

Für die magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel für das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting wurden hydrophobe Ölsäure-stabilisierte Fe_3O_4 NPs nach einer modifizierten Synthese von Haynes et al. als magnetisches Kernmaterial eingesetzt.^[62] In Abbildung 5.1 sind TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der Fe_3O_4 NPs dargestellt.

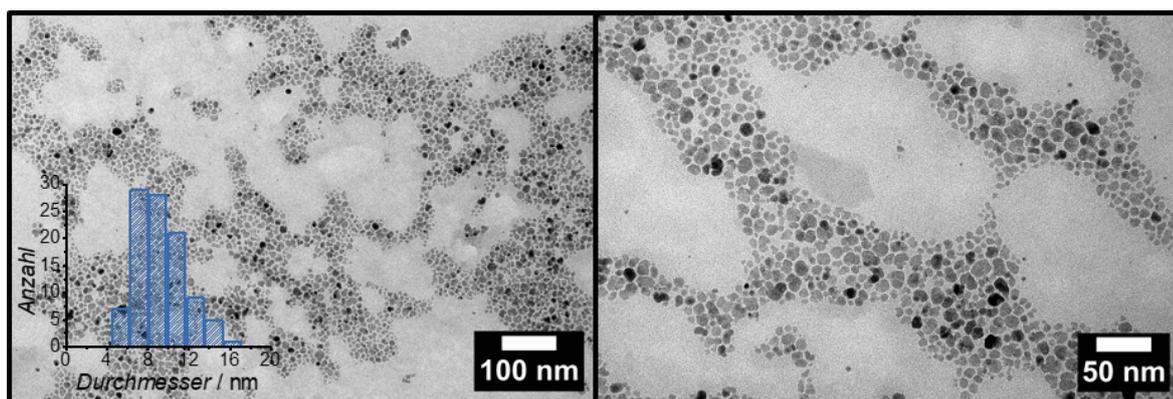


Abbildung 5.1: TEM-Aufnahmen der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mit Partikelgrößenverteilung. Nach ^[52].

Die Nanopartikel weisen eine mittlere Partikelgröße von 10 ± 2 nm auf und erfüllen somit Grundvoraussetzungen für superparamagnetische Eigenschaften.^[52] Die Partikelgröße sollte hierbei unter 30 nm sein, da der Superparamagnetismus sonst nicht mehr vorliegt und das Eisenoxid mit folglich ferrimagnetischen Eigenschaften eine unerwünschte Remanenz nach Anlegen eines externen magnetischen Feldes besitzt, wodurch das Risiko von Partikelaggregation zunimmt. Allerdings sollten die Partikel auch nicht kleiner als 10 nm sein, da ab hier mit abnehmender Größe auch die Sättigungsmagnetisierung verringert wird. In Anbetracht der nanoporösen Silica-Schale um das Kernmaterial wird durch eine geringere Sättigungsmagnetisierung die magnetische Anziehung und Akkumulierung am magnetisierbaren Implantat erschwert.^[130]

Neben der transmissionselektronenmikroskopischen Analyse wurde die Partikelgröße auch mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) in Heptan untersucht. Abbildung 5.2 zeigt die zugehörige Größenverteilung des hydrodynamischen Durchmessers. Der mittlere hydrodynamische Durchmesser der magnetischen Kerne beträgt 50 nm. Der größere Partikeldurchmesser basiert hierbei auf der bei dieser Methode mitgemessenen

Solvatationshülle sowie auf Partikelagglomeration. Die Agglomeration der Kerne wird durch einen relativ hohen Polydispersitätsindex (PDI) von 0.552 bestätigt.

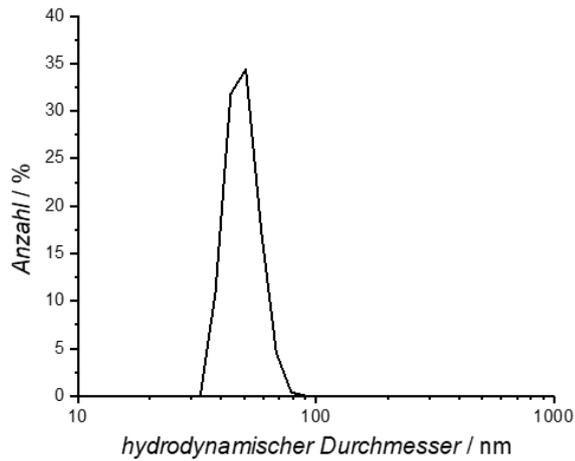


Abbildung 5.2: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilung der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mittels DLS.

Zur Stabilisierung der Fe_3O_4 NPs und Prävention einer Oxidation von Magnetit (Fe_3O_4) zu Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) mit schwächeren magnetischen Eigenschaften wurde Ölsäure als Ligand für die magnetischen Kern-Nanopartikel eingesetzt. In Abbildung 5.3 ist das IR-Spektrum der Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs dargestellt. Die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.1 zusammengefasst.

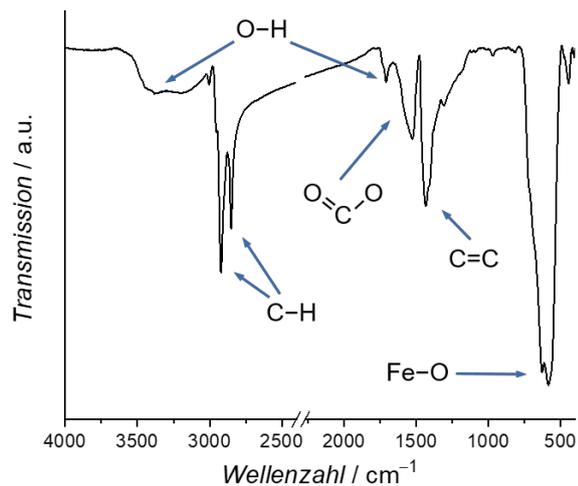


Abbildung 5.3: IR-Spektrum der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs.

Tabelle 5.1: Zuordnung der Schwingungsbanden des IR-Spektrums der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe₃O₄ NPs.^[178,366,367]

Wellenzahl [cm ⁻¹]	Schwingungsart	Ursache
3383	(O–H)-Valenzschwingung	Wasser
2922	(C–H)-Valenzschwingung	Ölsäure
2851	(C–H)-Valenzschwingung	Ölsäure
1711	(O–H)-Valenzschwingung	Wasser
1528	(C=O)-Valenzschwingung	Ölsäure
1435	(C=C)-Valenzschwingung	Ölsäure
586	(Fe–O)-Valenzschwingung	Eisenoxid

Die Bande bei 586 cm⁻¹ mit der höchsten Intensität resultiert aus den (Fe–O)-Valenzschwingungen. Bei einer Wellenzahl von 1435 cm⁻¹ und 1528 cm⁻¹ sind die (C=C)-Valenzschwingungen der Ethylengruppe sowie die (C=O)-Valenzschwingungen der Carboxylgruppe der Ölsäure als Stabilisierungsligand der Fe₃O₄ NPs detektierbar. Hierbei ist die Carboxylgruppe der Ölsäure an das oberflächliche Eisen der Fe₃O₄ NPs angebunden.^[178,368] Die beiden Banden bei einer Wellenzahl von 2851 cm⁻¹ und 2922 cm⁻¹ entsprechen den asymmetrischen und symmetrischen (C–H)-Valenzschwingungen der Methylengruppen der Ölsäure. Die Schwingungen bei einer Wellenzahl von 1711 cm⁻¹ sowie die breite Bande bei 3383 cm⁻¹ sind (O–H)-Valenzschwingungen zuzuordnen. Diese Schwingungen sind durch adsorbiertes Wasser begründet.

Für die weitere Charakterisierung der magnetischen Kerne wurde ein Röntgen-Pulverdiffraktogramm gemessen, welches in Abbildung 5.4 dargestellt ist. In diesem Diffraktogramm sind alle charakteristischen Reflexe des Magnetits detektierbar.^[62,178] Dabei liegen verbreiterte Reflexe vor, die durch die nanopartikuläre Größe begründet ist. Mit Hilfe der charakteristischen Reflexverbreiterung der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe₃O₄ NPs ist eine Partikelgrößenbestimmung durch Scherrer möglich, welche hier bei dem intensivsten Reflex bei $2\theta = 35.8^\circ$ (311) durchgeführt wurde und eine Partikelgröße von 15 nm ergab.^[363]

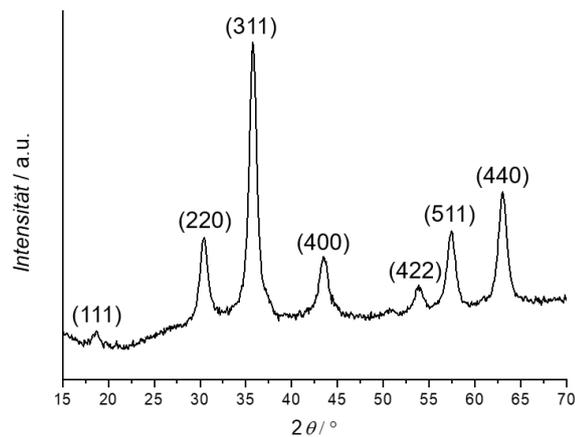


Abbildung 5.4: Röntgen-Pulverdiffraktogramm der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs. Die charakteristischen Reflexe des Magnetits entsprechen folgenden 2θ -Werten: (111): 18.7° , (220): 30.5° , (311): 35.8° , (400): 43.5° , (422): 53.8° , (511): 57.4° , (440): 63.0° .

Die Menge an Ölsäure als Stabilisierungsliganden der Fe_3O_4 NPs wurde mittels thermogravimetrischer Analyse ermittelt. Das Thermogramm ist in Abbildung 5.5 dargestellt. Hierbei liegt bis zu einer Temperatur von 120°C ein Massenverlust von 1.7% vor, welcher adsorbiertem Lösungsmittel wie zum Beispiel Wasser zuzuordnen ist. Bei einer Temperatur zwischen 120°C und 700°C beträgt der Massenverlust der magnetischen Kerne 24.5%, welcher auf die Verbrennung der organischen Ölsäure zurückzuführen ist. Nach der Verbrennung haben die magnetischen Kerne eine Restmasse von 73.8%.^[52]

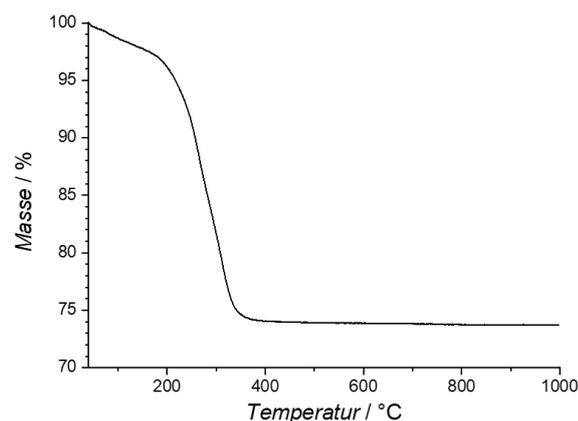


Abbildung 5.5: Thermogravimetrische Analyse der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs. Nach ^[52].

Ein wichtiger Aspekt für die Anwendung der magnetischen Kerne für das ID-MDT ist die Untersuchung der magnetischen Eigenschaften. Zu diesem Zweck wurden die hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mit einem Vibrationsmagnetometer

analysiert. Die zugehörige Magnetisierungskurve bei Raumtemperatur ist in Abbildung 5.6 dargestellt

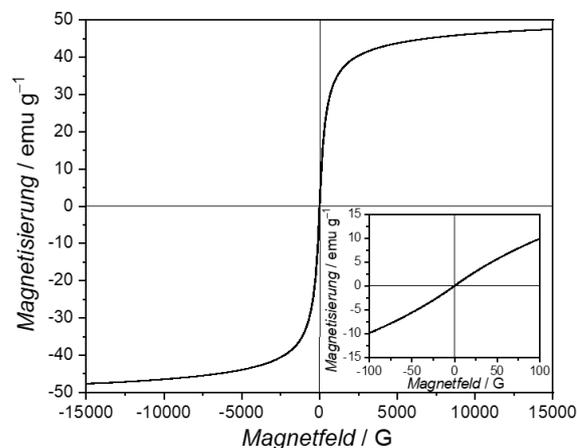


Abbildung 5.6: Magnetisierungskurve der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs im Hochfeld bei Raumtemperatur. Unten rechts ist die Magnetisierungskurve im Niedrigfeld abgebildet. Nach ^[52].

Basierend auf der gemessenen Magnetisierungskurve weisen die magnetischen Kerne eine Sättigungsmagnetisierung von 48 emu g^{-1} auf.^[52] Die Kurve zeigt hierbei superparamagnetisches Verhalten ohne Hysterese und folglich ohne Remanenz. Die fehlende Remanenz ist insbesondere in der Magnetisierungskurve im Niedrigfeld erkennbar. Für die Anwendung der magnetischen Kerne für Kern-Schale-Nanopartikel für das ID-MDT ist der Superparamagnetismus eine elementare Eigenschaft, da durch Abschalten eines externen angelegten Magnetfeldes keine Remanenz vorliegt. Durch die fehlende Restmagnetisierung ist hierbei das Risiko einer unerwünschten Partikelaggregation reduziert.

Neben der Untersuchung der magnetischen Eigenschaften mittels Vibrationsmagnetometer wurden zudem die magnetischen Hyperthermie-Eigenschaften der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs analysiert. In Abbildung 5.7 ist die zugehörige Hyperthermie-Messung der magnetischen Kerne in Wasser im magnetischen Wechselfeld dargestellt. Hierbei ist durch die superparamagnetischen Eigenschaften in den ersten 10 Minuten ein starker Temperaturanstieg zu erkennen. Nach 30 Minuten hat sich ein thermisches Gleichgewicht zwischen den magnetischen Kernen und dem Wasser eingestellt. Mit einer Probenmenge von 10 mg lag nach 30 Minuten die Maximaltemperatur im magnetischen Wechselfeld bei 41.0 °C mit einem Temperaturanstieg von 15.2 °C .

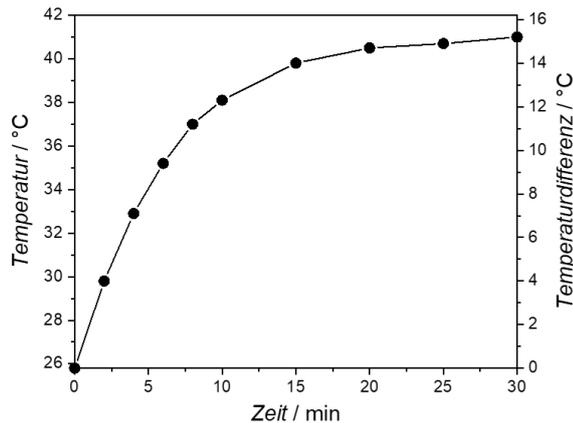


Abbildung 5.7: Hyperthermie-Messung der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs in Wasser im magnetischen Wechselfeld.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass das gewünschte Material erfolgreich synthetisiert werden konnte und dass durch die superparamagnetischen Eigenschaften und die kleine Partikelgröße, die hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs sehr gute Grundvoraussetzungen für den Einsatz als Kernmaterial für Kern-Schale-Partikelsysteme für das ID-MDT besitzen.

5.1.2 Charakterisierung der unmodifizierten und modifizierten magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel

Die zuvor beschriebenen hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs dienen als Kernmaterial für die magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs). Bevor die magnetischen Kerne in einer wässrigen Synthese mit einer nanoporösen Silica-Schale als Trägermaterial für Wirkstoffe umhüllt werden können, ist aufgrund der Ölsäure als Stabilisierungsligand ein Phasentransfer der Kerne notwendig. Nach der Aufnahme der Fe_3O_4 NPs in Chloroform wird dieser Phasentransfer durch Behandlung der Partikelsuspension mit einer wässrigen CTAB-Lösung und anschließender Verdampfung des Chloroforms realisiert. Das verwendete CTAB dient hierbei auch als strukturdirigierendes Agens für die Synthese der nanoporösen Silica-Hülle und wird mit Hilfe einer Calcination später wieder entfernt. In Abbildung 5.8 sind TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der MNPSNPs nach Calcination dargestellt. Mit den MNPSNPs liegen gleichförmige sphärische Kern-Schale-Partikelsysteme mit einer Partikelgröße von 112 ± 16 nm vor.^[52] Die dunklen Spots innerhalb der Partikel sind die

Fe₃O₄ NPs, welche als magnetische Kerne dienen. Darüber hinaus ist zudem die Porosität der Silica-Matrix zu erkennen, die durch den Einsatz des CTABs gebildet wurde.

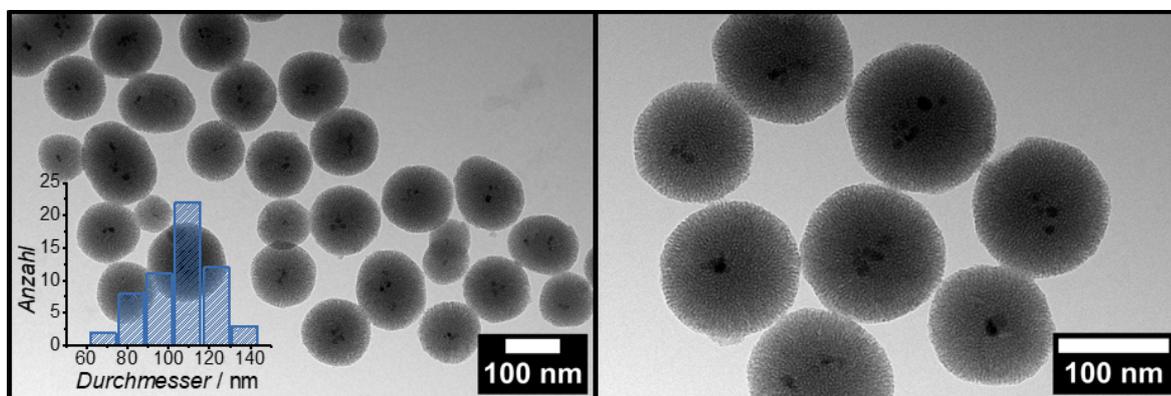


Abbildung 5.8: TEM-Aufnahmen der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) mit Partikelgrößenverteilung. Nach [52].

Die Morphologie und Partikelgröße der sphärischen MNPSNPs wird neben den transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen auch anhand der Rasterelektronenmikroskopie in Abbildung 5.9 bestätigt.

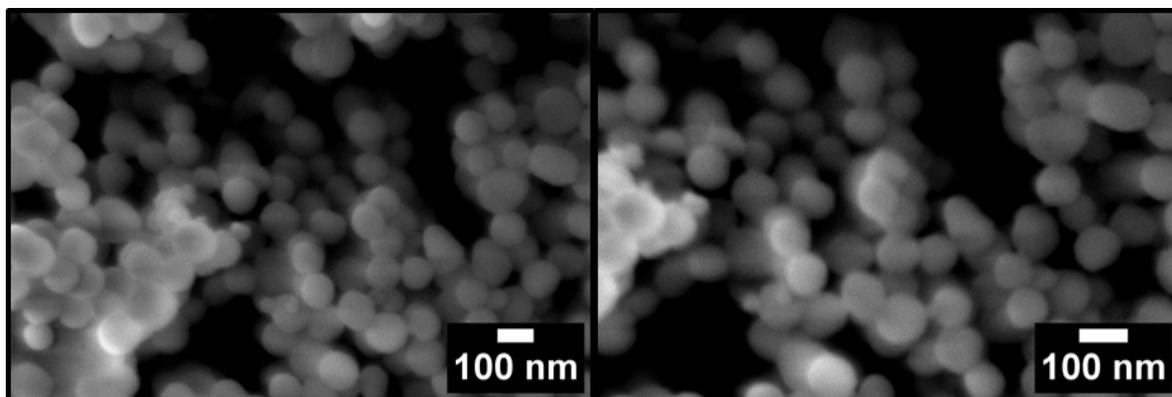


Abbildung 5.9: REM-Aufnahmen der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs).

Für den Einsatz der MNPSNPs für das ID-MDT *in vivo* ist die Partikelgröße ein essenzieller Faktor. Dabei sind für den Einsatz in biomedizinischen Anwendungen Partikelgrößen von 10–100 nm bevorzugt. Bei Partikelgrößen unter 10 nm besteht das Risiko einer raschen und vorzeitigen Aufnahme und Abbau der Wirkstoffträger über die Niere. Dagegen können bei Partikelgrößen > 200 nm Aufnahmen der MNPSNPs über das retikuloendotheliale System (RES) erfolgen. Dadurch werden die Partikel in der Leber und

der Milz akkumuliert, bevor die Wirkstoffe überhaupt zum Infektionsort geliefert werden können, was ein erfolgreiches ID-MDT erschwert.^[369] Die Partikel in der vorliegenden Größe von 112 ± 16 nm eignen sich also ideal für die beabsichtigte Anwendung.

Neben den elektronenmikroskopischen Analysen wurde die Partikelgröße und deren Verteilung auch mittels DLS in Wasser analysiert. Die zugehörige Partikelgrößenverteilung mit einem mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 191 ± 12 nm bei einem PDI-Wert von 0.346 ist in Abbildung 5.10 dargestellt. Die höhere Partikelgröße ist hier durch die Hydratationshülle im wässrigen Medium begründet. Neben der DLS wurde darüberhinaus auch das Zeta-Potential mit einem hohem negativem Potential von -33.6 ± 1.4 mV in Wasser bestimmt.^[52] Dieses Zeta-Potential deutet hierbei auf stabile Dispersionen (< -30 mV) hin, die durch abstoßende Wechselwirkungen der negativen Silanol-Gruppen auf der Oberfläche der MNPSNPs begründet sind.

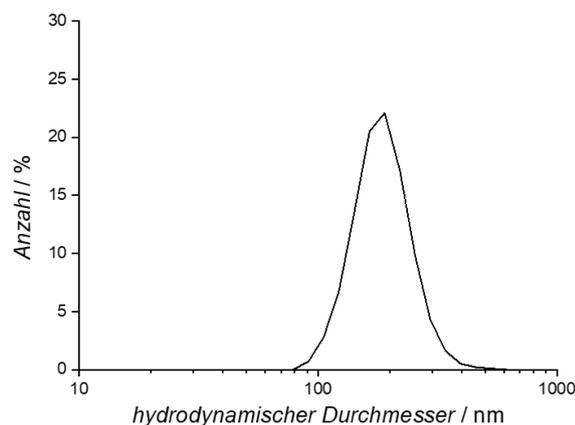


Abbildung 5.10: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) mittels DLS. Nach ^[52].

Zur Charakterisierung der Zusammensetzung der MNPSNPs vor und nach der Calcination wurden IR-Spektren aufgenommen, die in Abbildung 5.11 dargestellt sind. Die zugehörige Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.2 zusammengefasst. In dem Spektrum der MNPSNPs vor Calcination befinden sich aufgrund des CTABs zusätzliche Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 2922 cm^{-1} und 2853 cm^{-1} sowie der (C–H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1489 cm^{-1} . Nach der Calcination sind diese Schwingungen nicht mehr vorhanden, was auf eine erfolgreiche Entfernung des CTABs hindeutet. Bei beiden Spektren sind intensive asymmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 1090 cm^{-1} detektierbar. Zudem

liegen bei Wellenzahlen von 964 cm^{-1} , 802 cm^{-1} und 463 cm^{-1} weitere charakteristische (Si-OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si-O-Si)-Valenzschwingungen sowie auch (Si-O-Si)-Deformationsschwingungen vor. Die ausgeprägtere breite Bande im Bereich von 3445 cm^{-1} und die Bande bei 1636 cm^{-1} resultieren aufgrund von (O-H)-Valenzschwingungen und (O-H)-Deformationsschwingungen durch adsorbiertes Wasser auf der hydrophilen Silica-Oberfläche. Zudem sind bei einer Wellenzahl von 571 cm^{-1} die (Fe-O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne zu erkennen.

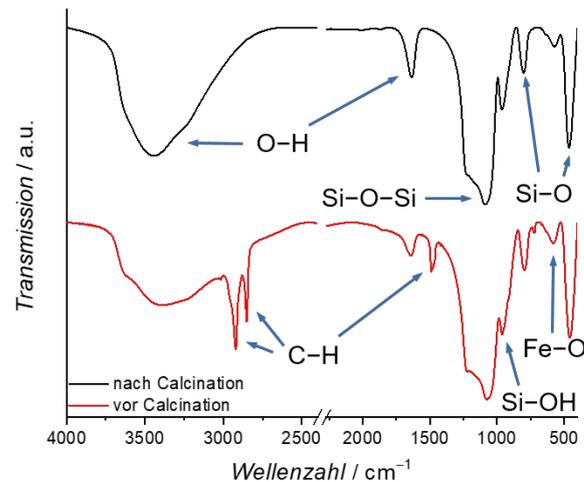


Abbildung 5.11: IR-Spektrum der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs). Rot: Vor Calcination. Schwarz: Nach Calcination.

Tabelle 5.2: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) vor und nach Calcination (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370]

vor Calcination	nach Calcination	Schwingungsart	Ursache
3387	3445	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
2922	–	(C-H)-Valenzschwingung	CTAB
2853	–	(C-H)-Valenzschwingung	CTAB
1640	1636	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
1489	–	(C-H)-Deformationsschwingung	CTAB
1074	1090	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
961	964	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
795	802	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
583	571	(Fe-O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
455	463	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Neben der infrarotspektroskopischen Analyse wurde die Zusammensetzung der MNPSNPs auch mit Hilfe der Röntgen-Pulverdiffraktometrie analysiert. Das zugehörige Diffraktogramm ist in Abbildung 5.12 abgebildet. Wie bei den hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs liegen bei den MNPSNPs die charakteristischen Reflexe des Magnetits vor. Diese Reflexe weisen auch hier eine Reflexverbreiterung auf, die aus der nanopartikulären Größe der Kerne resultiert.^[62,178] Allerdings ist eine deutliche Intensitätsabnahme zu erkennen, die durch den geringeren Anteil der Fe_3O_4 NPs begründet ist. Neben den Reflexen der Kerne ist zudem ein breiter Reflex bei $2\theta = 23^\circ$ vorhanden, welcher dem amorphen Silica zuzuordnen ist.^[62] Sowohl die IR- als auch die XRD-Ergebnisse belegen also die erfolgreiche Umhüllung der Magnetit-Kerne mit Silica.

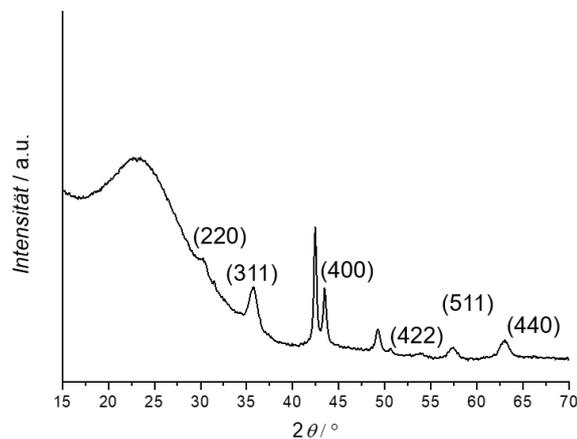


Abbildung 5.12: Röntgen-Pulverdiffraktogramm der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs). Die charakteristischen Reflexe des Magnetits der magnetischen Kerne entsprechen folgenden 2θ -Werten: (111): 18.7° , (220): 30.3° , (311): 35.8° , (400): 43.5° , (422): 53.8° , (511): 57.4° , (440): 63.0° . Der breite Reflex bei $2\theta = 23^\circ$ ist dem amorphen Silica als Schalenmaterial der MNPSNPs zuzuordnen.

Für die MNPSNPs ist in Anbetracht einer Anwendung als Wirkstoffträgersystem für das ID-MDT die Porosität ein wichtiges Kriterium. Die Porosität wurde hierbei mit Hilfe der Physisorption unter Verwendung von Stickstoff als Adsorptiv analysiert. In Abbildung 5.13 ist die Stickstoff-Physisorptionsisotherme mit Adsorption und Desorption sowie die Porenweitenverteilung der MNPSNPs dargestellt. Hierbei liegt eine Typ IV-Isotherme nach IUPAC vor, welche charakteristisch für mesoporöse Systeme ist.^[215] Die Isotherme besitzt eine sehr schwach ausgeprägte Hysterese, welche durch Porenkondensation begründet ist, bei der das Adsorptiv in den Poren zu einer Flüssigkeit kondensiert. Die MNPSNPs weisen eine hohe Porosität mit einer BET-Oberfläche von $1080 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ auf. Die hohe spezifische Oberfläche ist durch das Porensystem zu erklären,

welche mit Hilfe des CTABs als strukturdirigierendes Agens bei der Silica-Synthese gebildet wurde. Anhand des Beginns des Isothermenverlaufs ab ca. $200 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ kann ein geringer Anteil von Mikroporen vermutet werden, welche allerdings mit der Stickstoff-Physisorption nicht ermittelt werden können. Die Isotherme ist hierbei bis zu einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.97$ dargestellt, da der folgende Anstieg der Isotherme durch Kondensation in interpartikulären Zwischenräumen begründet ist. Das Porenvolumen, welches folglich bis zu diesem Relativdruck bestimmt wurde, hatte einen Wert von $1.0 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$. Mithilfe der DFT-Methode wurde ein mittlerer Porendurchmesser von 3.9 nm bestimmt, welcher charakteristisch für mesoporöse Systeme ist.^[52,215]

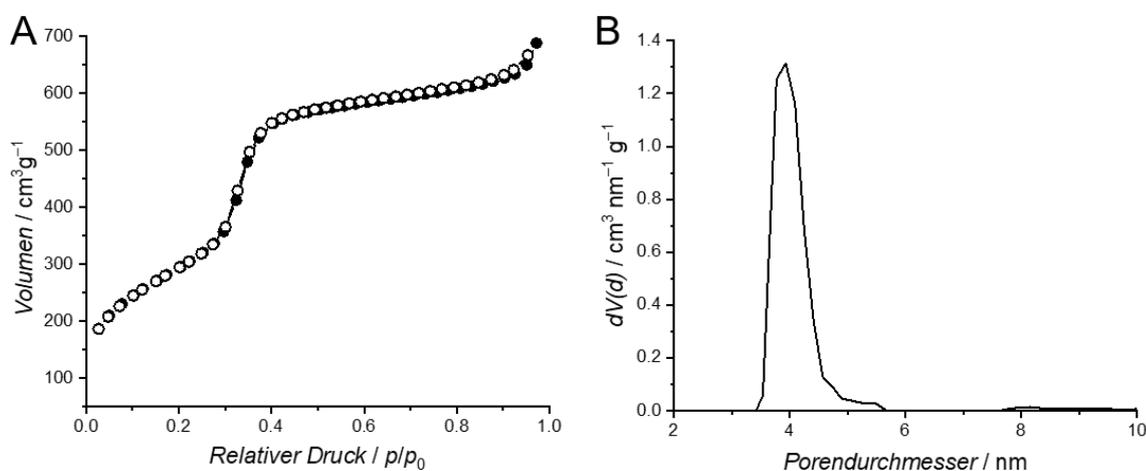


Abbildung 5.13: Stickstoff-Physisorptionsisotherme mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) (A) (nach ^[52]) und Porenweitenverteilung (B) der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs).

Zur weiteren Charakterisierung der MNPSNPs wurden die magnetischen Eigenschaften analog zu den magnetischen Kernen mit einem Vibrationsmagnetometer analysiert. Die zugehörige Magnetisierungskurve ist in Abbildung 5.14 abgebildet. Die Kern-Schale-Nanopartikel weisen eine Sättigungsmagnetisierung von 1 emu g^{-1} auf.^[52] Verglichen mit den hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mit 48 emu g^{-1} ist die Magnetisierung deutlich verringert, was durch die geringere Menge an magnetischem Material in den MNPSNPs mit der Silica-Schale begründet ist. Anhand der gemessenen Magnetisierung an den magnetischen Kernen und den MNPSNPs kann der Massenanteil an magnetischem Material in den Kern-Schale-Systemen berechnet werden. Hierbei weisen die MNPSNPs einen Massenanteil an magnetischem Material von 2% auf. Wie bei den Fe_3O_4 NPs ist anhand der Magnetisierungskurven im Hochfeld und Tieffeld der MNPSNPs keine

Hysterese zu erkennen. Somit zeigen die Kern-Schale-Systeme ebenfalls superparamagnetisches Verhalten ohne eine Remanenz nach Entfernung eines externen angelegten Magnetfeldes. Das Risiko einer unerwünschten Partikelaggregation ist durch die fehlende Restmagnetisierung folglich reduziert.

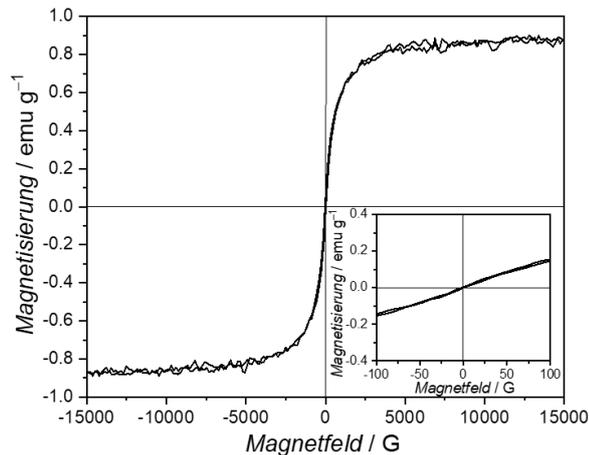


Abbildung 5.14: Magnetisierungskurve der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) im Hochfeld bei Raumtemperatur. Unten rechts ist die Magnetisierungskurve im Niederfeld abgebildet. Nach [52].

Die magnetische Hyperthermie der MNPSNPs wurden analog zu den hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs untersucht und miteinander verglichen. Die zugehörigen Hyperthermie-Kurven sind in Abbildung 5.15 dargestellt. Wie bei den magnetischen Kern-Nanopartikeln zeigen auch die MNPSNPs aufgrund der superparamagnetischen Eigenschaften in den ersten 10 Minuten einen deutlichen Temperaturanstieg. Auch hier hat sich nach 30 Minuten ein thermisches Gleichgewicht zwischen den MNPSNPs und dem Wasser eingestellt. Die Maximaltemperatur mit einer Probenmenge von 10 mg betrug im magnetischen Wechselfeld 33.6 °C mit einem Temperaturanstieg von 6.9 °C . Im Vergleich zu den reinen magnetischen Kernen mit einem Temperaturanstieg von 15.2 °C und einer Maximaltemperatur von 41.0 °C ist das Hyperthermie-Verhalten deutlich schwächer. Die schwächeren Hyperthermie-Eigenschaften sind durch den deutlich geringeren Anteil an magnetischem Material in den Kern-Schale-Systemen begründet, welcher anhand der zuvor beschriebenen VSM-Analysen mit einem Massenanteil von 2% bestimmt wurde. Ein weiterer Grund für die schwächeren Hyperthermie-Eigenschaften liegt in der Silica-Schale der MNPSNPs, welche im magnetischen Wechselfeld inaktiv ist und somit keinen Beitrag zur Hyperthermie trägt. Darüberhinaus kann die Silica-Matrix einen isolierenden Effekt

bezüglich der Wärmeübertragung in dem wässrigen Medium haben, welche somit die Hyperthermie-Eigenschaften zusätzlich einschränkt. Verglichen mit den magnetischen Kern-Nanopartikeln besitzen die Fe_3O_4 NPs mit der Ölsäure als Stabilisierungsliganden eine sehr dünne magnetisch passive Schale. Dennoch zeigen auch die MNPSNPs mit einer Partikelgröße von ca. 110 nm und der nanoporösen Silica-Schale ein deutliches Hyperthermie-Verhalten im magnetischen Wechselfeld.

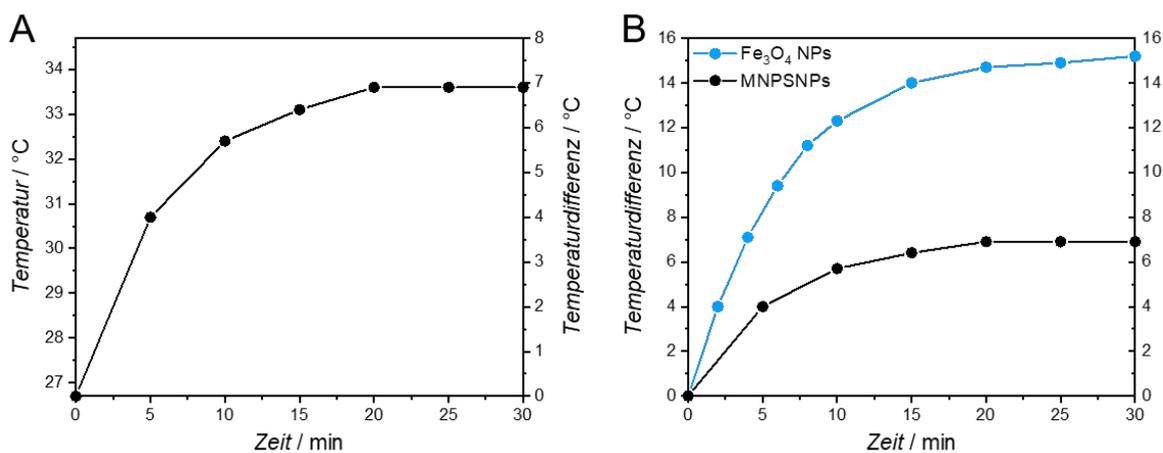


Abbildung 5.15: Hyperthermie-Messung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) in Wasser im magnetischen Wechselfeld (A) und Vergleich der MNPSNPs (schwarz) mit den hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs (blau) (B).

Zusammenfassend konnten basierend auf den hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mit den MNPSNPs monodisperse sphärische Kern-Schale-Systeme mit Partikelgrößen von ca. 110 nm und einer hoch porösen Silica-Matrix für potenzielle Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung erfolgreich hergestellt werden. Diese Kern-Schale-Systeme besitzen superparamagnetische Eigenschaften ohne eine Remanenz und erzeugen in einem magnetischen Wechselfeld magnetische Hyperthermie. Somit weisen diese Kern-Schale-Systeme sehr gute Grundvoraussetzungen für den Einsatz für das ID-MDT-Prinzip zur effektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen auf.

Der nächste Schritt in der Weiterentwicklung der MNPSNPs bestand in der Funktionalisierung der Kern-Schale-Systeme zur Erhöhung der Multifunktionalität und Biokompatibilität. Ein wichtiger Aspekt war hierbei die Ausstattung der MNPSNPs mit fluoreszierenden Eigenschaften für eine Detektion der Partikel in *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen. Zu diesem Zweck wurde Fluoresceinisothiocyanat (FITC) als organisches Fluorophor an die Matrix der Silica-Schale der MNPSNPs funktionalisiert. Dieses grün-

fluoreszierende organische Molekül wurde zuvor mit einer Co-Kondensations-Reaktion mit 3-Aminopropyltrimethoxysilan zu dem Thioharnstoff FITC-APTMS umgesetzt. In Abbildung 5.16 sind TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der modifizierten Kern-Schale-Partikel MNPSNP@FITC dargestellt.

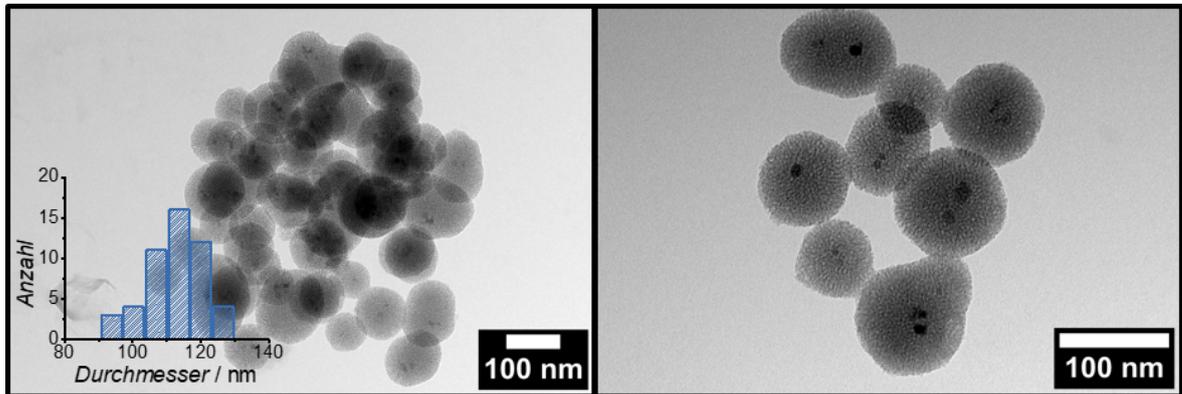


Abbildung 5.16: TEM-Aufnahmen der modifizierten MNPSNP@FITC mit Partikelgrößenverteilung.

Nach der Funktionalisierung mit FITC liegen weiterhin sphärische Kern-Schale-Partikelsysteme vor, in denen die magnetischen Kerne sowie die Porosität deutlich zu erkennen sind. Die Aufnahmen verdeutlichen, dass die Funktionalisierung keinen Einfluss auf die Morphologie und Porosität hat. Die Partikel weisen einen Durchmesser von 116 ± 9 nm auf.

Die Partikelgröße und -verteilung der funktionalisierten MNPSNPs wurde auch mittels DLS in Wasser bestimmt. Die Partikelgröße mit einem mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 213 ± 13 nm bei einem PDI-Wert von 0.699 ist in Abbildung 5.17 mit Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs dargestellt. Verglichen mit dem mittleren hydrodynamischen Durchmesser der unmodifizierten MNPSNPs von 191 ± 12 nm liegt bei den modifizierten MNPSNP@FITC eine Vergrößerung des Durchmesser vor, welche durch die Anbindung des organischen FITC an die Silica-Oberfläche begründet sein kann. Durch die Analyse des Zeta-Potentials der funktionalisierten Nanopartikel in Wasser wurde eine Oberflächenladung von -28.9 ± 0.6 mV ermittelt. Damit liegt ein schwächeres Zeta-Potential verglichen mit den unmodifizierten MNPSNPs und einem Potential von -33.6 ± 1.4 mV vor, was auf eine leichtere Agglomeration der Partikel hindeutet und den damit verbundenen höheren Durchmesser erklären könnte. Die Neigung zur Partikelagglomeration der MNPSNP@FITC ist auch anhand der Partikelgrößenverteilung bei höheren

hydrodynamischen Durchmesser ab ca. 700 nm zu erkennen. Auch der höhere PDI-Wert deutet auf eine stärkere Partikelagglomeration verglichen zu den unmodifizierten MNPSNPs mit einem PDI-Wert von 0.346 hin.

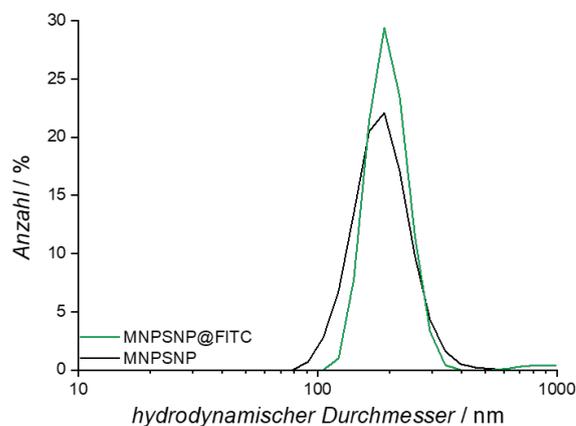


Abbildung 5.17: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) (nach ^[52]) und der modifizierten MNPSNP@FITC (grün) mittels DLS.

Mit Hilfe der infrarotspektroskopischen Analyse wurden die MNPSNPs vor und nach der Funktionalisierung untersucht. Die zugehörigen IR-Spektren sind in Abbildung 5.18 dargestellt. Die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.3 aufgeführt. Bei beiden Spektren sind intensive asymmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 1090 cm^{-1} bzw. 1084 cm^{-1} zu erkennen. Bei Wellenzahlen von 963 cm^{-1} , 800 cm^{-1} und 461 cm^{-1} liegen weitere charakteristische (Si–OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen sowie auch (Si–O–Si)-Deformationsschwingungen vor. Zudem sind bei beiden Spektren bei einer Wellenzahl von 571 cm^{-1} bzw. 584 cm^{-1} die (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne detektierbar. Die breite Bande im Bereich von 3443 cm^{-1} bzw. 3424 cm^{-1} und die Bande bei 1636 cm^{-1} bzw. 1630 cm^{-1} sind durch (O–H)-Valenzschwingungen sowie (O–H)-Deformationsschwingungen durch adsorbiertes Wasser begründet. Diese Banden sind verglichen zu den unmodifizierten Partikel weniger stark ausgeprägt, was auf die Anbindung des hydrophoben FITC zurückzuführen ist. In dem Spektrum von MNPSNP@FITC befinden sich im Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs zudem zusätzliche Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 2984 cm^{-1} und 2909 cm^{-1} sowie der (C–H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1396 cm^{-1} , welche auf eine erfolgreiche Funktionalisierung mit FITC hindeuten.

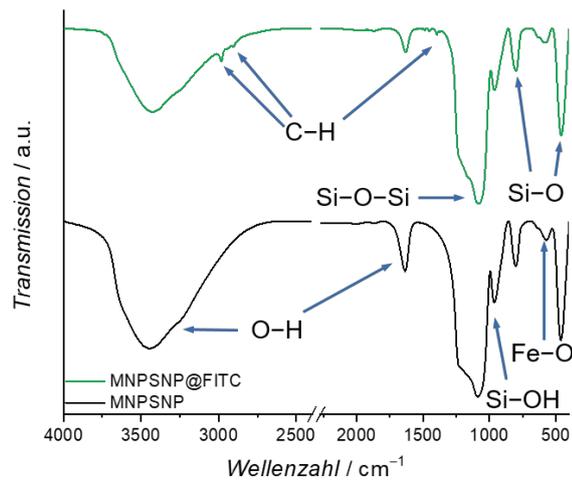


Abbildung 5.18: IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) (nach ^[52]) und der modifizierten MNPSNP@FITC (grün).

Tabelle 5.3: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs und der modifizierten MNPSNP@FITC (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370]

MNPSNP	MNPSNP@FITC	Schwingungsart	Ursache
3443	3424	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
–	2984	(C-H)-Valenzschwingung	FITC
–	2909	(C-H)-Valenzschwingung	FITC
1636	1630	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
–	1396	(C-H)-Deformationsschwingung	FITC
1090	1084	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
964	963	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
802	800	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
571	584	(Fe-O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
463	461	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Der Einfluss der Funktionalisierung mit dem FITC auf die Porosität wurde mittels Physisorption analysiert. In Abbildung 5.19 sind die Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption und Desorption sowie die normierte Porenweitenverteilungen der unmodifizierten MNPSNPs im Vergleich zu den modifizierten MNPSNP@FITC dargestellt. Auch bei den modifizierten Partikeln liegt eine Typ IV-Isotherme nach IUPAC vor.^[215] Die BET-Oberfläche beträgt $920 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ und ist damit kleiner als die Oberfläche der unmodifizierten MNPSNPs mit $1080 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Das Porenvolumen hat einen Wert von

0.8 cm³ g⁻¹ und wurde bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.95$ bestimmt. Verglichen mit den unmodifizierten MNPSNPs mit einem Porenvolumen von 1.0 cm³ g⁻¹ ist das Porenvolumen von MNPSNP@FITC ebenfalls kleiner. Mittels DFT-Methode wurde bei den FITC-funktionalisierten Kern-Schale-Partikeln eine mittlere Porengröße von 3.8 nm bestimmt, welche wie bei den unmodifizierten MNPSNPs mit einer mittleren Porengröße von 3.9 nm charakteristisch für mesoporöse Systeme ist. Der geringe Verlust der Porosität, welcher anhand der BET-Oberfläche, dem Porenvolumen und dem mittleren Porendurchmesser von MNPSNP@FITC ermittelt wurde, ist auf die kovalente Anbindung des organischen Fluorophors im Porensystem des Silicas zurückzuführen. Dennoch zeigen die funktionalisierten MNPSNP@FITC immer noch eine sehr hohe Porosität und somit sehr gute Grundvoraussetzungen für die Einlagerung und Freisetzung von Wirkstoffen.

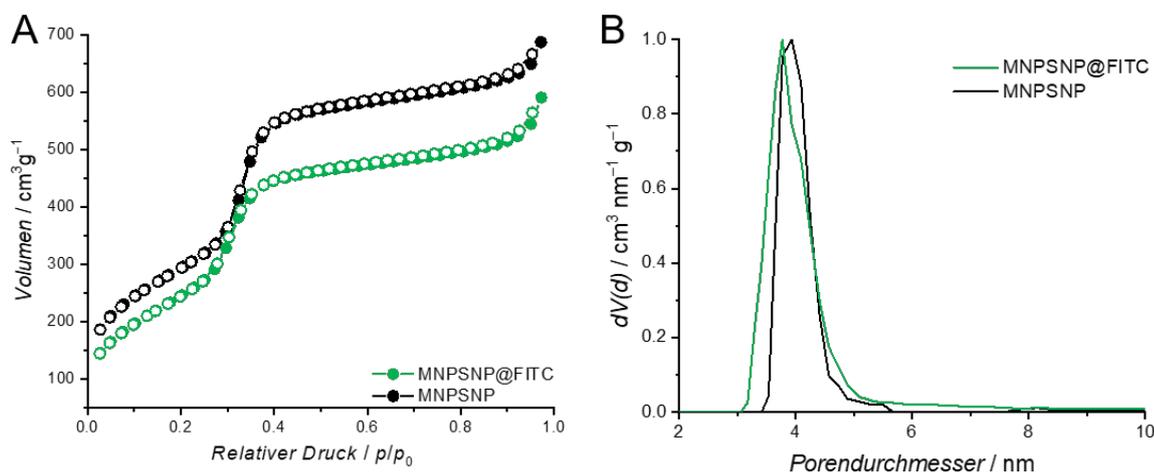


Abbildung 5.19: Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) (A) (nach [52]) und normierte Porenweitenverteilungen (B) der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) und der modifizierten MNPSNP@FITC (grün).

Mit Hilfe der thermogravimetrischen Analyse wurde die Menge des organischen Fluorophors FITC auf den funktionalisierten MNPSNP@FITC quantifiziert. Das zugehörige Thermogram ist mit Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs in Abbildung 5.20 gezeigt. Bis zu einer Temperatur von 120 °C beträgt bei den modifizierten Kern-Schale-Nanopartikeln der Massenverlust 1.7%, welcher durch adsorbiertes Wasser resultiert. Zwischen einem Temperaturbereich von 120 °C und 700 °C liegt bei MNPSNP@FITC ein Massenverlust von 6.3% vor, welcher auf die Verbrennung des organischen Fluorophors zurückzuführen ist. Dagegen weisen die unmodifizierten Partikel bis zu einer Temperatur

von 120 °C einen Massenverlust von 4.2% auf, welcher auf adsorbiertes Wasser basiert. Im Temperaturbereich zwischen 120 °C und 700 °C liegt ein Massenverlust von 1.8% vor. Dieser Massenverlust ist durch Dehydroxylieren der Silica-Oberfläche begründet. Der geringere Wasseranteil der modifizierten Partikel ist durch die Anbindung des hydrophoben Fluorophors begründet, welches die Wasseradsorption verringert.

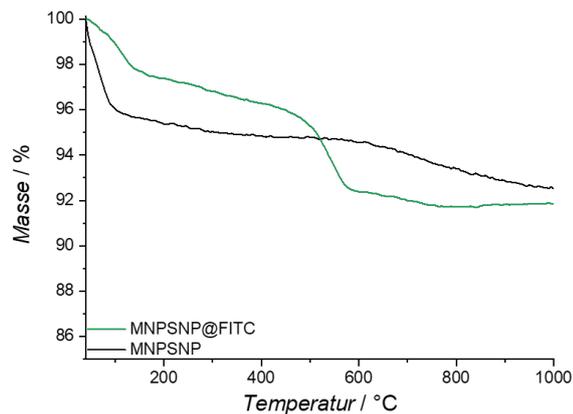


Abbildung 5.20: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) (nach ^[52]) und der modifizierten MNPSNP@FITC (grün).

Die Fluoreszenz der modifizierten MNPSNP@FITC wurde mittels Fluoreszenzspektroskopie analysiert. Das zugehörige Emissionsspektrum sowie Photographien der Partikeldispersion unter normalem Licht sowie UV-Licht sind in Abbildung 5.21 dargestellt.

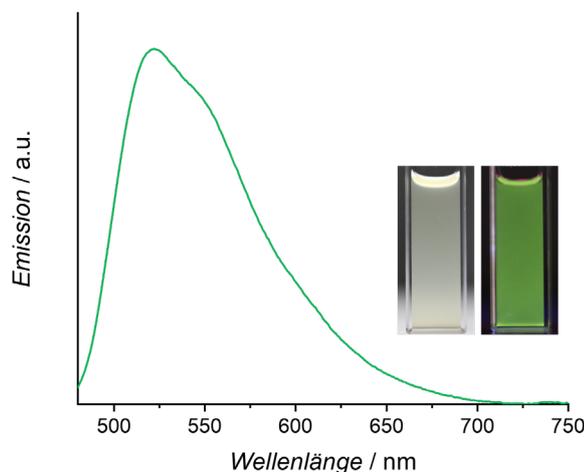


Abbildung 5.21: Normiertes Emissionsspektrum der modifizierten MNPSNP@FITC (Anregungswellenlänge bei 482 nm, Emissionsmaximum bei 522 nm) sowie Photographien der Partikeldispersion unter normalem Licht (links) und UV-Licht (rechts).

In dem Spektrum ist ein deutliches Emissionsmaximum bei einer Wellenlänge von 522 nm bei einer Anregungswellenlänge von 482 nm zu erkennen, welches charakteristisch für das organische Fluorophor FITC ist. Die charakteristische grüne Fluoreszenz ist darüberhinaus auch in der Photographie der Partikeldispersion unter UV-Licht zu erkennen. Somit konnten die MNPSNPs erfolgreich mit einem organischen Fluorophor bei Erhaltung der Fluoreszenzeigenschaften modifiziert werden. Eine Fluoreszenzlöschung, welche durch die Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften verursacht werden könnte, ist anhand der Analyse mittels Fluoreszenzspektroskopie und der Partikeldispersion unter UV-Licht nicht ersichtlich.

Weitere wichtige Anforderungen an die MNPSNPs als Wirkstoffträger für das ID-MDT sind die Biokompatibilität sowie die Maskierung der magnetischen Kern-Schale-Systeme zur Verhinderung eines frühzeitigen Abfangens der Partikel durch Makrophagen und dem mononukleären Phagozyten-System (MPS). Durch die Phagozytose würden die MNPSNPs vor Erreichen des Infektionsortes abgefangen werden, was eine erfolgreiche selektive Behandlung der Infektion durch das ID-MDT deutlich erschweren würde. Aus diesem Grund wurden die MNPSNPs mit Hilfe von Polyethylenglycol (PEG) funktionalisiert. Die PEG-Funktionalisierung, auch häufig als PEGylierung bezeichnet, dient zur Erhöhung der Hydrophilie, was die Aufnahme der Partikel durch Makrophagen erschwert und folglich die Blutzirkulationszeit erhöht.^[58,59] Das PEG fungiert somit als sogenanntes Stealth-Molekül. In Abbildung 5.22 sind TEM-Aufnahmen der PEG-funktionalisierten Kern-Schale-Partikel MNPSNP@PEG dargestellt.

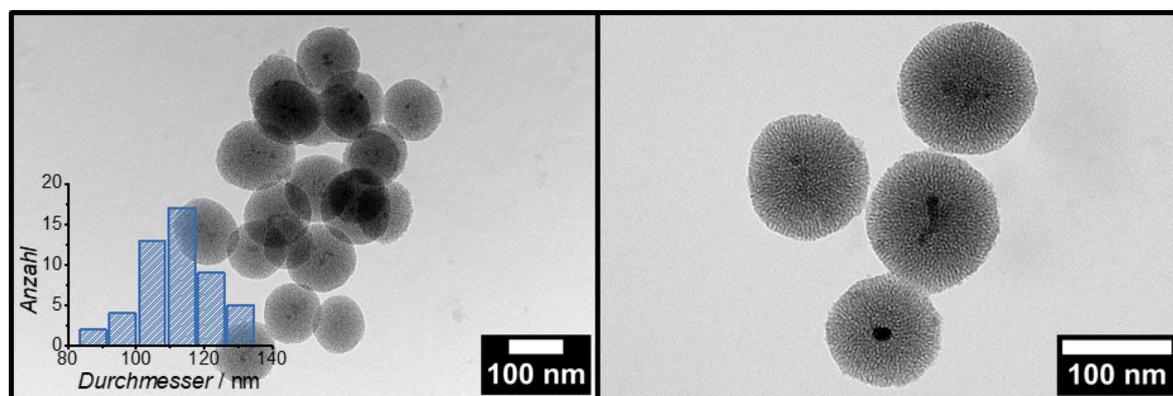


Abbildung 5.22: TEM-Aufnahmen der modifizierten MNPSNP@PEG mit Partikelgrößenverteilung.

Wie auch nach der Funktionalisierung mit FITC liegen mit MNPSNP@PEG sphärische Kern-Schale-Nanopartikel vor. Auch hier sind die magnetischen Kerne und die Porosität deutlich zu erkennen. Die Partikel haben einen Durchmesser von 116 ± 10 nm. Die Morphologie und Porosität ist anhand der TEM-Bilder nach der Funktionalisierung ebenfalls nicht beeinträchtigt.

Auch bei MNPSNP@PEG wurde mit Hilfe der DLS-Methode die Partikelgröße und deren Verteilung analysiert. Die zugehörigen Ergebnisse sind in Abbildung 5.23 mit Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs abgebildet. Im Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs mit einem mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 191 ± 12 nm (PDI-Wert 0.346) weisen die PEG-funktionalisierten Partikel einen mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 220 ± 8 nm sowie einen PDI-Wert von 0.310 auf. Der höhere Durchmesser kann ähnlich wie bei MNPSNP@FITC durch die Anbindung der organischen PEG-Moleküle an die Silica-Oberfläche erklärt werden. Die Bestimmung des Zeta-Potentials von MNPSNP@PEG in Wasser lieferte einen Wert von -31.0 ± 0.4 mV. Damit ist die Oberflächenladung etwas kleiner verglichen mit den unmodifizierten MNPSNPs und einem Zeta-Potential von -33.6 ± 1.4 mV. Dieses Resultat deutet auf eine leicht höhere Neigung zur Partikelagglomeration hin, die in der verbreiterten Partikelgrößenverteilung der PEG-funktionalisierten Partikel auch erkennbar ist.

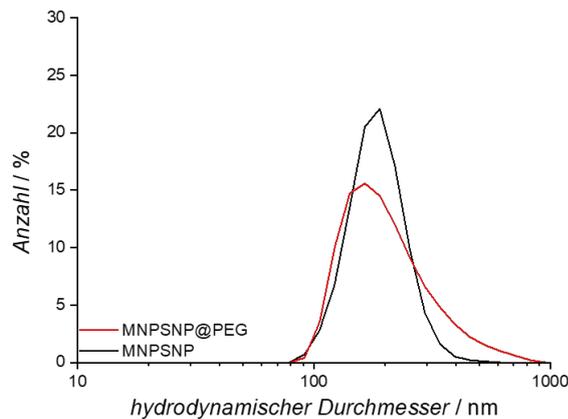


Abbildung 5.23: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) (nach ^[52]) und der modifizierten MNPSNP@PEG (rot) mittels DLS.

Die Funktionalisierung der MNPSNPs mit Polyethylenglycol konnte mittels IR-Spektroskopie nachgewiesen werden. Das zugehörige IR-Spektrum im Vergleich zu den

unmodifizierten MNPSNPs ist in Abbildung 5.24 abgebildet. Die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.4 zusammengefasst.

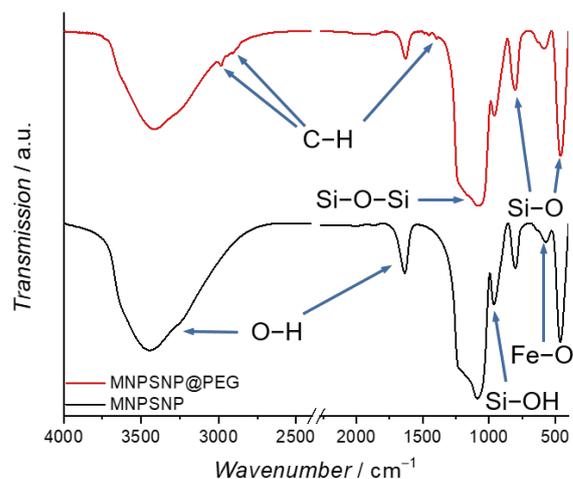


Abbildung 5.24: IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) (nach ^[52]) und der modifizierten MNPSNP@PEG (rot).

Tabelle 5.4: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs und der modifizierten MNPSNP@PEG (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370]

MNPSNP	MNPSNP@PEG	Schwingungsart	Ursache
3443	3417	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
–	2984	(C-H)-Valenzschwingung	PEG
–	2911	(C-H)-Valenzschwingung	PEG
1636	1628	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
–	1396	(C-H)-Deformationsschwingung	PEG
1090	1080	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
964	961	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
802	802	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
571	584	(Fe-O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
463	461	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Auch hier weisen beide Spektren intensive asymmetrische (Si-O-Si)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 1090 cm^{-1} bzw. 1080 cm^{-1} auf. Bei Wellenzahlen von 963 cm^{-1} , 802 cm^{-1} und 461 cm^{-1} sind weitere charakteristische (Si-OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si-O-Si)-Valenzschwingungen sowie auch

(Si–O–Si)-Deformationsschwingungen detektierbar. Zudem sind bei beiden Spektren bei einer Wellenzahl von 571 cm^{-1} bzw. 584 cm^{-1} die (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne zu erkennen. Die breite Bande im Bereich von 3443 cm^{-1} bzw. 3417 cm^{-1} und die Bande bei 1636 cm^{-1} bzw. 1628 cm^{-1} sind durch (O–H)-Valenzschwingungen sowie (O–H)-Deformationsschwingungen durch adsorbiertes Wasser zu erklären. Im Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs sind in dem Spektrum von MNPSNP@PEG zusätzliche Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 2984 cm^{-1} und 2911 cm^{-1} sowie der (C–H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1396 cm^{-1} vorhanden. Diese Banden deuten auf eine erfolgreiche Funktionalisierung und Anbindung des PEG an die Silica-Matrix hin.

Die Ergebnisse der Physisorption zur Analyse des Einflusses der PEG-Modifizierung auf die Porosität sind in Abbildung 5.25 dargestellt. Die Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption und Desorption sowie die normierte Porenweitenverteilung von MNPSNP@PEG im Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs zeigen, ähnlich wie MNPSNP@FITC, einen geringen Verlust der Porosität. Bei den PEG-modifizierten Partikeln liegt ebenfalls eine Typ IV-Isotherme vor und die BET-Oberfläche beträgt $995\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ und ist somit geringfügig kleiner als die Oberfläche der unmodifizierten MNPSNPs.^[215] Das Porenvolumen von MNPSNP@PEG wurde bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.95$ mit $0.9\text{ cm}^3\text{ g}^{-1}$ bestimmt und der mittlere Porendurchmesser basierend auf der DFT-Methode ist 3.8 nm . Auch bei diesem System ist der geringe Verlust der Porosität auf die kovalente Anbindung der organischen PEG-Moleküle im Porensystem des Silicas zurückzuführen.

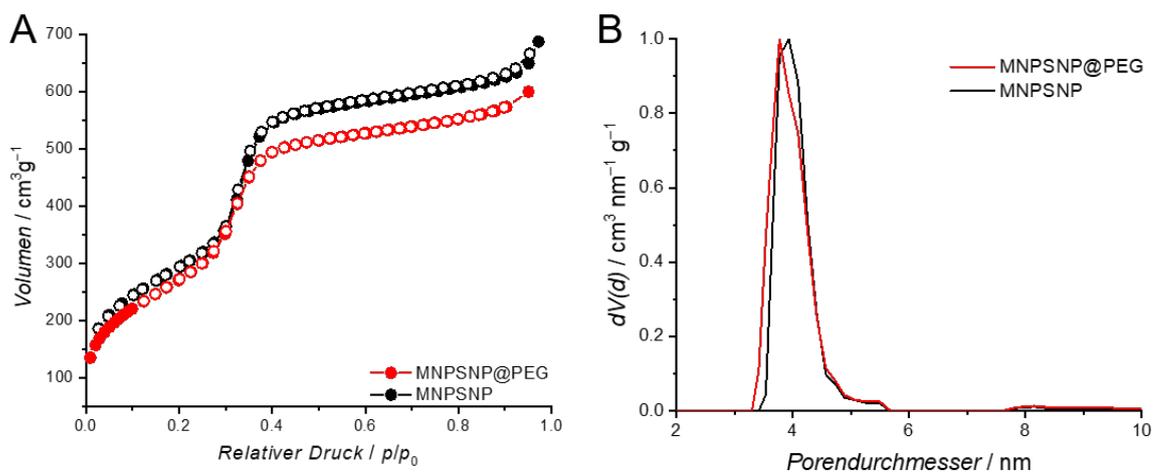


Abbildung 5.25: Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) (A) (nach ^[52]) und normierte Porenweitenverteilungen (B) der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) und der modifizierten MNPSNP@PEG (rot).

Zur Quantifizierung der Menge des organischen PEG von MNPSNP@PEG wurde die thermogravimetrische Analyse durchgeführt. Das Thermogramm mit Vergleich zu den unmodifizierten Partikeln ist in Abbildung 5.26 abgebildet. Die erste Stufe bis zu einer Temperatur von 120 °C weist hierbei einen Massenverlust von 2.0% auf, der adsorbiertem Wasser zuzuordnen ist. Zwischen einem Temperaturbereich von 120 °C und 700 °C verlieren die PEG-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel einen Massenanteil von 6.6% durch die Verbrennung der organischen Moleküle. Der Anteil an der Modifizierung mit dem organischen PEG ist hierbei vergleichbar mit der Modifizierung der Fluorophors FITC mit einem Anteil von 6.3%.

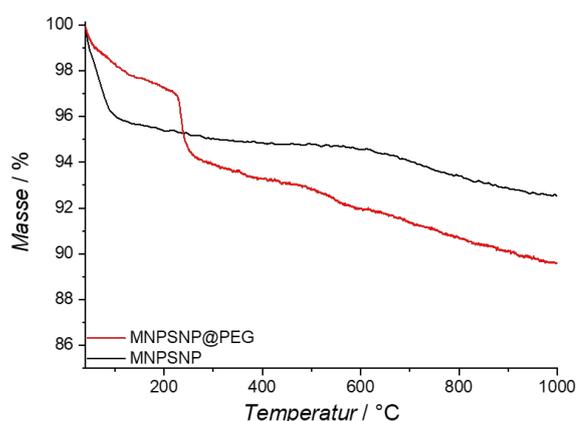


Abbildung 5.26: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) (nach ^[52]) und der modifizierten MNPSNP@PEG (rot).

Anhand der vorliegenden Ergebnisse konnte eine erfolgreiche Funktionalisierung der MNPSNPs mit PEG erzielt und nachgewiesen werden. Die Anbindung des PEG an die Silica-Matrix der Partikel hat wie die FITC-Funktionalisierung einen vergleichbaren Einfluss auf die Morphologie, die Porosität sowie den Funktionalisierungsgrad. Bei beiden Funktionalisierungen ist die sphärische Morphologie der MNPSNPs unverändert. Zudem liegt nur ein geringer Verlust der Porosität vor, welcher durch die Anbindung der organischen Moleküle an die Silica-Oberfläche begründet ist. Sowohl MNPSNP@FITC als auch MNPSNP@PEG weisen durch die weiterhin hohe Porosität sehr gute Eigenschaften für die Einlagerung und Freisetzung von Wirkstoffen auf.

Nach den Funktionalisierungen der MNPSNPs mit einem organischen Fluorophor zur möglichen Detektion der Partikel in *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchen sowie der Funktionalisierung mit PEG zur Erhöhung der Biokompatibilität und Maskierung der

Partikel zur Prävention eines frühzeitigen Abfangens durch Makrophagen, war der nächste Schritt die Kombination dieser Funktioanlisierungen und folglich die Erhöhung der Multifunktionalität der MNPSNPs. Zu diesem Zweck wurden die oben zuvor beschriebenen Funktionalisierungen unter simultaner Verwendung der Moleküle FITC und PEG durchgeführt. Neben FITC wurde zudem als weiteres organisches Fluophor Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) eingesetzt, welches anders als das grün-fluoreszierende FITC eine charakteristische orange Fluoreszenz besitzt. In Abbildung 5.27 sind die TEM-Aufnahmen und die dazugehörigen Partikelgrößenverteilungen der zweifach funktionalisierten Partikelsysteme MNPSNP@FITC-PEG sowie MNPSNP@RITC-PEG dargestellt. Analog zu den zuvor beschriebenen funktionalisierten Partikelsystemen zeigen auch die Kern-Schale-Nanopartikel nach der simultanen Funktionalisierung keinen Einfluss auf die sphärische Morphologie und Porosität. Auch hier bleibt die poröse-Silica-Matrix weiterhin erhalten und die magnetischen Kerne sind weiterhin deutlich zu erkennen. MNPSNP@FITC-PEG besitzt einen Partikeldurchmesser von 111 ± 16 nm und die Partikelgröße von MNPSNP@RITC-PEG beträgt 115 ± 14 nm. Die Partikelgrößen sind folglich nahezu identisch in Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs.^[52]

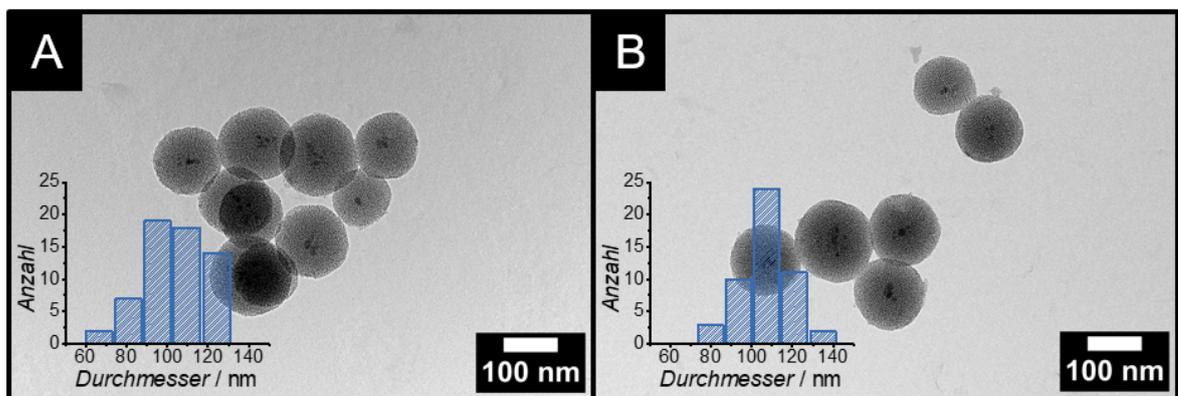


Abbildung 5.27: TEM-Aufnahmen und Partikelgrößenverteilungen der modifizierten MNPSNP@FITC-PEG (A) und MNPSNP@RITC-PEG (B). Nach ^[52].

Mittels DLS wurde an beiden Partikelsystemen der mittlere hydrodynamische Durchmesser und die zugehörige Partikelgrößenverteilung analysiert. Die Größenverteilungen mit Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs sind in Abbildung 5.28 dargestellt. Die Verteilungen der mit PEG und Fluorophor simultan modifizierten Partikel sind ähnlich zu den zuvor beschriebenen modifizierten MNPSNPs leicht zu größeren Durchmessern verschoben. MNPSNP@FITC-PEG hat einen mittleren

hydrodynamischen Durchmesser von 243 ± 11 nm mit einem PDI-Wert von 0.364. Im Vergleich dazu beträgt der Durchmesser von MNPSNP@RITC-PEG 220 ± 8 nm mit einem PDI-Wert von 0.355. Beide Partikelsysteme weisen eine Vergrößerung des Durchmessers verglichen mit den unmodifizierten Partikeln (191 ± 12 nm, PDI-Wert 0.346) auf. Auch hier resultiert der höhere Partikeldurchmesser aus der Anbindung der organischen Fluorophore und der PEG-Moleküle an die Silica-Oberfläche der Kern-Schale-Nanopartikel. Basierend auf Zeta-Potential-Messungen in Wasser besitzen MNPSNP@FITC-PEG ein Potential von -31.0 ± 1.0 mV und MNPSNP@RITC-PEG ein Potential von -29.6 ± 2.1 mV. Somit liegt bei beiden modifizierten Partikelsystemen ein leicht verringertes Zeta-Potential verglichen zu den unmodifizierten MNPSNPs mit einem Potential von -33.6 ± 1.4 mV vor. Dennoch weisen die simultan modifizierten Partikel ein stark negatives Zeta-Potential auf, wodurch die Stabilität der Dispersionen aufgrund von abstoßenden Wechselwirkungen an der Oberfläche unterstützt wird.^[52]

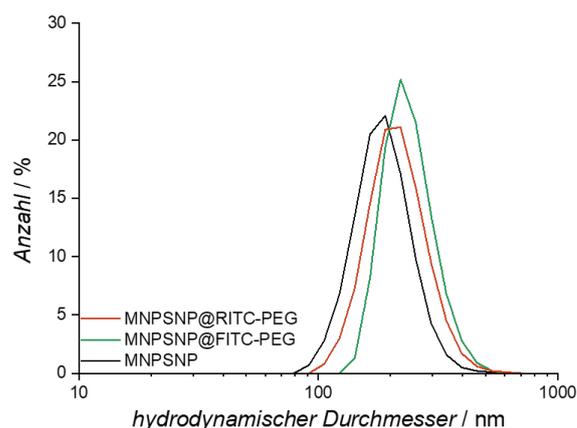


Abbildung 5.28: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) und der modifizierten MNPSNP@FITC-PEG (grün) sowie MNPSNP@RITC-PEG (orange) mittels DLS. Nach ^[52].

Die beiden simultan funktionalisierten Partikelsysteme wurden mit Hilfe der IR-Spektroskopie analysiert, um die Anbindung der organischen Fluorophore und der PEG-Moleküle nachzuweisen. In Abbildung 5.29 sind die zugehörigen IR-Spektren der Partikelsysteme MNPSNP@FITC-PEG und MNPSNP@RITC-PEG mit den unmodifizierten MNPSNP dargestellt. In Tabelle 5.5 ist darüber hinaus die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen dargestellt. Die Spektren der simultan funktionalisierten Partikel weisen sehr große Ähnlichkeiten zu den Spektren der zuvor beschriebenen Kern-Schale-Nanopartikel MNPSNP@FITC sowie MNPSNP@PEG auf.

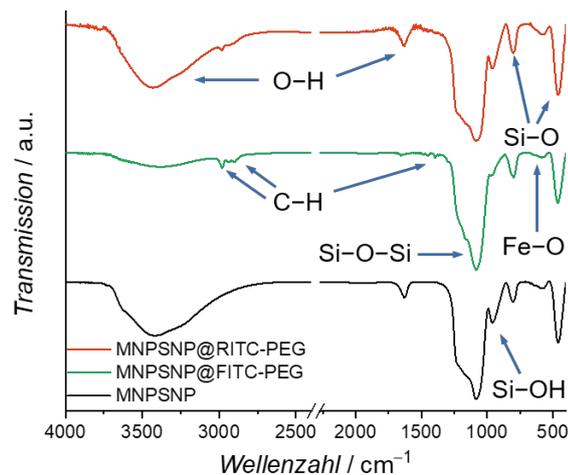


Abbildung 5.29: IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) und der modifizierten MNPSNP@FITC-PEG (grün) sowie MNPSNP@RITC-PEG (orange). Nach ^[52].

Tabelle 5.5: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs (A) und der modifizierten MNPSNP@FITC-PEG (B) sowie MNPSNP@RITC-PEG (C) (Wellenzahl [cm⁻¹]).^[52,178,180,366,367,370]

A	B	C	Schwingungsart	Ursache
3420	3399	3427	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
–	2982	2984	(C-H)-Valenzschwingung	FITC/RITC/PEG
–	2905	2911	(C-H)-Valenzschwingung	FITC/RITC/PEG
1628	1628	1632	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
–	1396	1393	(C-H)-Deformationsschwingung	FITC/RITC/PEG
1084	1082	1084	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
961	966	961	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
804	799	800	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
584	584	581	(Fe-O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
459	463	461	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Bei allen Spektren sind wieder intensive asymmetrische (Si-O-Si)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von ca. 1080 cm⁻¹ detektierbar. Darüber hinaus sind bei Wellenzahlen im Bereich von ca. 960 cm⁻¹, 800 cm⁻¹ und 460 cm⁻¹ weitere (Si-OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si-O-Si)-Valenzschwingungen sowie auch (Si-O-Si)-Deformationsschwingungen zu erkennen. Bei den Spektren liegen bei einer Wellenzahl von ca. 580 cm⁻¹ charakteristische (Fe-O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne vor. Die breite Bande im Bereich von ca. 3400 cm⁻¹ und die Bande bei

ca. 1630 cm^{-1} sind durch (O–H)-Valenzschwingungen sowie (O–H)-Deformationsschwingungen durch adsorbiertes Wasser begründet. Verglichen mit den unmodifizierten MNPSNPs sind zudem in den Spektren von MNPSNP@FITC-PEG und MNPSNP@RITC-PEG zusätzliche Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von ca. 2980 cm^{-1} und 2910 cm^{-1} sowie der (C–H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1390 cm^{-1} sichtbar. Diese zusätzlichen Banden stammen aus der Funktionalisierung und Anbindung der organischen Fluorophore FITC bzw. RITC sowie der PEG-Moleküle an die Silica-Schale der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel.^[52]

Der Einfluss der simultanen Funktionalisierung mit einem organischen Fluorophor und PEG-Molekülen auf die Porosität im Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs ist anhand von Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption und Desorption sowie normierten Porenweitenverteilungen in Abbildung 5.30 gezeigt.

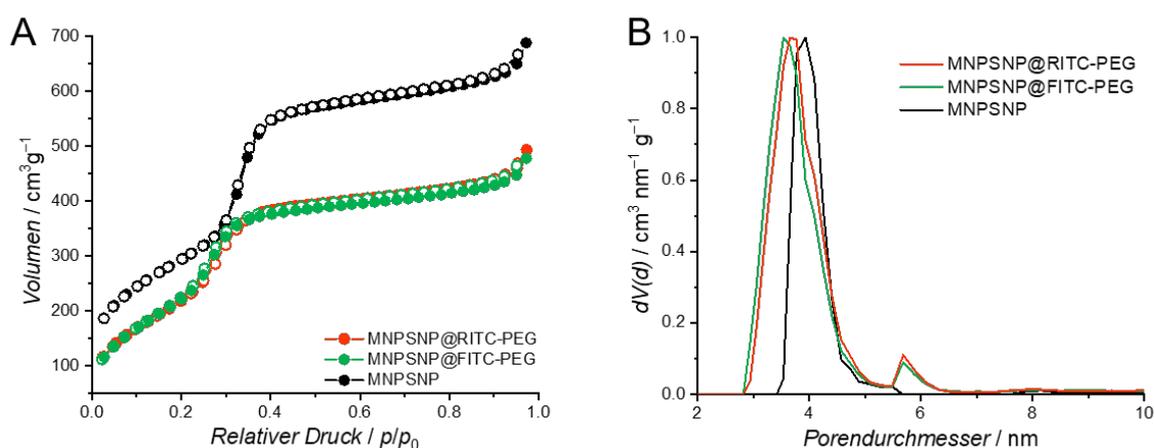


Abbildung 5.30: Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) (A) (nach ^[52]) und normierte Porenweitenverteilungen (B) der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) und der modifizierten MNPSNP@FITC-PEG (grün) sowie MNPSNP@RITC-PEG (orange).

Alle drei Isothermen zeigen auch hier eine charakteristische Typ IV-Isotherme nach IUPAC für mesoporöse Systeme.^[215] Die funktionalisierten Kern-Schale-Nanopartikel MNPSNP@FITC-PEG haben eine BET-Oberfläche von $850\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$, ein Porenvolumen von $0,7\text{ cm}^3\text{ g}^{-1}$ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0,95$ sowie einen mittleren Porendurchmesser von $3,5\text{ nm}$. Sehr ähnliche Werte zeigt MNPSNP@RITC-PEG mit einer BET-Oberfläche von $875\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$, ein Porenvolumen von $0,8\text{ cm}^3\text{ g}^{-1}$ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0,97$ sowie einen mittleren Porendurchmesser von $3,7\text{ nm}$. Durch die kovalente Anbindung der organischen Fluorophore und der PEG-Moleküle im Porensystem des Silicas weisen auch

diese multifunktionalen Nanopartikel eine geringe Abnahme der Porosität verglichen mit den zuvor beschriebenen unmodifizierten MNPSNPs auf. Wegen des nur geringen Einflusses der simultanen Funktionalisierung auf die Porosität besitzen die modifizierten MNPSNPs sehr gute Eigenschaften für die Einlagerung und Freisetzung von Wirkstoffen zur effektiven Infektionsbehandlung.^[52]

Zur Bestimmung der Menge an organischen Fluorophor sowie PEG wurde die Thermogravimetrie ebenfalls für die simultan funktionalisierten MNPSNP@FITC-PEG und MNPSNP@RITC-PEG durchgeführt. Die zugehörigen Thermogramme mit Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs sind in Abbildung 5.31 dargestellt. Zwischen einem Temperaturbereich von 120 °C und 700 °C liegt bei MNPSNP@FITC-PEG ein Massenverlust von 14.5% vor, welcher aus der Verbrennung des FITC und des PEG resultiert. Das modifizierte Kern-Schale-System MNPSNP@RITC-PEG besitzt im gleichen Temperaturbereich einen Massenverlust von 13.5% durch die Verbrennung von RITC und PEG.^[52] Verglichen mit den zuvor beschriebenen einfach funktionalisierten Partikeln MNPSNP@FITC (Massenverlust von 6.3%) sowie MNPSNP@PEG (Massenverlust von 6.6%) ist der Gewichtsanteil der Modifizierung bei den simultan funktionalisierten Kern-Schale-Nanopartikel etwas mehr als doppelt so hoch.

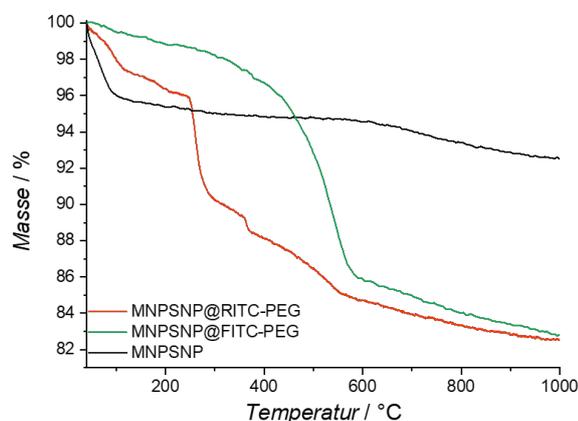


Abbildung 5.31: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten MNPSNPs (schwarz) und der modifizierten MNPSNP@FITC-PEG (grün) sowie MNPSNP@RITC-PEG (orange). Nach ^[52].

Mittels Fluoreszenzspektroskopie wurden die Fluoreszenzeigenschaften der simultan funktionalisierten MNPSNP@FITC-PEG und MNPSNP@RITC-PEG untersucht. In Abbildung 5.32 sind die zugehörigen Emissionsspektren sowie Photographien der Partikeldispersionen unter normalem Licht und UV-Licht abgebildet. Das Spektrum der

simultan modifizierten Kern-Schale-Systeme MNPSNP@FITC-PEG weist ein deutliches Emissionsmaximum bei einer Wellenlänge von 525 nm bei einer Anregungswellenlänge von 482 nm auf, welches charakteristisch für das organische Fluorophor FITC ist. Wie schon bei den zuvor beschriebenen einfach funktionalisierten MNPSNP@FITC liegt auch hier die charakteristische grüne Fluoreszenz vor, welche anhand der Fotografie der Partikeldispersion unter UV-Licht gezeigt wird. Verglichen hierzu befindet sich das Emissionsmaximum der simultan modifizierten Nanopartikel MNPSNP@RITC-PEG bei einer Wellenlänge von 573 nm bei einer Anregungswellenlänge von 525 nm. Dieses Maximum ist charakteristisch für das organische Fluorophor RITC. Unter UV-Licht wird die charakteristische orange Fluoreszenz der Partikeldispersion anhand der Fotografie bestätigt. Somit konnte bei den beiden simultan modifizierten Partikelsystemen eine Fluoreszenzlöschung durch die Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften ebenfalls nicht bestätigt werden.

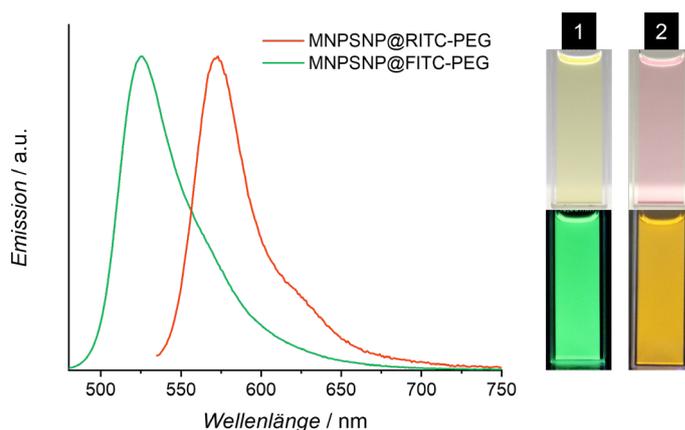


Abbildung 5.32: Normierte Emissionsspektren der modifizierten MNPSNP@FITC-PEG (grün) (Anregungswellenlänge bei 482 nm, Emissionsmaximum bei 525 nm) und MNPSNP@RITC-PEG (orange) (Anregungswellenlänge bei 525 nm, Emissionsmaximum bei 573 nm) sowie Fotografien der Partikeldispersionen. (1) MNPSNP@FITC-PEG unter normalem Licht (oben) und UV-Licht (unten). (2) MNPSNP@RITC-PEG unter normalem Licht (oben) und UV-Licht (unten).

Anhand der beschriebenen Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass die magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel erfolgreich simultan mit jeweils einem organischen Fluorophor sowie PEG funktionalisiert werden konnten. Auch die Kombination von zwei Funktionalisierungen hatte einen sehr geringen Einfluss auf die Morphologie und Porosität der Partikel. Durch die Anbindung des PEGs sowie unterschiedlicher organischer Fluorophore an die Silica-Matrix der MNPSNPs sind somit superparamagnetische Kern-

Schale-Nanopartikel mit einer sehr hohen Multifunktionalität als potenzielle Wirkstoffträgersysteme für das ID-MDT-Prinzip zugänglich.

5.1.3 Größenkontrolle der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel

In Kapitel 5.1.2 konnte die erfolgreiche Synthese von sphärischen superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln mit einer porösen Silica-Schale vorgestellt werden. Diese Partikel konnten mit organischen Fluorophoren zur potenziellen Bildgebung sowie PEG zur Erhöhung der Biokompatibilität und Maskierung der Partikel vor Makrophagen funktionalisiert werden. Auch die Kombination dieser beiden Funktionalisierungen wurde realisiert und ermöglicht somit die Herstellung von superparamagnetischen Kern-Schale-Partikelsystemen mit einer sehr hohen Multifunktionalität für das ID-MDT-Prinzip.

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Entwicklung der MNPSNPs liegt in der Größeneinstellung der Partikel und dem damit verbundenen Einfluss auf die Materialeigenschaften. Zu diesem Zweck wurden die Syntheseparameter für die Formation der nanoporösen Silica-Schale um die hydrophoben superparamagnetischen Fe_3O_4 NPs nach erfolgtem Phasentransfer variiert. In Abbildung 5.33 sind TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der eingesetzten Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs als Kernmaterial und der erhaltenen unmodifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen dargestellt. Die ermittelten Partikelgrößen sind zudem in Tabelle 5.6 zusammengefasst. Anhand der TEM-Aufnahmen und der Partikelgrößenbestimmungen kann gezeigt werden, dass die durchschnittlichen Partikeldurchmesser der Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs 10 ± 2 nm aufweisen. Die durchschnittlichen Durchmesser der unmodifizierten MNPSNPs sind im Bereich von 49 ± 4 nm bis zu 94 ± 7 nm. Durch den Einsatz von höheren Massen an Fe_3O_4 NPs als Kernmaterial konnten hierbei kleinere Kern-Schale-Nanopartikel erhalten werden. Bei Verwendung von höheren Mengen an Fe_3O_4 NPs wird bei der Synthese der MNPSNPs das Verhältnis $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ vergrößert. Dadurch sind bei der Schalen-Synthese mehr Nukleationszentren für die Formation der Silica-Matrix um die magnetischen Kerne vorhanden. Bei gleichbleibender Menge an verwendetem TEOS als Silica-Präkursor resultieren folglich durch hohe Mengen an Fe_3O_4 NPs mehr kleine MNPSNPs. Im Gegensatz dazu entstehen bei geringen Mengen an Kernmaterial große Kern-Schale-Nanopartikel, weil weniger Nukleationszentren vorhanden sind, um die sich

dieselbe Menge an TEOS bzw. nach erfolgter Synthese das Silica anlagert. Einen ähnlichen Trend bezüglich des Zusammenhanges zwischen der Partikelgröße von magnetischen Silica-Nanopartikeln und dem $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ -Verhältnis wurde auch von Haynes et al. gezeigt. Durch Verringerung des $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ -Verhältnisses wurden größere Partikeldurchmesser von magnetischen Kern-Schale-Systemen erhalten.^[62]

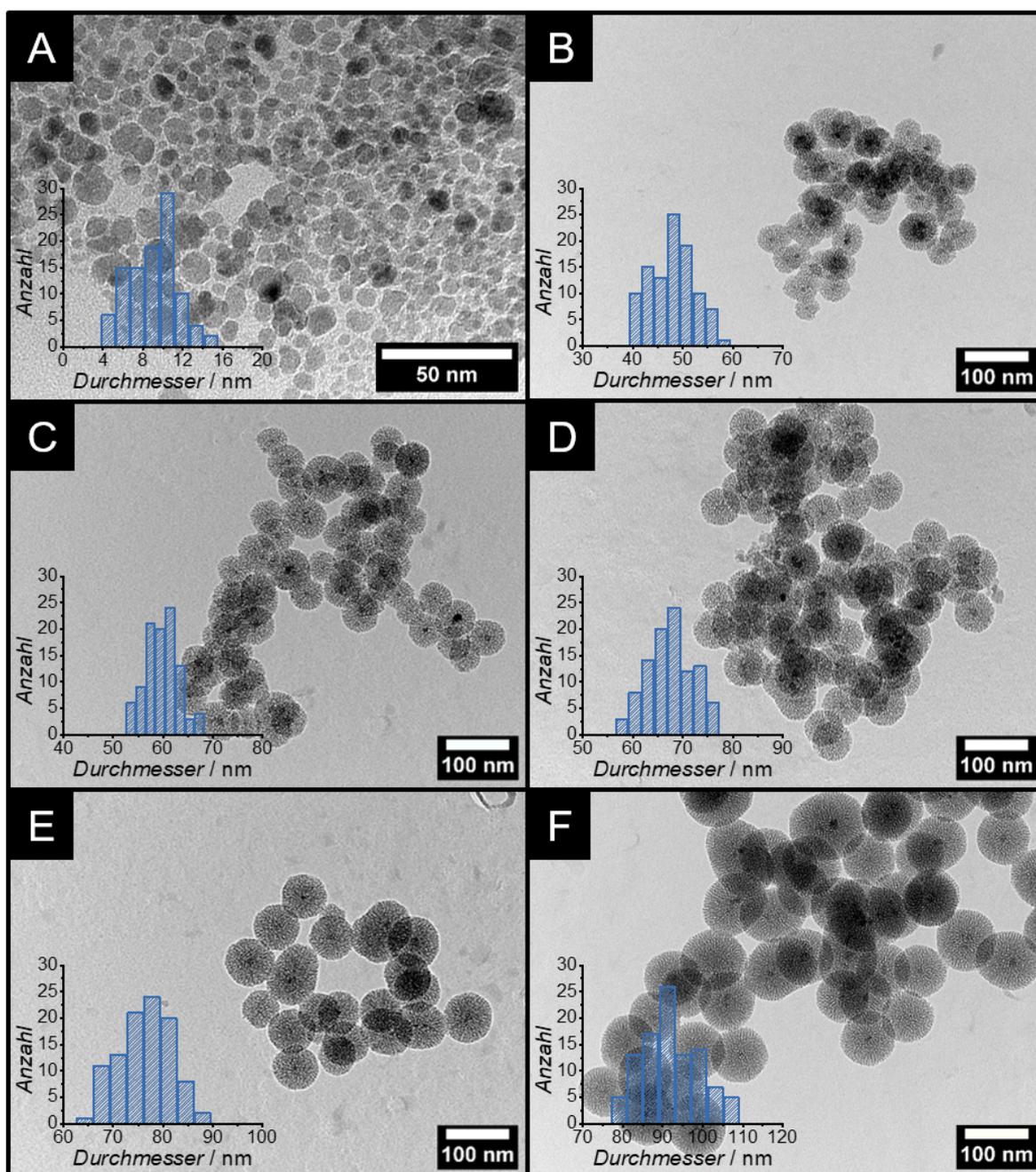


Abbildung 5.33: TEM-Aufnahmen und Partikelgrößenverteilungen der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs (A), MNPSNP (49 nm) (B), MNPSNP (61 nm) (C), MNPSNP (69 nm) (D), MNPSNP (78 nm) (E) und MNPSNP (94 nm) (F).

Tabelle 5.6: Ergebnisse der TEM-, DLS- und Zeta-Potential-Analysen der Fe₃O₄ NPs und unmodifizierten MNPSNPs. d: Durchmesser. PDI: Polydispersitätsindex. ζ: Zeta-Potential.

Probe	d _{TEM} [nm]	d _{DLS} [nm]	PDI	ζ [mV]
Fe ₃ O ₄ NPs	10 ± 2	-	-	-
MNPSNP (49 nm)	49 ± 4	97 ± 7	0.381	-30.1 ± 1.1
MNPSNP (61 nm)	61 ± 3	105 ± 8	0.333	-29.5 ± 1.2
MNPSNP (69 nm)	69 ± 5	113 ± 8	0.355	-30.3 ± 0.6
MNPSNP (78 nm)	78 ± 5	146 ± 9	0.565	-30.3 ± 1.6
MNPSNP (94 nm)	94 ± 7	173 ± 8	0.386	-31.2 ± 0.7

Bei der Synthese der MNPSNPs sind unter Einsatz einer geringen Menge an Fe₃O₄ NPs sowie durch Erhöhung der Synthesetemperatur ebenfalls Partikelgrößen von bis zu 94 ± 7 nm zugänglich. Durch die Erhöhung der Synthesetemperatur bei dem Schalenwachstum folgt eine Erhöhung der Hydrolyse- und Kondensationsraten des Silica-Präkursors, wodurch die Formation von dickeren Silica-Schalen bei den MNPSNPs begünstigt wird.^[371,372]

Der Anstieg der Partikeldurchmesser der MNPSNPs wurde ebenfalls mittels DLS-Analyse bestätigt. Die Partikelgrößenverteilungen sind in Abbildung 5.34 dargestellt und die zugehörigen hydrodynamischen Durchmesser mit PDI-Werten sind ebenfalls in Tabelle 5.6 zusammengefasst.

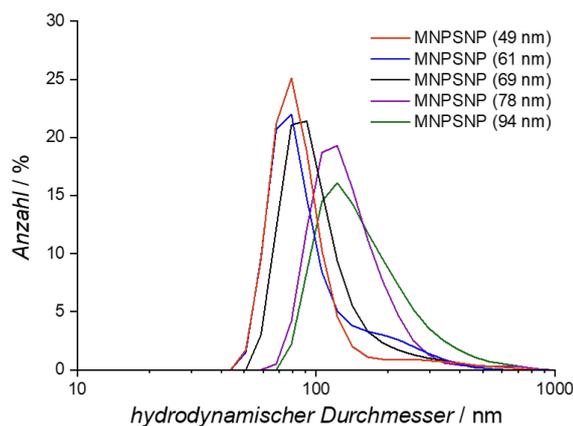


Abbildung 5.34: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen der unmodifizierten MNPSNPs mittels DLS. MNPSNP (49 nm) (orange), MNPSNP (61 nm) (blau), MNPSNP (69 nm) (schwarz), MNPSNP (78 nm) (lila) und MNPSNP (94 nm) (grün).

Im Vergleich zur Partikelgrößenbestimmung durch die TEM-Analysen zeigen die unmodifizierten MNPSNPs höhere Partikeldurchmesser von 97 ± 7 nm bis zu 173 ± 8 nm, die durch die Hydratationshüllen im wässrigen Medium begründet sind. Die Zeta-Potential-Messungen lieferten hohe negative Oberflächenladungen von ca. -30 mV in Wasser. Die Werte sind in Tabelle 5.6 aufgeführt und deuten auf eine kolloidale Stabilität durch elektrostatische Repulsion hin.

Die IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs sind in Abbildung 5.35 gezeigt. Die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.7 aufgeführt.

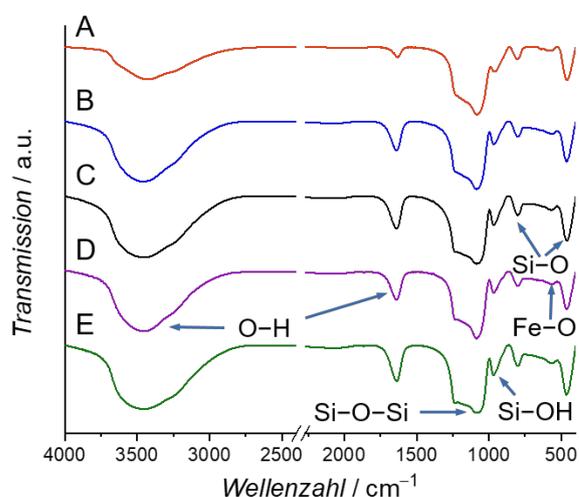


Abbildung 5.35: IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs. MNPSNP (49 nm) (A), MNPSNP (61 nm) (B), MNPSNP (69 nm) (C), MNPSNP (78 nm) (D) und MNPSNP (94 nm) (E).

Tabelle 5.7: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren der unmodifizierten MNPSNPs. MNPSNP (49 nm) (A), MNPSNP (61 nm) (B), MNPSNP (69 nm) (C), MNPSNP (78 nm) (D) und MNPSNP (94 nm) (E) (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370]

A	B	C	D	E	Schwingungsart
3426	3455	3455	3454	3453	(O-H)-Valenzschwingung
1634	1638	1638	1636	1636	(O-H)-Deformationsschwingung
1084	1088	1086	1086	1086	(Si-O-Si)-Valenzschwingung
963	966	966	969	968	(Si-OH)-Valenzschwingung
802	800	800	800	800	(Si-O-Si)-Valenzschwingung
581	565	571	563	563	(Fe-O)-Valenzschwingung
461	465	465	465	465	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung

Die Spektren sind hierbei nahezu identisch zueinander und zu dem zuvor in Kapitel 5.1.2 vorgestellten IR-Spektrum der unmodifizierten MNPSNPs. Im Wellenzahlenbereich von ca. 1090 cm^{-1} liegen sehr intensive asymmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen vor. Zudem sind basierend durch die Silica-Schale weitere (Si–OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen sowie darüber hinaus auch (Si–O–Si)-Deformationsschwingungen bei Wellenzahlen im Bereich von 970 cm^{-1} , 800 cm^{-1} und 470 cm^{-1} detektierbar. Die für die MNPSNPs charakteristischen (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne befinden sich bei den unmodifizierten Kern-Schale-Systemen bei Wellenzahlen von ca. 560 bis 580 cm^{-1} . Die (O–H)-Valenzschwingungen sowie (O–H)-Deformationsschwingungen des adsorbierten Wassers sind in den IR-Spektren durch eine breite Bande im Bereich von ca. 3450 cm^{-1} sowie durch eine weitere Bande bei ca. 1640 cm^{-1} erkennbar. Somit sind die IR-Spektren der MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern sehr vergleichbar zu den zuvor beschriebenen unmodifizierten MNPSNPs.

Die Porosität der MNPSNPs mit unterschiedlichem Partikeldurchmesser wurde mittels Stickstoff-Physisorption untersucht. Die zugehörigen Physisorptionsisothermen sowie die zugehörigen Porenweitenverteilungen der Kern-Schale-Systeme sind in Abbildung 5.36 dargestellt. In Tabelle 5.8 sind die ermittelten Werte für die BET-Oberflächen, die Porenvolumina sowie die mittleren Porendurchmesser zum Vergleich zusammengefasst.

Tabelle 5.8: Ergebnisse der Stickstoff-Physisorptions-Analysen der unmodifizierten MNPSNPs. S_{BET} : BET-Oberfläche. V_{Pore} : Porenvolumen. d_{Pore} : Porendurchmesser.

Probe	$S_{\text{BET}} [\text{m}^2 \text{g}^{-1}]$	$V_{\text{Pore}} [\text{cm}^3 \text{g}^{-1}]$	$d_{\text{Pore}} [\text{nm}]$
MNPSNP (49 nm)	900	1.3	4.3
MNPSNP (61 nm)	910	1.2	4.3
MNPSNP (69 nm)	950	1.2	4.3
MNPSNP (78 nm)	990	1.2	4.3
MNPSNP (94 nm)	950	1.0	4.3

Auch die MNPSNPs mit ihren unterschiedlichen Partikelgrößen weisen eine charakteristische Typ IV-Isotherme für mesoporöse Systeme auf und sind nahezu identisch zu den zuvor beschriebenen Isothermen der unmodifizierten MNPSNPs.^[215]

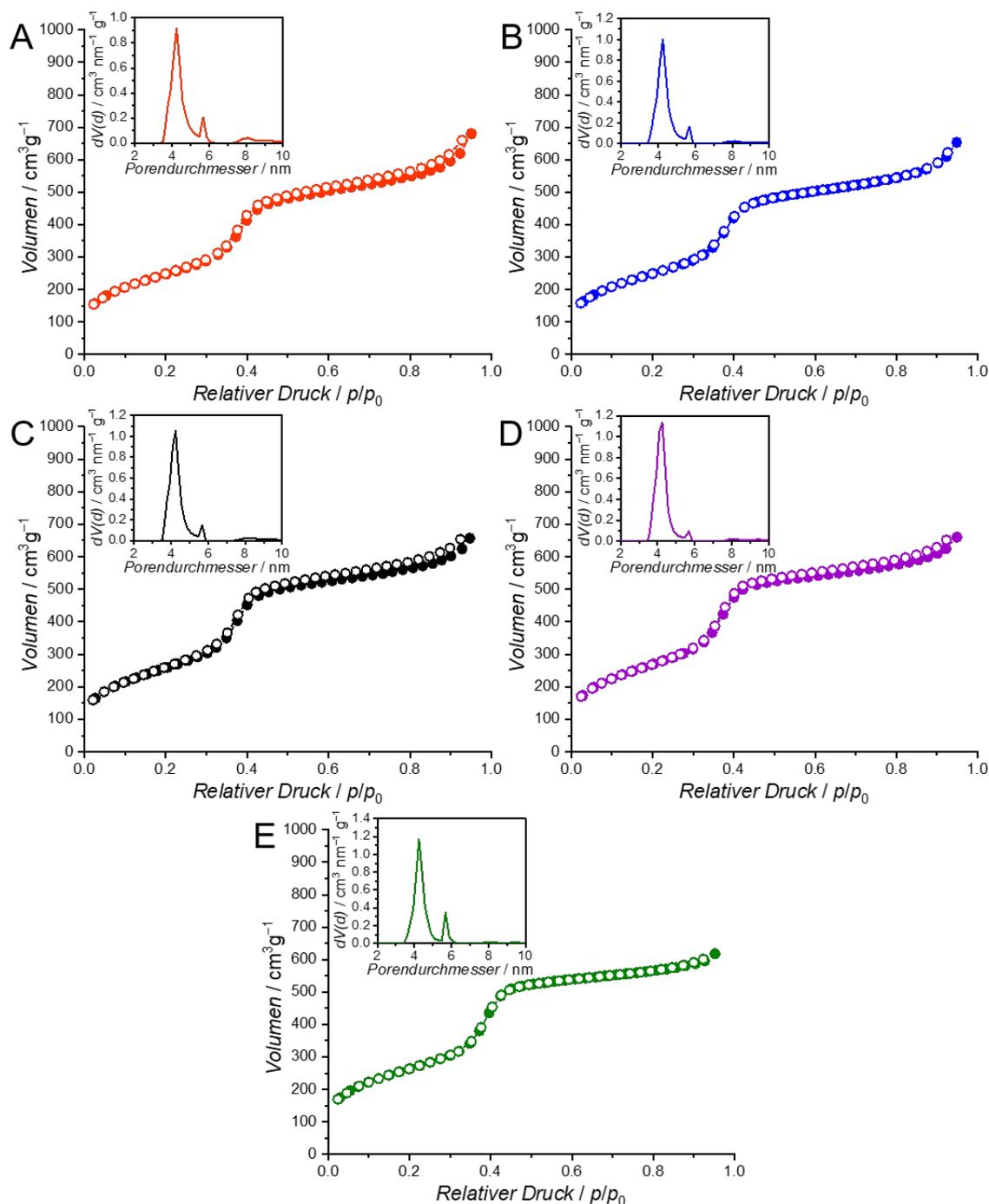


Abbildung 5.36: Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) sowie Porenweitenverteilungen der unmodifizierten MNPSNPs. MNPSNP (49 nm) (A), MNPSNP (61 nm) (B), MNPSNP (69 nm) (C), MNPSNP (78 nm) (D) und MNPSNP (94 nm) (E).

Mit zunehmender Partikelgröße der MNPSNPs bis 78 nm nehmen die BET-Oberflächen ebenfalls zu und rangieren von $900 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ bis $990 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Die Vergrößerung der BET-Oberfläche mit zunehmendem Partikeldurchmesser ist durch den geringeren

Volumenanteil der magnetischen Kerne und damit größerem Anteil an porösem Silica bei größeren Kern-Schale-Nanopartikel begründet. Dagegen liegt bei MNPSNP (94 nm) eine geringere BET-Oberfläche von $950 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ verglichen mit den kleineren Partikeln MNPSNP (78 nm) vor, was durch die höhere Synthesetemperatur für die Silica-Schale begründet ist. Durch die höhere Synthesetemperatur bei MNPSNP (94 nm) folgen höhere Hydrolyse- und Kondensationsraten des Silica-Präkursors, welche wiederum eine Verringerung der Mikroporosität durch dichtere Packung der Silica-Nuklei zur Folge haben kann.^[371] Die Porenvolumina der unmodifizierten MNPSNPs bis zu einer Partikelgröße von 78 nm liegen bei $1.2 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ bis $1.3 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.97$. Auch hier weist MNPSNP (94 nm) eine etwas geringere Porosität durch ein Porenvolumen von $1.0 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ auf. Alle MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen haben einen mittleren Porendurchmesser von 4.3 nm, sodass auch hier die Kern-Schale-Systeme mit ihren mesoporösen Hüllen sehr großes Potential als Wirkstoffträger besitzen.

Folglich kann eine kontrollierte Partikelgrößeneinstellung bei der Herstellung der MNPSNPs über eine Variation der eingesetzten Menge an hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs bei gleich bleibender Menge an Silica-Präkursor erzielt werden. Durch Vergrößerung des $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ -Verhältnisses sind bei der Synthese MNPSNPs mit kleineren Partikeldurchmessern zugänglich. Dagegen werden durch Erhöhung der Synthesetemperatur dickere Silica-Schalen durch höhere Hydrolyse- und Kondensationsraten des Silica-Präkursors erhalten. In Kapitel 5.1.6 werden die verschiedenen MNPSNPs nach Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor RITC vorgestellt. Neben dem Einfluss der Partikelgröße und der Funktionalisierung auf die magnetischen und optischen Eigenschaften der MNPSNPs wird dort auch die Biokompatibilität untersucht.

5.1.4 Großporige magnetische nanoporöse Silica-Nanopartikel

Neben der Partikelgrößeneinstellung der MNPSNPs durch Variation des eingesetzten $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ -Verhältnisses bei der Synthese der Silica-Schale, ist unter Verwendung einer größeren Menge an Ethylacetat darüber hinaus ein anderes Porensystem zugänglich. Abbildung 5.37 zeigt TEM-Aufnahmen und die zugehörige Partikelgrößenverteilung der großporigen unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm). Hierbei liegen sphärische Kern-Schale-Partikelsysteme mit einem mittleren Partikeldurchmesser von $123 \pm 12 \text{ nm}$ vor. Die

magnetischen Kerne sind wieder innerhalb der Partikel durch die dunklen Spots zu erkennen. Im Gegensatz zu den zuvor vorgestellten MNPSNPs liegen deutlich höhere Partikeldurchmesser aufgrund einer dickeren Silica-Schale vor. Die dickere Silica-Schale ist durch ein größeres Porensystem mit konischen Poren begründet, welches sich stark von den kleinporigen Gerüsten der MNPSNPs unterscheidet. Durch den Einsatz einer größeren Menge Ethylacetat liegt bei der Silica-Synthese eine Öl-Wasser-Emulsion vor. Das Ethylacetat fungiert bei dem Schalenwachstum um die magnetischen Kerne als Templat und Quellungsagens, welches eine Porenexpansion und damit verbunden größere Poren sowie eine höhere Ausdehnung der Silica-Schale begünstigt.^[64]

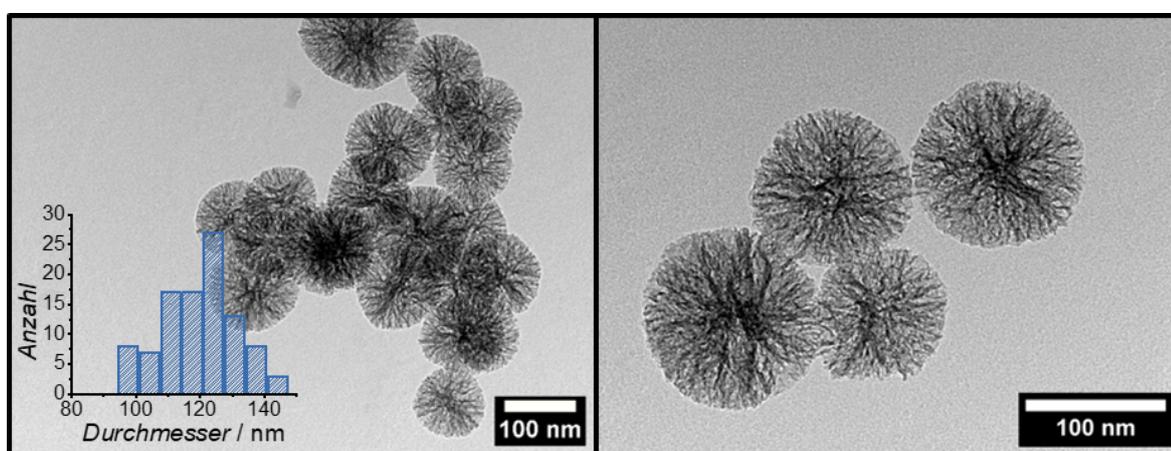


Abbildung 5.37: TEM-Aufnahmen der unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm) mit Partikelgrößenverteilung.

Die Partikelgrößenverteilung der unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm) mittels DLS-Analyse in Wasser ist in Abbildung 5.38 dargestellt.

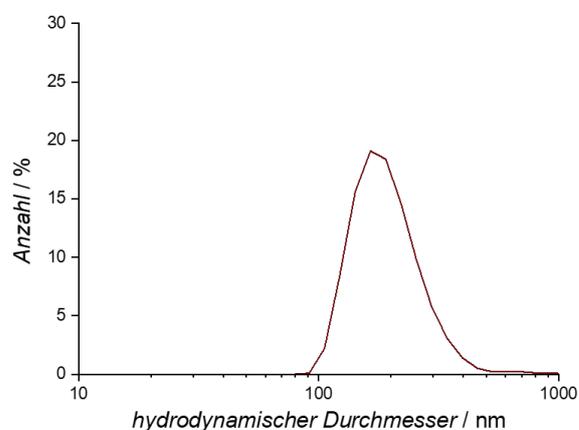


Abbildung 5.38: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilung der unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm) mittels DLS.

Für die großporigen Kern-Schale-Nanopartikel wurde ein mittlerer hydrodynamischer Partikeldurchmesser von 201 ± 17 nm mit einem PDI-Wert von 0.595 bestimmt. Verglichen mit den hydrodynamischen Durchmessern der zuvor beschriebenen unmodifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen, liegt bei den großporigen Partikeln ein größerer Durchmesser vor. Durch diese Daten wird auch die höhere Ausdehnung der Silica-Schale bestätigt, welche zuvor anhand der TEM-Analyse verdeutlicht wurde. Mit Hilfe der Zeta-Potential-Analyse wurde an den großporigen Partikeln ein stark negatives Potential von -28.2 ± 0.7 mV in Wasser bestimmt. Durch die hohe negative Oberflächenladung wird durch abstoßende Wechselwirkungen die Stabilität von Partikeldispersionen begünstigt.

Zur weiteren Charakterisierung der großporigen Kern-Schale-System erfolgte die Analyse mittels IR-Spektroskopie. Das zugehörige Spektrum ist in Abbildung 5.39 dargestellt. Die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.9 zusammengefasst. Im IR-Spektrum sind bei einer Wellenzahl von 1084 cm^{-1} die intensiven asymmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen detektierbar. Bei Wellenzahlen von 957 cm^{-1} , 806 cm^{-1} und 459 cm^{-1} sind darüber hinaus weitere charakteristische (Si–OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen sowie auch (Si–O–Si)-Deformationsschwingungen zu erkennen. Die breite Bande im Bereich von 3406 cm^{-1} und die Bande bei 1636 cm^{-1} sind durch (O–H)-Valenzschwingungen und (O–H)-Deformationsschwingungen durch adsorbiertes Wasser begründet. Bei einer Wellenzahl von 583 cm^{-1} sind die (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne lokalisiert.

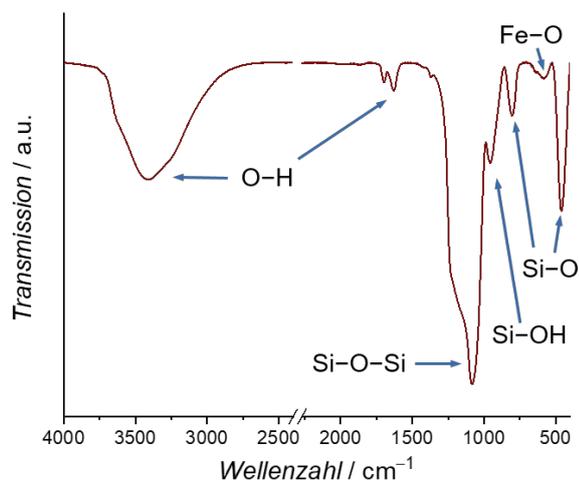
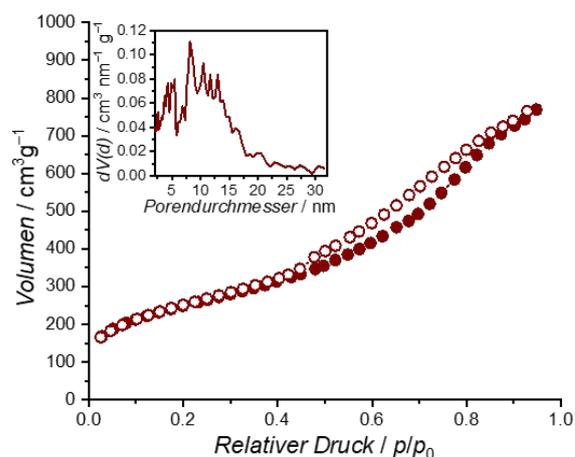


Abbildung 5.39: IR-Spektrum der unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm).

Tabelle 5.9: Zuordnung der Schwingungsbanden der unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm).^[178,180,366,367,370]

Wellenzahl [cm ⁻¹]	Schwingungsart	Ursache
3406	(O–H)-Valenzschwingung	Wasser
1630	(O–H)-Deformationsschwingung	Wasser
1084	(Si–O–Si)-Valenzschwingung	Silica
957	(Si–OH)-Valenzschwingung	Silica
806	(Si–O–Si)-Valenzschwingung	Silica
583	(Fe–O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
459	(Si–O–Si)-Deformationsschwingung	Silica

Mit Hilfe der Stickstoff-Physisorption wurde das Porensystem der unmodifizierten Kern-Schale-Systeme MNPSNP-LP (123 nm) analysiert. Die zugehörige Isotherme sowie die zugehörige Porenweitenverteilung dieser Partikel ist in Abbildung 5.40 gezeigt. Auch bei den großporigen MNPSNP-LP (123 nm) liegt nach IUPAC eine charakteristische Typ IV-Isotherme für mesoporöse Systeme vor.^[215] Dabei weisen die Partikel eine BET-Oberfläche von 900 m² g⁻¹ sowie ein Porenvolumen von 1.3 cm³ g⁻¹ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.97$ auf. Im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen MNPSNPs liegen bei der Porenweitenverteilung der großporigen MNPSNP-LP (123 nm) deutliche Unterschiede vor. Neben kleineren Poren bei einem Maximum von 5.5 nm durch den Einsatz von CTAB sind darüber hinaus auch deutlich größere Poren von bis zu 15 nm vertreten, wobei das zweite Maximum einen Porendurchmesser von 8.1 nm beschreibt.

**Abbildung 5.40:** Stickstoff-Physisorptionsisotherme mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) sowie Porenweitenverteilung der unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm).

Die höheren Porendurchmesser dieser Kern-Schale-Systeme wurden zuvor anhand der Transmissionselektronenmikroskopie bestätigt und sind durch die größere Menge an Ethylacetat begründet, welches als Quellungsagens in der Öl-Wasser-Emulsion während der Silica-Synthese fungiert. Folglich ist durch Erhöhung der Ethylacet-Menge eine Variation des Porensystems möglich, sodass neben der Variation des $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ -Verhältnisses zur Partikelgrößeneinstellung ein weiterer Parameter zur Verfügung steht, um die Materialeigenschaften der MNPSNPs gezielt zu beeinflussen. Die großporigen Kern-Schale-Systeme MNPSNP-LP (123 nm) mit ihren höheren Porendurchmessern sind im Rahmen einer Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung insbesondere für größere Moleküle interessant. Zu diesen gehören Wachstumsfaktoren zur Regeneration von Gewebe wie zum Beispiel BDNF (brain-derived neurotrophic factor), BMP-2 (*bone morphogenetic protein 2*) TGF- β 3 (*transforming growth factor- β 3*) und VEGF (*vascular endothelial growth factor*) aber auch kurze doppelsträngige RNA-Fragmente wie siRNA (*short interfering ribonucleic acid*) oder Oberflächenproteine wie CD47 (*Cluster of Differentiation 47*).^[353,373–376] Die großporigen MNPSNP-LP (123 nm) werden in Kapitel 5.1.6 nach einer Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor RITC bezüglich der magnetischen und optischen Eigenschaften sowie der Biokompatibilität weitergehend diskutiert.

5.1.5 Charakterisierung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel mit periodisch mesoporöser Organosilica-Schale

Dieses Kapitel stellt die Ergebnisse der Kern-Schale-Schale-Nanopartikel vor, bei denen die zuvor beschriebenen MNPSNPs nach einer Vorschrift von Jahns et al. mit einer zusätzlichen Schale aus periodisch mesoporösem Organosilica (PMO) umhüllt wurden.^[66] Für die Herstellung dieses magnetischen Multischichten-Komposits wurde ein Ansatz mit kleinen MNPSNPs mit einer Partikelgröße von 49 ± 5 nm als Kernmaterial verwendet, die bereits in Kapitel 5.1.3 vorgestellt wurden. Abbildung 5.41 zeigt TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der hergestellten unmodifizierten Kern-Schale-Schale-Systeme MNPSNP@PMO (76 nm). Die Partikel haben einen mittleren Partikeldurchmesser von 76 ± 5 nm und weisen eine deutlich erkennbare zusätzliche Schale aus PMO auf. Die dunklen Spots innerhalb der Partikelsystems stellen die magnetischen Kerne dar, welche von nanoporösem Silica umhüllt sind. Die PMO-Schale besitzt eine mittlere Dicke von 13 ± 1 nm. Darüber hinaus ist die Porosität der PMO-Matrix zu erkennen, sodass neben

dieser porösen Schale durch die eingesetzten MNPSNPs auch ein poröser Kern für potenzielle Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung zugänglich ist.

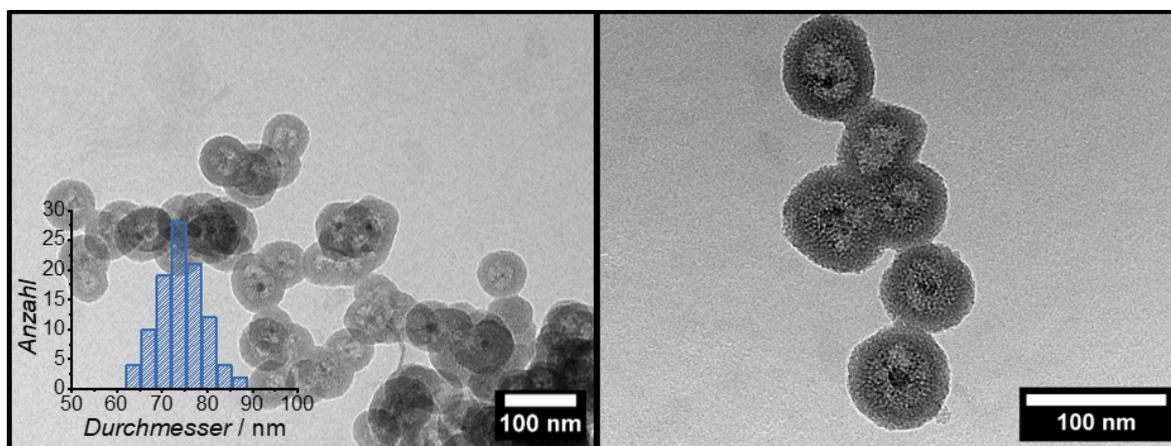


Abbildung 5.41: TEM-Aufnahmen der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm) mit Partikelgrößenverteilung.

Die Partikelgröße der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm) und deren Verteilung wurde auch mittels DLS-Analyse in Wasser untersucht. In Abbildung 5.42 ist die zugehörige Partikelgrößenverteilung dargestellt.

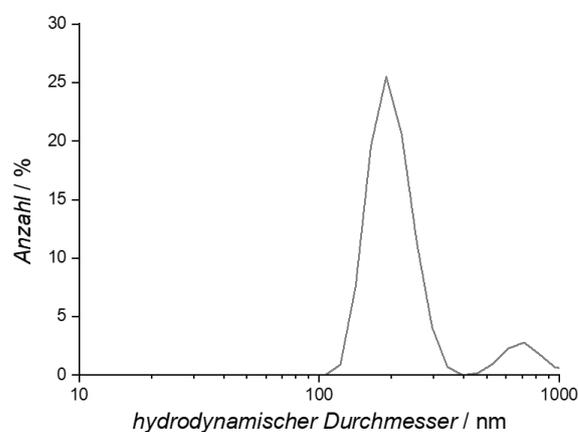


Abbildung 5.42: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilung der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm) mittels DLS.

Die Partikel besitzen einen mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 254 ± 17 nm bei einem PDI-Wert von 0.411. Neben der Hydratationshülle im wässrigen Medium ist ein weiterer Grund für den deutlich höheren mittleren Partikeldurchmesser die starke Tendenz zur Agglomeration, welche anhand der bimodalen Partikelgrößenverteilung erkennbar ist.

Durch die Zeta-Potential-Analyse in Wasser wurde bei den Kern-Schale-Schale-Systemen ein stark negatives Potential von -28.8 ± 0.7 mV bestimmt.

Abbildung 5.43 zeigt das IR-Spektrum von MNPSNP@PMO (76 nm) und in Tabelle 5.10 ist zudem die Bandenzuordnung zu den Schwingungen aufgeführt.

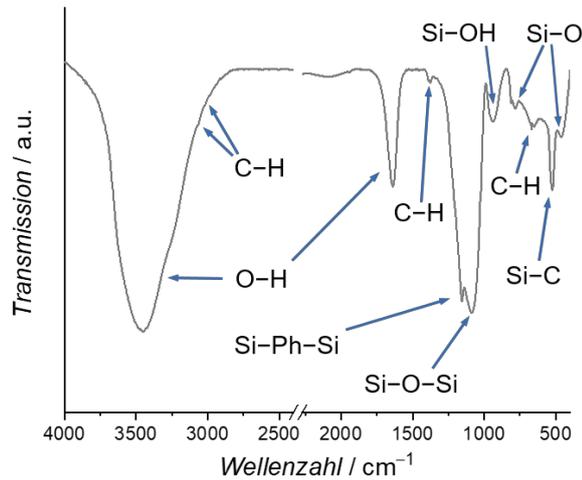


Abbildung 5.43: IR-Spektrum der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm).

Tabelle 5.10: Zuordnung der Schwingungsbanden der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm).^[180,366,367,370,377]

Wellenzahl [cm ⁻¹]	Schwingungsart	Ursache
3455	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
3064	(C-H)-Valenzschwingung	PMO
3015	(C-H)-Valenzschwingung	PMO
1638	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
1377	(C-H)-Deformationsschwingung	PMO
1155	(Si-Ph-Si)-Valenzschwingung	PMO
1088	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
937	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
786	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
643	(C-H)-Deformationsschwingung	PMO
525	(Si-C)-Valenzschwingung	PMO
461	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Ähnlich wie bei den IR-Spektren der zuvor vorgestellten Partikelsysteme sind bei einer Wellenzahl von 1088 cm^{-1} die intensiven asymmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen vertreten. Die charakteristischen (Si–OH)-Deformationsschwingungen, die symmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen sowie auch die (Si–O–Si)-Deformationsschwingungen sind bei einer Wellenzahl von 937 cm^{-1} , 786 cm^{-1} und 461 cm^{-1} zu erkennen. Zudem sind die (O–H)-Valenzschwingungen und (O–H)-Deformationsschwingungen durch die breite Bande im Bereich von 3455 cm^{-1} sowie durch die Bande bei 1636 cm^{-1} aufgrund von adsorbiertem Wasser begründet. Basierend auf der PMO-Schale dieses Kompositmaterials sind im IR-Spektrum bei einer Wellenzahl von ca. 3064 cm^{-1} und 3015 cm^{-1} die (C–H)-Valenzschwingungen sowie bei einer Wellenzahl von 1377 cm^{-1} und 643 cm^{-1} die (C–H)-Deformationsschwingungen des aromatischen Ringes des BTEB erkennbar. Darüber hinaus wird die organische BTEB-Brücke der PMO-Schale durch die charakteristischen (Si–Ph–Si)-Valenzschwingungen bei 1155 cm^{-1} sowie die (Si–C)-Valenzschwingungen bei 525 cm^{-1} bestätigt. Somit wird durch die zusätzlichen Schwingungsbanden verglichen mit den zuvor vorgestellten MNPSNPs die Formation der PMO-Schale um die unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm) verifiziert. Anders als bei den MNPSNPs sind bei diesem Kern-Schale-Schale-System allerdings die charakteristischen (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne bei einer Wellenzahl von ca. 570 cm^{-1} nicht zu erkennen. Ein Grund hierfür könnte der geringe Anteil des Eisenoxids in diesem Hybrid-System verglichen mit den MNPSNPs sein, weshalb die Intensität der Eisenoxid-Schwingungsbande geringer ist. Zudem könnten in dem Spektrum die (Si–C)-Valenzschwingungen die (Fe–O)-Valenzschwingungen überdecken, welche in einem ähnlichen Wellenzahl-Bereich detektiert werden. Die Anwesenheit der magnetischen Kerne konnte jedoch durch die TEM-Aufnahmen bestätigt werden.

Zur Charakterisierung der porösen Eigenschaften von MNPSNP@PMO (76 nm) wurden Stickstoff-Physisorptions-Messungen durchgeführt. In Abbildung 5.44 ist die zugehörige Isotherme mit Adsorption und Desorption sowie die dazugehörige Porenweitenverteilung dargestellt. Nach IUPAC liegt eine charakteristische Typ IV-Isotherme für mesoporöse Systeme vor.^[215] Die Partikel besitzen eine BET-Oberfläche von $1050\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ sowie ein Porenvolumen von $1.0\text{ cm}^3\text{ g}^{-1}$ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.97$. Anhand der Porenweitenverteilung der unmodifizierten Partikel ist ein bimodaler Verlauf mit zwei Maxima bei 2.6 nm und 3.8 nm erkennbar. Der durchschnittliche Porendurchmesser von 2.6 nm ist den Poren der äußeren PMO-Schale des Partikelsystems zuzuordnen.^[66] Dagegen

stammt der charakteristische Porendurchmesser von 3.8 nm von den MNPSNPs, die bei diesem Hybridmaterial als Kern eingesetzt wurden.

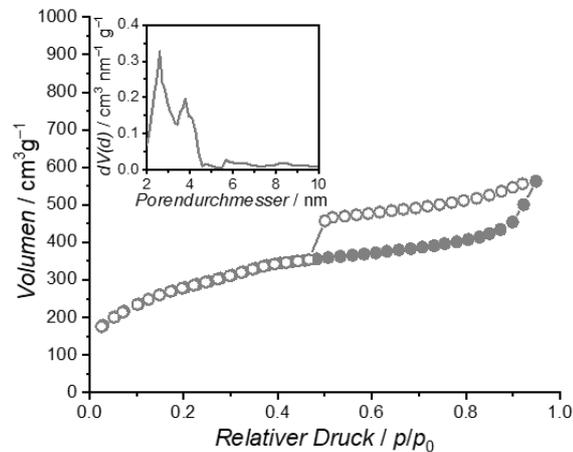


Abbildung 5.44: Stickstoff-Physisorptionsisotherme mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) sowie Porenweitenverteilung der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm).

Bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.47$ weist die Isotherme im Desorptionszweig einen deutlichen Abfall auf. Dieser Abfall ist bei einem Relativdruckbereich von $p/p_0 = 0.4 - 0.5$ charakteristisch für eine kavitätsinduzierte Desorption.^[378] Dieser Prozess ist auf tintenfassförmige Poren an der Grenzschicht der nanoporösen Silica-Schale der MNPSNPs und der Organosilica-Hülle zurückzuführen. Hierbei sind die Poren der magnetischen Silica-Kerne größer als die Poren der äußeren PMO-Hülle. Zudem können aufgrund der basischen Reaktionsbedingungen während der PMO-Synthese auch größere Hohlräume an der Materialgrenze entstehen. Durch die tintenfassförmigen Poren mit einem schmalen Porenhals können spontan Gasblasen gebildet werden, gefolgt von einer plötzlichen Porentleerung, welche den deutlichen Abfall im Desorptionszweig erklärt. Die beiden unterschiedlichen Porengrößen bei MNPSNP@PMO (76 nm) bieten ein großes Potential für eine duale Einlagerung und Freisetzung von zwei unterschiedlichen Wirkstoffen, welche von Jahns et al. an unmagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln mit nanoporösem Silica-Kern und nanoporöser PMO-Schale vorgestellt wurden.^[66] So konnten aufgrund der unterschiedlichen chemischen Eigenschaften des Silica-Kerns und der PMO-Hülle unterschiedliche Gastmoleküle in Abhängigkeit der Polarität in verschiedene Regionen der Silica-PMO-Komposite aufgenommen werden. Dadurch konnte eine rasche Freisetzung aus der hydrophoben PMO-Schale und eine verzögerte Freisetzung aus dem hydrophilen

Silica-Kern realisiert werden. Dieses System mit einem nanoporösen Silica-Kern und einer nanoporösen PMO-Hülle in Kombination mit einem superparamagnetischen Kern bietet somit die Möglichkeit einer gezielten Behandlung von akuten sowie auch chronischen Infektionen am Implantat.

Mit Hilfe der Thermogravimetrie wurde zudem der organische Anteil des Partikelsystems MNPSNP@PMO (76 nm) analysiert. Das zugehörige Thermogramm ist in Abbildung 5.45 abgebildet.

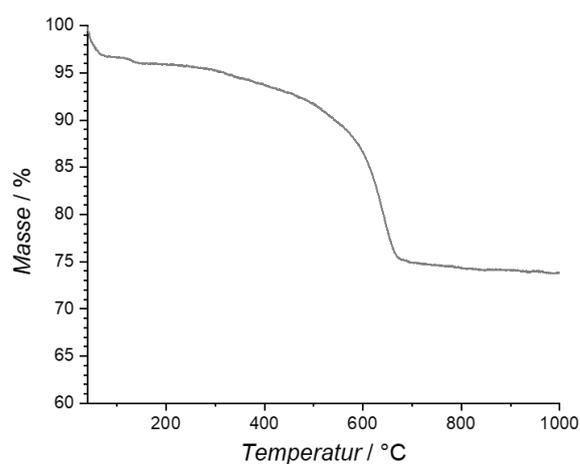


Abbildung 5.45: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm).

Zu Beginn wird hierbei ein Massenverlust von 6.3% detektiert, welcher dem Verlust an adsorbierten Wasser bzw. Lösungsmittelresten zuzuordnen ist. Der organische Anteil, welcher bei der Verbrennung der PMO-Schale zu Wasser und Kohlenstoffdioxid ermittelt wurde, beträgt 18.8%. Nach erfolgter Analyse liegt eine Restmasse von 74.9% vor, welche auf die Eisenoxid-Kerne und die Silica-Matrix zurückzuführen ist.

Anhand der vorgestellten Ergebnisse liegt mit MNPSNP@PMO (76 nm) ein weiteres Partikelsystem mit großem Potential für die selektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen mittels des ID-MDT-Prinzips vor. Insbesondere die porösen Eigenschaften dieser Kern-Schale-Schale-Systeme mit magnetischen Kernen ermöglichen aufgrund der unterschiedlichen Porengrößen in Kombination mit den unterschiedlichen chemischen Charakteristika eine simultane Einlagerung und Freisetzung von unterschiedlichen Wirkstoffen für eine kombinierte Behandlung von akuten und chronischen Infektionen. Im folgenden Kapitel 5.1.6 werden die Partikel MNPSNP@PMO (76 nm) nach einer Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor

RITC weitergehend bezüglich der magnetischen und optischen Eigenschaften sowie der Biokompatibilität analysiert und mit den zuvor vorgestellten Partikelsystem gegenübergestellt.

5.1.6 Untersuchung der Fluoreszenzeigenschaften und Biokompatibilität

Die zuvor vorgestellten Ergebnisse der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel zeigten die Zugänglichkeit von unterschiedlichen Partikelsystemen auf Basis von superparamagnetischen hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe₃O₄ NPs. Durch Variation der Syntheseparameter konnten hierbei MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen sowie auch unterschiedlichen Porensystemen hergestellt werden. Auch die Umhüllung der MNPSNPs mit einer zusätzlichen nanoporösen PMO-Schale bietet den Einsatz eines weiteren sehr interessanten potenziellen Wirkstoffträgersystems für das ID-MDT-Prinzip. In diesem Kapitel werden die unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Partikelsysteme nach einer Funktionalisierung mit dem organische Fluorophor RITC bezüglich der generellen Materialeigenschaften und tiefergehend bezüglich der magnetischen und optischen Eigenschaften sowie der Biokompatibilität diskutiert. Insbesondere der Einfluss der superparamagnetischen Eisenoxid-Kerne auf die Absorption und Emission von Licht soll hierbei mit Hinblick auf eine potenzielle Fluoreszenzauslöschung (*fluorescence quenching*) näher betrachtet werden. Basierend auf diesen Ergebnissen werden die magnetischen fluoreszierenden Kern-Schale-Nanopartikel anhand von Zellviabilitäts-Analysen sowie der Fluoreszenzmikroskopie auf die Eignung der Partikel für den Einsatz im ID-MDT-Prinzip sowie der Biobildgebung untersucht.

In Abbildung 5.46 sind TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilungen der in Kapitel 5.1.3 vorgestellten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen nach der Funktionalisierung mit RITC dargestellt. Darüber hinaus sind die ermittelten Partikeldurchmesser der funktionalisierten Partikel sowie der eingesetzten hydrophoben Ölsäure-stabilisierte Fe₃O₄ NPs in Tabelle 5.11 zusammengefasst. Auch nach der Funktionalisierung mit RITC weisen die MNPSNPs Partikeldurchmesser von von 49 ± 4 nm bis zu 94 ± 8 nm auf. Ein Einfluss der Fluorophor-Modifizierung auf die sphärische Morphologie sowie die Porosität konnte anhand der TEM-Aufnahmen nicht festgestellt werden. Die poröse Silica-Matrix der MNPSNPs ist weiterhin vorhanden und

die magnetischen Kerne sind deutlich durch die dunklen Spots in den funktionalisierten Kern-Schale-Nanopartikeln zu erkennen.

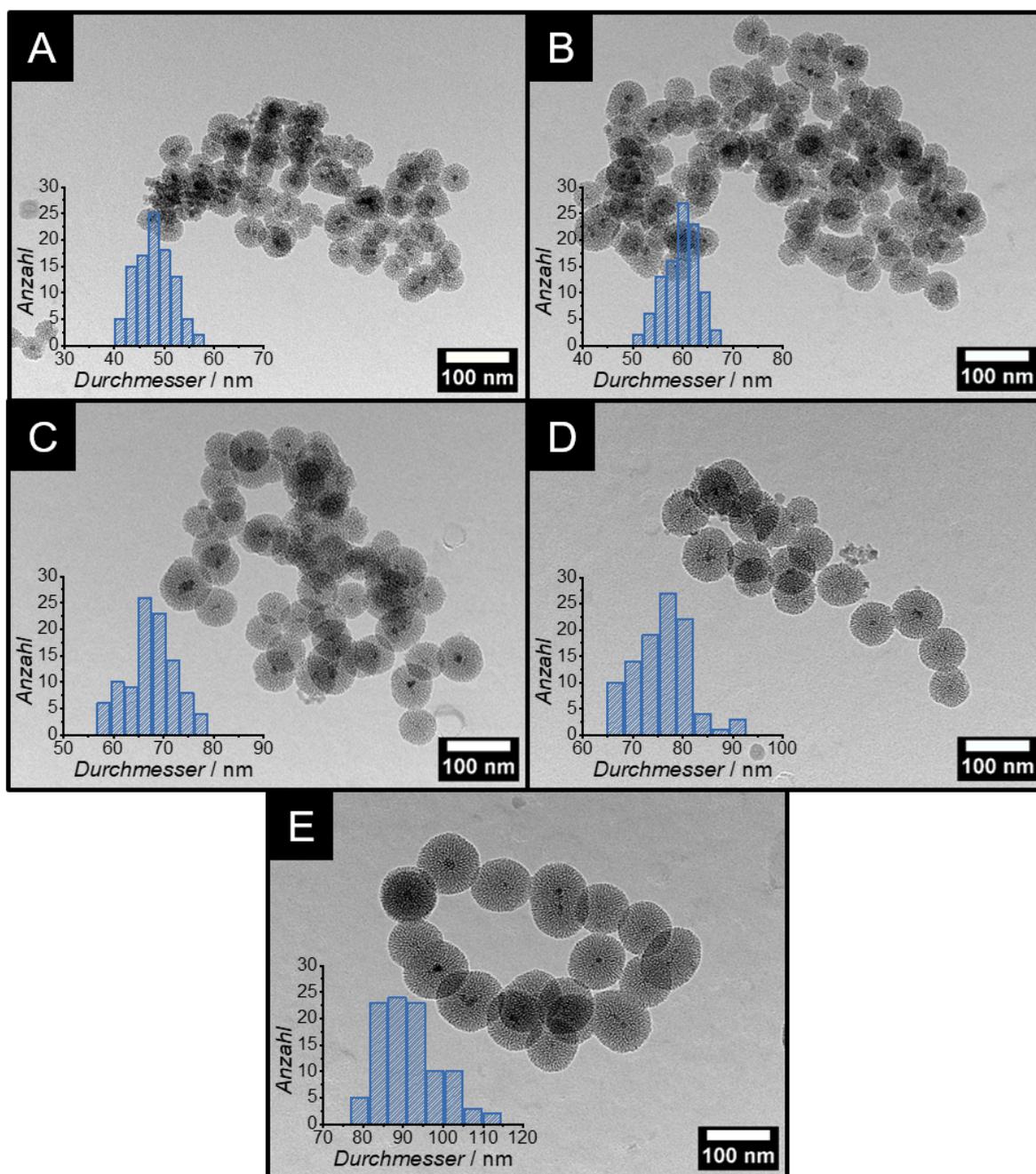


Abbildung 5.46: TEM-Aufnahmen und Partikelgrößenverteilungen der RITC-modifizierten MNPSNP@RITC (49 nm) (A), MNPSNP@RITC (61 nm) (B), MNPSNP@RITC (69 nm) (C), MNPSNP@RITC (78 nm) (D) und MNPSNP@RITC (94 nm) (E).

Mit Hilfe der DLS-Analyse wurden die mittleren hydrodynamischen Durchmesser der RITC-funktionalisierten MNPSNPs untersucht. Die Partikelgrößenverteilungen sind in

Abbildung 5.47 abgebildet und die zugehörigen hydrodynamischen Durchmesser mit PDI-Werten sind in Tabelle 5.11 aufgeführt.

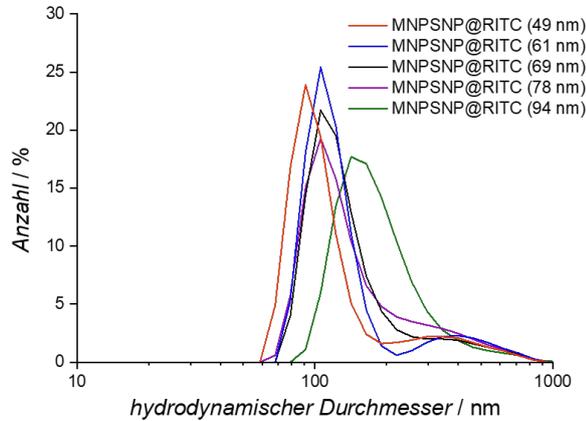


Abbildung 5.47: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen der RITC-modifizierten MNPSNPs mittels DLS. MNPSNP@RITC (49 nm) (orange), MNPSNP@RITC (61 nm) (blau), MNPSNP@RITC (69 nm) (schwarz), MNPSNP@RITC (78 nm) (lila) und MNPSNP@RITC (94 nm) (grün).

Tabelle 5.11: Ergebnisse der TEM-, DLS-, Zeta-Potential-, und VSM-Analysen der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs und RITC-modifizierten MNPSNPs (MNPSNP@RITC). d: Durchmesser. PDI: Polydispersitätsindex. ζ : Zeta-Potential. M: Sättigungsmagnetisierung

Probe	d_{TEM} [nm]	d_{DLS} [nm]	PDI	ζ [mV]	M [emu g^{-1}]
Fe_3O_4 NPs	10 ± 2	-	-	-	29.6
(49 nm)	49 ± 4	145 ± 7	0.346	-26.4 ± 0.6	7.4
(61 nm)	61 ± 4	158 ± 6	0.332	-27.0 ± 1.2	3.1
(69 nm)	69 ± 5	162 ± 9	0.361	-26.3 ± 1.2	2.1
(78 nm)	78 ± 6	172 ± 7	0.357	-27.2 ± 1.0	1.6
(94 nm)	94 ± 8	198 ± 7	0.356	-27.2 ± 0.6	1.3

Verglichen mit den ermittelten Partikeldurchmessern der TEM-Analyse weisen die RITC-modifizierten Partikel, wie auch zuvor bei den unmodifizierten MNPSNPs, höhere hydrodynamische Durchmesser von 145 ± 7 nm bis zu 198 ± 7 nm auf. Die höheren Partikelgrößen basieren hier ebenfalls auf den Hydratationshüllen im wässrigen Medium. Allerdings liegen bei den RITC-modifizierten Partikeln höhere hydrodynamische Partikeldurchmesser als bei den unmodifizierten MNPSNPs vor. Ein Grund hierfür besteht in der Modifizierung des organischen Fluorophors RITC auf die Oberfläche der Silica-Matrix. Zudem sind bei Betrachtung der Partikelgrößenverteilungen aus den DLS-

Analysen, Agglomerationen der Partikel zu erkennen, welche die durchschnittlichen hydrodynamischen Durchmesser erhöhen. Diese Agglomerationen können durch eine Verringerung der Zeta-Potentiale auf ca. -27 mV in Wasser begründet sein. Dennoch besitzen die MNPSNPs auch nach der Modifizierung hohe negative Obeflächenladungen, welche eine prinzipielle kolloidale Stabilität von Dispersionen durch elektrostatische Repulsion unterstützen. Die Zeta-Potentiale sind ebenfalls in Tabelle 5.11 aufgeführt.

Die magnetischen Eigenschaften der RITC-funktionalisierten MNPSNPs sowie der eingesetzten hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs als Kernmaterial wurden mittels Vibrationsmagnetometer analysiert. Die zugehörigen Magnetisierungskurven der eingesetzten Kerne und der Kern-Schale-Nanopartikel sind in Abbildung 5.48 dargestellt und die ermittelten Sättigungsmagnetisierungen sind in Tabelle 5.11 zusammengefasst.

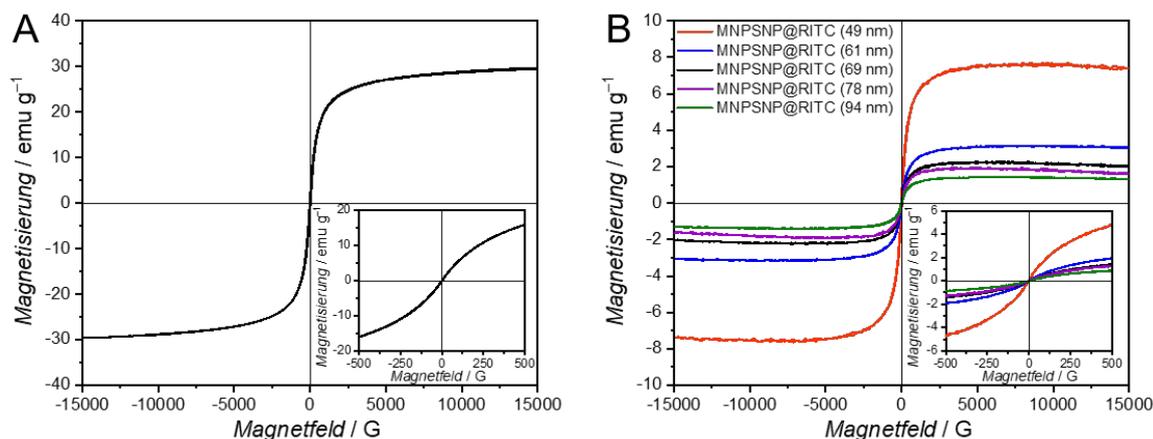


Abbildung 5.48: Magnetisierungskurven der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs (A) und der RITC-modifizierten MNPSNPs (B) im Hochfeld bei Raumtemperatur. Unten rechts sind jeweils die Magnetisierungskurven im Niederfeld abgebildet. MNPSNP@RITC (49 nm) (orange), MNPSNP@RITC (61 nm) (blau), MNPSNP@RITC (69 nm) (schwarz), MNPSNP@RITC (78 nm) (lila) und MNPSNP@RITC (94 nm) (grün).

Die Sättigungsmagnetisierung der hier eingesetzten magnetischen Kerne beträgt 29.6 emu g^{-1} und anhand der Magnetisierungskurve sind superparamagnetische Eigenschaften ohne Remanenz erkennbar. Die fehlende Remanenz ist insbesondere durch die Magnetisierungskurve im Niederfeld ersichtlich. Die Magnetisierungskurven der RITC-modifizierten MNPSNPs zeigen ebenfalls superparamagnetisches Verhalten ohne Hysterese. Allerdings sind die Sättigungsmagnetisierungen der Kern-Schale-Systeme deutlich geringer verglichen zu dem eingesetzten Kernmaterial. Mit steigender Partikelgröße von 49 nm bis zu 94 nm sinkt die Sättigungsmagnetisierung von 7.4 emu g^{-1} auf 1.3 emu g^{-1} . Der Grund für die Verringerung der Magnetisierung liegt in dem

sinkenden Massenanteil der Eisenoxid-Kerne in den MNPSNPs mit steigender Partikelgröße. Basierend auf der Sättigungsmagnetisierung der magnetischen Kerne und den RITC-funktionalisierten MNPSNPs kann der Massenanteil der Kern-Schale-Systeme berechnet werden. Dadurch besitzen die RITC-funktionalisierten MNPSNPs die folgenden Massenanteile an magnetischen Kernen: MNPSNP@RITC (49 nm): 25%, MNPSNP@RITC (61 nm): 11%, MNPSNP@RITC (69 nm): 7%, MNPSNP@RITC (78 nm): 5% und MNPSNP@RITC (94 nm): 4%.

Die Modifizierung der MNPSNPs mit dem organischen Fluorophor RITC wurde mittels IR-Spektroskopie analysiert und ist in den IR-Spektren in Abbildung 5.49 dargestellt. Die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen der modifizierten Partikel ist in Tabelle 5.12 beschrieben.

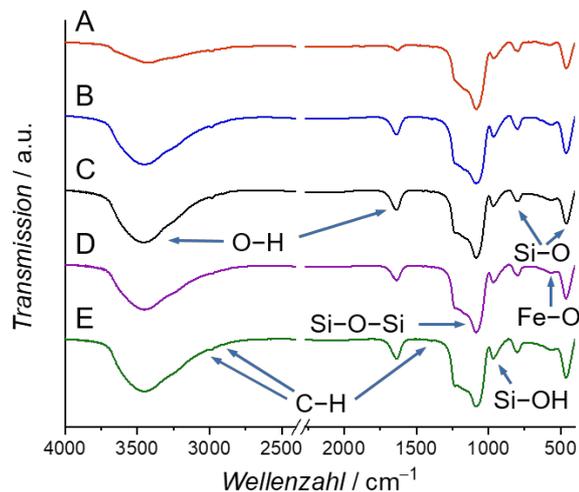


Abbildung 5.49: IR-Spektren der RITC-modifizierten MNPSNPs. MNPSNP@RITC (49 nm) (A), MNPSNP@RITC (61 nm) (B), MNPSNP@RITC (69 nm) (C), MNPSNP@RITC (78 nm) (D) und MNPSNP@RITC (94 nm) (E).

Wie schon bei den unmodifizierten MNPSNPs sind auch die Spektren der RITC-modifizierten MNPSNPs nahezu identisch zueinander. So befinden sich im Wellenzahlenbereich von ca. 1085 cm^{-1} die sehr intensiven asymmetrischen (Si-O-Si)-Valenzschwingungen. Zudem sind auch durch die Silica-Schale im Bereich von 965 cm^{-1} , 800 cm^{-1} und 460 cm^{-1} weitere (Si-OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si-O-Si)-Valenzschwingungen sowie auch (Si-O-Si)-Deformationsschwingungen zu erkennen. Die charakteristischen (Fe-O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne sind bei allen Spektren bei Wellenzahlen im Bereich von ca. 570 cm^{-1} und 580 cm^{-1}

detektierbar. Eine breite Bande im Bereich von ca. 3430 cm^{-1} und 3460 cm^{-1} und eine weitere schmalere Bande im Bereich um ca. 1635 cm^{-1} sind durch adsorbiertes Wasser in Form von (O–H)-Valenzschwingungen sowie (O–H)-Deformationsschwingungen begründet. Darüber hinaus sind durch die RITC-Modifizierung bei den funktionalisierten MNPSNPs zusätzliche Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von ca. 2990 cm^{-1} und 2910 cm^{-1} sowie (C–H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1395 cm^{-1} sichtbar.

Tabelle 5.12: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren der RITC-modifizierten MNPSNPs. MNPSNP@RITC (49 nm) (A), MNPSNP@RITC (61 nm) (B), MNPSNP@RITC (69 nm) (C), MNPSNP@RITC (78 nm) (D) und MNPSNP@RITC (94 nm) (E) (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370]

A	B	C	D	E	Schwingungsart
3427	3445	3457	3449	3452	(O–H)-Valenzschwingung
2987	2987	2984	2990	2984	(C–H)-Valenzschwingung
2911	2907	2906	2912	2912	(C–H)-Valenzschwingung
1632	1637	1638	1638	1634	(O–H)-Deformationsschwingung
1390	1396	1394	1396	1393	(C–H)-Deformationsschwingung
1085	1085	1085	1085	1089	(Si–O–Si)-Valenzschwingung
965	965	966	964	966	(Si–OH)-Valenzschwingung
800	800	801	801	801	(Si–O–Si)-Valenzschwingung
574	574	577	574	568	(Fe–O)-Valenzschwingung
462	463	464	467	464	(Si–O–Si)-Deformationsschwingung

Mit Hilfe der Stickstoff-Physisorption wurde der Einfluss der RITC-Modifizierung auf die Porosität der funktionalisierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen analysiert. In Abbildung 5.50 sind die zugehörigen Physisorptionsisothermen mit Adsorption und Desorption sowie die zugehörigen Porenweitenverteilungen der modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel abgebildet. Die ermittelten Daten für die BET-Oberflächen, die Porenvolumina, und die mittleren Porendurchmesser sind zudem in Tabelle 5.13 aufgeführt. Nach der Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor RITC liegen weiterhin charakteristische Typ IV-Isothermen nach IUPAC für mesoporöse Systeme vor.^[215] Die Isothermen sehen hierbei untereinander sowie auch verglichen mit den zuvor beschriebenen funktionalisierten MNPSNPs nahezu identisch aus.

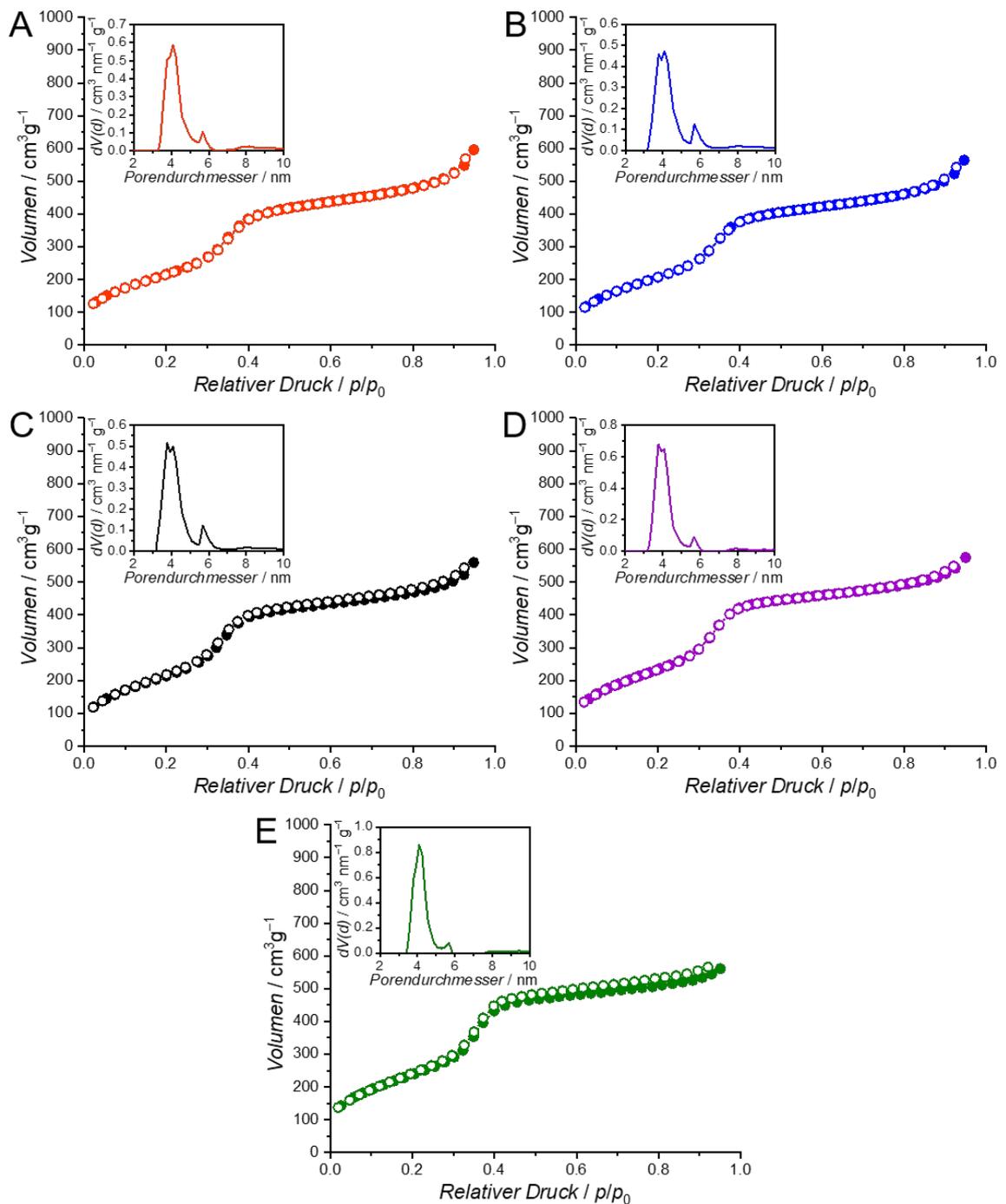


Abbildung 5.50: Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) sowie Porenweitenverteilungen der RITC-modifizierten MNPSNPs. MNPSNP@RITC (49 nm) (A), MNPSNP@RITC (61 nm) (B), MNPSNP@RITC (69 nm) (C), MNPSNP@RITC (78 nm) (D) und MNPSNP@RITC (94 nm) (E).

Die BET-Oberflächen der RITC-funktionalisierten Partikel rangieren von $790 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ bis $910 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ mit zunehmendem Partikeldurchmesser. Ähnlich wie bei den unmodifizierten

MNPSNPs ist die Vergrößerung der BET-Oberfläche mit zunehmendem Partikeldurchmesser durch den geringeren Volumenanteil der magnetischen Kern-Nanopartikel und damit größerem Anteil an porösem Silica bei der Synthese der größeren Kern-Schale-Systeme zu erklären. Die Partikel weisen Porenvolumina von $1.0 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ bis $1.2 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ und Porendurchmesser von 3.8 nm bis 4.1 nm auf. Verglichen mit den unmodifizierten Partikeln ist die Porosität der RITC-modifizierten Systeme leicht verringert, was auf die kovalente Anbindung des organischen Fluorophors RITC im Porensystem des Silicas zurückzuführen ist.

Tabelle 5.13: Ergebnisse der Stickstoff-Physisorptions-Analysen und Thermogravimetrie der RITC-modifizierten MNPSNPs. S_{BET} : BET-Oberfläche. V_{Pore} : Porenvolumen. d_{Pore} : Porendurchmesser. m (RITC): Massenverlust an RITC.

Probe	$S_{\text{BET}} [\text{m}^2 \text{ g}^{-1}]$	$V_{\text{Pore}} [\text{cm}^3 \text{ g}^{-1}]$	$d_{\text{Pore}} [\text{nm}]$	m (RITC) [%]
MNPSNP@RITC (49 nm)	790	1.2	4.1	7.0
MNPSNP@RITC (61 nm)	800	1.1	4.1	7.8
MNPSNP@RITC (69 nm)	830	1.1	3.8	7.3
MNPSNP@RITC (78 nm)	890	1.1	3.8	9.3
MNPSNP@RITC (94 nm)	910	1.0	4.1	6.7

Die RITC-modifizierten MNPSNPs wurden auch mittels Thermogravimetrie zur Quantifizierung untersucht. Die Thermogramme sind in Abbildung 5.51 dargestellt.

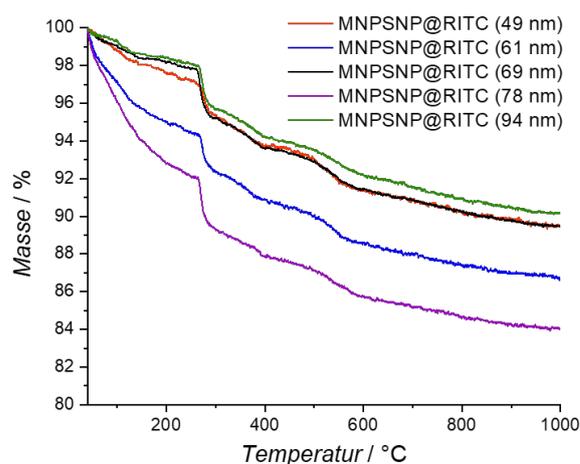


Abbildung 5.51: Thermogravimetrische Analyse der RITC-modifizierten MNPSNPs. MNPSNP@RITC (49 nm) (orange), MNPSNP@RITC (61 nm) (blau), MNPSNP@RITC (69 nm) (schwarz), MNPSNP@RITC (78 nm) (lila) und MNPSNP@RITC (94 nm) (grün).

Darüber hinaus sind die zugehörigen Massenverluste im Temperaturbereich zwischen 120 °C und 600 °C in Tabelle 5.13 zusammengefasst. Hierbei besitzen die RITC-modifizierten MNPSNPs (49 nm, 61 nm, 69 nm, 94 nm) Massenverluste von 6.7% bis 7.8%. Einzig MNPSNP@RITC (78 nm) hat einen leicht höheren Massenverlust von 9.3%, was auf eine höhere Menge an angebindenem RITC hindeutet.

Die Charakterisierung der optischen Eigenschaften der RITC-modifizierten MNPSNPs mittels Emissions- und Absorptionsspektren sowie Photographien von Partikeldispersionen sind in Abbildung 5.52 dargestellt. Zudem sind Absorptionsspektren der unmodifizierten MNPSNPs gezeigt.

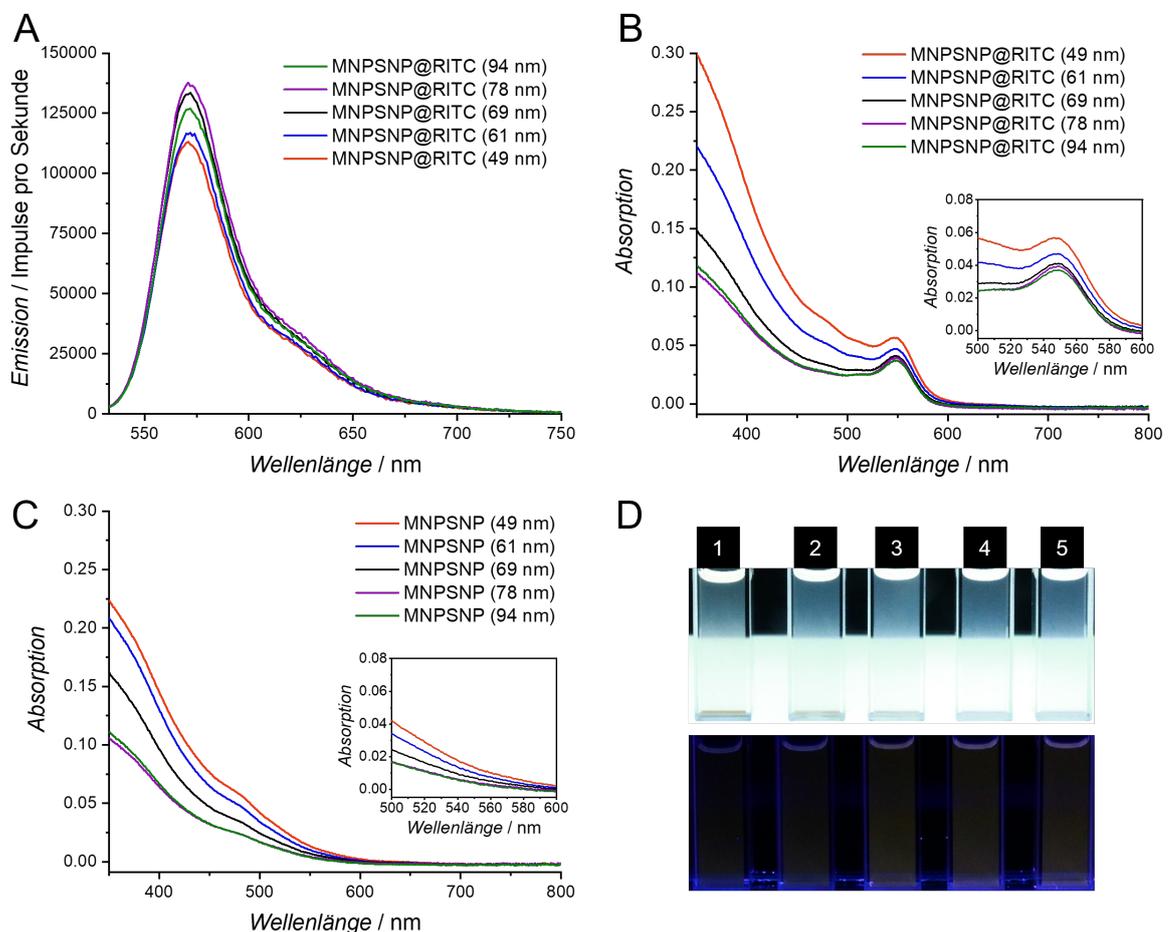


Abbildung 5.52: Emissionsspektren (Anregungswellenlänge bei 523 nm) (A) und Absorptionsspektren (B) der RITC-modifizierten MNPSNPs. MNPSNP@RITC (49 nm) (orange), MNPSNP@RITC (61 nm) (blau), MNPSNP@RITC (69 nm) (schwarz), MNPSNP@RITC (78 nm) (lila) und MNPSNP@RITC (94 nm) (grün). Absorptionsspektren (C) der unmodifizierten MNPSNPs. MNPSNP (49 nm) (orange), MNPSNP (61 nm) (blau), MNPSNP (69 nm) (schwarz), MNPSNP (78 nm) (lila) und MNPSNP (94 nm) (grün). Unten rechts wird die Absorption zwischen 500 nm und 600 nm vergrößert dargestellt. Photographien von Partikeldispersionen (D) der RITC-modifizierten MNPSNPs unter normalem Licht (oben) und UV-Licht (unten). MNPSNP@RITC (49 nm) (1), MNPSNP@RITC (61 nm) (2), MNPSNP@RITC (69 nm) (3), MNPSNP@RITC (78 nm) (4) und MNPSNP@RITC (94 nm) (5).

Die Emissionsspektren der funktionalisierten Kern-Schale-Nanopartikel weisen bei einer Anregungswellenlänge von 523 nm ein deutliches Emissionsmaximum bei 571 nm auf, welches charakteristisch für das organische Fluorophor RITC ist. Die Fluoreszenzintensität steigt hierbei mit steigendem Partikeldurchmesser von 49 nm bis 78 nm. Bei MNPSNP@RITC (94 nm) liegt die Fluoreszenzintensität zwischen den Intensitäten der Partikel mit einem Durchmesser von 61 nm und 69 nm, was durch zwei mögliche Gründe erklärt werden kann. Zum einen ist die Menge an angebondenem RITC mit 6.7% bei den funktionalisierten Partikel mit einem Durchmesser von 94 nm geringer verglichen mit den anderen RITC-modifizierten MNPSNPs. Zum anderen neigen die Partikel mit höheren Partikeldurchmesser zur Agglomeration, was auch anhand der DLS- und Zeta-Potential-Analyse gezeigt werden konnte. Durch diese Agglomeration von MNPSNP@RITC (94 nm) werden einige Partikel aufgrund von Sedimentation in der Dispersion nicht vom Anregungslicht des Fluoreszenzspektrometers angeregt, wodurch folglich die geringere Fluoreszenzintensität detektiert wird.

Bei Betrachtung der Absorptionsspektren der RITC-modifizierten MNPSNPs ist ein gegenläufiger Trend erkennbar. Hierbei sinkt die Absorptionsintensität mit zunehmender Partikelgröße. Das Absorptionsmaximum ist bei allen Partikeln bei 549 nm lokalisiert, was charakteristisch für das organische Fluorophor RITC ist. Zur genaueren Untersuchung des gegenläufigen Trends der Emissionsspektren und der Absorptionsspektren wurden zudem Absorptionsspektren der unmodifizierten MNPSNPs gemessen und somit der Einfluss der magnetischen Kerne auf die optischen Eigenschaften analysiert. Auch bei den unmodifizierten MNPSNPs sinkt die Absorptionsintensität mit zunehmendem Partikeldurchmesser, was noch deutlicher in der vergrößerten Darstellung der Spektren zwischen 500 nm und 600 nm zu erkennen ist. Bei der Analyse der mit RITC modifizierten Partikel mittels Fluoreszenzspektroskopie werden die Kern-Schale-Systeme bei einer Wellenlänge von 523 nm angeregt. Bei dieser Wellenlänge besitzen die kleinsten unmodifizierten MNPSNPs mit einem Durchmesser von 49 nm die höchste Absorption mit einer optischen Dichte von 0.027, wogegen die größten unmodifizierten MNPSNPs mit einem Durchmesser von 94 nm die geringste Absorption mit einer optischen Dichte von 0.010 aufweisen. Das geringere Absorptionsverhalten bei den größeren MNPSNPs kann durch den Gehalt an magnetischen Kernen in den Kern-Schale-Systemen erklärt werden. Basierend auf denselben eingesetzten Massenkonzentrationen der Partikel ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) für die Analysen, haben die kleinen MNPSNPs einen höheren Gehalt an magnetischen

Kernen verglichen zu den größeren Kern-Schale-Systemen. Dieser höhere Gehalt an magnetischen Kernen, welcher auch anhand der Analyse der RITC-modifizierten MNPSNPs mittels Vibrationsmagnetometer verifiziert wurde, führt zu einer höheren Absorption. Die höhere Absorption der kleinen MNPSNPs führt in den Emissionsmessungen wiederum zu einer Abschwächung des Anregungslichtes bei 523 nm und folglich zu einer Verringerung der resultierenden Fluoreszenzintensität. Zudem weisen die kleineren MNPSNPs auch eine höhere Absorption bei einer Wellenlänge von 571 nm auf, sodass das emittierte Licht zum Teil ebenfalls stärker von den kleinen MNPSNPs absorbiert und die Fluoreszenz zusätzlich abgeschwächt wird. Zusammenfassend besitzen die RITC-modifizierten MNPSNPs mit sinkendem Partikeldurchmesser eine schwächere Fluoreszenz aufgrund des höheren Gehaltes an magnetischen Kernen und folglich einer stärkeren Lichtabsorption und einem damit verbundenen Verlust an Anregungs- sowie auch Emissionslicht. Die stärkere Fluoreszenz der größeren RITC-modifizierten MNPSNPs ist auch anhand der Photographien der Partikeldispersionen unter Einfluss von UV-Licht erkennbar. Eine vollständige Fluoreszenzlöschung der RITC-modifizierten MNPSNPs, bei welcher die Emission mittels Fluoreszenzspektroskopie nicht detektiert wird oder auch visuell an den Dispersionen unter UV-Licht nicht zu erkennen ist, konnte jedoch nicht festgestellt werden.

Neben den RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern wurden zum Vergleich auch die modifizierten großporigen MNPSNP-LP@RITC (123 nm) sowie die modifizierten Kern-Schale-Schale-Systeme MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) mit zusätzlicher PMO-Schale hinsichtlich der generellen Materialeigenschaften und tiefergehend bezüglich der magnetischen und optischen Eigenschaften sowie der Biokompatibilität untersucht. Hierzu sind in Abbildung 5.53 TEM-Aufnahmen sowie Partikelgrößenverteilungen der in Kapitel 5.1.4 vorgestellten großporigen Partikelsysteme MNPSNP-LP(123 nm) und der in Kapitel 5.1.5 vorgestellten Kern-Schale-Schale-Systeme MNPSNP@PMO (76 nm) nach erfolgter RITC-Modifizierung dargestellt. Darüber hinaus ist der Ansatz der eingesetzten hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs gezeigt, welche als Kernmaterialien für die beiden modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel eingesetzt wurden. Die ermittelten Partikeldurchmesser der funktionalisierten Partikelsysteme sowie der eingesetzten magnetischen Kerne sind zudem in Tabelle 5.14 aufgeführt. Nach der Funktionalisierung besitzen die großporigen Kern-Schale-Systeme MNPSNP-LP@RITC (123 nm) einen mittleren Partikeldurchmesser von

123 ± 11 nm. Die modifizierten Partikelsysteme MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) weisen einen mittleren Partikeldurchmesser von 76 ± 6 nm auf. Die Partikelgrößen sind hierbei identisch zu den unmodifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln. Anhand der TEM-Aufnahmen ist bei beiden Partikelsystemen nach der Fluorophor-Modifizierung kein Einfluss auf die sphärische Morphologie sowie die Porosität ersichtlich. Zudem sind weiterhin die porösen Schalen sowie die magnetischen Kerne durch die dunklen Spots erkennbar. Die PMO-Schale von MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) besitzt weiterhin eine Schalendicke von 13 ± 1 nm, sodass die RITC-Modifizierung anhand der TEM-Aufnahmen auch bei der PMO-Matrix keinen Einfluss hat. Der eingesetzte Ansatz an magnetischen Kernen für diese beiden Partikelsysteme weist einen mittleren Partikeldurchmesser von 11 ± 3 nm auf. Verglichen mit den eingesetzten magnetischen Kernen mit einem mittleren Durchmesser von 10 ± 2 nm für die RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikeldurchmessern besitzen diese Kerne somit leicht höhere Partikelgrößen.

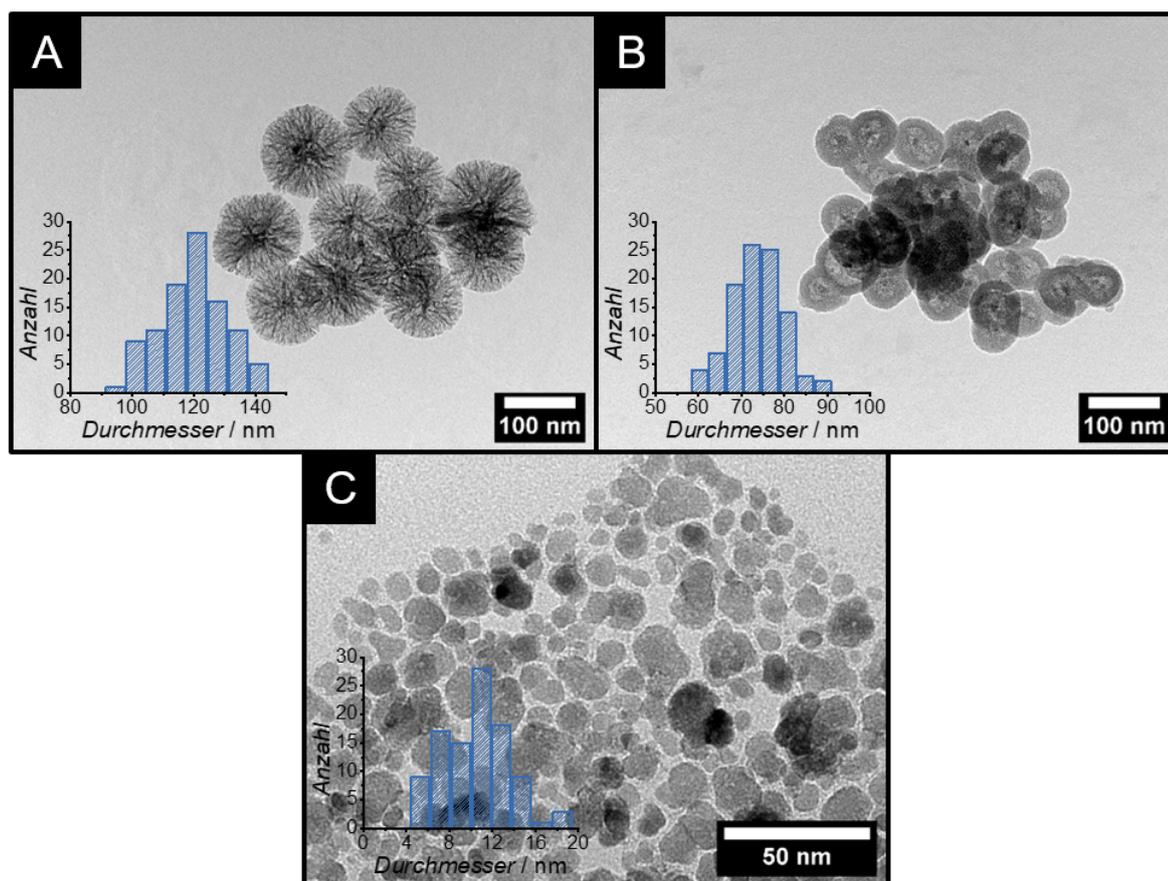


Abbildung 5.53: TEM-Aufnahmen und Partikelgrößenverteilungen von MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (A), MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (B) und der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe₃O₄ NPs (C).

Die mittleren hydrodynamischen Durchmesser der beiden Partikelsysteme MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) wurden mittels DLS-Analyse bestimmt. In Abbildung 5.54 sind die Partikelgrößenverteilungen der Partikel abgebildet. In Tabelle 5.14 sind die zugehörigen hydrodynamischen Durchmesser mit PDI-Werten sowie Ergebnisse der Zeta-Potential-Messungen zusammengefasst.

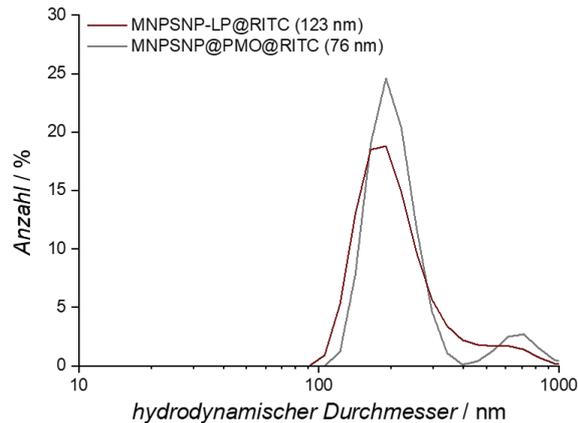


Abbildung 5.54: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel mittels DLS. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (braun) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (grau).

Tabelle 5.14: Ergebnisse der TEM-, DLS-, Zeta-Potential-, und VSM-Analysen der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs, MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (A) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (B). d: Durchmesser. PDI: Polydispersitätsindex. ζ : Zeta-Potential. M: Sättigungsmagnetisierung

Probe	d_{TEM} [nm]	d_{DLS} [nm]	PDI	ζ [mV]	M [emu g ⁻¹]
Fe_3O_4 NPs	11 ± 3	-	-	-	51.4
A	123 ± 11	234 ± 6	0.417	-26.3 ± 0.4	3.2
B	76 ± 6	248 ± 6	0.635	-21.7 ± 0.5	4.0

Die RITC-modifizierten MNPSNP-LP@RITC (123 nm) besitzen einen mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 234 ± 6 nm mit einem PDI-Wert von 0.417. Das Zeta-Potential beträgt -26.3 ± 0.4 mV in Wasser. Die modifizierten Kern-Schale-Schale-Systeme MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) haben einen hydrodynamischen Durchmesser von 248 ± 6 nm mit einem PDI-Wert von 0.635. Nach der RITC-Modifizierung liegt bei diesem Partikelsystem ein negatives Zeta-Potential von -21.7 ± 0.5 mV in Wasser vor. Anhand der Partikelgrößenverteilung der modifizierten großporigen Partikel ist eine deutliche Tendenz zur Agglomeration zu erkennen. Zum einen ist das Zeta-Potential nach der

Funktionalisierung nicht mehr so stark negativ verglichen zu den unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm) mit einem Zetapotential von -28.2 ± 0.7 mV, sodass die Stabilität der Partikeldispersion in Wasser verringert ist. Zum anderen könnte die Partikelagglomeration durch die höheren Durchmesser und folglich durch die höhere Masse begünstigt sein. Auch bei den modifizierten MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) ist anhand der bimodalen Partikelgrößenverteilung des hydrodynamischen Durchmessers eine deutliche Tendenz zur Partikelagglomeration erkennbar. Verglichen mit den unmodifizierten Partikeln MNPSNP@PMO (76 nm) mit einem Zeta-Potential von -28.8 ± 0.7 mV sind bei den RITC-modifizierten Partikeln die Oberflächenladung und folglich die elektrostatischen Abstoßungskräfte deutlich verringert, wodurch die Agglomeration der Partikel in Wasser erleichtert wird.

Auch bei MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) sowie bei den eingesetzten hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs als Kernmaterial wurden die magnetischen Eigenschaften mit Hilfe eines Vibrationsmagnetometers charakterisiert. In Abbildung 5.55 sind die zugehörigen Magnetisierungskurven dargestellt. In Tabelle 5.14 sind die ermittelten Sättigungsmagnetisierungen der eingesetzten Kerne und der RITC-modifizierten Partikel aufgeführt.

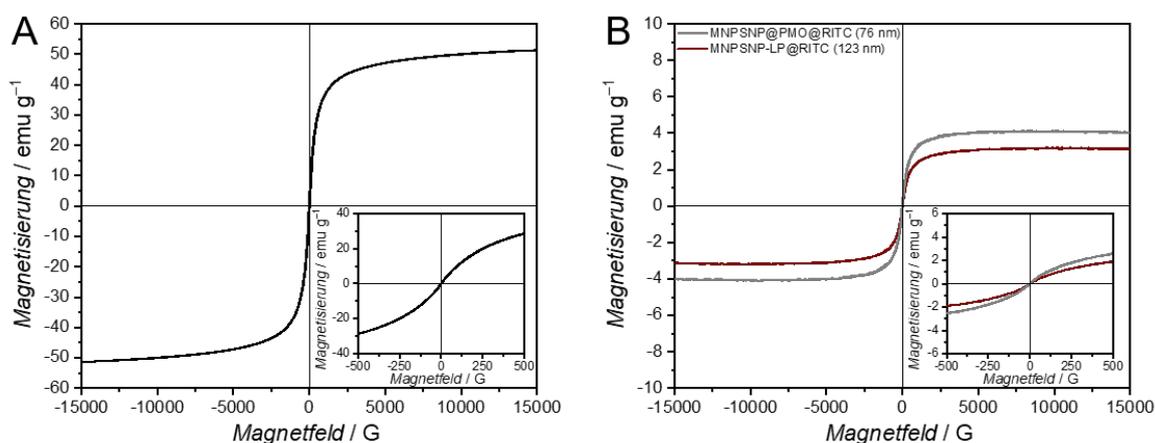


Abbildung 5.55: Magnetisierungskurven der hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs (A) und der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel (B) im Hochfeld bei Raumtemperatur. Unten rechts sind die Magnetisierungskurven im Niedrigfeld abgebildet. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (braun) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (grau).

Die Magnetisierungskurven der eingesetzten magnetischen Kerne sowie der beiden RITC-modifizierten Partikelsysteme bestätigen superparamagnetisches Verhalten ohne

eine Remanenz. Auch hier ist wieder die fehlende Remanenz insbesondere durch die Magnetisierungskurven im Niedrigfeld erkennbar. Die hier eingesetzten Kerne besitzen eine Sättigungsmagnetisierung von 51.4 emu g^{-1} . Damit ist die Sättigungsmagnetisierung dieser Fe_3O_4 NPs deutlich stärker im Vergleich zu den eingesetzten Kernen für die RITC-modifizierten MNPSNPs mit einer Sättigungsmagnetisierung von 29.6 emu g^{-1} . Die höhere Magnetisierung beruht hierbei auf der höheren durchschnittlichen Partikelgröße. Bei superparamagnetischen Nanopartikeln ist die Sättigungsmagnetisierung abhängig von der Partikelgröße, wobei eine Verringerung der Magnetisierung mit einer Verkleinerung der Partikelgrößen verbunden ist.^[129,130] Durch die höhere Sättigungsmagnetisierung der hier eingesetzten Kerne weisen die modifizierten magnetischen Kern-Schale-Systeme eine relativ starke Magnetisierung verglichen mit den zuvor beschriebenen RITC-modifizierten MNPSNPs auf. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) hat eine Sättigungsmagnetisierung von 3.2 emu g^{-1} mit einem Massenanteil an magnetischen Kernen von 6% im großporigen Kern-Schale-System. Die Sättigungsmagnetisierung des RITC-modifizierten Kern-Schale-Schale-Systems MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) beträgt 4.0 emu g^{-1} mit einem Massanteil an magnetischen Kernen von 8%.

Mit Hilfe der IR-Spektroskopie wurde die RITC-Modifizierung der Kern-Schale-Systeme MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) analysiert. Die zugehörigen IR-Spektren sind in Abbildung 5.56 dargestellt und die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen der modifizierten Partikel ist in Tabelle 5.15 zusammengefasst.

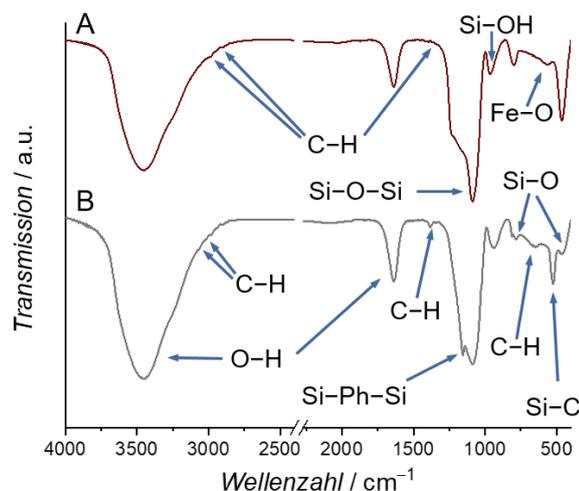


Abbildung 5.56: IR-Spektren der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (A) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (B).

Tabelle 5.15: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (A) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (B) (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370,377]

A	B	Schwingungsart	Ursache
3458	3458	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
-	3062	(C-H)-Valenzschwingung	PMO
-	3014	(C-H)-Valenzschwingung	PMO
2987	2968	(C-H)-Valenzschwingung	RITC
2912	2907	(C-H)-Valenzschwingung	RITC
1637	1637	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
1397	1380	(C-H)-Deformationsschwingung	PMO, RITC
-	1156	(Si-Ph-Si)-Valenzschwingung	PMO
1090	1090	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
969	942	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
800	783	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
-	641	(C-H)-Deformationsschwingung	PMO
569	-	(Fe-O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
-	525	(Si-C)-Valenzschwingung	PMO
467	467	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Bei beiden Spektren liegen im Wellenzahlenbereich von 1090 cm^{-1} die sehr intensiven asymmetrischen (Si-O-Si)-Valenzschwingungen der Silica-Schale vor. Weitere (Si-OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si-O-Si)-Valenzschwingungen sowie auch (Si-O-Si)-Deformationsschwingungen sind darüber hinaus im Bereich von 940 cm^{-1} bis 970 cm^{-1} , von 780 cm^{-1} bis 800 cm^{-1} und 467 cm^{-1} detektierbar. Die breite Bande bei einer Wellenzahl von 3458 cm^{-1} sowie die schmalere Bande bei 1637 cm^{-1} basieren auf (O-H)-Valenzschwingungen sowie (O-H)-Deformationsschwingungen von adsorbiertem Wasser. Die RITC-Modifizierung bei den funktionalisierten Kern-Schale-Nanopartikeln wird durch zusätzliche (C-H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von ca. 2970 cm^{-1} bis 2990 cm^{-1} und ca. 2910 cm^{-1} sowie (C-H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1380 cm^{-1} bis 1397 cm^{-1} bestätigt. Bei MNPSNP-LP@RITC (123 nm) sind bei einer Wellenzahl von 569 cm^{-1} charakteristische (Fe-O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne zu erkennen. Diese Schwingungen sind allerdings im Spektrum von MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) nicht ersichtlich. Neben dem geringen Anteil an

magnetischen Kernen könnten hierbei die (Si–C)-Valenzschwingungen der PMO-Schale bei 525 cm^{-1} die (Fe–O)-Valenzschwingungen überdecken, da diese in einem ähnlichen Wellenzellenbereich detektiert werden. Aufgrund der PMO-Schale des modifizierten Kern-Schale-Schale-Systems sind die (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von ca. 3062 cm^{-1} und 3014 cm^{-1} sowie auch die (C–H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1385 cm^{-1} und 643 cm^{-1} durch den aromatischen Ring der organischen BTEB-Brücke vertreten. Die charakteristischen (Si–Ph–Si)-Valenzschwingungen bei 1156 cm^{-1} basieren ebenfalls auf dem BTEB-Linker der PMO-Schale.

Mittels Stickstoff-Physisorption wurde der Einfluss der RITC-Modifizierung auf die Porosität von MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) charakterisiert. Die zugehörigen Physisorptionsisothermen sowie Porenweitenverteilungen sind in Abbildung 5.57 dargestellt. In Tabelle 5.16 sind die ermittelten Daten für die BET-Oberflächen, Porenvolumina und die mittleren Porendurchmesser zusammengefasst.

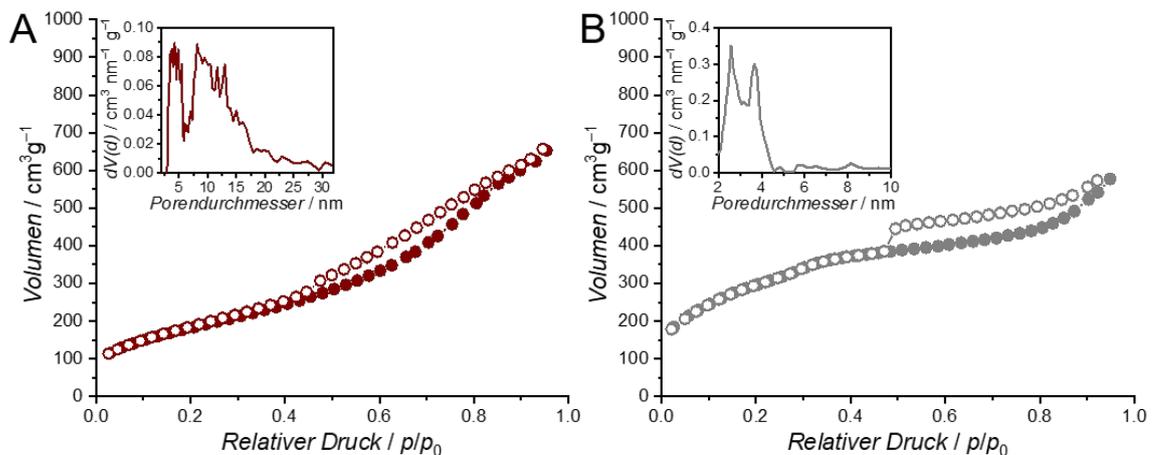


Abbildung 5.57: Stickstoff-Physisorptionsisothermen mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) sowie Porenweitenverteilungen der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (A) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (B).

Tabelle 5.16: Ergebnisse der Stickstoff-Physisorptions-Analysen und Thermogravimetrie von MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (A) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (B). S_{BET} : BET-Oberfläche. V_{Pore} : Porenvolumen. d_{Pore} : Porendurchmesser. m (RITC): Massenverlust an RITC.

Probe	S_{BET} [$\text{m}^2\text{ g}^{-1}$]	V_{Pore} [$\text{cm}^3\text{ g}^{-1}$]	d_{Pore} [nm]	m (RITC) [%]
A	680	1.1	4.3 / 8.1	6.3
B	1110	1.0	2.6 / 3.7	4.2

Bei beiden Isothermen der RITC-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel liegt wieder nach IUPAC eine charakteristische Typ IV-Isotherme für mesoporöse Systeme vor.^[215] MNPSNP-LP@RITC (123 nm) besitzt nach der Funktionalisierung eine BET-Oberfläche von $680 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ sowie ein Porenvolumen von $1.1 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.97$. Ähnlich wie bei den unmodifizierten großporigen Kern-Schale-Nanopartikeln, weisen die RITC-modifizierten Partikel unterschiedliche Porendurchmesser auf. So liegen in der Porenweitenverteilung neben kleineren Porendurchmessern mit einem Maximum bei 4.3 nm auch größere Poren von bis zu 15 nm und einem weiteren Maximum bei 8.1 nm vor. Die Porosität der modifizierten Partikel ist verglichen mit den unmodifizierten MNPSNP-LP (123 nm) aufgrund der kovalenten Anbindung des organischen Fluorophors verringert. Das modifizierte Kern-Schale-Schale-System MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) weist eine BET-Oberfläche von $1110 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ sowie ein Porenvolumen von $1.0 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.97$ auf. Wie schon bei den unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm) ist bei den RITC-modifizierten Partikeln in der Porenweitenverteilung ein bimodaler Verlauf mit zwei Maxima bei 2.6 nm und 3.7 nm erkennbar. Auch hier ist der kleinere Porendurchmesser von 2.6 nm dem Porensystem der äußeren PMO-Schale zuzuordnen, wogegen die größeren Poren mit Durchmessern von 3.7 nm durch das Porensystem der eingesetzten MNPSNPs als Kern für dieses Hybridmaterial begründet sind. Die Isotherme des modifizierten Partikelsystems MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) zeigt bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.49$ wieder einen deutlich Abfall, der durch kavitätsinduzierte Prozesse an tintenfassförmigen Poren an der Grenzschicht der inneren nanoporösen Silica-Schale und der Organosilica-Hülle verursacht wird.

Mittels Thermogravimetrie wurde der Anteil an RITC in den Partikelsystemen MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) bestimmt. Die zugehörigen Thermogramme sind in Abbildung 5.58 abgebildet und die zugehörigen Massenverluste sind in Tabelle 5.16 aufgeführt. Das modifizierte großporige Partikelsystem MNPSNP-LP@RITC (123 nm) hat einen Massenverlust von 6.3%. Dieser Massenverlust ist etwas geringer verglichen zu den zuvor beschriebenen RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen. Das RITC-modifizierte Kern-Schale-Schale-System MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) weist einen Massenverlust von 4.2% auf und basiert auf der thermogravimetrischen Analyse im Vergleich zu den unmodifizierten Partikeln MNPSNP@PMO (76 nm). Die beiden Thermogramme der

unmodifizierten und RITC-modifizierten Partikel zum Vergleich sind im Anhang in Abbildung 8.1 dargestellt. Bei den unmodifizierten Partikeln beträgt der Massenverlust zwischen einer Temperatur von 400 °C und 700 °C dabei 18.8%, welcher den verbrückenden Phenylen-Einheiten der Organosilica-Schale zugeordnet werden kann.

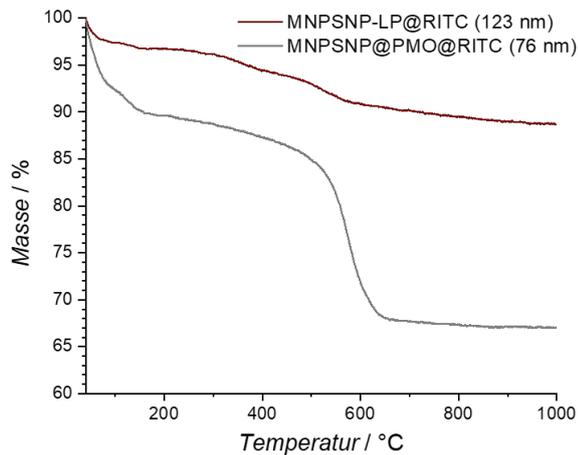


Abbildung 5.58: Thermogravimetrische Analyse der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (braun) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (grau).

Analog zu den zuvor vorgestellten RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen wurden zum Vergleich auch die optischen Eigenschaften der modifizierten Kern-Schale-Partikelsysteme MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) charakterisiert. Zu diesem Zweck sind in Abbildung 5.59 Emissions- und Absorptionsspektren sowie Photographien von zugehörigen Partikeldispersionen abgebildet. Darüber hinaus sind Absorptionsspektren von Dispersionen der unmodifizierten Partikelsysteme MNPSNP-LP (123 nm) und MNPSNP@PMO (76 nm) dargestellt. Bei einer Anregungswellenlänge von 523 nm zeigt das Emissionsspektrum des modifizierten großporigen Kern-Schale-Partikelsystems MNPSNP-LP@RITC (123 nm) ein Maximum bei einer Wellenlänge von 575 nm, welches charakteristisch für das organische Fluorophor RITC ist. Im Absorptionsspektrum des modifizierten Partikelsystems ist das Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 551 nm lokalisiert. Beide Spektren weisen eine höhere Emission und Absorption verglichen zu den RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen auf. Während das zuvor beschriebene Partikelsystem MNPSNP@RITC (94 nm) eine Fluoreszenzintensität von ca. 127000 Impulsen pro Sekunde besitzt, zeigte das modifizierte großporige

Partikelsystem MNPSNP-LP@RITC (123 nm) eine höhere Fluoreszenzintensität von ca. 244000 Impulsen pro Sekunde. Auch mit einer leicht geringeren Menge an RITC mit einem Massenanteil von 6.3% bei MNPSNP-LP@RITC (123 nm) ist die Fluoreszenzintensität höher verglichen zu MNPSNP@RITC (94 nm) mit einem Massenanteil von 6.7% an RITC. Bei Betrachtung des Absorptionsspektrums der unmodifizierten Partikel MNPSNP-LP (123 nm) wird ersichtlich, dass die Absorption des großporigen Systems bei einer Wellenlänge von 523 nm mit einer optischen Dichte von 0.015 leicht höher ist verglichen mit dem unmodifizierten Partikelsystem MNPSNP (94 nm) mit einer optischen Dichte von 0.010. Die höhere Absorption von MNPSNP-LP (123 nm) ist durch den höheren Massenanteil von 6% an magnetischen Kernen in MNPSNP-LP@RITC (123 nm) begründet, wogegen der Massenanteil an magnetischen Kernen in MNPSNP@RITC (94 nm) 4% beträgt. Trotz des höheren Gehaltes an magnetischen Kernen und damit verbunden einer höheren Magnetisierung in MNPSNP-LP@RITC (123 nm) ist der Einfluss der Lichtabsorption durch die magnetischen Kerne auf die Emission nicht so stark wie bei den zuvor beschriebenen RITC-modifizierten MNPSNPs. Im Falle des modifizierten großporigen Partikelsystems kann der größere Raum in den vorhandenen Poren einen unterstützenden Effekt für die Fluoreszenz haben, da eine intermolekulare Fluoreszenzabschwächung zwischen den individuellen Farbstoffmolekülen reduziert wird.^[332] Neben der geringeren intermolekularen Fluoreszenzabschwächung könnte die höhere Partikelgröße selbst ein weiterer Faktor für die höhere Emission sein. Durch die dickere großporige Silica-Schale wird ein größerer Abstand von Farbstoffmolekülen und den magnetischen Kernen ermöglicht. Dadurch wird das Risiko einer potenziellen Fluoreszenzabschwächung durch einen nichtstrahlenden Energietransfer auf die Eisenoxid-Oberfläche der magnetischen Kerne reduziert.^[333]

Verglichen mit den modifizierten großporigen Partikeln MNPSNP-LP@RITC (123 nm) weist das modifizierte Partikelsystem MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) mit zusätzlicher PMO-Schale eine noch höhere Emission und Absorption auf. Bei einer Anregungswellenlänge von 523 nm ist das Emissionsmaximum bei einer Wellenlänge von 579 nm mit einer Intensität von 338000 Impulsen pro Sekunde lokalisiert. Das Absorptionsmaximum der RITC-modifizierten Partikel wird bei einer Wellenlänge von 551 nm detektiert. Basierend auf dem Absorptionsspektrum der unmodifizierten Partikel MNPSNP@PMO (76 nm) ist die Absorption bei einer Wellenlänge von 523 nm mit einer optischen Dichte von 0.011 etwas geringer verglichen zu den unmodifizierten großporigen

Partikeln MNPSNP-LP (123 nm) mit einer optischen Dichte von 0.015. Dennoch ergaben die Analysen der RITC-modifizierten Partikel mittels Vibrationsmagnetometer einen höheren Massenanteil von 8% an magnetischen Kernen und eine stärkere Magnetisierung. Zudem wurde bei MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) mit Hilfe von thermogravimetrischen Analysen ein Massenanteil von 4.2% an RITC ermittelt. Der Anteil an organischem Farbstoff ist damit geringer als bei dem großporigen Partikelsystem MNPSNP-LP@RITC (123 nm). In diesem Fall könnte die nanoporöse Silica-Matrix der eingesetzten kleinen MNPSNP-Kerne als Abstandhalter und schützende Hülle gegen eine potenzielle Fluoreszenzabschwächung durch einen nichtstrahlenden Energietransfer auf die Eisenoxid-Oberfläche der magnetischen Kerne fungieren.^[63]

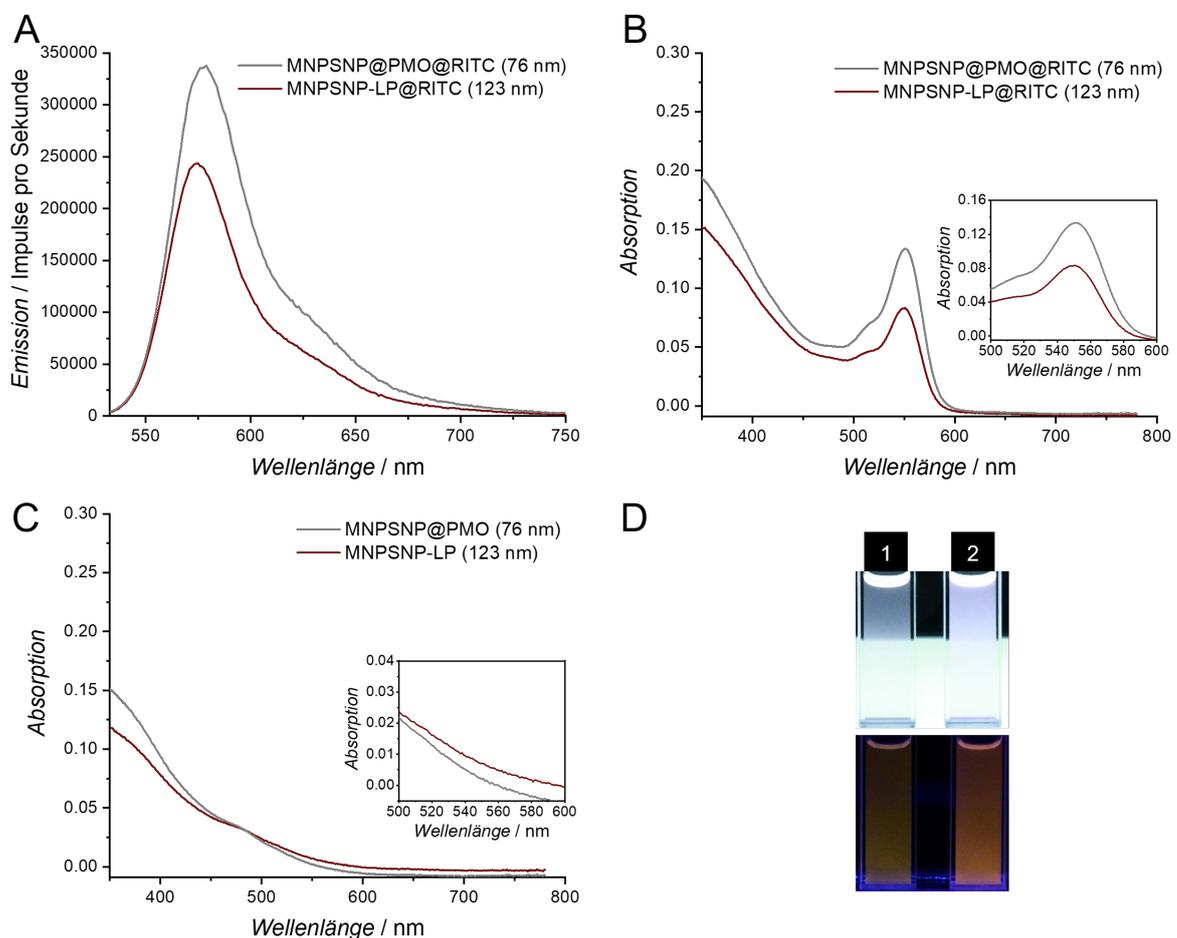


Abbildung 5.59: Emissionsspektren (Anregungswellenlänge bei 523 nm) (A) und Absorptionsspektren (B) der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (braun) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (grau). Absorptionsspektren (C) der unmodifizierten Kern-Schale-Nanopartikel. MNPSNP-LP (123 nm) (braun) und MNPSNP@PMO (76 nm) (grau). Unten rechts wird die Absorption zwischen 500 nm und 600 nm vergrößert dargestellt. Photographien von Partikeldispersionen (D) der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel unter normalem Licht (oben) und UV-Licht (unten). MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (1), MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (2).

Einen weiteren Einfluss auf die Fluoreszenz könnte dabei auch der hydrophobe Charakter der PMO-Schale mit ihren verbrückenden Phenylen-Einheiten und der hydrophobe Charakter der unpolaren organischen RITC-Moleküle haben. Durch intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den verbrückenden Phenylen-Einheiten und dem Farbstoff könnte das Fluorophor bevorzugt auf der Oberfläche der PMO-Schale lokalisiert sein. Die Lokalisation von unpolaren organischen Farbstoffmolekülen in der äußeren PMO-Schale wurde bereits von Jahns et al. beschrieben.^[66] Hierbei wurden Kern-Schale-Nanopartikel mit unmagnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikeln als Kern und PMO-Schale zur Einlagerung des unpolaren organischen Fluorophors Fluorescein eingesetzt. Die erhaltenen Ergebnisse des modifizierten großporigen Partikelsystems MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und des Kern-Schale-Schale-Systems MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) zeigen, dass eine Verwendung einer Silica-Schale mit größeren Poren oder einer zusätzlichen PMO-Schale vorteilhaft für die Fluoreszenzeigenschaften von magnetischen fluoreszierenden Hybrid-Partikelsystemen sein kann. Die stärkere Fluoreszenz der beiden RITC-modifizierten Partikelsysteme gegenüber den zuvor beschriebenen modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen ist auch anhand der Photographien der Partikeldispersionen unter Einfluss von UV-Licht erkennbar. Die ermittelten Ergebnisse zeigen auch hier wieder, dass eine vollständige Fluoreszenzlöschung bei den beiden Partikelsystemen trotz des kombinierten Einsatzes eines organischen Fluorophors und superparamagnetischen Kernen in einem Hybridmaterial nicht festgestellt werden konnte.

Neben der optischen Charakterisierung der vorgestellten multifunktionalen Partikelsysteme mittels Fluoreszenzspektroskopie und UV/Vis-Spektroskopie, wurden die magnetischen fluoreszierenden Partikel mittels Fluoreszenzmikroskopie auf die Eignung für den Einsatz in der Biobildgebung analysiert. Zu diesem Zweck wurde die Zellaufnahme der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) untersucht. In Abbildung 5.60 sind hierzu die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen der RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen dargestellt. Die Zellaufnahme der RITC-modifizierten Kern-Schale-Partikel MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) zeigen die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen in Abbildung 5.61. Die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen sind hierbei überlagerte Bilder des grünen, des blauen sowie des roten Fluoreszenzkanals. Während im grünen Fluoreszenzkanal die mit

Phalloidin-iFluor 488 fluoreszenzmarkierten Zytoskelette detektiert werden, sind im blauen Fluoreszenzkanal die mit DAPI fluoreszenzmarkierten Zellkerne sichtbar. Im roten Fluoreszenzkanal werden die RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel dargestellt.

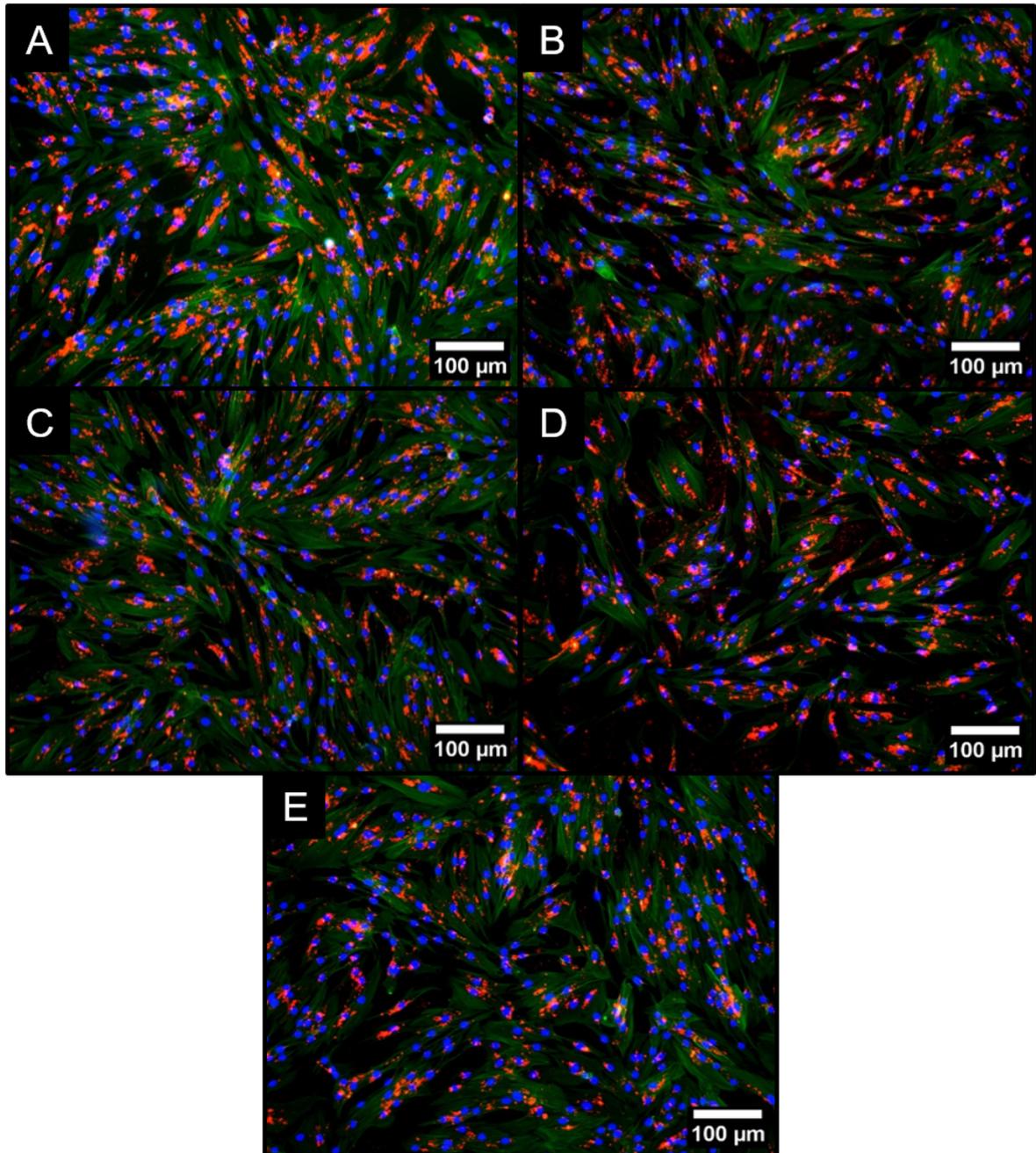


Abbildung 5.60: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der RITC-modifizierten MNPSNPs für die Untersuchung der Zellaufnahme an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) nach 24 h Inkubationszeit. Grün: mit Phalloidin-iFluor 488 fluoreszenzmarkierte Zytoskelette. Blau: mit DAPI fluoreszenzmarkierte Zellkerne. Rot: RITC-modifizierte MNPSNPs MNPSNP@RITC (49 nm) (A), MNPSNP@RITC (61 nm) (B), MNPSNP@RITC (69 nm) (C), MNPSNP@RITC (78 nm) (D) und MNPSNP@RITC (94 nm) (E).

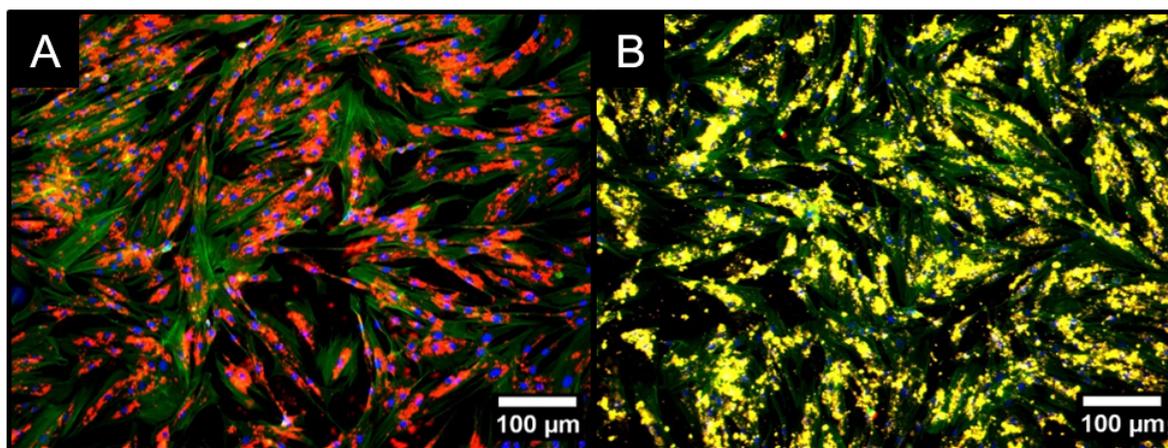


Abbildung 5.61: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel für die Untersuchung der Zellaufnahme an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) nach 24 h Inkubationszeit. Grün: mit Phalloidin-iFluor 488 fluoreszenzmarkierte Zytoskelette. Blau: mit DAPI fluoreszenzmarkierte Zellkerne. Rot: RITC-modifizierte Partikelsysteme. MNPSNP-LP@RITC (123 nm) (A) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (B).

Anhand der Aufnahmen ist bei allen modifizierten Partikelsystemen die charakteristische Fluoreszenz des RITC innerhalb der HGF-Zellen klar zu erkennen. Die RITC-modifizierten Partikel erscheinen hierbei als Agglomerate und diskrete Punkte, welche auf eine kovalente Anbindung des organischen Fluorophors RITC ohne ein Auswaschen hindeuten. Obwohl MNPSNP@RITC (49 nm) anhand der optischen Charakterisierung die geringste Fluoreszenzintensität aufwies, sind diese kleinen modifizierten Kern-Schale-Systeme dennoch innerhalb der Zellen deutlich sichtbar. Im Vergleich sehen alle RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen sehr ähnlich in den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen aus. Dagegen zeigt das modifizierte großporige Partikelsystem MNPSNP-LP@RITC (123 nm) in den Aufnahmen eine stärkere Fluoreszenz, was durch die Ergebnisse der Charakterisierung der optischen Eigenschaften verifiziert wurde. Bei Betrachtung des modifizierten Kern-Schale-Schale-Systems MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) ist ebenfalls eine starke Fluoreszenz in den Aufnahmen zu erkennen. Allerdings erscheinen die modifizierten Partikel hier als gelbe Agglomerate und Punkte, was durch eine Autofluoreszenz im grünen Fluoreszenzkanal der Aufnahme durch die verbrückenden Phenyl-Einheiten der zusätzlichen PMO-Schale begründet ist. Anhand der erhaltenen Ergebnisse zur Untersuchung der Zellaufnahme mittels Fluoreszenzmikroskopie konnte erfolgreich gezeigt werden, dass alle zuvor beschriebenen magnetischen fluoreszierenden Hybrid-Partikelsysteme für den Einsatz in der Biobildgebung geeignet sind. Auch mit einer geringeren Fluoreszenzintensität sind die

RITC-modifizierten Kern-Schale-Systeme klar detektierbar. Durch die Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften in einem Hybrid-System besitzen die vorgestellten multifunktionalen Kern-Schale-Nanopartikel ein großes Potential für ein kombiniertes Monitoring mittels Magnetresonanzbildgebung (*magnetic resonance imaging*, MRI) und Fluoreszenzmikroskopie.^[61–63]

Ein weiterer sehr wichtiger Aspekt für die potenzielle Anwendung der multifunktionalen magnetischen Kern-Schale-Systeme in der Biobildgebung sowie für das ID-MDT-Prinzip ist die Sicherstellung der Biokompatibilität. Zu diesem Zweck wurden die Zellviabilitäten der zuvor vorgestellten modifizierten Partikel mittels CellTiter-Blue®-Tests an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) analysiert. Die Ergebnisse zur Untersuchung der Zellviabilitäten sind in Abbildung 5.62 dargestellt und basieren auf einer Normierung der Werte einer Kontrollkultur ohne Partikelinkubation. Hierbei zeigen alle modifizierten Partikelsysteme mit einer Massenkonzentration von $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ und $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ eine sehr gute Zellviabilität in einem Bereich von 100%, was der Negativkontrolle entspricht. Einzig MNPSNP@RITC (94 nm) weist eine etwas geringere Zellviabilität von 83% für eine Massenkonzentration von $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ auf. Insgesamt konnte somit die Biokompatibilität der magnetischen fluoreszierenden Hybrid-Partikelsysteme als Grundvoraussetzung für den Einsatz in biomedizinischen Anwendungen bestätigt werden.

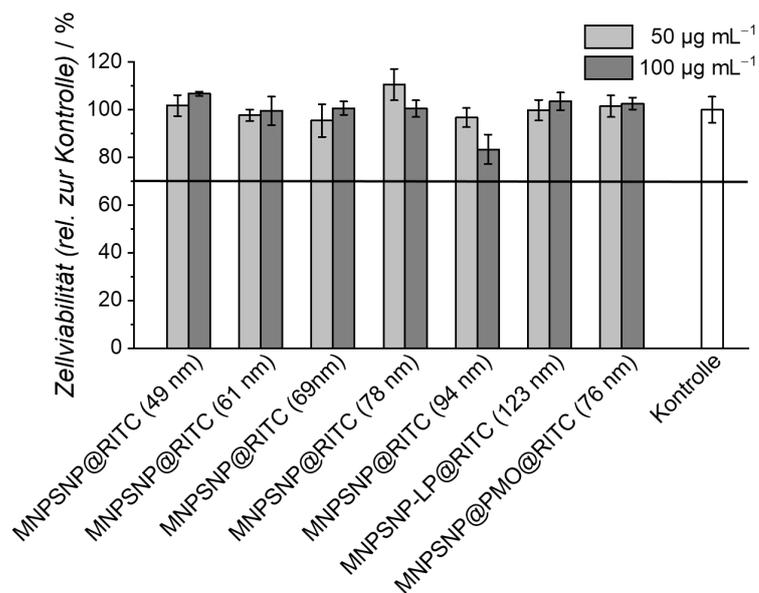


Abbildung 5.62: Untersuchung der Zellviabilität der RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel mittels CellTiter-Blue®-Test an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF).

Zusammenfassend wurden in diesem Kapitel die zuvor beschriebenen Partikelsysteme nach erfolgter Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor RITC bezüglich der Materialeigenschaften sowie tiefergehend bezüglich der magnetischen und optischen Eigenschaften untersucht. Anhand der RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen konnte gezeigt werden, dass mit sinkendem Partikeldurchmesser ein höherer Gehalt an magnetischen Kernen und folglich eine stärkere Magnetisierung in den Partikelsystemen vorhanden war. Damit verbunden zeigten die modifizierten MNPSNPs mit sinkenden Partikelgrößen eine stärkere Lichtabsorption, welche wiederum zu einem erhöhten Verlust von Anregungs- sowie auch Emissionslicht führte. Die stärkere Lichtabsorption führt zu einer Verringerung der Fluoreszenzintensität mit sinkendem Partikeldurchmesser. Ein Vergleich der magnetischen und optischen Eigenschaften von zwei weiteren RITC-modifizierten Kern-Schale-Systemen in Form der großporigen Partikel MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) mit zusätzlicher PMO-Schale zeigte eine geringere Fluoreszenzabschwächung, trotz des Einsatzes von magnetischen Kernen mit einer höheren Sättigungsmagnetisierung. Im Falle des großporigen Partikelsystems MNPSNP-LP@RITC (123 nm) kann der größere Raum in den vorhandenen Poren einen unterstützenden Effekt durch die Reduzierung einer potenziellen intermolekularen Fluoreszenzabschwächung zwischen den individuellen Farbstoffmolekülen haben. Durch die dickere Silica-Schale wird zudem der Abstand der RITC-Moleküle zu den magnetischen Kernen vergrößert, sodass auch das Risiko einer potenziellen Fluoreszenzabschwächung durch einen nichtstrahlenden Energietransfer auf die Eisenoxid-Oberfläche reduziert wird. Der Einsatz einer zusätzlichen PMO-Schale in MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) unterstützt zusätzlich die Verringerung der Fluoreszenzabschwächung. Hier fungiert die nanoporöse Silica-Matrix der eingesetzten MNPSNP-Kerne als Abstandshalter und schützende Hülle, sodass nichtstrahlende Energietransfers noch stärker verhindert werden. Zudem unterstützt die PMO-Matrix aufgrund ihres hydrophoben Charakters die Lokalisierung des hydrophoben organischen Fluorophors RITC auf der Oberfläche der äußeren Schale. Insgesamt konnte an allen RITC-modifizierten Kern-Schale-Partikelsystemen gezeigt werden, dass eine vollständige Fluoreszenzlöschung trotz des kombinierten Einsatzes von superparamagnetischen Kernen und eines organischen Fluorophors nicht festgestellt werden konnte. Weitere Analysen zur Untersuchung der Zellaufnahme der vorgestellten modifizierten Partikelsysteme mittels Fluoreszenzmikroskopie sowie zur Untersuchung der

Biokompatibilität mittels Zellviabilitäts-Tests konnten sehr vielversprechende Ergebnisse liefern. Dadurch wurde das große Potential der unterschiedlichen RITC-modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel mit ihren magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften sowie ihrer hohen Biokompatibilität im Hinblick auf eine Anwendung für die Biobildgebung und für das ID-MDT-Prinzip zur effektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen bestätigt.

5.1.7 Zusammenfassung

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden die magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel vorgestellt, welche für das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (ID-MDT) zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen entwickelt wurden. Dabei wurde zunächst das eingesetzte Kernmaterial der Hybrid-Systeme betrachtet, wobei es sich um hydrophobe Ölsäure-stabilisierte Fe_3O_4 NPs handelt. Diese Fe_3O_4 NPs zeigten Superparamagnetismus und folglich keine Remanenz nach Entfernung eines externen angelegten Magnetfeldes sowie Hyperthermie-Eigenschaften in einem magnetischen Wechselfeld.

Nach erfolgtem Phasentransfer mittels einer wässrigen CTAB-Lösung konnten die Eisenoxid-Kerne mit einer nanoporösen Silica-Matrix umhüllt werden. Diese magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) sind monodisperse sphärische Kern-Schale-Systeme mit Partikelgrößen von 112 ± 16 nm und einer nanoporösen Silica-Schale mit einer hohen BET-Oberfläche von $1080 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$. Auch die MNPSNPs zeigten superparamagnetisches Verhalten und Hyperthermie-Eigenschaften in einem magnetischen Wechselfeld.

Für die Anwendung der Kern-Schale-Systeme für das ID-MDT-Prinzip bestand der nächste Schritt in der Weiterentwicklung der Partikel durch die Erhöhung der Multifunktionalität. Zu diesem Zweck wurden die MNPSNPs für eine Detektion in *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen mit dem organischen Fluorophor Fluoresceinisothicyanat (FITC) mittels der *post-grafting*-Methode modifiziert. Die Modifizierung der nanoporösen Silica-Schale hatte hierbei keine negativen Auswirkungen auf die sphärische Morphologie der Nanopartikel. Stickstoff-Physisorptions-Messungen zeigten, dass die BET-Oberfläche mit $920 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ nur geringfügig reduziert wurde, sodass auch nach der Modifizierung weiterhin ein hoch poröses Kern-Schale-System für die

potenzielle Einlagerung und Freisetzung von Wirkstoffen für das ID-MDT-Prinzip vorliegt. Die Anbindung des organischen Fluorophors FITC konnte mittels IR-Spektroskopie, Thermogravimetrie sowie durch fluoreszenzspektroskopische Analysen und der charakteristischen grünen Fluoreszenz des organischen Farbstoffs unter UV-Licht verifiziert werden. Eine Fluoreszenzlöschung aufgrund der Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften in einem Hybrid-System konnte jedoch nicht bestätigt werden. Zur Erhöhung der Biokompatibilität und zur Verhinderung eines frühzeitigen Abfangens der MNPSNPs durch Makrophagen und dem mononukleären Phagozyten-System (MPS) wurden die MNPSNPs mit Polyethylenglycol (PEG) als Stealth-Moleküle modifiziert. Ziel dieser sogenannten PEGylierung ist die Erhöhung der Hydrophilie, wodurch die Blutzirkulationszeit erhöht und die selektive Behandlung am Infektionsort optimiert werden soll. Wie zuvor die FITC-Modifizierung hatte die Anbindung des PEG an die Silica-Matrix der MNPSNPs nur einen geringen Einfluss auf die sphärische Morphologie und die Porosität, wodurch weiterhin sehr gute Voraussetzungen für den Einsatz der Kern-Schale-Nanopartikel als Wirkstofffreisetzungssysteme vorlagen.

Da die Modifizierungen der MNPSNPs mit einem organischen Fluorophor und dem PEG sehr vielversprechende Ergebnisse bezüglich der Materialeigenschaften lieferten, wurden zur Erhöhung der Multifunktionalität die beschriebenen Funktionalisierungen unter simultaner Verwendung der Moleküle FITC und PEG durchgeführt. Neben dem grün fluoreszierenden FITC wurde als weiteres organisches Fluorophor das orange fluoreszierende Molekül Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) simultan mit PEG an die Silica-Matrix der MNPSNPs gebunden. Auch die zweifache Modifizierung mit FITC oder RITC und PEG hatte keinen Einfluss auf die sphärische Morphologie und Partikelgröße der Kern-Schale-Systeme. Die Porosität war durch die Anbindung der organischen Moleküle an die Silica-Matrix geringfügig reduziert. Dennoch besaßen die zweifach modifizierten Partikel weiterhin hohe BET-Oberflächen, Porenvolumina sowie Porendurchmesser im mesoporösen Bereich. Die Anbindung der organischen Fluorophore und des PEG wurde mittels IR-Spektroskopie, Thermogravimetrie sowie Fluoreszenzspektroskopie bestätigt. Auch die charakteristische grüne Fluoreszenz des FITC sowie die orange Fluoreszenz des RITC waren bei den Partikeldispersionen der zweifach modifizierten MNPSNPs unter Einfluss von UV-Licht klar erkennbar. Folglich konnte auch bei den zweifach modifizierten Hybridsystemen MNPSNP@FITC-PEG und MNPSNP@RITC-PEG eine vollständige

Fluoreszenzlöschung nicht bestätigt werden. Die simultane Modifizierung der MNPSNPs mit einem organischen Fluorophor und PEG konnte somit erfolgreich durchgeführt werden, sodass superparamagnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit einer hohen Multifunktionalität als potenzielle Wirkstoffträgersysteme für das ID-MDT zur Verfügung stehen.

Durch Variation der Syntheseparameter für die Formation der nanoporösen Silica-Schale um die hydrophoben superparamagnetischen Fe_3O_4 NPs konnten nach erfolgtem Phasentransfer Kern-Schale-Systeme mit unterschiedlichen Partikelgrößen hergestellt werden. So waren durch die Vergrößerung des $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ -Verhältnisses bei der Synthese der Silica-Matrix aufgrund der Erhöhung der Menge an vorhandenen Nukleationszentren MNPSNPs mit kleineren Partikeldurchmessern zugänglich. Eine Erhöhung der Synthesetemperatur ermöglicht zudem durch höhere Hydrolyse- und Kondensationsraten des Silica-Präkursors die Formation von dickeren Silica-Schalen. Folglich sind über die Variation der Menge an eingesetzten Fe_3O_4 NPs sowie durch Erhöhung der Synthesetemperaturen Partikelgrößeneinstellungen der MNPSNPs realisierbar. Unter Verwendung einer größeren Menge an Ethylacetat bei der Synthese der Silica-Schale sind darüber hinaus Variationen des Porensystems möglich. Das Ethylacetat fungiert hierbei als sogenanntes Quellungsmittel in der Öl-Wasser-Emulsion während der Silica-Synthese. Dadurch konnten großporige magnetische Kern-Schale-Systeme (MNPSNP-LP (123 nm)) mit höheren Porendurchmessern hergestellt werden, welche insbesondere für die Einlagerung größerer Moleküle interessant sind. Durch die Variation der Syntheseparameter bei der Herstellung der Silica-Schale für die MNPSNPs können folglich die Materialeigenschaften dieser Kern-Schale-Nanopartikel gezielt beeinflusst werden.

Unter Verwendung kleiner MNPSNPs als Kernmaterial konnten Kern-Schale-Schale-Partikelsysteme hergestellt werden, welche von einer zusätzlichen Schale aus periodisch mesoporösem Organosilica (PMO) umhüllt wurden. Diese MNPSNP@PMO (76 nm) hatten einen mittleren Partikeldurchmesser von 76 ± 5 nm sowie eine mittlere PMO-Schalendicke von 13 ± 1 nm und zeichneten sich ebenfalls durch eine hohe Porosität aus. Aufgrund der MNPSNPs als Kernmaterial und der nanoporösen PMO-Hülle konnte durch Stickstoff-Physisorptions-Messungen eine Porenweitenverteilung mit einem bimodalen Verlauf mit einem mittlerem Porendurchmesser von 2.6 nm für die PMO-Matrix und 3.8 nm für die Silica-Matrix ermittelt werden. Die Isotherme zeigte zudem eine kavitätsinduzierte Desorption mit einer deutlichen Hysterese, welche auf tintenfassförmige Poren an der

Grenzschicht der nanoporösen Silica-Schale der MNPSNPs und der Organo-Silica-Hülle zurückzuführen sind. Die unterschiedlichen Porengrößen und chemischen Eigenschaften des magnetischen Silica-Kerns und der PMO-Schale bei MNPSNP@PMO (76 nm) bieten großes Potential für eine duale Einlagerung und Freisetzung von zwei verschiedenen Wirkstoffen.

Die zuvor beschriebenen unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Partikelsysteme wurden nach einer Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor RITC bezüglich der generellen Materialeigenschaften und tiefergehend bezüglich der Interaktion von magnetischen und optischen Eigenschaften sowie der Biokompatibilität untersucht. Hierbei konnte bei den RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen gezeigt werden, dass mit sinkendem Partikeldurchmesser ein höherer Gehalt an magnetischen Kernen und somit eine stärkere Magnetisierung in den Hybridsystemen vorlag. Allerdings zeigten die modifizierten Kern-Schale-Nanopartikel mit sinkendem Partikeldurchmesser eine zunehmende Verringerung der Fluoreszenzintensität. Dieser Verlust an Fluoreszenzintensität ist durch eine stärkere Lichtabsorption mit sinkenden Partikelgrößen und folglich einem erhöhten Verlust von Anregungs- und Emissionslicht begründet. Anhand der RITC-modifizierten Kern-Schale-Systeme in Form der großporigen MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) mit zusätzlicher PMO-Schale wurde eine geringere Fluoreszenzabschwächung trotz des Einsatzes von magnetischen Kernen mit einer höheren Sättigungsmagnetisierung festgestellt. Dabei ist durch die größeren Poren bei MNPSNP-LP@RITC (123 nm) das Risiko der potenziellen intermolekularen Fluoreszenzabschwächung zwischen den individuellen Farbstoffmolekülen verringert. Zudem liegt durch die dickere Silica-Schale ein größerer Abstand zwischen den Farbstoffmolekülen und den magnetischen Kernen vor, sodass das Risiko einer potenziellen Fluoreszenzabschwächung durch einen nichtstrahlenden Energietransfer reduziert wird. Bei dem RITC-modifizierten Kern-Schale-Schale-System MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass der Einsatz einer PMO-Schale um die kleinen MNPSNPs die Verringerung der Fluoreszenzabschwächung zusätzlich unterstützt. Die nanoporöse Silica-Matrix der eingesetzten MNPSNPs fungiert auch hier als Abstandshalter und reduziert somit das Risiko von nichtstrahlenden Energietransfers. Zudem unterstützt die hydrophobe PMO-Matrix die Anbindung des hydrophoben und unpolaren organischen Fluorophors RITC

auf der Oberfläche der äußeren Schale. Generell konnte bei den vorgestellten modifizierten unterschiedlichen Partikelsystemen eine vollständige Fluoreszenzlöschung trotz des kombinierten Einsatzes eines organischen Fluorophors und superparamagnetischen Kernen nicht festgestellt werden. Zur Beurteilung für den Einsatz in der Biobildgebung wurden die vorgestellten RITC-modifizierten magnetischen Kern-Schale-Partikelsysteme zudem mittels Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Hierzu wurde die Zellaufnahme der Partikelsysteme an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) analysiert. Bei allen modifizierten Nanopartikeln war in den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen die charakteristische Fluoreszenz des RITC innerhalb der HGF-Zellen klar erkennbar. Die Eignung für den Einsatz der Partikel in der Biobildgebung konnte somit erfolgreich bestätigt werden, sodass die vorgestellten multifunktionalen Kern-Schale-Nanopartikel ein großes Potential für ein kombiniertes Monitoring mittels Magnetresonanzbildgebung und Fluoreszenzmikroskopie besitzen. Weitere Untersuchungen der Biokompatibilität der modifizierten Nanopartikel mittels Zellviabilitäts-Tests an HGF-Zellen konnten ebenfalls sehr vielversprechende Ergebnisse liefern. Alle Partikelsysteme zeigten hierbei eine sehr gute Biokompatibilität und bestätigten das große Potential für die Anwendung in der Biobildgebung und für das IDT-MDT-Prinzip zur effektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen.

Im folgenden Part 5.2 dieses Kapitels werden die Ergebnisse der Einlagerung und Freisetzung des Wirkstoffes Enrofloxacin aus den magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln beschrieben. Für die Begutachtung der Eignung als Wirkstofffreisetzungssysteme liegt dabei auch ein Augenmerk auf den unterschiedlichen Modifizierungen und den daraus resultierenden Freisetzungprofilen. Darüberhinaus wird in diesem Part im Rahmen des ID-MDT ein Auszug aus den Ergebnissen aus der Kooperation mit der Tierärztlichen Hochschule Hannover und der Medizinischen Hochschule Hannover vorgestellt. Das Augenmerk liegt hierbei auf weiteren *in vitro*-Untersuchungen bezüglich der Biokompatibilität der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel sowie *in vitro*- und *in vivo*-Analysen für das ID-MDT-Prinzip. Hierzu wurde zunächst *in vitro* die Akkumulationsfähigkeit von FITC- und PEG-modifizierten MNPSNPs an martensitischen und ferritischen Stählen unter Einfluss eines externen angelegten Magnetfeldes betrachtet. Zudem wurden im Balb/c-Maus-Modell die Distribution und Biokompatibilität von RITC- und PEG-modifizierten MNPSNPs nach subkutaner sowie

intravenöser Injektion nach Applikation eines externen angelegten Magnetfeldes untersucht.

5.2 Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung aus den magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln sowie *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen für das ID-MDT-Prinzip

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der Einlagerung und Freisetzung des Wirkstoffes Enrofloxacin (EFX) aus unmodifizierten und modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln im Hinblick auf eine Anwendung im ID-MDT zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen diskutiert. Dabei wird ein Augenmerk auf den Einfluss der unterschiedlichen Materialien und Oberflächenmodifizierungen bezüglich der Freisetzungsprofile gelegt. Neben der Freisetzung aus unmodifizierten MNPSNPs werden hierbei auch die Profile von PEG-modifizierten MNPSNPs, zweifach-funktionalisierten MNPSNPs mit RITC- und PEG-Modifizierung sowie dem unmodifizierten Partikelsystem MNPSNP@PMO mit zusätzlicher PMO-Schale betrachtet. Darüber hinaus wird der Einfluss der Oberflächenmodifizierung von RITC-funktionalisierten und EFX-beladenen MNPSNPs mit einer Doppellipidschicht für eine Stimulus-gesteuerte Freisetzung untersucht. Zudem wird ein Auszug aus den Ergebnissen von *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen der MNPSNPs aus der Kooperation mit der Tierärztlichen Hochschule Hannover und der Medizinischen Hochschule Hannover bezüglich der Biokompatibilität und Eignung für das ID-MDT-Prinzip vorgestellt.

5.2.1 Wirkstoffeinlagerung und Freisetzung aus den magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln

Für die selektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen unter Anwendung des ID-MDT-Prinzips wurden zunächst die magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) als Träger für den Wirkstoff Enrofloxacin (EFX) eingesetzt. Hierzu wurden neben unmodifizierten MNPSNPs auch PEG-modifizierte MNPSNPs sowie MNPSNPs nach einer simultanen Modifizierung mit dem organischen Fluorophor RITC sowie PEG verwendet. Für die Einlagerungen des Wirkstoffes in die Kern-Schale-Nanopartikel dienten EFX-Lösungen mit einer Massenkonzentration von 3 mg mL^{-1} und einem pH-Wert von 8.5. Die Partikel wurden hierzu bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h mit der EFX-Lösung unter Rühren behandelt. Für die MNPSNPs und das Enrofloxacin spielt der pH-Wert der

Einlagerungslösung eine wichtige Rolle. Während die Löslichkeit des EFX bei neutralen pH-Werten (6.0 – 8.0) sehr gering ist, liegt bei sauren pH-Werten (< 6.0) sowie basischen pH-Werten (> 8.0) eine deutlich höhere Löslichkeit des Wirkstoffes vor.^[379] Allerdings besteht bei zu sauren pH-Werten die Gefahr des Auflörens der superparamagnetischen Kerne der MNPSNPs, sodass die Verwendung der Wirkstoffträger für das ID-MDT-Prinzip unter Einfluss eines externen angelegten Magnetfeldes nicht möglich ist. Bei einer Einlagerung des EFX in die MNPSNPs unter basischen Bedingungen wird jedoch die Auflösung der nanoporösen Silica-Schale gefördert, sodass dadurch die Porosität und folglich das Einlagerungsvermögen stark beeinträchtigt wird.^[380] In Abbildung 8.2, Abbildung 8.3 und Abbildung 8.4 im Anhang sind TEM-Aufnahmen der Partikelsysteme MNPSNP-EFX, MNPSNP@PEG-EFX sowie MNPSNP@RITC-PEG-EFX nach Einlagerung des Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 8.5 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C dargestellt. Verglichen mit den unbeladenen frisch synthetisierten und modifizierten Kern-Schale-Nanopartikeln weisen die EFX-beladenen Partikelsysteme deutliche Veränderungen hinsichtlich der Morphologie und Porosität auf. Den deutlichsten Wandel zeigen dabei die unmodifizierten MNPSNPs nach der Einlagerung durch einen deutlichen Angriff der Partikeloberfläche. Neben einem zunehmenden Verlust der sphärischen Struktur und einer Verringerung des Partikeldurchmessers besitzen die Partikel eine inhomogenere Porenstruktur. Die Veränderungen der Partikeloberfläche sind hierbei durch einsetzende Auflösungsprozesse durch die leicht basische Einlagerungslösung mit einem pH-Wert von 8.5 begründet. Im Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNP-EFX zeigen die Partikelsysteme MNPSNP@PEG-EFX und MNPSNP@RITC-PEG-EFX weniger Beanspruchungen bezüglich der Partikelmorphologie und Porosität. Die Oberflächenmodifizierungen der MNPSNPs mit PEG-Molekülen oder mit dem organischen Fluorophor RITC in Kombination mit PEG schützen die MNPSNPs und verzögern einsetzende Auflösungsprozesse der nanoporösen Silica-Schale.

Zur weiteren Charakterisierung der Wirkstoffeinlagerung wurden die unmodifizierten und modifizierten EFX-beladenen MNPSNPs mittels der IR-Spektroskopie analysiert. Die zugehörigen IR-Spektren der drei Partikelsysteme sind in Abbildung 5.63 dargestellt. Die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.17 zusammengefasst. Bei allen drei Spektren befinden sich im Wellenzahlenbereich von ca. 1085 cm^{-1} die sehr intensiven asymmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen. Darüber hinaus sind auch aufgrund der Silica-Schale im Bereich von 960 cm^{-1} , 800 cm^{-1} und 465 cm^{-1} weitere (Si–OH)-

Deformationsschwingungen, symmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen sowie auch (Si–O–Si)-Deformationsschwingungen detektierbar. Die charakteristischen (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne sind bei allen Spektren bei Wellenzahlen im Bereich von ca. 570 cm^{-1} erkennbar. Die breiten Banden im Bereich von ca. 3380 cm^{-1} und 3430 cm^{-1} sind den charakteristischen (O–H)-Valenzschwingungen zuzuordnen, welche durch adsorbiertes Wasser begründet sind. Bei den modifizierten Partikelsystemen sind zudem zusätzliche Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von ca. 2940 cm^{-1} bzw. 2959 cm^{-1} sowie bei ca. 2885 cm^{-1} sichtbar. Bei einer Wellenzahl von 1395 cm^{-1} liegen zudem charakteristische (C–H)-Deformationsschwingungen vor, welche hierbei durch die Modifizierungen mit RITC und PEG sowie auch durch das eingelagerte EFX resultieren. Aufgrund des eingelagerten EFX sind bei allen Partikelsystemen zudem zusätzliche charakteristische (C=O)-Valenzschwingungen bei ca. 1490 cm^{-1} durch die Carbonylgruppe sowie auch (N–H)-Deformationsschwingungen im Bereich von ca. 1630 cm^{-1} und 1650 cm^{-1} durch das Chinolon erkennbar. Die charakteristischen aromatischen (C–H)-Valenzschwingungen vom EFX werden von den breiten Banden der (O–H)-Valenzschwingungen überdeckt. Zudem sind die charakteristischen (C–F)-Valenzschwingungen des Fluorchinolons durch die intensiven asymmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen bei ca. 1085 cm^{-1} verdeckt. Verglichen mit den Silica-Banden der nanoporösen Silica-Schale sind die Banden des EFX zudem sehr klein. Eine erfolgreiche Einlagerung konnte dennoch bestätigt werden.

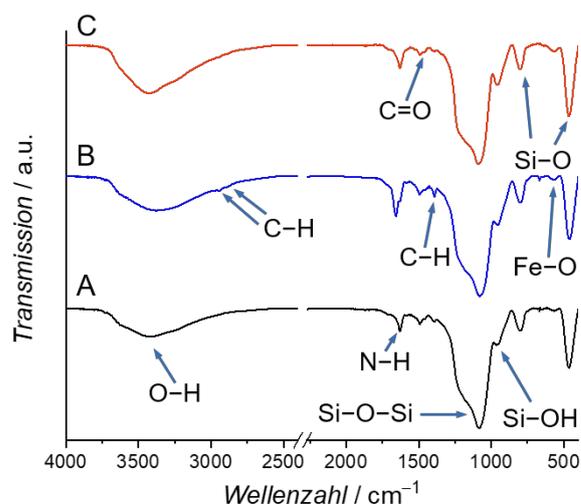


Abbildung 5.63: IR-Spektren der unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs nach Einlagerung mit Enrofloxacin. MNPSNP-EFX (A), MNPSNP@PEG-EFX (B) und MNPSNP@RITC-PEG-EFX (C).

Die Einlagerungsmengen an EFX wurden mittels Thermogravimetrie bestimmt. Die zugehörigen Thermogramme der drei beladenen Systeme sind Abbildung 5.64 dargestellt.

Tabelle 5.17: Zuordnung der Schwindungsbanden der IR-Spektren der unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs nach Einlagerung mit Enrofloxacin. MNPSNP-EFX (A), MNPSNP@PEG-EFX (B) und MNPSNP@RITC-PEG-EFX (C) (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370,381]

A	B	C	Schwingungsart	Ursache
3422	3376	3428	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
-	2943	2954	(C-H)-Valenzschwingung	RITC/PEG
-	2884	2886	(C-H)-Valenzschwingung	RITC/PEG
1630	1654	1630	(N-H)-Deformationsschwingung	EFX
1492	1494	1492	(C=O)-Valenzschwingung	EFX
1394	1392	1392	(C-H)-Deformationsschwingung	EFX/RITC/PEG
1085	1080	1089	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
964	959	959	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
801	802	802	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
566	567	567	(Fe-O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
467	462	465	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

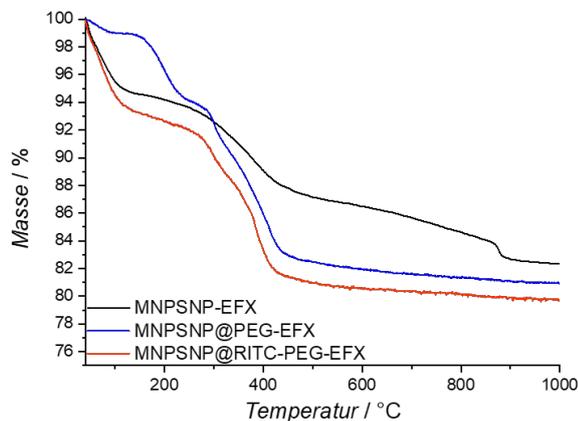


Abbildung 5.64: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs nach Einlagerung mit Enrofloxacin. MNPSNP-EFX (schwarz), MNPSNP@PEG-EFX (blau) und MNPSNP@RITC-PEG-EFX (orange).

Im Anhang sind zum Vergleich in Abbildung 8.5, Abbildung 8.6 und Abbildung 8.7 die Thermogramme der drei EFX-beladenen Partikelsysteme mit den jeweiligen unbeladenen Kern-Schale-Nanopartikeln abgebildet. Zwischen einer Temperatur von 120 °C und 700 °C

beträgt der Massenverlust der unmodifizierten beladenen MNPSNPs nach Vergleich mit den unbeladenen Partikeln 7.5%, was einer Einlagerungsmenge von $75 \mu\text{g mg}^{-1}$ an EFX entspricht. Die PEG-modifizierten beladenen Kern-Schale-Nanopartikel weisen einen Massenverlust von 8.9% und somit eine Einlagerungsmenge von $89 \mu\text{g mg}^{-1}$ an EFX auf. Dagegen besitzen die zweifach funktionalisierten Partikel MNPSNP@RITC-PEG-EFX einen Massenverlust von 8.2% somit eine Einlagerungsmenge von $82 \mu\text{g mg}^{-1}$. Die erhöhte Wirkstoffmenge der beladenen PEG-modifizierten MNPSNPs kann hierbei durch die möglichen Wechselwirkungen mittels Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der Carboxyl- und Carbonylgruppe des EFX sowie den Ethylenglycol-Einheiten des PEGs begründet sein. Unter Beachtung der verwendeten Massenkonzentration von 3 mg mL^{-1} an EFX in der Einlagerungslösung und einer damit verbundenen theoretisch möglichen Einlagerungsmenge von $447 \mu\text{g mg}^{-1}$ beträgt die Einlagerungseffizienz der unmodifizierten MNPSNP-EFX 16.7%. Verglichen dazu weisen die Systeme MNPSNP@PEG-EFX und MNPSNP@RITC-PEG-EFX leicht höhere Einlagerungseffizienzen von 19.9% und 18.5% auf.

Für die Charakterisierung der Freisetzung der EFX-beladenen unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs wurden die Überstandslösungen nach erfolgter Freisetzung in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) bei einer Temperatur von $37 \text{ }^\circ\text{C}$ mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie analysiert. Bei diesen Untersuchungen wird die kumulativ freigesetzte Masse an Enrofloxacin pro Masse der beladenen Partikelsysteme in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen. Die Freisetzungsprofile aus den unmodifizierten und modifizierten beladenen MNPSNPs sind in Abbildung 5.65 zusammengefasst.

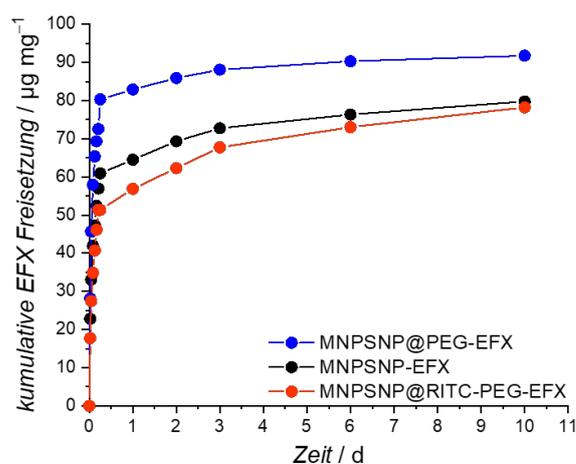


Abbildung 5.65: Kumulative Freisetzung von Enrofloxacin aus den unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ in PBS. MNPSNP-EFX (schwarz), MNPSNP@PEG-EFX (blau) und MNPSNP@RITC-PEG-EFX (orange).

Bei der Betrachtung der Freisetzungen aus den unmodifizierten und modifizierten beladenen MNPSNPs ist bei allen drei Partikelsystemen ein sogenannter *initial burst release* erkennbar, bei welchem zu Beginn große Mengen des EFX abgegeben werden, gefolgt von einer geringeren Freisetzungsrates. Nach 10 Tagen wurden aus den unmodifizierten beladenen Partikelsystemen $80 \mu\text{g mg}^{-1}$ freigesetzt, wobei bereits $61 \mu\text{g mg}^{-1}$ nach 6 h abgegeben wurden. Bei dem PEGylierten beladenen Partikelsystem MNPSNP@PEG-EFX lag nach 10 Tagen eine Freisetzungsmenge von $92 \mu\text{g mg}^{-1}$ vor. Davon wurden $80 \mu\text{g mg}^{-1}$ nach 6 h initial abgegeben. Die höhere Menge an freigesetztem EFX bestätigen hierbei das stärkere Immobilisierungsvermögen aufgrund von Wechselwirkungen mittels Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Wirkstoff und den PEG-Molekülen. Das zweifach modifizierte Partikelsystem MNPSNP@RITC-PEG-EFX setzte nach 10 Tagen eine Menge von $78 \mu\text{g mg}^{-1}$ an Wirkstoff frei, was vergleichbar mit der Freisetzungsmenge der unmodifizierten beladenen MNPSNPs ist. Allerdings weist das zweifach modifizierte Partikelsysteme eine leicht geringere Freisetzungsrates von $51 \mu\text{g mg}^{-1}$ nach 6 h auf. In diesem Fall könnte die langsamere Wirkstofffreisetzung zu Beginn durch intermolekulare Wechselwirkungen zwischen dem EFX und dem Farbstoffmolekül RITC begründet sein. Der *initial burst release* zu Beginn der Freisetzung an allen drei Partikelsystemem deutet jedoch auf generell schwache Wechselwirkungen zwischen dem Wirkstoff und dem Trägermaterial hin. Die Freisetzung einer großen Menge an Wirkstoff zu Beginn ist insbesondere für die Behandlung von akuten Infektionen wünschenswert, da in kurzer Zeit hohe Wirkstoffmengen benötigt werden. Allerdings kann eine effektive Behandlung dieser Infektionen nur erzielt werden, wenn die therapeutisch benötigten Wirkstoffmengen zum gewünschten Zeitpunkt am Zielort verfügbar sind. Aus diesem Grund war ein weiteres Ziel dieser Arbeit die Entwicklung eines zeitverzögerten Freisetzungssystems, welche auf den MNPSNPs beruhen.

Zu diesem Zweck wurden RITC-modifizierte MNPSNPs mit EFX beladen und im Anschluss in Liposomen durch die Oberflächenmodifizierung mit einer Doppellipidschicht aus 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (DOPC) eingeschlossen. In Abbildung 5.66 sind die eingesetzten MNPSNPs nach den vier unterschiedlichen Herstellungsschritten dargestellt. Die Abbildung 5.66A und Abbildung 5.66B zeigen hierbei die unmodifizierten MNPSNPs sowie die modifizierten MNPSNP@RITC. Bei beiden Partikelsystemen liegen wieder die charakteristischen Kern-Schale-Nanopartikel mit sphärischer Morphologie und der nanoporösen Silica-Schale vor. In Abbildung 5.66C sind die RITC-modifizierten

MNPSNPs nach Einlagerung mit EFX abgebildet. Ähnlich wie bei den bereits vorgestellten beladenen Partikelsystemen ist bei MNPSNP@RITC-EFX wieder eine Einfluss hinsichtlich der Morphologie und Porosität zu erkennen. Die Veränderungen sind hierbei wieder durch Auflösungsprozesse durch die leicht basische Einlagerungslösung mit einem pH-Wert von 8.5 begründet. In Abbildung 5.66D sind die EFX-beladenen Liposom-umhüllten Partikelsysteme MNPSNP@RITC-EFX@DOPC dargestellt. Dieses multifunktionale Freisetzungssystem zeigt bezüglich der Partikelbeschaffenheit keine Unterschiede zu dem RITC-modifizierten und EFX-beladenen Vorgängersystem.

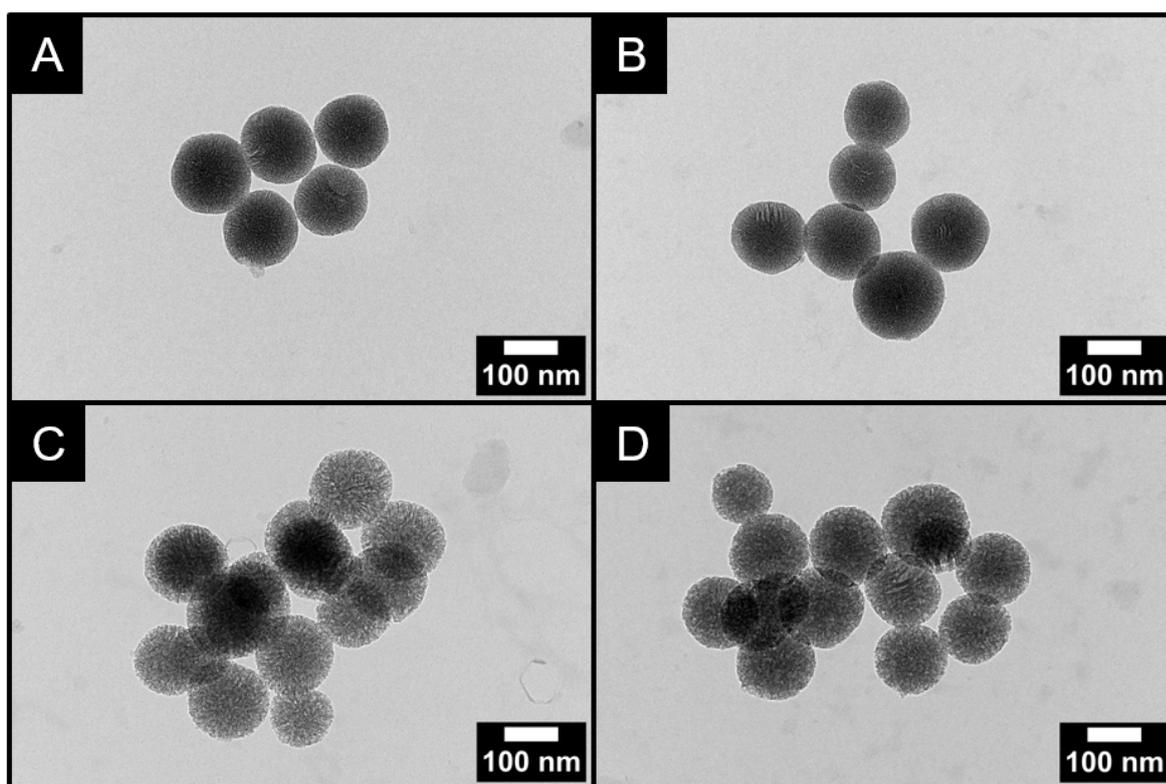


Abbildung 5.66: TEM-Aufnahmen von MNPSNP (A), MNPSNP@RITC (B), MNPSNP@RITC-EFX (C) und MNPSNP@RITC-EFX@DOPC (D).

Die Charakterisierung mittels IR-Spektroskopie der eingesetzten MNPSNPs nach den vier unterschiedlichen Herstellungsschritten ist in Abbildung 5.67 dargestellt und in Tabelle 5.18 ist die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen der Partikelsysteme zusammengefasst. Bei allen Spektren befinden sich im Wellenzahlenbereich von ca. 1085 cm^{-1} die sehr intensiven asymmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen. Zudem sind auch im Bereich von 965 cm^{-1} , 800 cm^{-1} und 465 cm^{-1} weitere (Si–OH)-Deformationsschwingungen, symmetrische (Si–O–Si)-Valenzschwingungen sowie auch

(Si–O–Si)-Deformationsschwingungen aufgrund der Silica-Schale vertreten. Im Bereich von ca. 560 cm^{-1} und 580 cm^{-1} sind die charakteristischen (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne erkennbar. Die charakteristischen (O–H)-Valenzschwingungen aufgrund von adsorbiertem Wasser an den Partikelsystemen sind durch die breiten Banden zwischen ca. 3250 cm^{-1} und 3440 cm^{-1} abgebildet. Darüber hinaus können bei den unmodifizierten und RITC-modifizierten Partikeln (O–H)-Deformationsschwingungen bei Wellenzahlen von 1630 cm^{-1} detektiert werden. In diesem Wellenzahlbereich von 1630 cm^{-1} sind dagegen bei den Wirkstoff-beladenen Partikelsystemen MNPSNP@RITC-EFX und MNPSNP@RITC-EFX@DOPC die (N–H)-Deformationsschwingungen des EFX dominierend. Die zusätzlichen Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von ca. 2930 cm^{-1} bzw. 2980 cm^{-1} sowie bei ca. 2860 cm^{-1} und 2910 cm^{-1} sind durch die RITC-Modifizierung, das EFX sowie die DOPC-Hülle begründet. Im Wellenzahlbereich von ca. 1490 cm^{-1} sind zudem charakteristische (C=O)-Valenzschwingungen der Carbonylgruppe des Wirkstoffes vertreten. Außerdem sind bei dem Partikelsystem MNPSNP@RITC-EFX@DOPC weitere (C=O)-Valenzschwingungen bei 1731 cm^{-1} sowie (C–H)-Deformationsschwingungen bei 1469 cm^{-1} durch die Liposom-Hülle aus DOPC erkennbar. Durch die IR-Spektroskopie konnte folglich die erfolgreiche Modifizierung der MNPSNPs mit RITC, Einlagerung mit EFX sowie Liposom-Umhüllung mit einer Doppellipidschicht aus DOPC bestätigt werden.

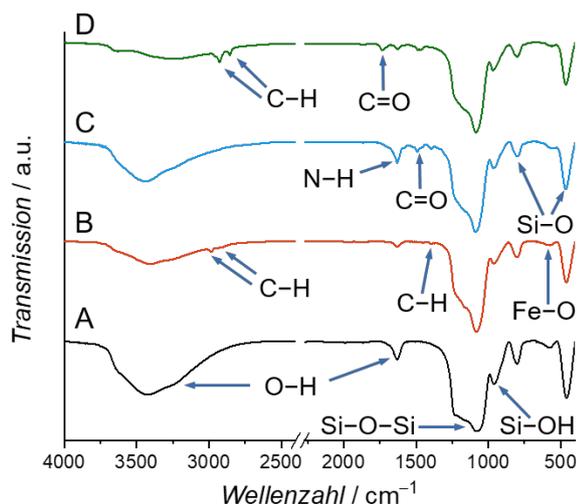


Abbildung 5.67: IR-Spektren von MNPSNP (A), MNPSNP@RITC (B), MNPSNP@RITC-EFX (C) und MNPSNP@RITC-EFX@DOPC (D).

Tabelle 5.18: Zuordnung der Schwindungsbanden der IR-Spektren von MNPSNP (A), MNPSNP@RITC (B), MNPSNP@RITC-EFX (C) und MNPSNP@RITC-EFX@DOPC (D) (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370,381,382]

A	B	C	D	Schwingungsart
3421	3408	3441	3252	(O–H)-Valenzschwingung
-	2984	2934	2928	(C–H)-Valenzschwingung
-	2907	2858	2856	(C–H)-Valenzschwingung
-	-	-	1731	(C=O)-Valenzschwingung
-	-	1630	1630	(N–H)-Deformationsschwingung
1630	1630	-	-	(O–H)-Deformationsschwingung
-	-	1490	1489	(C=O)-Valenzschwingung
-	-	-	1469	(C–H)-Deformationsschwingung
-	1394	1393	1392	(C–H)-Deformationsschwingung
1084	1084	1088	1086	(Si–O–Si)-Valenzschwingung
962	962	964	967	(Si–OH)-Valenzschwingung
803	801	800	803	(Si–O–Si)-Valenzschwingung
578	577	560	566	(Fe–O)-Valenzschwingung
460	462	466	465	(Si–O–Si)-Deformationsschwingung

Mit Hilfe der thermogravimetrischen Analyse wurde die Menge des organischen Fluorophors RITC sowie die Einlagerungsmenge an EFX vor und nach der Liposom-Umhüllung bestimmt. Die Thermogramme zu den Partikelsystemen sind in Abbildung 5.68 dargestellt. Für die modifizierten Partikel MNPSNP@RITC beträgt der Massenverlust zwischen 120 °C und 700 °C 7.6%. Dieser Verlust ist durch die Verbrennung des organischen Fluorophors RITC begründet. Unter Berücksichtigung der Menge an RITC und dem Thermogramm von dem EFX-beladenen Partikelsystem MNPSNP@RITC-EFX liegt ein Massenverlust von 4.7% vor, was einer Einlagerungsmenge von 47 $\mu\text{g mg}^{-1}$ entspricht. In Anbetracht der verwendeten Massenkonzentration von 3 mg mL^{-1} an Enrofloxacin in der Einlagerungslösung und einer damit verbundenen theoretisch möglichen Einlagerungsmenge von 447 $\mu\text{g mg}^{-1}$ beträgt die Einlagerungseffizienz der RITC-modifizierten MNPSNPs 10.5%. Zur Bestimmung der Einlagerungsmenge des Wirkstoffes nach der Liposom-Umhüllung wurde neben dem Partikelsystem MNPSNP@RITC-EFX@DOPC eine Blindprobe von RITC-modifizierten MNPSNPs nach Liposom-Umhüllung betrachtet. Das Thermogramm dieser Blindprobe mit Vergleich zu

MNPSNP@RITC-EFX@DOPC ist in Abbildung 8.8 im Anhang dargestellt. Während bei der unbeladenen Blindprobe zwischen 120 °C und 700 °C der Massenverlust 17.4% beträgt, weisen die EFX-beladenen Partikel einen Massenverlust von 19.8% auf. Daher besitzen die EFX-beladenen und Liposom-umhüllten Partikelsysteme MNPSNP@RITC-EFX@DOPC einen Massenverlust von 2.4% an EFX, was einer Einlagerungsmenge von 24 $\mu\text{g mg}^{-1}$ und einer Einlagerungseffizienz von 5.4% entspricht. Die deutlich geringe Einlagerungsmenge an Wirkstoff ist hierbei durch die Umhüllung der EFX-beladenen Partikel mit DOPC in einem Gemisch aus Wasser und Ethanol und die damit verbundene einsetzende Freisetzung begründet.

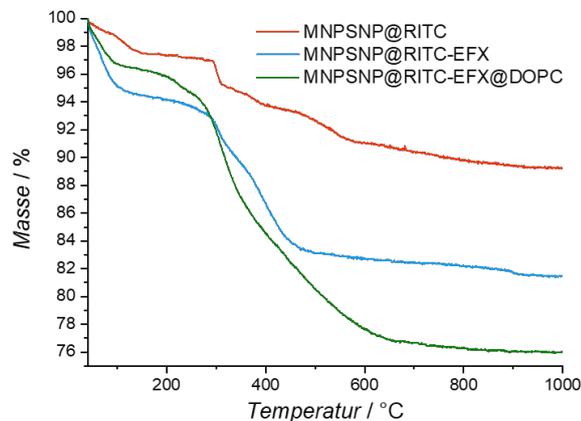


Abbildung 5.68: Thermogravimetrische Analyse von MNPSNP@RITC (orange), MNPSNP@RITC-EFX (hellblau) und MNPSNP@RITC-EFX@DOPC (grün).

In Abbildung 5.69 ist das Freisetzungsprofil von MNPSNP@RITC-EFX@DOPC im Vergleich mit den zuvor vorgestellten Freisetzungsprofilen der unmodifizierten und modifizierten EFX-beladenen MNPSNPs dargestellt. Das Liposom-umhüllte Partikelsystem zeigt nach einer Inkubationszeit von 2 h in PBS bei 37°C eine deutlich verringerte Freisetzungsrates mit 5 $\mu\text{g mg}^{-1}$ verglichen zu den anderen beladenen Partikelsystemen, welche einen *initial burst release* aufweisen. Die geringe Freisetzungsrates deutet hierbei einen erfolgreichen Einschluss des EFX in das Partikelsystem an. Dieser Einschluss wird nach der Zugabe einer PBS-Lösung mit 2.5% Triton X-100 nach 2 h durch eine deutlich erhöhte Freisetzungsrates bestätigt. Die Zugabe des nichtionischen Tensids initiiert eine Auflösung der Liposom-Hülle, die wiederum zu einem *initial burst release* des Wirkstoffs führt. Nach 6 h beträgt die Freisetzungsrates 22 $\mu\text{g mg}^{-1}$, welche auf 27 $\mu\text{g mg}^{-1}$ nach 8 Tagen ansteigt. Die Liposom-Umhüllung der MNPSNPs mit DOPC ermöglicht

folglich den Zugang zu einem Wirkstofffreisetzungssystem mit zeitverzögerter Wirkstoffabgabe durch Zerstörung der Liposom-Hülle, welche zum Beispiel durch ein Tensid oder Ethanol eingeleitet werden kann. Eine zeitverzögerte Stimulus-bedingte Wirkstofffreisetzung ist hierbei insbesondere für die Behandlung von chronischen Infektionen von großem Interesse und stellt somit auch ein großes Potential für die Anwendung im ID-MDT-Prinzip dar.

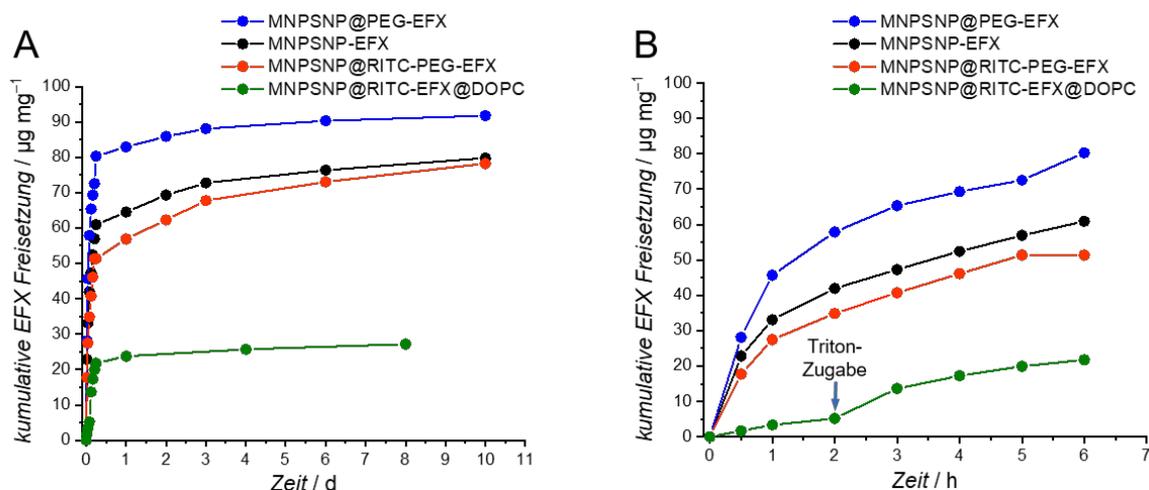


Abbildung 5.69: Kumulative Freisetzung von Enrofloxacin aus MNPSNP-EFX (schwarz), MNPSNP@PEG-EFX (blau), MNPSNP@RITC-PEG-EFX (orange) und MNPSNP@RITC-PEG-EFX@DOPC (grün) bei 37 °C in PBS nach 10 Tagen (A) und als Ausschnitt hiervon nach 6 h (B). Bei MNPSNP@RITC-PEG-EFX@DOPC wurde nach 2 h als Freisetzungsmedium eine PBS-Lösung mit 2.5% Triton X-100 eingesetzt.

Neben den unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs wurde als weiteres Wirkstoffträgermaterial das Kern-Schale-Schale-System MNPSNP@PMO mit zusätzlicher PMO-Schale auf die Eignung als Freisetzungssystem von EFX untersucht. Aufgrund der geringen Stabilität von PMO-Materialien unter basischen Bedingungen, wurde bei diesem Partikelsystem die Wirkstoffeinlagerung in einer EFX-Lösung mit einer Massenkonzentration von 2 mg mL^{-1} und einem pH-Wert von 5.0 bei 37 °C für 24 h durchgeführt. Zum Vergleich der Freisetzungsprofile wurden auch unmodifizierte MNPSNPs nach Beladung von EFX unter diesen Einlagerungsbedingungen untersucht.

Zur Bestätigung der erfolgreichen Beladung der unmodifizierten MNPSNP@PMO wurden die Partikelsysteme mittels IR-Spektroskopie analysiert. Das IR-Spektrum mit einem Vergleich zu unbeladenen MNPSNP@PMO ist in Abbildung 5.70 dargestellt. Die zugehörige Zuordnung der Banden zu den Schwingungen der unbeladenen und EFX-beladenen Partikel ist in Tabelle 5.19 zusammengefasst.

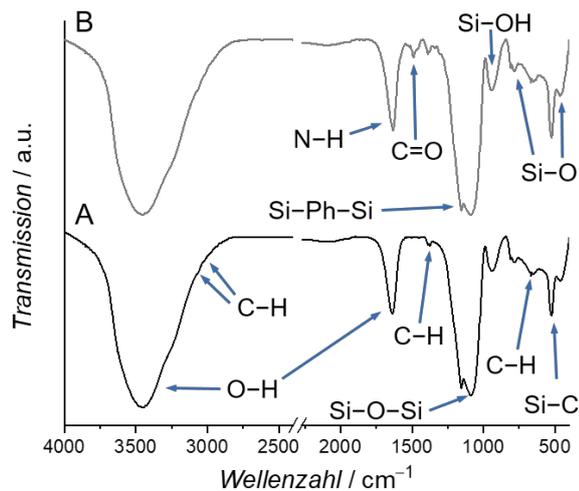


Abbildung 5.70: IR-Spektren von MNPSNP@PMO vor und nach Einlagerung mit Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 5.0. MNPSNP@PMO (A) und MNPSNP@PMO-EFX (B).

Tabelle 5.19: Zuordnung der Schwingungsbanden der IR-Spektren von MNPSNP@PMO (A) und MNPSNP@PMO-EFX (B) vor und nach Einlagerung mit Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 5.0. (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[180,366,367,370,377,381]

A	B	Schwingungsart	Ursache
3452	3452	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
3063	3066	(C-H)-Valenzschwingung	PMO
3014	3014	(C-H)-Valenzschwingung	PMO
-	1635	(N-H)-Deformationsschwingung	EFX
1638	-	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
-	1489	(C=O)-Valenzschwingung	EFX
1377	1386	(C-H)-Deformationsschwingung	PMO/EFX
1156	1155	(Si-Ph-Si)-Valenzschwingung	PMO
1088	1090	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
938	944	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
785	785	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
651	648	(C-H)-Deformationsschwingung	PMO
527	525	(Si-C)-Valenzschwingung	PMO
462	464	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Das beladene Partikelsystem MNPSNP@PMO-EFX weist alle charakteristischen IR-Schwingungen auf, welche auch bei den unbeladenen Kern-Schale-Schale-Systemen

vertreten sind. Auch hier sind bei einer Wellenzahl von 1090 cm^{-1} die intensiven asymmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen erkennbar. Zudem sind die charakteristischen (Si–OH)-Deformationsschwingungen, die symmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen sowie auch die (Si–O–Si)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 944 cm^{-1} , 785 cm^{-1} und 464 cm^{-1} zu erkennen. Die (O–H)-Valenzschwingungen sind durch die breite Bande im Bereich von 3452 cm^{-1} aufgrund von adsorbiertem Wasser begründet. Durch die PMO-Schale sind im IR-Spektrum darüber hinaus bei einer Wellenzahl von 3066 cm^{-1} und 3015 cm^{-1} die (C–H)-Valenzschwingungen sowie bei einer Wellenzahl von 1386 cm^{-1} und 648 cm^{-1} die (C–H)-Deformationsschwingungen des aromatischen Ringes des BTEB detektierbar. Die organische BTEB-Brücke der PMO-Schale wird zudem durch die charakteristischen (Si–Ph–Si)-Valenzschwingungen bei 1155 cm^{-1} sowie die (Si–C)-Valenzschwingungen bei 525 cm^{-1} bestätigt. Nach der Einlagerung mit EFX sind bei dem Partikelsystem zusätzliche charakteristische (C=O)-Valenzschwingungen bei 1489 cm^{-1} durch die Carbonylgruppe sowie auch (N–H)-Deformationsschwingungen im Bereich von 1635 cm^{-1} durch das Chinolon zu erkennen. Die charakteristischen (Fe–O)-Valenzschwingungen wiederum sind nicht vertreten, da sie durch die (Si–C)-Valenzschwingungen im ähnlichen Wellenzahlen-Bereich im Spektrum überdeckt werden.

Zur Bestimmung der Einlagerungsmenge an EFX nach Beladung bei einem pH-Wert von 5.0 wurde an den unmodifizierten MNPSNP-EFX sowie MNPSNP@PMO-EFX die Thermogravimetrie angewendet. Die zugehörigen Thermogramme sind in Abbildung 5.71 abgebildet. Zum Vergleich sind im Anhang in Abbildung 8.9 und Abbildung 8.10 die EFX-beladenden Partikel mit unbeladenen Partikeln dargestellt. Bei den unmodifizierten Partikeln MNPSNP-EFX liegt zwischen einer Temperatur von 120 °C und 700 °C ein Massenverlust von 5.7% vor, was einer Einlagerungsmenge von $57\text{ }\mu\text{g mg}^{-1}$ entspricht. Verglichen zu der Einlagerungsmenge von $75\text{ }\mu\text{g mg}^{-1}$ an Wirkstoff bei MNPSNP-EFX nach Einlagerung bei einem pH-Wert von 8.5 und einer Massenkonzentration von 3 mg mL^{-1} , ist die Wirkstoffmenge nach Beladung unter sauren Bedingungen deutlich verringert. Die geringere Einlagerungsmenge ist in diesem Falle jedoch durch die niedrigere Massenkonzentration von 2 mg mL^{-1} EFX begründet. In Anbetracht der geringeren Massenkonzentration von EFX in der sauren Einlagerungslösung und einer damit verbundenen theoretisch möglichen Einlagerungsmenge von $298\text{ }\mu\text{g mg}^{-1}$ weisen die unmodifizierten MNPSNPs in diesem Fall eine Einlagerungseffizienz von 19.0% auf. Das

beladene Kern-Schale-Schale-System MNPSNP@PMO-EFX besitzt zwischen einer Temperatur von 120 °C und 700 °C einen Massenverlust von 2.6%. Dieser Massenverlust entspricht einer Einlagerungsmenge von 26 $\mu\text{g mg}^{-1}$ und ist folglich deutlich geringer im Vergleich zu den unmodifizierten MNPSNPs. Das beladene Partikelsystem mit zusätzlicher PMO-Schale weist hierbei eine Einlagerungseffizienz von 8.7% auf, was folglich ebenfalls deutlich geringer ist im Vergleich zu den unmodifizierten beladenen MNPSNPs nach der Einlagerung bei einem pH-Wert von 5.0.

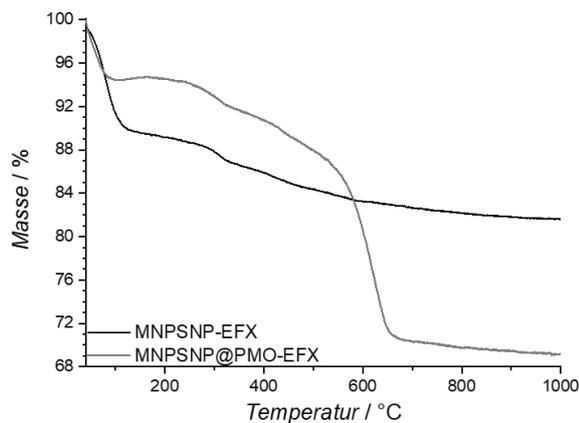


Abbildung 5.71: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten MNPSNPs und MNPSNP@PMOs nach Einlagerung mit Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 5.0. MNPSNP-EFX (schwarz) und MNPSNP@PMO-EFX (grau).

Die Freisetzungsprofile der MNPSNP-EFX und MNPSNP@PMO-EFX nach Einlagerung bei einem pH-Wert von 5.0 sind in Abbildung 5.72 dargestellt. Beide Partikelsysteme zeigen nach der Inkubation in PBS bei 37 °C, ähnlich wie die zuvor vorgestellten unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs, einen *initial burst release*, bei welchem zu Beginn große Mengen an EFX freigesetzt werden. Das unmodifizierte beladene Partikelsystem MNPSNP-EFX weist nach 10 Tagen Inkubationszeit in PBS eine Freisetzungsmenge von 36 $\mu\text{g mg}^{-1}$, wobei nach 6 h bereits 29 $\mu\text{g mg}^{-1}$ abgegeben wurden. Dagegen beträgt die Freisetzungsmenge des unmodifizierten beladenen Partikelsystems MNPSNP@PMO-EFX eine Freisetzungsmenge von 29 $\mu\text{g mg}^{-1}$. In diesem Fall wurden nach 6 h Inkubationszeit in PBS bereits 22 $\mu\text{g mg}^{-1}$ freigesetzt. Verglichen zu den zuvor präsentierten Freisetzungsprofilen der unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs nach Einlagerung von EFX bei einem pH-Wert von 8.5 weisen die beiden Partikelsysteme nach Einlagerung unter sauren Bedingungen bei einem pH-Wert von 5.0 eine deutlich niedrigere

Freisetzungsrates auf. Allerdings ist die Massenkonzentration des Wirkstoffes im Einlagerungsmedium unter sauren Bedingungen mit einer Massenkonzentration von 2 mg mL^{-1} deutlich geringer im Vergleich zu der Einlagerungslösung unter basischen Bedingungen mit einer Massenkonzentration von 3 mg mL^{-1} , weshalb folglich die Einlagerungsmenge an EFX bei den beiden Partikelsystemen nach Einlagerung unter sauren Bedingungen auch deutlich geringer ist.

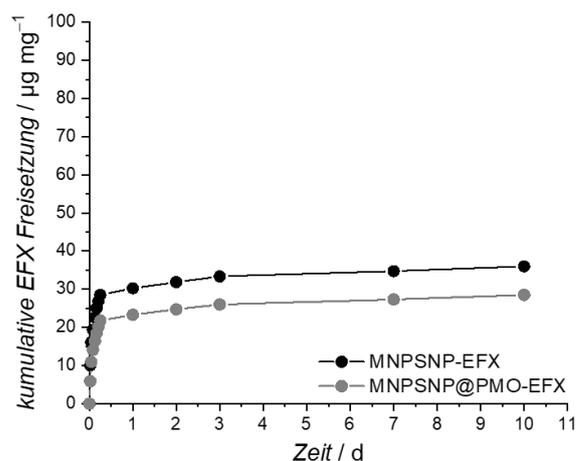


Abbildung 5.72: Kumulative Freisetzung von Enrofloxacin aus den unmodifizierten MNPSNPs und MNPSNP@PMOs bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ in PBS nach Einlagerung bei einem pH-Wert von 5.0. MNPSNP-EFX (schwarz) und MNPSNP@PMO-EFX (grau).

Anhand der vorgestellten Ergebnisse konnte zusammenfassend gezeigt werden, dass sowohl die unmodifizierten als auch die modifizierten MNPSNPs sehr gut zur Einlagerung und Freisetzung des Wirkstoffes Enrofloxacin geeignet sind. In Abhängigkeit der Modifizierung kann hierbei Einfluss auf die Freisetzungsprofile der Partikelsysteme genommen werden. Neben einem *initial burst release* des Wirkstoffes aus den MNPSNPs ermöglicht eine Liposom-Umhüllung der beladenen Partikel auch eine zeitverzögerte Stimulus-bedingte Wirkstoffabgabe, welche die Effizienz der Infektionsbehandlung steigern sowie unerwünschte Nebenwirkungen reduzieren könnte. Dadurch haben die eingesetzten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel ein großes Potential für den Einsatz als Wirkstoffträgersysteme im ID-MDT-Prinzip zur Behandlung von akuten und chronischen Implantat-assoziierten Infektionen.

5.2.2 *In vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel für das ID-MDT-Prinzip

Zur weiteren Beurteilung der Biokompatibilität der zuvor vorgestellten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel für den Einsatz im ID-MDT wurden in Kooperation mit der Tierärztlichen Hochschule Hannover von Dahlhaus et al. weitere *in vitro*-Untersuchungen durchgeführt.^[383] Zu diesem Zweck erfolgten Vitalitäts- und Proliferations-Studien von unmodifizierten MNPSNPs mit ca. 50 nm und 110 nm Partikelgröße sowie auch FITC- und PEG-modifizierte MNPSNPs mit 110 nm Partikelgröße an den Zelllinien NIH-3T3 und HepG2.^[52,383] Es konnte für keine der drei Partikelsorten ein signifikanter Einfluss auf die Proliferation und Vitalität nach 24 h und 48 h mit Partikelkonzentrationen von bis zu 100 mg mL⁻¹ gezeigt werden. Zudem wurden von Dahlhaus et al. MNPSNPs mit ca. 50 nm und 110 nm Partikelgröße an Primärzellen von Mäusen untersucht.^[383] Hierzu wurden Immunzellen (dendritische Zellen und Makrophagen) sowie Knochenzellen (Osteoplasten) gewonnen. Die eingesetzten Nanopartikel wiesen dabei nach sieben Tagen keinen Einfluss auf die Proliferation der Immunzellen auf. Allerdings war die Vitalität nach drei Tagen Behandlung mit den Kern-Schale-Systemen schwach reduziert. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass bei den Immunzellen und Knochenzellen keine erhöhte Produktion von proinflammatorischen Zytokinen aufgrund der Behandlung mit den Partikeln vorlag. Durch die vorliegenden Ergebnisse von Dahlhaus et al. konnte die *in vitro*-Biokompatibilität der MNPSNPs folglich bestätigt werden.^[383]

In Kooperation mit der Medizinischen Hochschule Hannover wurden an den MNPSNPs weitere Studien bezüglich der Biokompatibilität und der Eignung für das ID-MDT-Prinzip von Janßen et al. durchgeführt.^[384] Hierzu wurde zunächst die Akkumulationsfähigkeit von FITC-modifizierten MNPSNPs mit einer Partikelgröße von ca. 110 nm in einem Schlauchsystem mit einer zirkulierenden Partikelsuspension unter Einfluss eines externen magnetischen Feldes mit und ohne magnetisierbarem Plättchen untersucht. Als Plättchen wurde hierbei martensitischer 1.4112 oder ferritischer 1.4521 Chromstahl als Testmaterial sowie die Titan-Legierung Ti90Al6V4 als Kontrollmaterial eingesetzt. Die *in vitro*-Studie zeigte eine signifikant verstärkte Partikelakkumulation am martensitischen Testmaterial im Vergleich zu den anderen Proben. Die Akkumulation der Partikel am ferritischen Stahl war im Vergleich zu den Kontrollen tendenziell aber nicht signifikant erhöht. Weitere Untersuchungen mit einer verlängerten Zirkulationszeit nach Entfernen des externen magnetischen Feldes bestätigten zudem die remanente Eigenschaft des martensitischen

Stahls, da die Akkumulation signifikant erhöht war.^[52,384] In weiteren Studien wurde von Janßen et al. *in vivo* im Maus-Modell die Distribution und Biokompatibilität von RITC- und PEG-modifizierten MNPSNPs mit einer Partikelgröße von ca. 110 nm in Kombination mit Implantatmaterialien und einem externen magnetischen Feld analysiert. Zu diesem Zweck wurden im Maus-Modell auf Höhe des Femurs subkutan jeweils ein Implantat aus ferritischem Stahl als Testmaterial sowie Ti90Al6V4 als Kontrollmaterial implantiert. Für die Studien wurden die modifizierten MNPSNPs subkutan verabreicht, gefolgt von einer Applikation eines externen magnetischen Feldes an beiden Hintergliedmaßen. Dabei lagen zwischen den beiden Implantatmaterialien keine signifikanten Unterschiede nach Auswertung des Implantatbereiches mittels Fluoreszenzmikroskopie vor. Abgesehen von einem Lymphknoten erfolgte keine Distribution der MNPSNPs in Organe.^[52,384] Neben der subkutanen Verabreichung der Partikel wurden bei weiteren fünf Versuchsgruppen die MNPSNPs intravenös injiziert. Die Versuchsgruppen unterschieden sich in den Arbeiten durch den Euthanasie-Zeitpunkt (nach 15 Minuten, 1, 7, 21 oder 42 Tag(en)). Dagegen waren die restlichen Versuchsbedingungen unverändert. Bei den Versuchen lag kein signifikanter Materialunterschied vor und die Partikelkonzentrationen im Implantatbereich bzw. an dessen Oberflächen waren abgesehen vom längsten Versuchszeitraum vergleichsweise sehr gering. Jedoch konnten in den Organen zwei Verteilungsmuster festgestellt werden. So wurden zu Beginn in Lunge, Blut, Gehirn und Nieren jeweils die höchste Partikelkonzentrationen festgestellt. Dagegen lagen nach einem Tag signifikant weniger bis keine Partikel vor. Die Partikelkonzentrationen in Leber und Milz waren zu Beginn ebenfalls hoch und sanken nur langsam ab. Generell konnten in den Organen nach subkutaner und intravenöser Partikel-Injektion keine klinischen und signifikant pathomorphologischen Veränderungen beobachtet werden, sodass auch hier die generell gute Biokompatibilität der MNPSNPs bestätigt werden konnte.^[53,384]

Die Ergebnisse von Janßen et al. zeigten, dass das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting noch nicht in dem für eine Therapie benötigtem Maße zur effektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen durchgeführt werden konnte. Insbesondere die geringe Partikelkonzentration in der Implantatregion aufgrund eines hohen Ausmaßes von Phagozytose in den Organen stellt hierbei eine große Problematik dar. Darüber hinaus könnten eine verminderte Gefäßpermeabilität im Implantatbereich des Mausmodells, welche für die Extravasation der Partikel notwendig ist, sowie die geringe

magnetische Permeabilität des ferritischen Implantatmaterials durch die kleine Dimension, erschwerend für das ID-MDT sein.^[384]

In weiterführenden Studien von Reifenrath et al. wurden die RITC- und PEG-modifizierten MNPSNPs mit einer Partikelgröße von ca. 110 nm im Maus-Modell eingesetzt, um den Einfluss durch das mononukleäre Phagozyten-System (MPS) sowie durch Implantat-assoziierte Infektionen an sich für das ID-MDT-Prinzip zu untersuchen.^[54] Zu diesem Zweck wurden in unterschiedlichen Versuchsgruppen Permanentmagnete als Testmaterial und eine paramagnetische Titanlegierung als Kontrollmaterial jeweils nach unterschiedlichen Behandlungen verwendet. Neben dem Einsatz von Implantaten, in welchem das MPS-System durch Chlodronat-Phosphat geschwächt wurde, erfolgten zudem Untersuchungen mit Implantaten, bei denen eine Infektion durch Präkultivierung mit *Staphylococcus aureus* simuliert wurde. In den Studien konnte eine gezielte Akkumulation der MNPSNPs auf der Oberfläche und der Umgebung magnetischer Implantate bestätigt werden. Dabei konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Wege der lokalen Extravasation auftraten sowie Makrophagen eine entscheidende Rolle bezüglich der Interaktion mit den MNPSNPs einnahmen.^[54] Auch wenn das Ziel einer effizienten Therapie noch nicht vollständig erreicht werden konnte, besitzt das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting mittels der multifunktionalen MNPSNPs ein großes Potential für eine zielgerichtete Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen.

5.2.3 Zusammenfassung

Der zweite Teil dieser Arbeit behandelt die Ergebnisse der Einlagerung und Freisetzung des Wirkstoffes Enrofloxacin (EFX) aus unmodifizierten und modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln. In den Freisetzungsstudien konnte gezeigt werden, dass sowohl die unmodifizierten als auch die PEG-modifizierten MNPSNPs und die MNPSNPs nach einer simultanen Modifizierung mit RITC und PEG einen *initial burst release* mit einer raschen Freisetzung des EFX zu Beginn aufweisen. Dabei konnte bei den PEG-modifizierten beladenen MNPSNPs eine höhere Freisetzungsrates nachgewiesen werden, welche auf Wechselwirkungen durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Wirkstoff und den PEG-Molekülen beruhen. Eine Möglichkeit zur Herstellung eines Freisetzungssystems mit einer zeitverzögerten Wirkstoffabgabe bestand in der Umhüllung der EFX-beladenen MNPSNPs mit einer Doppellipidschicht. Zu diesem Zweck wurden

RITC-modifizierte MNPSNPs nach Beladung mit EFX mit Liposomen bestehend aus DOPC eingeschlossen. Das Freisetzungsprofil zeigte hierbei einen zeitverzögerten Release zu Beginn der Studie. Die Zugabe einer PBS-Lösung mit 2.5% des Tensids Triton X-100 führte nach Auflösung der Liposom-Hülle zu einer deutlichen Erhöhung der Freisetzungsrates. Die Liposom-Umhüllung von EFX-beladenen MNPSNPs ermöglicht somit eine Stimulusbedingte Wirkstofffreisetzung mit großem Potential für das ID-MDT-Prinzip. Für weitere Freisetzungsstudien wurden neben unmodifizierten MNPSNPs auch die unmodifizierten MNPSNP@PMOs mit zusätzlicher PMO-Schale nach einer Einlagerung in einer EFX-Lösung bei einem sauren pH-Wert von 5.0 verwendet. Auch bei diesen beiden Partikelsystemen zeigten die Freisetzungsprofile einen *initial burst release*. Allerdings war aufgrund der geringeren Massenkonzentration der eingesetzten EFX-Lösung die Freisetzungsrates niedriger verglichen zu den zuvor vorgestellten unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs nach Einlagerung bei einem basischen pH-Wert von 8.5.

Neben der Vorstellung der Ergebnisse der Freisetzungsstudien erfolgte in diesem Kapitel zudem ein Auszug aus den Ergebnissen von *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen der MNPSNPs aus der Kooperation mit der Tierärztlichen Hochschule Hannover und der Medizinischen Hochschule Hannover bezüglich der Biokompatibilität und Eignung für das ID-MDT-Prinzip. Dahlhaus et al. konnten in *in vitro*-Untersuchungen mittels Vitalitäts- und Proliferationsstudien von unmodifizierten MNPSNPs mit ca. 50 nm und 110 nm Partikelgröße sowie auch RITC- und PEG-modifizierten MNPSNPs mit 110 nm Partikelgröße an den Zelllinien NIH-3T3 und HepG2 die Biokompatibilität bestätigen. Darüberhinaus zeigten zusätzliche Untersuchungen der MNPSNPs an Primärzellen von Mäusen weitere vielversprechende Ergebnisse.^[52,383]

Zur Beurteilung der Eignung des ID-MDT-Prinzips wurden von Janßen et al die Akkumulationsfähigkeit von FITC-modifizierten MNPSNPs im *in vitro*-Modell untersucht. Dabei konnten eine verstärkte Partikelakkumulation sowie remanente Eigenschaften an einem martensitischen Testimplantat bestätigt werden. Weitere Studien *in vivo* im Mausmodell mit RITC- und PEG-modifizierten MNPSNPs zeigten zudem gute Ergebnisse bezüglich der Biokompatibilität. Das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting konnte jedoch noch nicht hinreichend für eine effektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen realisiert werden, da aufgrund von Phagozytose durch Makrophagen die Partikelkonzentration auf dem Implantat und in der Umgebung sehr gering war. Der Einfluss für das ID-MDT-Prinzip durch das mononukleäre Phagozyten-

System (MPS) sowie durch Implantat-assoziierte Infektionen an sich konnte von Reifenrath et al. bestätigt werden.^[52–54,384]

Zusammenfassend bieten die hier entwickelten multifunktionalen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel durch ihre Materialeigenschaften sowie der sehr guten Biokompatibilität sehr gute Grundvoraussetzungen für den Einsatz als Wirkstoffträger- und Freisetzungssysteme für das ID-MDT-Prinzip. Durch weitere Optimierung der Partikeleigenschaften sowie Reduzierung weiterer Störfaktoren im *in vivo*-Modell in Folgestudien sollte eine frühzeitige Phagozytose verhindert und die Partikelakkumulation in der Implantatregion verbessert werden, um somit die Effektivität des ID-MDT-Prinzips für eine zielgerichtete Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen zu erhöhen.

5.3 Magnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit hydrophilen Eisenoxid-Nanopartikeln

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Entwicklung von magnetischen Silica-Partikeln (MSPs) als Kern-Schale-Systeme für das magnetische Wirkstoff-Targeting beschrieben. Hierbei werden zunächst die Eigenschaften der hydrophilen Citrat-stabilisierten Eisenoxid-Nanopartikel (Fe_3O_4 NPs) diskutiert, welche als Kernmaterial der MSPs dienen. Im nächsten Schritt werden die Eigenschaften der unmodifizierten MSPs mit ihrer nanoporösen Silica-Schale beschrieben, gefolgt von einer Diskussion der MSPs nach einer simultanen Synthese und Modifizierung mit dem organischen Fluorophor FITC. Darüber hinaus wird ein Auszug aus den Ergebnissen von *in vitro*-Studien der MSP@FITC aus der Kooperation mit dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig bezüglich Partikelaufnahme durch Makrophagen und Eignung für das magnetische Wirkstoff-Targeting vorgestellt.

5.3.1 Charakterisierung der hydrophilen Eisenoxid-Nanopartikel

Als Kernmaterial für die magnetischen Silica-Partikel für das magnetische Wirkstoff-Targeting dienten hydrophile Citrat-stabilisierte Fe_3O_4 NPs, welche nach einer modifizierten Synthese von Yathindranath et al. hergestellt wurden.^[367] Die TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der Fe_3O_4 NPs sind in Abbildung 5.73 dargestellt.

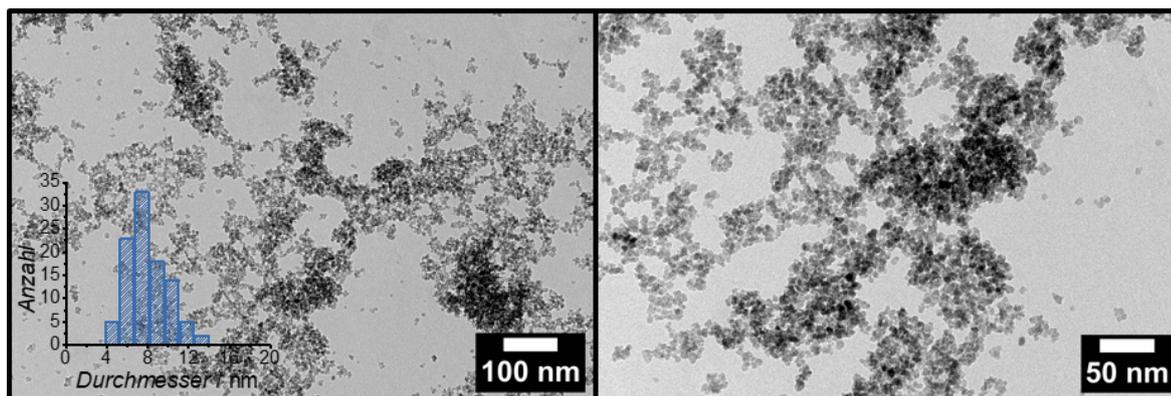


Abbildung 5.73: TEM-Aufnahmen der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mit Partikelgrößenverteilung.

Die magnetischen Kerne besitzen eine mittlere Partikelgröße von 9 ± 2 nm und erfüllen ähnlich wie die zuvor vorgestellten hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs sehr gute Grundvoraussetzungen für Superparamagnetismus, für welchen die Partikelgröße unter 30 nm liegen sollte.^[77,130]

Neben der transmissionselektronenmikroskopischen Analyse wurde die Partikelgröße auch mittels dynamischer Lichtstreuung in Wasser charakterisiert. In Abbildung 5.74 sind die Größenverteilungen des hydrodynamischen Durchmessers von drei Einzelmessungen abgebildet.

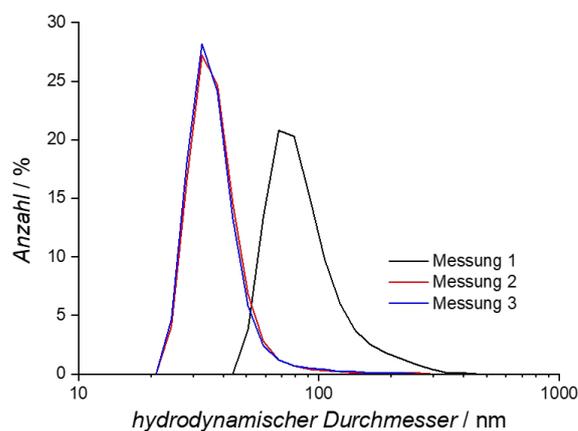


Abbildung 5.74: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilung der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mittels DLS. Nach ^[77].

Der mittlere hydrodynamische Durchmesser beträgt 39 nm bei einem PDI-Wert von 0.351 und basiert auf den Ergebnissen der Einzelmessungen 2 und 3. Der größere Partikeldurchmesser im Vergleich zu dem Durchmesser der TEM-Analyse mit 9 nm ist bei der DLS-Analyse durch die zusätzlich detektierte Solvationshülle begründet. Allerdings

ist auch eine deutliche Partikelagglomeration der Kerne durch den mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 92 nm aus Einzelmessung 1 erkennbar. Dieser hohe Durchmesser ist in den Folgemessungen während der Analyse aufgrund von Sedimentation der großen Partikelagglomerate nicht mehr ersichtlich.

Im Falle der hydrophilen Fe_3O_4 NPs wurde zur Stabilisierung und Prävention einer Oxidation von Magnetit (Fe_3O_4) zu dem schwächer magnetischen Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) Citrat als Ligand verwendet. Zur Charakterisierung der Citrat-Stabilisierung wurden die magnetischen Kerne mittels IR-Spektroskopie analysiert. Das zugehörige IR-Spektrum der Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs ist in Abbildung 5.75 dargestellt und in Tabelle 5.20 ist die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen zusammengefasst. In dem Spektrum sind bei der Bande mit der höchsten Intensität bei einer Wellenzahl von 586 cm^{-1} die charakteristischen (Fe–O)-Valenzschwingungen zu erkennen. Darüber hinaus sind die charakteristischen (C–O)-Valenzschwingungen der Carboxylgruppe des Citrats als Stabilisierungsligand bei einer Wellenzahl von 1392 cm^{-1} und 1608 cm^{-1} lokalisiert. Die breite Bande bei einer Wellenzahl von 3415 cm^{-1} ist durch (O–H)-Valenzschwingungen durch adsorbiertes Wasser begründet.^[77]

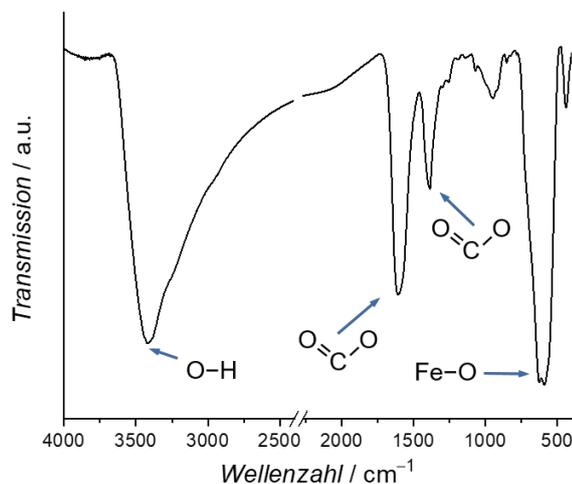
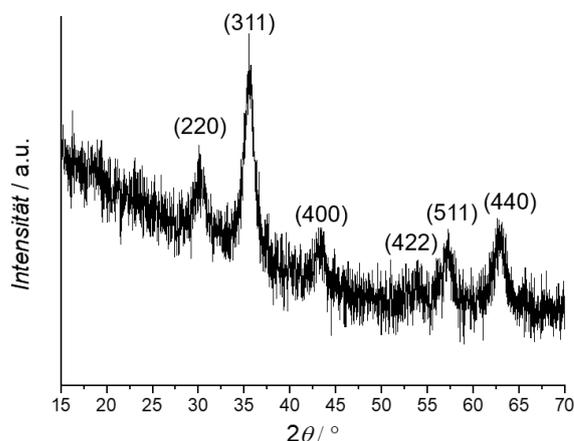


Abbildung 5.75: IR-Spektrum der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs. Nach ^[77].

Tabelle 5.20: Zuordnung der Schwingungsbanden des IR-Spektrums der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs.^[177,178,366,367]

Wellenzahl [cm^{-1}]	Schwingungsart	Ursache
3415	(O–H)-Valenzschwingung	Wasser
1608	(C–O)-Valenzschwingung	Citrat
1392	(C–O)-Valenzschwingung	Citrat
587	(Fe–O)-Valenzschwingung	Eisenoxid

Die magnetischen Kerne wurden zudem mittels Röntgen-Pulverdiffraktometrie analysiert und das zugehörige Diffraktogramm ist in Abbildung 5.76 abgebildet. Auch in diesem Diffraktogramm sind alle charakteristischen Reflexe des Magnetits erkennbar.^[367] Aufgrund der nanopartikulären Größe der Fe_3O_4 NPs liegen verbreiterte Reflexe vor. Durch diese Reflexverbreiterung ist eine Partikelgrößenbestimmung der Kerne durch Scherrer realisierbar.^[363] Dabei konnte bei der Auswertung bei dem intensivsten Reflex bei $2\theta = 35.5^\circ$ (311) eine Partikelgröße von 13 nm bestimmt werden.

**Abbildung 5.76:** Röntgen-Pulverdiffraktogramm der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs. Die charakteristischen Reflexe des Magnetits entsprechen folgenden 2θ -Werten: (220): 30.1° , (311): 35.5° , (400): 43.5° , (422): 53.8° , (511): 57.3° , (440): 62.7° .

Mittels der thermogravimetrischen Analyse wurde an den Fe_3O_4 NPs die Menge an Citrat als Stabilisierungsliganden bestimmt. Das zugehörige Thermogramm ist in Abbildung 5.77 gezeigt.

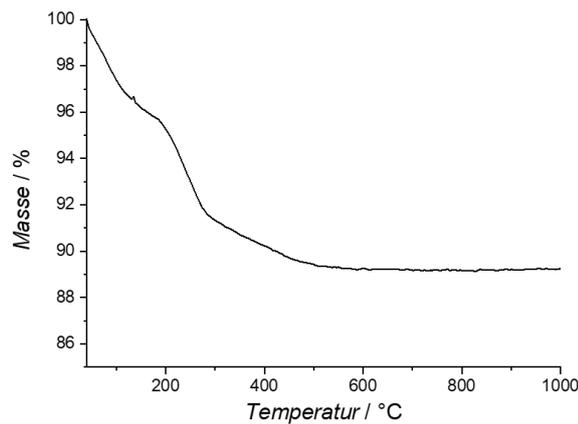


Abbildung 5.77: Thermogravimetrische Analyse der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs.

Bis zu einer Temperatur von 120 °C liegt ein Massenverlust von 3.2% vor, welcher durch adsorbiertes Lösungsmittel wie zum Beispiel Wasser begründet ist. Der Massenverlust von 7.6% zwischen einer Temperatur von 120 °C und 700 °C ist auf die Verbrennung des organischen Citrats zurückzuführen. Die magnetischen Kerne besitzen nach der Verbrennung eine Restmasse von 89.2%.

Analog zu den zuvor vorgestellten hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs wurden an den hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs die magnetischen Eigenschaften mit einem Vibrationmagnetometer untersucht. In Abbildung 5.78 ist die zugehörige Magnetisierungskurve bei Raumtemperatur abgebildet.

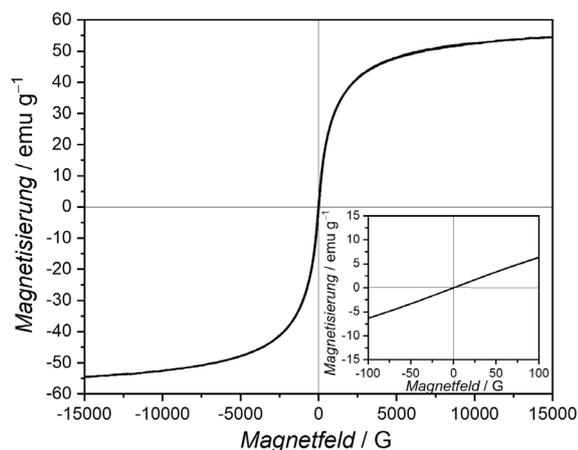


Abbildung 5.78: Magnetisierungskurve der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs im Hochfeld bei Raumtemperatur. Unten rechts ist die Magnetisierungskurve im Niedrigfeld abgebildet.

Anhand der Magnetisierungskurve konnte bei den magnetischen Kernen eine Sättigungsmagnetisierung von 55 emu g^{-1} bestimmt werden. Zudem weist die Kurve keine Hysterese und somit auch keine Remanenz auf, sodass an diesen Fe_3O_4 NPs ebenfalls superparamagnetisches Verhalten bestätigt werden konnte. Insbesondere in der Magnetisierungskurve im Niedrigfeld ist keine Restmagnetisierung erkennbar. Der Superparamagnetismus der hydrophilen magnetischen Kerne ist auch für die Anwendung im magnetischen Wirkstoff-Targeting eine wichtige Eigenschaft, da durch die fehlende Restmagnetisierung nach Abschalten eines externen angelegten magnetischen Feldes das Risiko einer Partikelaggregation vermindert wird.

An den hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs wurden neben der Analyse der magnetischen Eigenschaften auch die Hyperthermie-Eigenschaften charakterisiert. Die Hyperthermie-Messung der magnetischen Nanopartikel in Wasser in einem magnetischen Wechselfeld ist Abbildung 5.79 dargestellt.

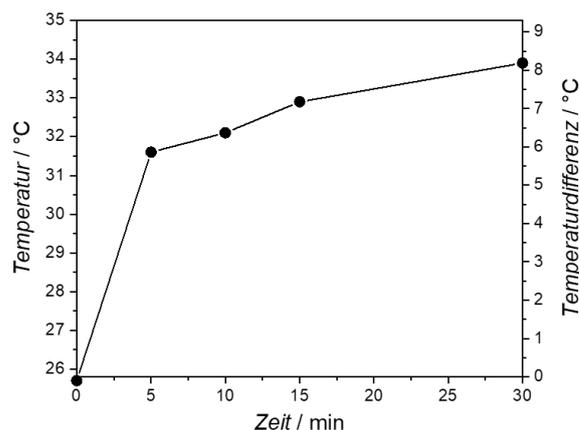


Abbildung 5.79: Hyperthermie-Messung der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs in Wasser im magnetischen Wechselfeld.

Anhand der Temperaturkurve ist in den ersten 5 Minuten ein starker Temperaturanstieg aufgrund des Einflusses des magnetischen Wechselfeldes erkennbar. Nach 30 Minuten weisen die Partikel eine Temperatur von 33.9 °C mit einem Temperaturanstieg von 8.2 °C auf.

Mit der kleinen Partikelgröße, dem Superparamagnetismus sowie der Möglichkeit zur Hyperthermie besitzen auch die hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs folglich sehr gute Eigenschaften für den Einsatz als Kernmaterial für die Entwicklung von Kern-Schale-Partikelsystemen für das magnetische Wirkstoff-Targeting.

5.3.2 Charakterisierung der unmodifizierten und modifizierten magnetischen Silica-Partikel

Für die Herstellung der magnetischen Silica-Partikel (MSP) wurden die zuvor beschriebenen hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs als Kernmaterial eingesetzt. Anders als bei den zuvor vorgestellten MNPSNPs mit ihren hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs ist für die Synthese der nanoporösen Silica-Schale um die hydrophilen magnetischen Kerne kein Phasentransfer notwendig. Für die Formation der nanoporösen Silica-Hülle der MSPs wird ebenfalls CTAB als strukturdirigierendes Agens verwendet, welches im Anschluss durch eine Calcination oder einen Ionenaustausch entfernt werden kann. Abbildung 5.80 zeigt TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der MSPs nach Calcination.

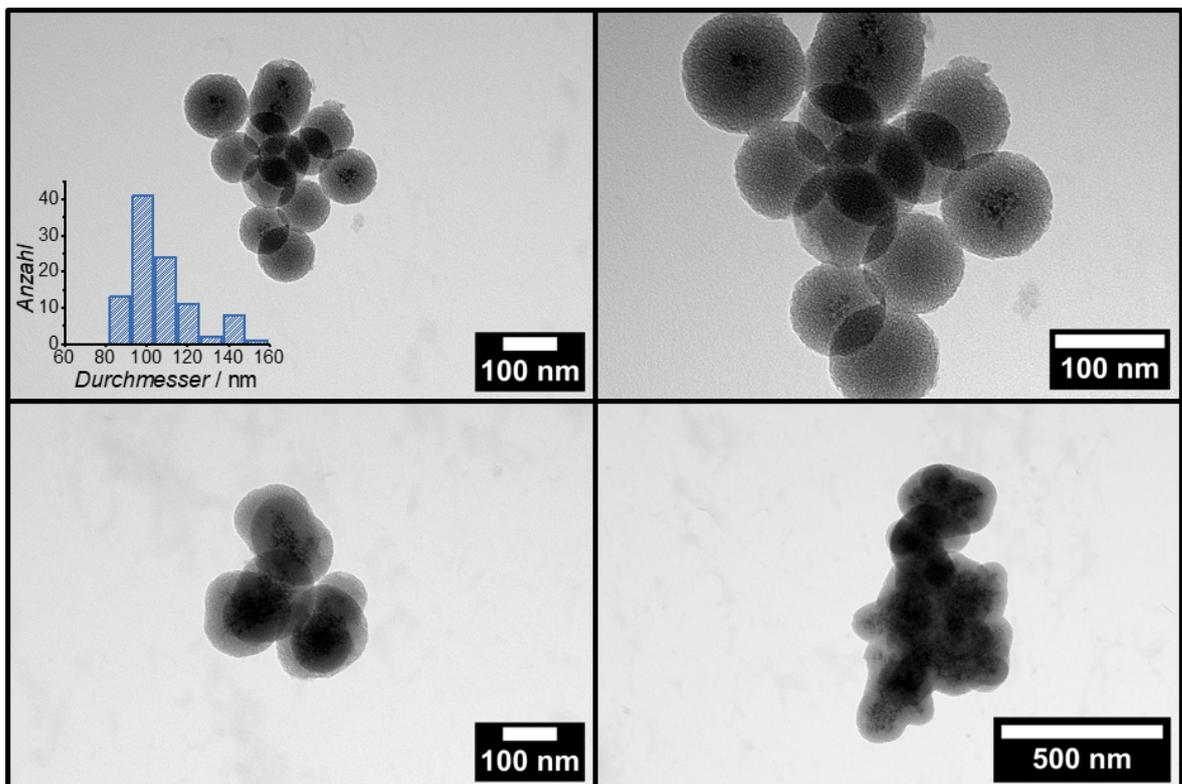


Abbildung 5.80: TEM-Aufnahmen der magnetischen Silica-Partikel (MSPs) mit Partikelgrößenverteilung.

Anhand der TEM-Aufnahmen sind sphärische Kern-Schale-Systeme mit einer Partikelgröße von 112 ± 16 nm ersichtlich, in denen die magnetischen Kerne als dunkle Spots erkennbar sind. Allerdings liegen auch kernlose Silica-Partikel vor, welche während der Silica-Synthese als Nebenprodukte entstanden sind. Neben den sphärischen

Partikelsystemen sind zudem sehr große nichtsphärische magnetische Kern-Schale-Systeme mit Abmessungen von über 1000 nm und einer großen Anzahl an magnetischen Kernen entstanden. Aufgrund der sehr unterschiedlichen Partikelgrößen und Morphologie kann folglich eine Monodispersität nicht bestätigt werden. Allerdings ist in allen Partikelsystemen der MSPs die Porosität der Silica-Schale zu erkennen, welche durch den Einsatz des CTABs gebildet wurde und eine wichtige Grundvoraussetzung für eine potenzielle Wirkstoffeinlagerung ist.

Die Partikelgröße und deren Verteilung wurden ebenfalls mittels DLS untersucht und die Größenverteilungen der hydrodynamischen Durchmesser der unmodifizierten MSPs sind anhand von drei Einzelmessungen in Abbildung 5.81 dargestellt.

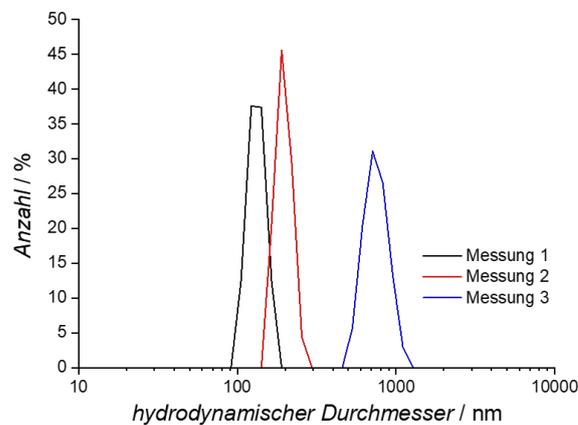


Abbildung 5.81: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen der magnetischen Silica-Partikel (MSPs) mittels DLS.

Durch die DLS-Messungen wurden hydrodynamische Durchmesser von 133 nm (Einzelmessung 1), 197 nm (Einzelmessung 2) sowie 756 nm (Einzelmessung 3) bestimmt. Diese Ergebnisse bestätigen die Polydispersität der Partikelsysteme, welche durch die sphärischen Partikel sowie die großen nichtsphärischen Partikelsysteme begründet ist.

Zur weiteren Charakterisierung wurden die unmodifizierten MSPs mittels IR-Spektroskopie nach der Calcination analysiert. Das zugehörige IR-Spektrum ist in Abbildung 5.82 dargestellt und die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen ist in Tabelle 5.21 aufgeführt. Das Spektrum der unmodifizierten MSPs ist sehr ähnlich zu dem Spektrum der zuvor vorgestellten MNPSNPs. Bei einer Wellenzahl von 1083 cm^{-1} sind die sehr intensiven asymmetrischen (Si–O–Si)-Valenzschwingungen lokalisiert. Auch die charakteristischen (Si–OH)-Deformationsschwingungen, die symmetrischen (Si–O–Si)-

Valenzschwingungen sowie darüber hinaus die (Si–O–Si)-Deformationsschwingungen bei Wellenzahlen von 968 cm^{-1} , 801 cm^{-1} und 462 cm^{-1} sind aufgrund der Silica-Schale der Partikel erkennbar. Die Bande bei einer Wellenzahl von 581 cm^{-1} ist durch die (Fe–O)-Valenzschwingungen der magnetischen Kerne begründet. Zudem sind im Spektrum die (O–H)-Valenzschwingungen sowie die (O–H)-Deformationsschwingungen durch adsorbiertes Wasser durch eine breite Bande bei 3426 cm^{-1} sowie durch eine weitere Bande bei 1633 cm^{-1} vertreten.

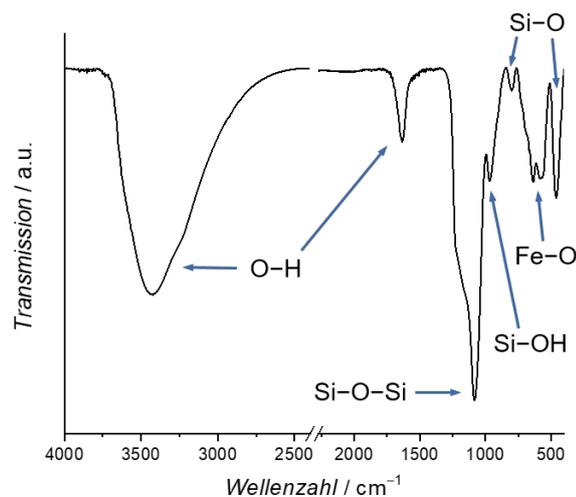


Abbildung 5.82: IR-Spektrum der magnetischen Silica-Partikel (MSPs).

Tabelle 5.21: Zuordnung der Schwingungsbanden des IR-Spektrums der magnetischen Silica-Partikel (MSPs) (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[178,180,366,367,370]

Wellenzahl [cm^{-1}]	Schwingungsart	Ursache
3426	(O–H)-Valenzschwingung	Wasser
1633	(O–H)-Deformationsschwingung	Wasser
1083	(Si–O–Si)-Valenzschwingung	Silica
968	(Si–OH)-Valenzschwingung	Silica
801	(Si–O–Si)-Valenzschwingung	Silica
581	(Fe–O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
462	(Si–O–Si)-Deformationsschwingung	Silica

Wie zuvor die magnetischen Kerne wurden auch die MSPs mittels Röntgenpulver-Diffraktometrie charakterisiert. In Abbildung 5.83 ist das zugehörige Diffraktogramm

abgebildet. Hierbei sind wieder die charakteristischen Reflexe des Magnetits erkennbar, wie sie auch bei den hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs detektiert wurden.^[367]

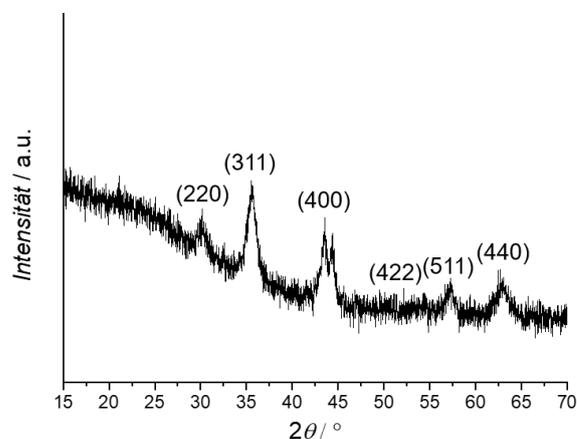


Abbildung 5.83: Röntgen-Pulverdiffraktogramm der magnetischen Silica-Partikel (MSPs). Die charakteristischen Reflexe des Magnetits entsprechen folgenden 2θ -Werten: (220): 30.1° , (311): 35.5° , (400): 43.5° , (422): 53.8° , (511): 57.3° , (440): 62.7° .

Zur Beurteilung der Eignung als Wirkstoffträgersystem wurde das Porensystem der unmodifizierten MSPs mit Hilfe der Stickstoff-Physisorption untersucht. In Abbildung 5.84 sind die zugehörige Isotherme mit Adsorption und Desorption sowie die Porenweitenverteilung dargestellt.

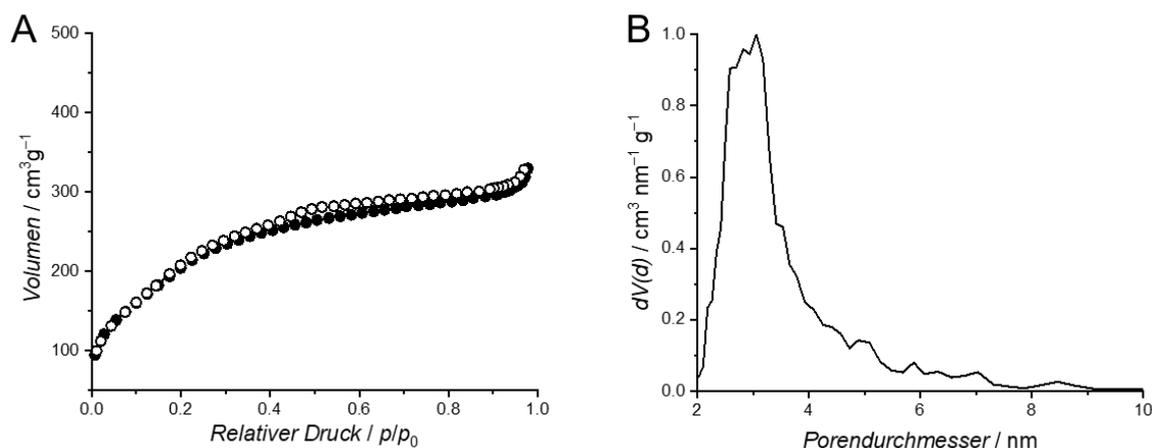


Abbildung 5.84: Stickstoff-Physisorptionsisotherme mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) (A) und Porenweitenverteilung (B) der magnetischen Silica-Partikel (MSPs).

Nach IUPAC liegt auch bei den MSPs eine charakteristische Typ IV-Isotherme für mesoporöse Systeme vor.^[215] Dabei ist eine schwach ausgeprägte Hysterese zu erkennen,

die durch Porenkondensation erklärt werden kann. Die BET-Oberfläche beträgt $790 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ und ist durch das Porensystem begründet, welches unter Einsatz von CTAB als strukturdirigierendes Agens bei der Silica-Synthese gebildet wurde. Bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0.97$ wurde ein Porenvolumen von $0.5 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ bestimmt. Die MSPs weisen zudem unter Anwendung der DFT-Methode einen mittleren Porendurchmesser von 3.1 nm auf. Damit liegt mit den MSPs ein weiteres Partikelsystem mit einer hohen Porosität vor, das ein großes Potential für eine potenzielle Wirkstoff-Einlagerung bietet.

Die Charakterisierung der magnetischen Eigenschaften der MSPs erfolgte analog zu den MNPSNPs mittels Vibrationsmagnetometer und ist anhand der Magnetisierungskurve bei Raumtemperatur in Abbildung 5.85 abgebildet.

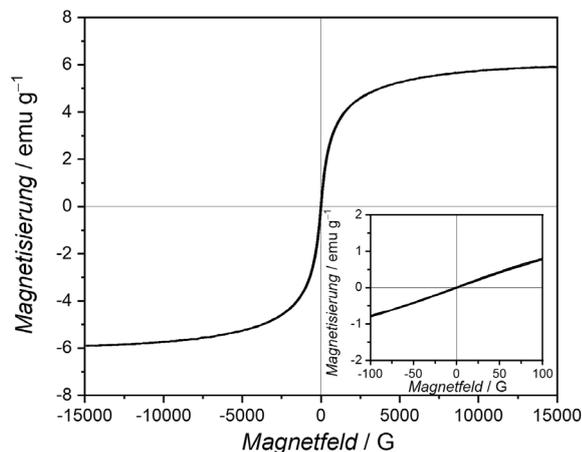


Abbildung 5.85: Magnetisierungskurve der magnetischen Silica-Partikel (MSPs) im Hochfeld bei Raumtemperatur. Unten rechts ist die Magnetisierungskurve im Niedrigfeld abgebildet.

Die MSPs besitzen eine Sättigungsmagnetisierung von 6 emu g^{-1} , welche deutlich unter der Sättigungsmagnetisierung der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs mit 55 emu g^{-1} liegt. Ähnlich wie bei den MNPSNPs ist die verringerte Sättigungsmagnetisierung der MSPs verglichen zu den Kernen durch die geringere Menge an magnetischem Material in dem Kern-Schale-System mit der Silica-Schale zu erklären. Anhand der Magnetisierungskurven im Hochfeld und Niedrigfeld ist wie bei den Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs keine Hysterese zu erkennen. Somit zeigen auch die MSPs superparamagnetisches Verhalten ohne Remanenz nach Entfernung eines externen angelegten magnetischen Feldes.

Neben dem Vergleich der magnetischen Eigenschaften der magnetischen Kerne sowie der MSPs wurden auch die Hyperthermie-Eigenschaften der Kern-Schale-Systeme mit den

hydrophilen Fe_3O_4 NPs verglichen. Die Ergebnisse der Hyperthermie-Analyse der MSPs mit Vergleich zu den Kernen sind in Abbildung 5.86 dargestellt.

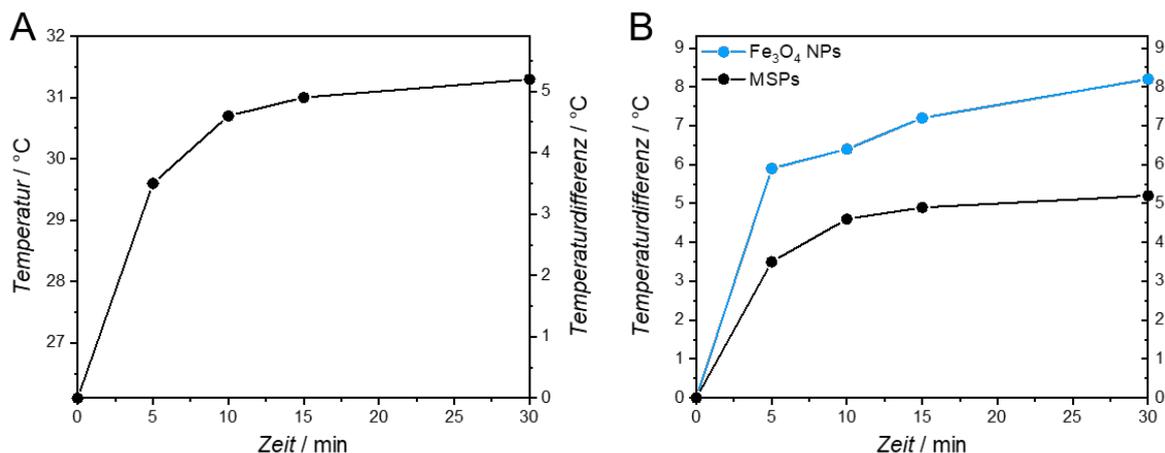


Abbildung 5.86: Hyperthermie-Messung der magnetischen Silica-Partikel (MSPs) in Wasser im magnetischen Wechselfeld (A) und Vergleich der MSPs (schwarz) mit den hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs (blau) (B).

Ähnlich wie bei den magnetischen Kernen ist auch bei den MSPs in den ersten 5 Minuten ein deutlicher Temperaturanstieg erkennbar. Aufgrund der superparamagnetischen Eigenschaften weisen die Kern-Schale-Systeme nach 30 Minuten unter Einfluss eines externen magnetischen Wechselfeldes eine Temperatur von 31,3 °C mit einem Temperaturanstieg von 5,2 °C auf. Wie bei den zuvor vorgestellten MNPSNPs ist auch das Hyperthermie-Verhalten der MSPs verglichen mit den reinen magnetischen Kernen mit einer Temperatur von 33,9 °C und einem Temperaturanstieg von 8,2 °C deutlich schwächer. Die schwächeren Hyperthermie-Eigenschaften der MSPs resultieren auch hier durch den deutlich geringeren Anteil an magnetischem Material in den Kern-Schale-Partikeln. Die Silica-Matrix ist zudem im magnetischen Wechselfeld inaktiv sowie isolierend bezüglich der Wärmeübertragung in dem wässrigen Medium. Somit liegen mit den MSPs hochporöse Kern-Schale-Partikelsysteme vor, welche durch ihre superparamagnetischen Eigenschaften und der Möglichkeit zur Hyperthermie in einem magnetischen Wechselfeld sehr gute Grundvoraussetzungen für einen Einsatz im magnetischen Wirkstoff-Targeting (MDT) besitzen.

Für die Weiterentwicklung der MSPs bestand der nächste Schritt in der Funktionalisierung mit einem organische Fluorophor, um eine Detektion der Partikel in *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen zu ermöglichen. Zu diesem Zweck wurde das

organische Fluorophor FITC mit einer grünen Fluoreszenz verwendet und während der Silica-Synthese der MSPs simultan mit dem Silica-Präkursor TEOS eingesetzt. Nach der simultanen Synthese und Funktionalisierung der MSPs erfolgte eine Entfernung des strukturdirigierenden Agens CTAB zur Freilegung des Porensystems durch einen Ionenaustausch. In Abbildung 5.87 sind TEM-Aufnahmen sowie die Partikelgrößenverteilung der funktionalisierten Kern-Schale-Partikel MSP@FITC abgebildet.

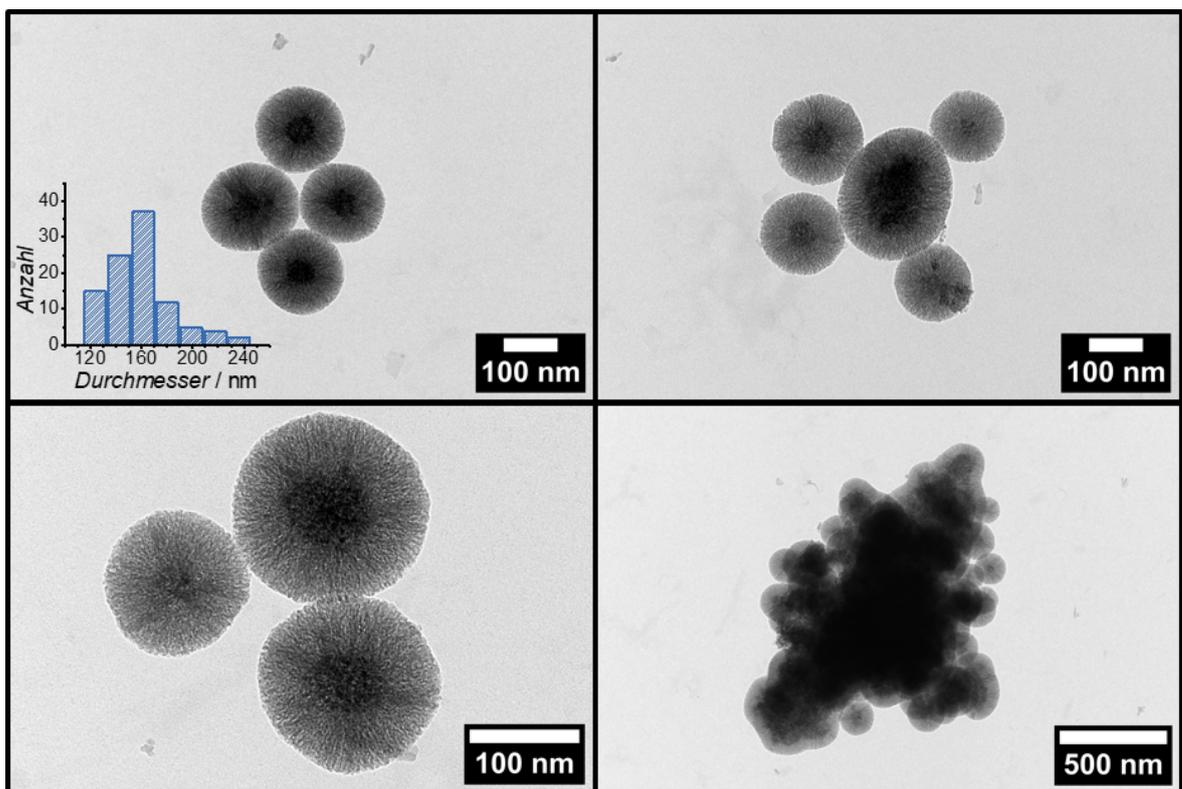


Abbildung 5.87: TEM-Aufnahmen von MSP@FITC mit Partikelgrößenverteilung. Nach ^[77].

Mit MSP@FITC liegen sphärische Kern-Schale-Partikel mit einer Partikelgröße von 168 ± 27 nm vor. Auch in diesen Partikelsystem sind anhand der dunklen Spots die magnetischen Kerne erkennbar. Allerdings sind die magnetischen Kerne innerhalb der funktionalisierten MSPs stärker agglomeriert als bei den unmodifizierten MSPs. Durch die stärkere Agglomeration können auch die höheren Partikelgrößen verglichen zu den unmodifizierten MSPs (112 ± 16 nm) erklärt werden. Aufgrund der größeren Partikelagglomerate der Fe_3O_4 NPs sind bei der Schalen-Synthese weniger Nukleationszentren für die Formation der Silica-Matrix vorhanden, sodass mehr große

Kern-Schale-Partikel gebildet werden.^[62] Anders als bei den unmodifizierten MSPs sind anhand der TEM-Aufnahmen bei MSP@FITC keine kernlosen Partikel zu erkennen. Jedoch sind auch bei den funktionalisierten Kern-Schale-Systemen neben sphärischen Partikeln sehr große nichtsphärische Partikel mit Abmessungen von über 500 nm und einer großen Anzahl an magnetischen Kernen entstanden. Die Porosität der Silica-Schale der funktionalisierten Partikel MSP@FITC ist wie bei den unmodifizierten Partikeln deutlich erkennbar.^[77]

Auch bei den funktionalisierten Partikelsystemen MSP@FITC wurden die Partikelgröße und deren Verteilung mittels DLS-Analyse untersucht. In Abbildung 5.88 sind die Größenverteilungen des hydrodynamischen Durchmessers anhand von drei Einzelmessungen abgebildet.

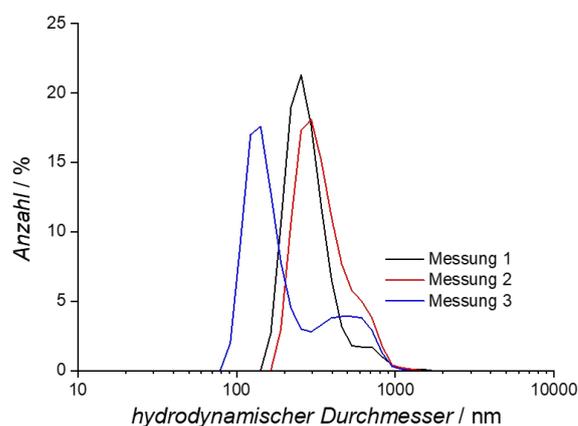


Abbildung 5.88: Hydrodynamische Partikelgrößenverteilungen von MSP@FITC mittels DLS. Nach ^[77].

Für die funktionalisierten Partikelsysteme wurden hydrodynamische Durchmesser von 305 nm (Einzelmessung 1), 368 nm (Einzelmessung 2) sowie 244 nm (Einzelmessung 3) ermittelt. Bei allen Messungen ist eine breite Größenverteilung erkennbar, welche die Polydispersität bestätigen, die auch anhand der TEM-Aufnahmen durch die sphärischen Kern-Schale-Partikel sowie die großen nichtsphärischen Partikel gezeigt werden konnte. Neben der DLS-Analyse wurde an MSP@FITC mittels Zeta-Potential-Analyse in Wasser eine Oberflächenladung von -34.2 ± 0.3 mV bestimmt. Trotz der hohen negativen Oberflächenladung wird eine Partikelagglomeration jedoch durch die großen nichtsphärischen Partikel begünstigt.

Zur Bestätigung der erfolgreichen Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor FITC wurden die Partikelsysteme mittels IR-Spektroskopie charakterisiert. In

Abbildung 5.89 ist das zugehörige IR-Spektrum dargestellt und in Tabelle 5.22 ist die Zuordnung der Banden zu den Schwingungen zusammengefasst.

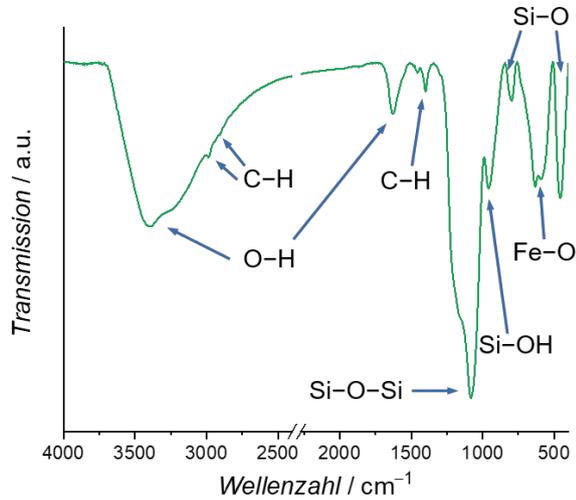


Abbildung 5.89: IR-Spektrum von MSP@FITC. Nach [77].

Tabelle 5.22: Zuordnung der Schwingungsbanden des IR-Spektrums von MSP@FITC (Wellenzahl [cm^{-1}]).^[77,178,180,366,367,370]

Wellenzahl [cm^{-1}]	Schwingungsart	Ursache
3389	(O-H)-Valenzschwingung	Wasser
2986	(C-H)-Valenzschwingung	FITC
2910	(C-H)-Valenzschwingung	FITC
1630	(O-H)-Deformationsschwingung	Wasser
1397	(C-H)-Deformationsschwingung	FITC
1083	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
958	(Si-OH)-Valenzschwingung	Silica
798	(Si-O-Si)-Valenzschwingung	Silica
587	(Fe-O)-Valenzschwingung	Eisenoxid
460	(Si-O-Si)-Deformationsschwingung	Silica

Im Spektrum der modifizierten Partikel MSP@FITC sind wieder die sehr intensiven asymmetrischen (Si-O-Si)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 1083 cm^{-1} vertreten. Zudem sind bei den Kern-Schale-Systemen die charakteristischen (Si-OH)-Deformationsschwingungen, die symmetrischen (Si-O-Si)-Valenzschwingungen sowie die

(Si–O–Si)-Deformationsschwingungen bei Wellenzahlen von 958 cm^{-1} , 798 cm^{-1} und 460 cm^{-1} deutlich erkennbar. Die magnetischen Kerne können anhand der charakteristischen (Fe–O)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 587 cm^{-1} detektiert werden. Die Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor FITC wird durch die zusätzlichen Banden der (C–H)-Valenzschwingungen bei einer Wellenzahl von 2986 cm^{-1} und 2910 cm^{-1} sowie der (C–H)-Deformationsschwingungen bei einer Wellenzahl von 1397 cm^{-1} bestätigt.^[77]

Die Porosität von MSP@FITC wurde mittels Stickstoff-Physisorption charakterisiert. Die zugehörige Isotherme mit Adsorption und Desorption sowie die Porenweitenverteilung sind in Abbildung 5.90 abgebildet.

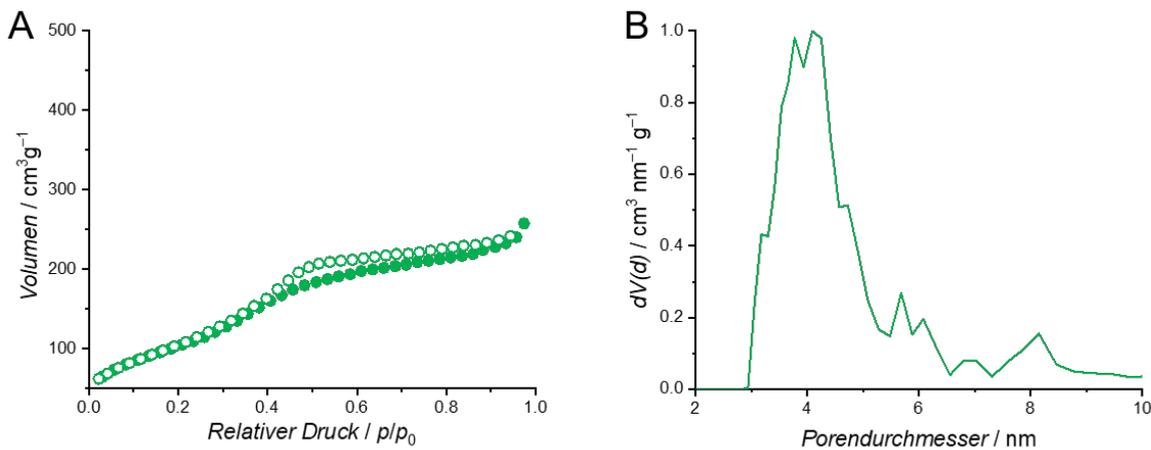


Abbildung 5.90: Stickstoff-Physisorptionsisotherme mit Adsorption (Punkte) und Desorption (Kreise) (A) und Porenweitenverteilung (B) von MSP@FITC.

Anhand der Isotherme ist wieder eine charakteristische Typ IV-Isotherme nach IUPAC erkennbar, welche charakteristisch für mesoporöse Systeme ist.^[215] Zudem liegt aufgrund von Porenkondensation eine schwach ausgeprägte Hysterese vor. Die Partikel weisen durch das funktionalisierte Porensystem eine BET-Oberfläche von $390\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ auf, welche deutlich geringer verglichen zu den unmodifizierten MSPs mit $790\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ ist. Die geringere BET-Oberfläche ist neben der kovalenten Anbindung durch das organische Fluorophor FITC auch durch die nicht-sphärischen Partikelsysteme sowie die größeren Agglomerate aus magnetischen Kernen innerhalb der sphärischen Partikel begründet. Das Porenvolumen beträgt $0,4\text{ cm}^3\text{ g}^{-1}$ bei einem Relativdruck von $p/p_0 = 0,97$. Mittels DFT-Methode wurde bei den funktionalisierten Partikeln MSP@FITC ein mittlerer Porendurchmesser von $4,1\text{ nm}$ bestimmt, welcher charakteristisch für mesoporöse Systeme

ist und somit gute Grundvoraussetzungen für eine potenzielle Einlagerung und Freisetzung von Wirkstoffen bietet.

Die Menge des organischen Fluorophors FITC wurde mittels thermogravimetrischer Analyse bestimmt. In Abbildung 5.91 ist das zugehörige Thermogramm dargestellt. Zu Beginn konnte bis zu einer Temperatur von 120 °C ein Massenverlust von 4.1% aufgrund von adsorbiertem Wasser ermittelt werden. Der Massenverlust zwischen einer Temperatur von 120 °C und 700 °C beträgt 6.7% und ist durch die Verbrennung des organischen Fluorophors begründet.

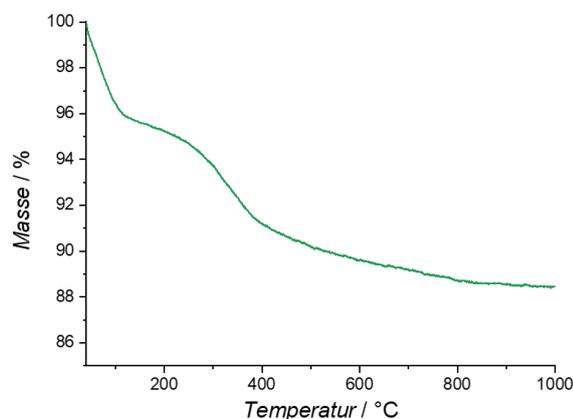


Abbildung 5.91: Thermogravimetrische Analyse von MSP@FITC.

Zur Charakterisierung der Fluoreszenz und damit zur Beurteilung zur Eignung von MSP@FITC für die Detektion der Partikel in *in vitro*- und *in vivo*-Studien wurden die funktionalisierten Kern-Schale-Systeme mit Hilfe der Fluoreszenzspektroskopie analysiert. Zu diesem Zweck sind das zugehörige Emissionsspektrum sowie Photographien der Partikeldispersionen unter normalem Licht sowie UV-Licht in Abbildung 5.92 abgebildet. Auch im Spektrum von MSP@FITC ist ein deutliches Emissionsmaximum bei einer Wellenlänge von 521 nm bei einer Anregungswellenlänge von 482 nm zu erkennen. Die Lage dieses Emissionsmaximum ist charakteristisch für das grün-fluoreszierende organische Fluorophor FITC. Die grüne Fluoreszenz ist auch deutlich in der Partikeldispersion unter UV-Licht zu erkennen und bestätigt die erfolgreiche Funktionalisierung mit dem Fluorophor. Eine Fluoreszenzlöschung aufgrund der Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften liegt folglich auch bei dem funktionalisierten Kern-Schale-Partikelsystem MSP@FITC nicht vor.

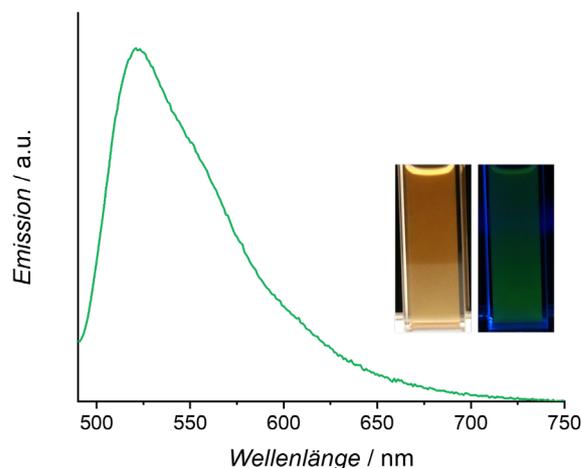


Abbildung 5.92: Normiertes Emissionsspektrum von MSP@FITC (Anregungswellenlänge bei 482 nm, Emissionsmaximum bei 521 nm) sowie Fotografien der Partikeldispersion unter normalem Licht (links) und UV-Licht (rechts).

Zur Beurteilung der Eignung von MSP@FITC für das magnetische Wirkstoff-Targeting wurden in Kooperation mit dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig *in vitro*-Studien an unterschiedlichen Makrophagen-Zelllinien durchgeführt. In diesen Studien zeigten Ullah et al. die erfolgreiche Aufnahme der FITC-modifizierten Kern-Schale-Systeme in den Makrophagen-Zelllinien IC21, J774a.1, RAW 264.7 sowie BMDM anhand von Analysen mittels Durchflusszytometrie sowie Konfokalmikroskopie.^[77] Die MSP-beladenen Makrophagen können hierbei als Trägermaterial fungieren, welche über das mononukleäre Phagozyten-System (MPS) gezielt in Organe transportiert werden. Durch Einsatz eines externen angelegten magnetischen Wechselfeldes und damit erzeugter Hyperthermie kann durch eine damit verbundene Zerstörung der Zellwand eine gezielte Wirkstoff-Freisetzung aus den nanoporösen Silica-Systemen zur selektiven Behandlung von Erkrankungen erfolgen. Somit besitzen auch die hier vorgestellten MSP@FITC auf Basis der hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe₃O₄ NPs mit ihren superparamagnetischen, nanoporösen sowie auch fluoreszierenden Eigenschaften ein großes Potential für den Einsatz in biomedizinischen Anwendungen.

5.3.3 Zusammenfassung

Im dritten und letzten Teil dieser Arbeit wurden die magnetischen Silica-Partikel (MSPs) für das magnetische Wirkstoff-Targeting vorgestellt. Als Kernmaterial dieser Kern-Schale-

Systeme dienten hydrophile Citrat-stabilisierte Fe₃O₄ NPs, welche Superparamagnetismus sowie Hyperthermie-Eigenschaften in einem magnetischen Wechselfeld aufwiesen.

Nach erfolgter Synthese einer nanoporösen Silica-Matrix um die magnetischen Kerne sowie Calcination lagen mit den MSPs neben sphärischen Kern-Schale-Nanopartikeln mit Partikeldurchmessern von ca. 110 nm auch sehr große nichtsphärische Partikelsysteme mit einer hohen BET-Oberfläche von 790 m² g⁻¹ vor. Ähnlich wie bei den hydrophilen Fe₃O₄ NPs konnten auch bei den MSPs Superparamagnetismus sowie Hyperthermie-Eigenschaften bestätigt werden.

Der nächste Schritt in der Weiterentwicklung der MSPs bestand in der Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor FITC für eine Detektion in *in vitro*- und *in vivo*-Studien. Zu diesem Zweck wurde die Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor simultan zur Synthese der nanoporösen Silica-Schale durchgeführt. Zur Freilegung des Porensystems wurde das strukturdirigierende Agens CTAB durch einen Ionenaustausch entfernt. Mit MSP@FITC lagen neben sphärischen Kern-Schale-Partikeln mit einem Partikeldurchmesser von ca. 170 nm auch große nichtsphärische Partikel mit einer Größe von über 500 nm vor. Anhand von Analysen mittels der dynamischen Lichtstreuung wurde eine Polydispersität aufgrund breiter Größenverteilungen bestätigt. Die Funktionalisierung der Partikelsysteme mit FITC konnte anhand der IR-Analyse sowie der Thermogravimetrie verifiziert werden. Durch Untersuchungen mit Hilfe der Stickstoff-Physisorption konnte an MSP@FITC eine BET-Oberfläche 390 m² g⁻¹ bestimmt werden, was deutlich unter der BET-Oberfläche der unmodifizierten MSPs liegt. Die Reduzierung der Porosität basiert neben der Anbindung des organischen FITC auf nichtsphärischen Partikeln und Agglomeraten aus magnetischen Kernen innerhalb der MSPs. Eine weitere Bestätigung der erfolgreichen Funktionalisierung der Partikel mit FITC erfolgte durch Analysen mittels Fluoreszenzspektroskopie. Das zugehörige Spektrum sowie die Partikeldispersion unter UV-Licht zeigten eine charakteristische Fluoreszenz für das FITC. In *in vitro*-Studien von Ullah et al. an unterschiedlichen Zelllinien konnte zudem eine erfolgreiche Aufnahme der FITC-modifizierten Partikelsysteme in Makrophagen und folglich ein großes Potential der Partikelsysteme für den Einsatz im magnetischen Wirkstoff-Targeting bestätigt werden.^[77]

6 Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Dissertation befasst sich mit der Entwicklung, Herstellung und Charakterisierung von unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln mit hoher Multifunktionalität und Biokompatibilität für den Einsatz als potenzielle Wirkstoffträgersysteme für ein magnetisches Wirkstoff-Targeting zur effektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen und Organerkrankungen.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden magnetische Kern-Schale-Nanopartikel präsentiert, welche für das sogenannte Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (ID-MDT) konzipiert wurden. Hierbei dienten die Nanopartikel als Wirkstoffträger im kombinierten Einsatz von magnetisierbaren Implantaten sowie einem externen angelegten magnetischen Feld. Die Kern-Schale-Nanopartikel für das ID-MDT basierten auf hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs als Kernmaterial, welche Superparamagnetismus sowie Hyperthermie-Eigenschaften in einem magnetischen Wechselfeld aufweisen. Nach erfolgtem Phasentransfer konnten die magnetischen Kerne erfolgreich mit einer nanoporösen Silica-Schale zur Herstellung der magnetischen nanoporösen Silica-Nanopartikel (MNPSNPs) umhüllt werden. Mit den MNPSNPs lagen monodisperse und sphärische Kern-Schale-Systeme mit einer Partikelgröße von 112 ± 16 nm sowie einer hochporösen Silica-Matrix mit einer BET-Oberfläche von $1080 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ sowie einem mittleren Porendurchmesser von 3.9 nm vor. Darüber hinaus zeichneten sich diese Hybrid-Systeme durch superparamagnetisches Verhalten und folglich mangelnder Remanenz nach Entfernung eines externen angelegten Magnetfeldes sowie Hyperthermie-Eigenschaften im magnetischen Wechselfeld aus.

Für die Erhöhung der Multifunktionalität und eine mögliche Detektion in *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen wurden die MNPSNPs mit dem organischen Fluorophor Fluoresceinisothicyanat (FITC) modifiziert. Die Fluorophor-Modifizierung zeigte dabei keine negativen Auswirkungen bezüglich der sphärischen Morphologie der MNPSNPs. Darüber hinaus wiesen die Partikel weiterhin eine hohe Porosität sowie eine für FITC charakteristische grüne Fluoreszenz auf. Folglich konnte eine potenzielle Fluoreszenzlöschung aufgrund der Kombination von magnetischen und fluoreszierenden Eigenschaften in einem Hybridsystem nicht bestätigt werden. Mit der sogenannten PEGylierung der MNPSNPs mit Polyethylenglycol (PEG) zur Erhöhung der Biokompatibilität und zur Prävention eines frühzeitigen Abfangens durch Makrophagen

lag eine weitere Funktionalität vor, welche ebenfalls einen geringen Einfluss auf die Materialeigenschaften der Partikelsysteme hatte.

Basierend auf diesen vielversprechenden Ergebnissen konnte zur Erhöhung der Multifunktionalität eine simultane Funktionalisierung der MNPSNPs mit einem organischen Fluorophor und PEG erfolgreich durchgeführt werden. Dabei wurde neben dem organischen, grün fluoreszierenden FITC das orange fluoreszierende Fluorophor Rhodamin B Isothiocyanat (RITC) eingesetzt. Die sphärische Morphologie und Partikelgröße der Kern-Schale-Systeme MNPSNP@FITC-PEG und MNPSNP@RITC-PEG wurde durch die zweifache Funktionalisierung nicht beeinflusst. Lediglich die Porosität wurde durch die Anbindung der organischen Moleküle geringfügig reduziert. Jedoch besaßen die Nanopartikel weiterhin hohe BET-Oberflächen, Porenvolumina sowie auch Porendurchmesser im mesoporösen Bereich. Auch die Fluoreszenzeigenschaften für die Detektion in der Biobildgebung konnten bestätigt werden. Mit der erfolgreichen Synthese und Funktionalisierung der MNPSNPs konnten somit superparamagnetische Kern-Schale-Nanopartikel mit einer hohen Multifunktionalität und großem Potential als Wirkstoffträgersysteme für der ID-MDT gewonnen werden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Entwicklung der MNPSNPs bestand in der Größeneinstellung der Kern-Schale-Systeme durch Variation der Syntheseparameter und dem damit verbundenen Einfluss auf die Materialeigenschaften. So konnten bei der Synthese der Silica-Schale um die superparamagnetischen Kerne durch die Vergrößerung des $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TEOS}$ -Verhältnisses und der daraus resultierenden Erhöhung der Menge an Nukleationszentren MNPSNPs mit kleineren Partikeldurchmessern und stärkeren magnetischen Eigenschaften hergestellt werden. Durch Erhöhung der Synthesetemperatur sind wiederum aufgrund höherer Hydrolyse- und Kondensationsraten MNPSNPs mit dickeren Silica-Schalen und folglich größeren Partikeldurchmessern zugänglich. Auch eine Variation des Porensystems der MNPSNPs ist unter Verwendung einer größeren Menge an Ethylacetat bei der Synthese der Silica-Schale möglich. Dabei dient das Ethylacetat als Quellungsmittel in der Öl-Wasser-Emulsion während der Synthese, welches die Formation von konischen Poren und größeren Porendurchmessern für eine potenzielle Einlagerung von größeren Molekülen wie Wachstumsfaktoren, RNA-Fragmenten oder Oberflächenproteinen ermöglicht. Folglich können bei der Herstellung der MNPSNPs durch Variation der Syntheseparameter die Materialeigenschaften gezielt beeinflusst werden.

Mit dem magnetischen Kern-Schale-Schale-Systeme MNPSNP@PMO (76 nm) konnte ein weiteres Hybridsystem vorgestellt werden, welches auf kleinen MNPSNPs als Kernmaterial und einer zusätzlichen Schale aus periodisch mesoporösem Organosilica (PMO) basiert. Diese Nanopartikel wiesen einen Partikeldurchmesser von 76 ± 5 nm und einer PMO-Schalendicke von 13 ± 1 nm auf. Darüber hinaus zeichneten sich die Partikel durch eine hohe Porosität und eine Porenweitenverteilung mit einem bimodalen Verlauf mit einem mittlerem Porendurchmesser von 2.6 nm für die PMO-Matrix und 3.8 nm für die Silica-Matrix aus. Aufgrund der unterschiedlichen Porengrößen und chemischen Eigenschaften der Schalenmaterialien bietet MNPSNP@PMO (76 nm), insbesondere für die duale Einlagerung und Freisetzung von zwei verschiedenen Wirkstoffen großes Potential.

In weiteren Studien wurden die vorgestellten unterschiedlichen magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel nach erfolgter Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor RITC mit Hinblick auf die generellen Materialeigenschaften und tiefergehender auf die optischen Eigenschaften sowie die Biokompatibilität analysiert. Anhand der RITC-modifizierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen wurde bestätigt, dass mit sinkendem Partikeldurchmesser ein höherer Gehalt an magnetischen Kern-Nanopartikeln vorlag, welcher eine stärkere Magnetisierung in den Hybridsystemen ermöglicht. Dabei wurde mit sinkendem Partikeldurchmesser der MNPSNPs die Fluoreszenzintensität verringert, was durch eine stärkere Lichtabsorption und folglich einem erhöhten Verlust von Anregungs- und Emissionslicht begründet ist. Das modifizierte großporige Partikelsystem MNPSNP-LP@RITC (123 nm) und das modifizierte Kern-Schale-Schale-System MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) mit zusätzlicher PMO-Schale zeigten eine geringere Fluoreszenzabschwächung trotz des Einsatzes von Fe_3O_4 NPs mit höherer Sättigungsmagnetisierung. Die größeren Poren von MNPSNP-LP@RITC (123 nm) senken das Risiko von einer potenziellen intermolekularen Fluoreszenzabschwächung zwischen den individuellen Farbstoffmolekülen. Darüber hinaus wird durch die dickere Silica-Schale ein größerer Abstand zwischen den Farbstoffmolekülen und den magnetischen Kernen ermöglicht, sodass das Risiko einer zusätzlichen Fluoreszenzabschwächung durch einen nichtstrahlenden Energietransfer auf die Eisenoxid-Oberfläche reduziert wird. Anhand von MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) konnte gezeigt werden, dass der Einsatz einer zusätzlichen PMO-Schale um kleine MNPSNPs die Verringerung der Fluoreszenzabschwächung zusätzlich unterstützt. Dabei fungiert die nanoporöse Silica-Matrix der eingesetzten MNPSNPs zum einen als Abstandhalter zur Verhinderung von nichtstrahlenden

Energietransfers und zum anderen fördert die hydrophobe PMO-Matrix die Einlagerung des hydrophoben und unpolaren organischen Fluorophors RITC in der äußeren Schale des Kern-Schale-Schale-Partikelsystems. Eine vollständige Fluoreszenzlöschung aufgrund des kombinierten Einsatzes von superparamagnetischen Kernen und eines organischen Fluorophors konnte bei allen vorgestellten modifizierten magnetischen Kern-Schale-Systemen nicht bestätigt werden. Für die Eignung des Einsatzes in der Biobildgebung wurden die RITC-modifizierten Nanopartikel mittels Fluoreszenzmikroskopie bezüglich der Zellaufnahme an primären humanen Gingivafibroblasten (HGF) untersucht. Dabei war innerhalb der HGF-Zellen die charakteristische Fluoreszenz des RITC bei allen Partikelsystemen klar erkennbar. Darüber hinaus konnte durch weitere Untersuchungen die Biokompatibilität der Kern-Schale-Systeme anhand von Zellviabilitäts-Test an HGF-Zellen verifiziert werden. Aufgrund ihrer Materialeigenschaften und ihrer sehr guten Biokompatibilität konnten folglich alle zuvor vorgestellten Partikelsysteme das große Potential für die Anwendung in der Biobildgebung sowie für den Einsatz als Wirkstofffreisetzungssysteme für das ID-MDT-Prinzip zeigen.

Im zweiten Teil der vorliegenden Dissertation wurden die Ergebnisse der Einlagerung und Freisetzung des Antibiotikums Enrofloxacin (EFX) aus unmodifizierten und modifizierten magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln nach Einlagerung bei einem basischen pH-Wert von 8.5 vorgestellt. Dabei zeigten sowohl unmodifizierte als auch PEG-modifizierte MNPSNPs und MNPSNPs nach einer simultanen Modifizierung mit RITC und PEG in Freisetzungsstudien einen sogenannten *initial burst release* mit einer raschen Freisetzung des EFX zu Beginn. Bei den PEG-modifizierten MNPSNPs lag eine höhere Freisetzungsrates vor, welche auf Wechselwirkungen zwischen dem Wirkstoff und den PEG-Molekülen durch Wasserstoffbrückenbindungen erklärt werden können. Für die Realisierung einer zeitverzögerten Wirkstoffabgabe wurden RITC-modifizierte MNPSNPs nach Beladung mit EFX mit einer Doppellipidschicht bestehend aus DOPC umhüllt. Während zu Beginn der Studie ein zeitverzögerter Release aus den Liposom-umhüllten Partikeln vorlag, wurde unter Einsatz einer PBS-Lösung mit 2.5% des Tensids Triton X-100 die Freisetzungsrates durch Auflösung der DOPC-Hülle erhöht. Die Liposom-Umhüllung der Wirkstoff-beladenen MNPSNPs bietet somit die Möglichkeit einer Stimulus-bedingten Freisetzung mit großem Potential für das ID-MDT-Prinzip zur Behandlung von chronischen Infektionen. Im Rahmen von weiteren Freisetzungsstudien wurden darüber hinaus neben unmodifizierten MNPSNPs auch die unmodifizierten Kern-Schale-Schale-

Systeme MNPSNP@PMO mit zusätzlicher PMO-Schale nach einer Einlagerung in einer EFX-Lösung unter sauren Bedingungen bei einem pH-Wert von 5.0 evaluiert. Anhand der Freisetzungsprofile war auch bei den Partikelsystemen nach Einlagerung unter sauren Bedingungen ein *initial burst release* mit einer raschen Wirkstofffreisetzung zu Beginn zu erkennen. Durch die geringere Massenkonzentration der eingesetzten EFX-Lösung war jedoch die Freisetzungsrates niedriger verglichen zu den zuvor präsentierten unmodifizierten und modifizierten MNPSNPs nach Einlagerung bei einem basischen pH-Wert von 8.5. Die vorgestellten Ergebnisse der Freisetzungsstudien bestätigten zusammenfassend sowohl bei den unmodifizierten als auch bei den modifizierten Kern-Schale-Nanopartikeln die erfolgreiche Einlagerung und Freisetzung des Wirkstoffes Enrofloxacin und folglich die Eignung als Wirkstoffträgersystem.

Neben den Ergebnissen der Freisetzungsstudien wurde auch ein Auszug aus den Ergebnissen von *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen der MNPSNPs aus der Kooperation mit der Tierärztlichen Hochschule Hannover und der Medizinischen Hochschule Hannover bezüglich der Biokompatibilität und Eignung für das ID-MDT-Prinzip vorgestellt. Dabei konnte von Dahlhaus et al. *in vitro* die Biokompatibilität von unmodifizierten MNPSNPs mit Partikelgrößen von ca. 50 nm und 110 nm sowie auch RITC- und PEG-modifizierten MNPSNPs mit 110 nm Partikelgröße anhand von Vitalitäts- und Proliferationsstudien an den Zelllinien NIH-3T3 und HepG2 bestätigt werden. Zudem zeigten die MNPSNPs in weiteren Untersuchungen an Primärzellen von Mäusen vielversprechende Ergebnisse.^[52,383] Von Janßen et al. wurde die Akkumulationsfähigkeit von FITC-modifizierten MNPSNPs im *in vitro*-Modell analysiert. Bei diesen Studien konnten eine verstärkte Partikelakkumulation sowie remanente Eigenschaften an einem martensitischen Testimplantat bestätigt werden. Zudem zeigten RITC- und PEG-modifizierte MNPSNPs *in vivo* im Mausmodell weitere gute Ergebnisse bezüglich der Biokompatibilität. Allerdings konnte für das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting eine effektive Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen noch nicht hinreichend realisiert werden. Dabei wurde die Partikelkonzentration auf dem Implantat und in der Umgebung aufgrund von Phagozytose durch Makrophagen stark reduziert. In weiterführenden Studien konnten Reifenrath et al. den Einfluss durch das mononukleäre Phagozyten-System (MPS) sowie durch Implantat-assoziierte Infektionen an sich für das ID-MDT-Prinzip bestätigen.^[52-54,384]

Im dritten und letzten Teil dieser Dissertation wurden die magnetischen Silica-Partikel (MSPs) mit hydrophilen Citrat-stabilisierten Fe_3O_4 NPs als Kernmaterial als weitere Kern-Schale-Systeme für das magnetische Wirkstoff-Targeting beschrieben. Ähnlich wie die zuvor vorgestellten hydrophoben Ölsäure-stabilisierten Fe_3O_4 NPs zeigten auch die Citrat-stabilisierten Partikel superparamagnetisches Verhalten sowie Hyperthermie-Eigenschaften in einem magnetischen Wechselfeld.

Im Gegensatz zur Synthese der zuvor beschriebenen MNPSNPs war bei der Herstellung der MSPs kein Phasentransfer der hydrophilen magnetischen Kerne notwendig. Die nanoporöse Silica-Schale wurde ebenfalls unter Einsatz von CTAB als strukturdirigierendes Agens synthetisiert. Nach erfolgter Calcination zur Entfernung des CTABs lagen mit den MSPs neben sphärischen Kern-Schale-Nanopartikel mit Partikeldurchmessern von 110 nm auch sehr große nichtsphärische Partikelsysteme mit Abmessungen von über 1000 nm vor. Mittels Stickstoff-Physisorption konnte eine hohe Porosität mit einer BET-Oberfläche von $790 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ und einem Porendurchmesser von 3.1 nm ermittelt werden. Bei der Charakterisierung der magnetischen Eigenschaften wiesen auch die MSPs Superparamagnetismus sowie Hyperthermie auf.

Zur Weiterentwicklung der magnetischen Kern-Schale-Systeme sowie zur Ermöglichung einer Detektion der Partikel in *in vitro*- und *in vivo*-Studien erfolgte simultan zur Synthese der nanoporösen Silica-Schale der MSPs eine Funktionalisierung mit dem organischen Fluorophor FITC. Das strukturdirigierende Agens CTAB wurde bei diesen Hybridsystemen durch einen Ionenaustausch zur Freilegung des Porensystems entfernt. Bei den modifizierten Partikelsystemen MSP@FITC lagen neben sphärischen Kern-Schale-Partikeln mit einem Partikeldurchmesser von ca. 170 nm auch große nichtsphärische Partikel mit einer Größe von über 500 nm vor. Die Polydispersität der Partikel konnte auch durch die dynamische Lichtstreuung gezeigt werden. Durch Analysen mittels IR-Spektroskopie sowie Thermogravimetrie konnte die erfolgreiche Modifizierung der MSPs mit dem organischen Fluorophor FITC bestätigt werden. Anhand der Stickstoff-Physisorption konnte an den modifizierten Partikeln MSP@FITC eine BET-Oberfläche von $390 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ bestimmt werden. Verglichen zu den zuvor beschriebenen unmodifizierten MSPs mit einer BET-Oberfläche von $790 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ wurde somit die Porosität deutlich aufgrund der Anbindung des organischen Fluorophors sowie dem Vorhandensein von nichtsphärischen Partikeln und Agglomeraten aus magnetischen Kernen innerhalb der MSPs verringert. Durch Analyse mittels Fluoreszenzspektroskopie konnte die erfolgreiche Modifizierung

der MSPs mit FITC verifiziert werden. Dabei konnte die charakteristische Fluoreszenz des FITC anhand des Emissionsspektrums sowie der Partikeldispersionen unter UV-Licht gezeigt werden. Die FITC-modifizierten Partikelsysteme wurden von Ullah et al. in *in vitro*-Studien an unterschiedlichen Zelllinien eingesetzt. Hierbei konnte erfolgreich eine Aufnahme der Kern-Schale-Systeme in Makrophagen gezeigt werden.^[77] Die MSP-beladenen Makrophagen können dabei als potenzielles Wirkstoffträgermaterial fungieren, welche gezielt über das mononukleäre Phagozyten-System (MPS) gezielt in Organe transportiert werden. Zur selektiven Behandlung von Erkrankungen könnte eine gezielte Wirkstoff-Freisetzung aus der nanoporösen Silica-Matrix der MSPs durch Zerstörung der Zellwand mittels Hyperthermie erfolgen, induziert durch die Verwendung eines externen angelegten magnetischen Wechselfeldes.

Der Einsatz von magnetischen Silica-Systemen als Wirkstoffträgermaterial wurde von Ullah et al. anhand von Silica-beschichteten superparamagnetischen Eisenoxid-Partikeln (MAGSILICA®, Evonik Industries AG, Essen, Deutschland) gezeigt.^[77] Diese Partikel wurden über einen thermoresponsiven Linker mit dem Toxin Maytansin modifiziert und von Makrophagen aufgenommen. Dabei konnte im *in vitro*-Versuch unter Einfluss eines externen angelegten magnetischen Wechselfeldes und damit verbundener Hyperthermie eine Zerstörung der Makrophagen sowie Freisetzung des Toxins initiiert werden, welche zu einem Zelltod von Tumorzellen führte. Die Ergebnisse bestätigten das große Potential des magnetischen Wirkstoff-Targetings, weswegen für weitere Studien die vorgestellten MSPs als Wirkstoffträger evaluiert werden sollten. Zudem sollten als weiteres multifunktionales magnetisches Freisetzungssystem die zuvor präsentierten MNPSNPs mit unterschiedlichen Partikelgrößen sowie auch Porenstrukturen in Betracht gezogen werden, da eine Aufnahme durch Makrophagen bestätigt werden konnte. Insbesondere die kleinen MNPSNPs mit Partikelgrößen von ca. 50 nm haben hierbei mit ihren starken magnetischen Eigenschaften und stärkeren Hyperthermie-Verhalten großes Potential für das magnetische Wirkstoff-Targeting. Die nanoporöse Silica-Matrix der MNPSNPs bietet auch hier die Möglichkeit der Beladung mit Wirkstoffen unter Einsatz von thermoresponsiven Linkern.

Zur Realisierung eines weiteren Stimuli-Response-Freisetzungssystem für das ID-MDT zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen könnte eine Modifizierung der MNPSNPs mit dem thermoresponsiven Polymer Poly(N-isopropylacrylamid) (PNIPAM) durchgeführt werden.^[385] Während das Polymer unter Raumtemperatur in einem hydrophilen, schwammartigen Zustand vorliegt und

einen Einschluss des gewünschten Wirkstoffes ermöglicht, induziert eine Hyperthermie auf Basis eines externen angelegten magnetischen Wechselfeldes einen Übergang in einen hydrophoben Zustand mit einer Öffnung der Polymerhülle, sodass eine Stimulus-bedingte Freisetzung erfolgen kann. Zudem könnte ein von Fullriede et al. an unmagnetischen NPSNPs etabliertes Stimuli-Response-Freisetzungssystem auf die magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel übertragen werden, bei welchem eine infektionsbedingte pH-Absenkung genutzt wird.^[73] Bei diesem System erfolgt eine Funktionalisierung der Partikel mit einer Polymerschale aus Polyvinylpyridin. Die Ketten dieses Polymers liegen im neutralen pH-Bereich verknäuelte vor, wodurch eine vorzeitige Freisetzung verhindert wird. Durch Auftreten einer bakteriellen Infektion am Implantat werden durch einen sauren pH-Wert die Polymerketten protoniert und folglich aufgrund elektrostatischer Abstoßungen entknäuelte, sodass eine Freisetzung initiiert wird. Zudem sollte der Einsatz von weiteren Lipiden zur Einhüllung der Wirkstoff-beladenen Partikelsysteme in Liposomen mit Stimulus-bedingter Freisetzung eingehender untersucht werden. Dabei sollte auch die Wirkstoffeinlagerung bei aufeinanderfolgender oder gleichzeitiger Liposom-Umhüllung optimiert werden.

Für die erfolgreiche Anwendung des ID-MDT-Prinzips ist eine effektive Maskierung der Partikelsysteme notwendig, um eine Verlängerung der Zirkulationszeit zu ermöglichen. Zu diesem Zweck sollte die PEGylierung unter Einsatz von längeren Ketten evaluiert werden. Auch die Liposom-Umhüllung könnte durch Verwendung von „Stealth-Liposomen“ zur Verhinderung der Makrophagen-Interaktion synergistisch genutzt werden. Bei diesen Liposomen handelt es sich um PEG-modifizierte Liposomen, die eine frühe Aufnahme durch Makrophagen verhindern können, somit die Blutzirkulationszeit erhöhen und folglich die Akkumulation am infizierten Implantatort unterstützen.^[75] Eine weitere Möglichkeit für eine Maskierung der magnetischen Kern-Schale-Systeme könnte in der Verwendung des Leukozyten-Oberflächenantigens CD47 (*Cluster of Differentiation 47*) bestehen. Dieses Oberflächenprotein gehört zu den bekanntesten sogenannten „*don't eat me*“-Signalmolekülen. Unter Einsatz dieses Moleküls können die Partikelsysteme gegenüber den Makrophagen als körpereigen maskiert werden, sodass eine Phagozytose und damit das frühzeitige Abfangen verhindert werden könnte.^[376] Dabei sollte eine Methode zur festen Anbindung des Oberflächenproteins an magnetischen Wirkstoffträgersysteme etabliert werden. Allerdings müsste hierbei auch die Oberflächenchemie und die damit verbundenen Wechselwirkungen der Nanopartikel

beachtet und diese über entsprechende Modifizierungen eingestellt werden. Im Rahmen dieser Oberflächenmodifizierungen könnte auch eine verfrühte Wirkstofffreisetzung unterbunden werden.

Neben der Maskierung der Partikel sollten für eine effektive Akkumulation am Implantat auch die magnetischen Eigenschaften der Kern-Schale-Systeme verstärkt werden. Zu diesem Zweck sollten für weitere Studien vor allem kleine MNPSNPs mit Partikelgrößen von ca. 50 nm eingesetzt werden, da sich diese Partikel durch einen erhöhten Anteil an magnetisierbarem Material mit starker Magnetisierung und einer dünneren Silica-Schale mit hoher Porosität auszeichneten. Neben den hier vorgestellten Fe_3O_4 NPs sollten auch weitere superparamagnetische Kernmaterialien, wie zum Beispiel Zink-Ferrite (ZnFe_2O_4) sowie Partikel aus Eisen-Platin-Legierungen (FePt), für die Herstellung der magnetischen Kern-Schale-Nanopartikel eingesetzt und bezüglich der magnetischen Eigenschaften evaluiert werden.^[386–388] Für die Beeinflussung der Magnetisierung sind dabei die Größe, Kristallform, Zusammensetzung sowie die Struktur der Kern-Nanopartikel von großer Bedeutung.^[129] Neben der hier eingesetzten Co-Präzipitations-Methode zur Herstellung der Fe_3O_4 NPs in wässriger Lösung sind die hier beschriebenen magnetischen Nanopartikel vorrangig mit Hydrothermal-Synthesen sowie mit Hochtemperatur-Synthese in hochsiedenden organischen Lösemitteln zugänglich.^[130,131,389]

Abschließend ist festzuhalten, dass im Rahmen der vorliegenden Dissertation unterschiedliche multifunktionale superparamagnetische Kern-Schale-Nanopartikel als potenzielle Wirkstoff-Trägersysteme hergestellt werden konnten, welche ein großes und vielversprechendes Potential für ein magnetisches Wirkstoff-Targeting (MDT) und insbesondere für das Implantat-dirigierte magnetische Wirkstoff-Targeting (ID-MDT) zur selektiven Behandlung von Implantat-assoziierten Infektionen aufweisen.

7 Literaturverzeichnis

- [1] A. J. T. Teo, A. Mishra, I. Park, Y.-J. Kim, W.-T. Park, Y.-J. Yoon, *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2016**, *2*, 454–472.
- [2] Q. Chen, G. A. Thouas, *Mater. Sci. Eng. R Reports* **2015**, *87*, 1–57.
- [3] A. Grimberg, V. Jansson, O. Melsheimer, A. Steinbrück, *Endoprothesenregister Deutschland, Jahresbericht 2019* **2019**.
- [4] M. Ribeiro, F. J. Monteiro, M. P. Ferraz, *Biomater* **2012**, *2*, 176–194.
- [5] P. H. Gundtoft, S. Overgaard, H. C. Schönheyder, J. K. Møller, P. Kjærsgaard-Andersen, A. B. Pedersen, *Acta Orthop.* **2015**, *86*, 326–334.
- [6] H. Chen, S. Chen, Y. Shi, Y. Lu, B. Yu, *Int. Orthop.* **2019**, *43*, 713–718.
- [7] R. O. Darouiche, *N. Engl. J. Med.* **2004**, *350*, 1422–1429.
- [8] B. Lindeque, Z. Hartman, A. Noshchenko, M. Cruse, *Orthopedics* **2014**, *37*, 257–265.
- [9] P. Izakovičová, D. Margaryan, H. Baecker, A. Trampuz, *Trauma und Berufskrankheit* **2019**, *21*, 210–216.
- [10] E. Seebach, K. F. Kubatzky, *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 1724.
- [11] C. Perka, N. Haas, *Chirurg* **2011**, *82*, 218–226.
- [12] H. Gollwitzer, H. Meyer, A. Stemberger, *Trauma und Berufskrankheit* **2003**, *5*, 347–352.
- [13] R. B. Gustilo, R. L. Merkow, D. Templeman, *J Bone Jt. Surg Am* **1990**, *72*, 299–304.
- [14] M. Diefenbeck, T. Mückley, G. O. Hofmann, *Injury* **2006**, *37*, 95–104.
- [15] G. Walter, R. Hoffmann, *Krankenhaus-Hygiene + Infekt.* **2009**, *31*, 8–14.
- [16] K. Klemm, *Clin. Microbiol. Infect.* **2001**, *7*, 28–31.
- [17] P. Garg, R. Ranjan, U. Bandyopadhyay, S. Chouksey, S. R. Mitra, S. K. Gupta, *Indian J. Orthop.* **2011**, *45*, 535–540.
- [18] S. M. J. Mortazavi, D. Vegari, A. Ho, B. Zmistowski, J. Parvizi, *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2011**, *469*, 3049–3054.
- [19] C. Diaz-Ledezma, C. A. Higuera, J. Parvizi, *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2013**, *471*, 2374–2382.
- [20] T. Neuberger, B. Schöpf, H. Hofmann, M. Hofmann, B. von Rechenberg, *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *293*, 483–496.
- [21] H. O. Gbejuade, A. M. Lovering, J. C. Webb, *Acta Orthop.* **2015**, *86*, 147–158.
- [22] K. Anagnostakos, P. Hitzler, D. Pape, D. Kohn, J. Kelm, *Acta Orthop.* **2008**, *79*, 302–307.
- [23] B. Fink, *Int. J. Med. Sci.* **2009**, *6*, 287–295.
- [24] D. Campoccia, L. Montanaro, C. R. Arciola, *Biomaterials* **2006**, *27*, 2331–2339.
- [25] L. Boyanova, R. Kolarov, I. Mitov, *Anaerobe* **2015**, *31*, 4–10.
- [26] N. Zahin, R. Anwar, D. Tewari, T. Kabir, A. Sajid, B. Mathew, S. Uddin, L. Aleya, M. M. Abdel-Daim, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2020**, *27*, 19151–19168.
- [27] M. Fakruddin, Z. Hossain, H. Afroz, *J. Nanobiotechnology* **2012**, *10*, 31.
- [28] A. P. Ramos, M. A. E. Cruz, C. B. Tovani, P. Ciancaglini, *Biophys. Rev.* **2017**, *9*, 79–89.
- [29] M. L. Etheridge, S. A. Campbell, A. G. Erdman, C. L. Haynes, S. M. Wolf, J. McCullough, *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2013**, *9*, 1–14.
- [30] C. Auría-Soro, T. Nesma, P. Juanes-Velasco, A. Landeira-Viñuela, H. Fidalgo-Gomez, V. Acebes-Fernandez, R. Gongora, M. J. A. Parra, R. Manzano-Roman, M. Fuentes, *Nanomaterials* **2019**, *9*, 1365.

- [31] D. Liu, F. Yang, F. Xiong, N. Gu, *Theranostics* **2016**, *6*, 1306–1323.
- [32] T. M. Allen, P. R. Cullis, *Science* **2004**, *303*, 1818–1822.
- [33] N. M. Orekhova, R. S. Akchurin, A. A. Belyaev, M. D. Smirnov, S. E. Ragimov, A. N. Orekhov, *Thromb. Res.* **1990**, *57*, 611–616.
- [34] P. Kheirkhah, S. Denyer, A. D. Bhimani, G. D. Arnone, D. R. Esfahani, T. Aguilar, J. Zakrzewski, I. Venugopal, N. Habib, G. L. Gallia, et al., *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 11417.
- [35] B. Polyak, G. Friedman, *Expert Opin. Drug Deliv.* **2009**, *6*, 53–70.
- [36] Wahajuddin, S. Arora, *Int. J. Nanomedicine* **2012**, *7*, 3445–3471.
- [37] W. Jahnke, C. Henry, *ChemMedChem* **2010**, *5*, 770–776.
- [38] A. S. Lübbe, C. Alexiou, C. Bergemann, *J. Surg. Res.* **2001**, *95*, 200–206.
- [39] H. H. Gustafson, D. Holt-Casper, D. W. Grainger, H. Ghandehari, *Nano Today* **2015**, *10*, 487–510.
- [40] B. B. Yellen, Z. G. Forbes, D. S. Halverson, G. Fridman, K. A. Barbee, M. Chorny, R. Levy, G. Friedman, *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *293*, 647–654.
- [41] J. O. Mangual, M. O. Avilés, A. D. Ebner, J. A. Ritter, *J. Magn. Magn. Mater.* **2011**, *323*, 1903–1908.
- [42] T. Räthel, H. Mannell, J. Pircher, B. Gleich, U. Pohl, F. Krötz, *Pharm. Res.* **2012**, *29*, 1295–1307.
- [43] A. Obermeier, S. Kuchler, F. D. Matl, T. Pirzer, A. Stemberger, O. Mykhaylyk, W. Friess, R. Burgkart, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2012**, *23*, 2321–2336.
- [44] N. Angrisani, F. Foth, M. Kietzmann, S. Schumacher, G. Angrisani, A. Christel, P. Behrens, J. Reifenrath, *J. Nanobiotechnology* **2013**, *11*, 34.
- [45] Z. G. Forbes, B. B. Yellen, D. S. Halverson, G. Fridman, K. A. Barbee, G. Friedman, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **2008**, *55*, 643–649.
- [46] G. Iacob, O. Rotariu, N. J. C. Strachan, U. O. Häfeli, *Biorheology* **2004**, *41*, 599–612.
- [47] M. O. Avilés, J. O. Mangual, A. D. Ebner, J. A. Ritter, *Int. J. Pharm.* **2008**, *361*, 202–208.
- [48] R. Chopra, S. Shaikh, Y. Chatzinoff, I. Munaweera, B. Cheng, S. M. Daly, Y. Xi, C. Bing, D. Burns, D. E. Greenberg, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 7520.
- [49] S. Mousavian-Roshanzamir, A. Makhdoumi-Kakhki, *Reports Biochem. Mol. Biol.* **2017**, *5*, 112–116.
- [50] A. F. Junka, R. Rakoczy, P. Szymczyk, M. Bartoszewicz, P. P. Sedghizadeh, K. Fijałkowski, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 167.
- [51] J. Peng, J. Zhao, Y. Long, Y. Xie, J. Nie, L. Chen, *Front. Mater.* **2019**, *6*, 268.
- [52] H. C. Janßen, D. P. Warwas, D. Dahlhaus, J. Meißner, P. Taptimthong, M. Kietzmann, P. Behrens, J. Reifenrath, N. Angrisani, *J. Nanobiotechnology* **2018**, *16*, 96.
- [53] H. C. Janßen, N. Angrisani, S. Kalies, F. Hansmann, M. Kietzmann, D. P. Warwas, P. Behrens, J. Reifenrath, *J. Nanobiotechnology* **2020**, *18*, 14.
- [54] J. Reifenrath, H. C. Janßen, D. P. Warwas, M. Kietzmann, P. Behrens, E. Willbold, M. Fedchenko, N. Angrisani, *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2020**, *30*, 102289.
- [55] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature* **1992**, *359*, 710–712.
- [56] J. Kobler, K. Möller, T. Bein, *ACS Nano* **2008**, *2*, 791–799.
- [57] K. Möller, T. Bein, *Chem. Mater.* **2017**, *29*, 371–388.
- [58] K. Möller, T. Bein, *Chem. Mater.* **2019**, *31*, 4364–4378.
- [59] Q. He, J. Zhang, J. Shi, Z. Zhu, L. Zhang, W. Bu, L. Guo, Y. Chen, *Biomaterials* **2010**,

- 31, 1085–1092.
- [60] G. Glorani, R. Marin, P. Canton, M. Pinto, G. Conti, G. Fracasso, P. Riello, *J. Nanoparticle Res.* **2017**, *19*, 294.
- [61] Y.-S. Lin, C.-P. Tsai, H.-Y. Huang, C.-T. Kuo, Y. Hung, D.-M. Huang, Y.-C. Chen, C.-Y. Mou, *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 4570–4573.
- [62] Y.-S. Lin, C. L. Haynes, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 3979–3986.
- [63] S. A. Corr, Y. P. Rakovich, Y. K. Gun'ko, *Nanoscale Res. Lett.* **2008**, *3*, 87–104.
- [64] D. Kwon, B. G. Cha, Y. Cho, J. Min, E.-B. Park, S.-J. Kang, J. Kim, *Nano Lett.* **2017**, *17*, 2747–2756.
- [65] S. Haffer, M. Tiemann, M. Fröba, *Chem. - A Eur. J.* **2010**, *16*, 10447–10452.
- [66] M. Jahns, D. P. Warwas, M. R. Krey, K. Nolte, S. König, M. Fröba, P. Behrens, *J. Mater. Chem. B* **2020**, *8*, 776–786.
- [67] N. C. Bigall, W. J. Parak, D. Dorfs, *Nano Today* **2012**, *7*, 282–296.
- [68] J. M. Domagala, *J. Antimicrob. Chemother.* **1994**, *33*, 685–706.
- [69] T. Trouchon, S. Lefebvre, *Open J. Vet. Med.* **2016**, *6*, 40–58.
- [70] M. Vallet-Regí, F. Balas, D. Arcos, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2007**, *46*, 7548–7558.
- [71] M. Mrinalini, S. Prasanthkumar, *Chempluschem* **2019**, *84*, 1103–1121.
- [72] M. Wei, Y. Gao, X. Li, M. J. Serpe, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 127–143.
- [73] H. Fullriede, P. Abendroth, N. Ehlert, K. Doll, J. Schäske, A. Winkel, S. N. Stumpp, M. Stiesch, P. Behrens, *BioNanoMaterials* **2016**, *17*, 59–72.
- [74] V. Cauda, H. Engelke, A. Sauer, D. Arcizet, C. Bräuchle, J. Rädler, T. Bein, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 2484–2492.
- [75] M. L. Immordino, F. Dosio, L. Cattel, *Int. J. Nanomedicine* **2006**, *1*, 297–315.
- [76] Y.-N. Zhang, W. Poon, A. J. Tavares, I. D. McGilvray, W. C. W. Chan, *J. Control. Release* **2016**, *240*, 332–348.
- [77] S. Ullah, K. Seidel, S. Türkkan, D. P. Warwas, T. Dubich, M. Rohde, H. Hauser, P. Behrens, A. Kirschning, M. Köster, D. Wirth, *J. Control. Release* **2019**, *294*, 327–336.
- [78] N. Harrasser, U. Lenze, F. Pohlig, *Orthopädische und Unfallchirurgische Prax.* **2012**, *1*, 16–22.
- [79] A. Trampuz, C. Perka, *Orthopädie und Unfallchirurgie* **2020**, *10*, 10–18.
- [80] N. Harrasser, T. Harnoss, *Wiener Medizinische Wochenschrift* **2012**, *162*, 115–120.
- [81] F. Foth, *Grundlegende Untersuchungen zum Implant-Directed-Magnetic-Drug-Targeting und zu seinem möglichen , zukünftigen Einsatz bei der Behandlung von Implantat-Assoziierten-Infektionen in der orthopädischen Chirurgie*, Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, **2014**.
- [82] W. Zimmerli, *J. Intern. Med.* **2014**, *276*, 111–119.
- [83] C. R. Arciola, D. Campoccia, P. Speziale, L. Montanaro, J. W. Costerton, *Biomaterials* **2012**, *33*, 5967–5982.
- [84] T. Abee, Á. T. Kovács, O. P. Kuipers, S. van der Veen, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2011**, *22*, 172–179.
- [85] H. Winkler, *Int. J. Med. Sci.* **2009**, *6*, 247–252.
- [86] R. Saginur, M. St. Denis, W. Ferris, S. D. Aaron, F. Chan, C. Lee, K. Ramotar, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 55–61.
- [87] J. Cordero, L. Munuera, M. D. Folgueira, *Injury* **1996**, *27*, 34–37.
- [88] J. D. Patel, M. Ebert, K. Stokes, R. Ward, J. M. Anderson, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*

- 2003, 14, 279–295.
- [89] E. E. MacKintosh, J. D. Patel, R. E. Marchant, J. M. Anderson, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2006**, 78, 836–842.
- [90] L. G. Harris, D. O. Meredith, L. Eschbach, R. G. Richards, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2007**, 18, 1151–1156.
- [91] J. K. Oh, Y. Yegin, F. Yang, M. Zhang, J. Li, S. Huang, S. V. Verkhoturov, E. A. Schweikert, K. Perez-Lewis, E. A. Scholar, et al., *Sci. Rep.* **2018**, 8, 1–13.
- [92] I. De-la-Pinta, M. Cobos, J. Ibarretxe, E. Montoya, E. Eraso, T. Guraya, G. Quindós, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2019**, 30, 77.
- [93] D. Davies, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, 2, 114–122.
- [94] K. Sauer, A. K. Camper, G. D. Ehrlich, J. W. Costerton, D. G. Davies, *J. Bacteriol.* **2002**, 184, 1140–1154.
- [95] K. Vickery, H. Hu, A. S. Jacombs, D. A. Bradshaw, A. K. Deva, *Healthc. Infect.* **2013**, 18, 61–66.
- [96] S. S. Gujral, S. Khatri, *Int. J. Adv. pharmacy, Biol. Chem.* **2013**, 2, 130–136.
- [97] K. Rani, S. Paliwal, *Sch. J. Appl. Med. Sci.* **2014**, 2, 328–331.
- [98] M. F. Attia, N. Anton, J. Wallyn, Z. Omran, T. F. Vandamme, *J. Pharm. Pharmacol.* **2019**, 71, 1185–1198.
- [99] H. K. Kimelberg, T. F. Tracy, S. M. Biddlecome, R. S. Bourke, *Cancer Res.* **1976**, 36, 2949–2957.
- [100] V. J. Richardson, B. E. Ryman, R. F. Jewkes, K. Jeyasingh, M. N. H. Tattersall, E. S. Newlands, S. B. Kaye, *Br. J. Cancer* **1979**, 40, 35–43.
- [101] C. R. Alving, *Pharmacol. Ther.* **1983**, 22, 407–424.
- [102] P. P. Deshpande, S. Biswas, V. P. Torchilin, *Nanomedicine* **2013**, 8, 1509–1528.
- [103] J. D. Byrne, T. Betancourt, L. Brannon-Peppas, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, 60, 1615–1626.
- [104] S. P. Egusquiaguirre, M. Igartua, R. M. Hernández, J. L. Pedraz, *Clin. Transl. Oncol.* **2012**, 14, 83–93.
- [105] H. Xu, T. Song, X. Bao, L. Hu, *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, 293, 514–519.
- [106] X.-S. Li, W.-Q. Li, W.-B. Wang, *Cancer Biother. Radiopharm.* **2007**, 22, 772–778.
- [107] S. R. Rudge, T. L. Kurtz, C. R. Vessely, L. G. Catterall, D. L. Williamson, *Biomaterials* **2000**, 21, 1411–1420.
- [108] Y.-L. Liu, D. Chen, P. Shang, D.-C. Yin, *J. Control. Release* **2019**, 302, 90–104.
- [109] S. Goodwin, C. Peterson, C. Hoh, C. Bittner, *J. Magn. Magn. Mater.* **1999**, 194, 132–139.
- [110] S. Y. Makhmudov, A. A. Kuznetsov, V. I. Filippov, in *Sci. Clin. Appl. Magn. Carriers*, Springer US, Boston, MA, **1997**, pp. 495–499.
- [111] J. A. Ritter, A. D. Ebner, K. D. Daniel, K. L. Stewart, *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, 280, 184–201.
- [112] K. P. Ivanov, M. K. Kalinina, Y. I. Levkovich, *Microvasc. Res.* **1981**, 22, 143–155.
- [113] I. T. Gabe, J. H. Gault, J. Ross, D. T. Mason, C. J. Mills, J. P. Schillingford, E. Braunwald, *Circulation* **1969**, 40, 603–614.
- [114] M. Vert, Y. Doi, K.-H. Hellwich, M. Hess, P. Hodge, P. Kubisa, M. Rinaudo, F. Schué, *Pure Appl. Chem.* **2012**, 84, 377–410.
- [115] M. Faraday, *Phil. Trans. R. Soc.* **1857**, 147, 145–181.
- [116] R. P. Feynmann, *Eng. Sci.* **1960**, 23, 22–36.

- [117] H. Goesmann, C. Feldmann, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2010**, *49*, 1362–1395.
- [118] A. Rössler, G. Skillas, S. E. Pratsinis, *Chemie Unserer Zeit* **2001**, *35*, 32–41.
- [119] H.-W. Yang, M.-Y. Hua, H.-L. Liu, C.-Y. Huang, K.-C. Wei, *Nanotechnol. Sci. Appl.* **2012**, *5*, 73–86.
- [120] J.-H. Park, G. von Maltzahn, E. Ruoslahti, S. N. Bhatia, M. J. Sailor, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, *47*, 7284–7288.
- [121] N. A. Frey, S. Peng, K. Cheng, S. Sun, *Chem Soc Rev.* **2009**, *38*, 2532–2542.
- [122] R. Qiao, C. Yang, M. Gao, *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 6274–6293.
- [123] Z.-T. Tsai, J.-F. Wang, H.-Y. Kuo, C.-R. Shen, J.-J. Wang, T.-C. Yen, *J. Magn. Magn. Mater.* **2010**, *322*, 208–213.
- [124] S. T. Selvan, P. K. Patra, C. Y. Ang, J. Y. Ying, *Angew. Chemie* **2007**, *119*, 2500–2504.
- [125] I. Safarik, M. Safarikova, *Biomagn. Res. Technol.* **2004**, *2*, 7.
- [126] J. Gómez-Pastora, E. Bringas, I. Ortiz, *Chem. Eng. J.* **2014**, *256*, 187–204.
- [127] A. B. Salunkhe, V. M. Khot, S. H. Pawar, *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, *14*, 572–594.
- [128] M. Salloum, R. Ma, L. Zhu, *Int. J. Hyperth.* **2009**, *25*, 309–321.
- [129] A. G. Kolhatkar, A. C. Jamison, D. Litvinov, R. C. Willson, T. Randall Lee, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 15977–16009.
- [130] F. Canfarotta, S. A. Piletsky, *Adv. Healthc. Mater.* **2014**, *3*, 160–175.
- [131] A. Figuerola, R. Di Corato, L. Manna, T. Pellegrino, *Pharmacol. Res.* **2010**, *62*, 126–143.
- [132] A. F. Hollemann, N. Wiberg, E. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, Walter De Gruyter & Co, Berlin, **2007**.
- [133] E. Riedel, C. Janiak, *Anorganische Chemie*, Walter De Gruyter & Co, Berlin, **2011**.
- [134] D. Meschede, *Gerthsen Physik*, Springer-Verlag GmbH, Berlin, Heidelberg, **2015**.
- [135] A. J. Cole, V. C. Yang, A. E. David, *Trends Biotechnol.* **2011**, *29*, 323–332.
- [136] R. Hergt, S. Dutz, R. Müller, M. Zeisberger, *J. Phys. Condens. Matter* **2006**, *18*, S2919–S2934.
- [137] R. E. Rosensweig, *J. Magn. Magn. Mater.* **2002**, *252*, 370–374.
- [138] C. Corot, P. Robert, J.-M. Idée, M. Port, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58*, 1471–1504.
- [139] T. Kobayashi, *Biotechnol. J.* **2011**, *6*, 1342–1347.
- [140] A. Z. Wilczewska, K. Niemirowicz, K. H. Markiewicz, H. Car, *Pharmacol. Reports* **2012**, *64*, 1020–1037.
- [141] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, W. S. Kim, *Sci. Technol. Adv. Mater.* **2015**, *16*, 023501.
- [142] U. Müller, *Anorganische Strukturchemie*, Vieweg+Teubner, Wiesbaden, **2008**.
- [143] O. Bomati-Miguel, L. Mazeina, A. Navrotsky, S. Veintemillas-Verdaguer, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 591–598.
- [144] R. Alexandrescu, I. Morjan, I. Voicu, F. Dumitrache, L. Albu, I. Soare, G. Prodan, *Appl. Surf. Sci.* **2005**, *248*, 138–146.
- [145] Q. Guo, X. Teng, S. Rahman, H. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 630–631.
- [146] A. K. Gupta, M. Gupta, *Biomaterials* **2005**, *26*, 3995–4021.
- [147] A. S. Teja, P.-Y. Koh, *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* **2009**, *55*, 22–45.
- [148] S. Dietrich, S. Chandra, C. Georgi, S. Thomas, D. Makarov, S. Schulze, M. Hietschold, M. Albrecht, D. Bahadur, H. Lang, *Mater. Chem. Phys.* **2012**, *132*, 292–299.
- [149] M. Mahmoudi, A. Simchi, M. Imani, M. A. Shokrgozar, A. S. Milani, U. O. Häfeli, P. Stroeve, *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2010**, *75*, 300–309.
- [150] Z.-G. Wu, J.-F. Gao, *Micro Nano Lett.* **2012**, *7*, 533–535.

- [151] Y. Ma, Z. Zhang, C. Ren, G. Liu, X. Chen, *Analyst* **2012**, *137*, 485–489.
- [152] B. S. Inbaraj, T. H. Kao, T. Y. Tsai, C. P. Chiu, R. Kumar, B. H. Chen, *Nanotechnology* **2011**, *22*, 075101.
- [153] H.-Y. Lee, Z. Li, K. Chen, A. R. Hsu, C. Xu, J. Xie, S. Sun, X. Chen, *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 1371–1379.
- [154] J. Vidal-Vidal, J. Rivas, M. A. López-Quintela, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2006**, *288*, 44–51.
- [155] A. B. Chin, I. I. Yaacob, *J. Mater. Process. Technol.* **2007**, *191*, 235–237.
- [156] R. Berger, J.-C. Bissey, J. Kliava, H. Daubric, C. Estournès, *J. Magn. Magn. Mater.* **2001**, *234*, 535–544.
- [157] X. Yang, W. Jiang, L. Liu, B. Chen, S. Wu, D. Sun, F. Li, *J. Magn. Magn. Mater.* **2012**, *324*, 2249–2257.
- [158] H. Heidari, H. Razmi, A. Jouyban, *J. Chromatogr. A* **2012**, *1245*, 1–7.
- [159] S. Ge, X. Shi, K. Sun, C. Li, C. Uher, J. R. Baker, M. M. Banaszak Holl, B. G. Orr, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 13593–13599.
- [160] J. Park, K. An, Y. Hwang, J.-G. Park, H.-J. Noh, J.-Y. Kim, J.-H. Park, N.-M. Hwang, T. Hyeon, *Nat. Mater.* **2004**, *3*, 891–895.
- [161] P. D. Cozzoli, T. Pellegrino, L. Manna, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 1195–1208.
- [162] M. Casavola, R. Buonsanti, G. Caputo, P. D. Cozzoli, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, *2008*, 837–854.
- [163] B. M. Teo, F. Chen, T. A. Hatton, F. Grieser, M. Ashokkumar, *Langmuir* **2009**, *25*, 2593–2595.
- [164] P. Rajiv, B. Bavadarani, M. N. Kumar, P. Vanathi, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2017**, *12*, 45–49.
- [165] R. Massart, *IEEE Trans. Magn.* **1981**, *17*, 1247–1248.
- [166] C. Fu, N. M. Ravindra, *Bioinspired, Biomim. Nanobiomaterials* **2012**, *1*, 229–244.
- [167] A. K. Gupta, A. S. G. Curtis, *Biomaterials* **2004**, *25*, 3029–3040.
- [168] D. K. Kim, Y. Zhang, W. Voit, K. V. Rao, M. Muhammed, *J. Magn. Magn. Mater.* **2001**, *225*, 30–36.
- [169] V. K. LaMer, R. H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 4847–4854.
- [170] V. K. LaMer, *Ind. Eng. Chem.* **1952**, *44*, 1270–1277.
- [171] C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **2000**, *30*, 545–610.
- [172] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, R. N. Muller, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064–2110.
- [173] E. Amstad, M. Textor, E. Reimhult, *Nanoscale* **2011**, *3*, 2819–2843.
- [174] S. Sun, H. Zeng, D. B. Robinson, S. Raoux, P. M. Rice, S. X. Wang, G. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273–279.
- [175] M. Mahmoudi, S. Sant, B. Wang, S. Laurent, T. Sen, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2011**, *63*, 24–46.
- [176] A.-H. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222–1244.
- [177] J. K. Oh, J. M. Park, *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 168–189.
- [178] L. Zhang, R. He, H.-C. Gu, *Appl. Surf. Sci.* **2006**, *253*, 2611–2617.
- [179] P. I. P. Soares, C. A. T. Laia, A. Carvalho, L. C. J. Pereira, J. T. Coutinho, I. M. M. Ferreira, C. M. M. Novo, J. P. Borges, *Appl. Surf. Sci.* **2016**, *383*, 240–247.
- [180] X. Zhang, H. Niu, W. Li, Y. Shi, Y. Cai, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4454–4456.

- [181] I. V. Beketov, A. P. Safronov, A. I. Medvedev, J. Alonso, G. V. Kurlyandskaya, S. M. Bhagat, *AIP Adv.* **2012**, *2*, 022154.
- [182] K. Chatterjee, S. Sarkar, K. Jagajjanani Rao, S. Paria, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, *209*, 8–39.
- [183] W.-C. Law, K.-T. Yong, I. Roy, G. X. Xu, H. Ding, E. J. Bergey, H. Zeng, P. N. Prasad, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 7972–7977.
- [184] N. Sounderya, Y. Zhang, *Recent Patents Biomed. Eng.* **2010**, *1*, 34–42.
- [185] R. Ghosh Chaudhuri, S. Paria, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 2373–2433.
- [186] Y. Fatieiev, J. G. Croissant, K. Alamoudi, N. M. Khashab, *Chempluschem* **2017**, *82*, 631–637.
- [187] J. Nawrocki, *J. Chromatogr. A* **1997**, *779*, 29–71.
- [188] J. Ackermann, V. Damrath, *Chemie unserer Zeit* **1989**, *23*, 86–99.
- [189] H. Cochrane, C. S. Lin, *Rubber Chem. Technol.* **1993**, *66*, 48–60.
- [190] J. G. Croissant, Y. Fatieiev, A. Almalik, N. M. Khashab, *Adv. Healthc. Mater.* **2018**, *7*, 1700831.
- [191] Z. Li, J. C. Barnes, A. Bosoy, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2590–2605.
- [192] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *26*, 62–69.
- [193] J. Shi, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 2139–2181.
- [194] R. A. García-Muñoz, V. Morales, M. Linares, B. Rico-Oller, *Langmuir* **2014**, *30*, 881–890.
- [195] S.-H. Wu, C.-Y. Mou, H.-P. Lin, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3862–3875.
- [196] D. Pérez-Quintanilla, S. Morante-Zarcelero, I. Sierra, *J. Colloid Interface Sci.* **2014**, *414*, 14–23.
- [197] F. Hoffmann, M. Fröba, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 608–620.
- [198] A. Walcarius, L. Mercier, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 4478–4511.
- [199] B. J. Scott, G. Wirnsberger, G. D. Stucky, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3140–3150.
- [200] S. Gandhi, K. Thandavan, B.-J. Kwon, H.-J. Woo, S. S. Yi, H. S. Lee, J. H. Jeong, K. Jang, D. S. Shin, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 5953–5962.
- [201] M. Liong, J. Lu, M. Kovoichich, T. Xia, S. G. Ruehm, A. E. Nel, F. Tamanoi, J. I. Zink, *ACS Nano* **2008**, *2*, 889–896.
- [202] J. L. Vivero-Escoto, R. C. Huxford-Phillips, W. Lin, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2673–2685.
- [203] X. Qiu, S. Han, Y. Hu, M. Gao, H. Wang, *J. Mater. Chem. A* **2014**, *2*, 1493–1501.
- [204] H. Rao, X. Wang, X. Du, Z. Xue, *Anal. Lett.* **2013**, *46*, 2789–2812.
- [205] N. Ehlert, M. Badar, A. Christel, S. J. Lohmeier, T. Luessenhop, M. Stieve, T. Lenarz, P. P. Mueller, P. Behrens, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 752–760.
- [206] N. Ehlert, A. Hoffmann, T. Luessenhop, G. Gross, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *Acta Biomater.* **2011**, *7*, 1772–1779.
- [207] N. Ehlert, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3847–3861.
- [208] A. Neumann, A. Christel, C. Kasper, P. Behrens, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 24222–24230.
- [209] T. Yanagisawa, T. Shimizu, K. Kuroda, C. Kato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, *63*, 988–992.
- [210] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature* **1992**, *359*,

710–712.

- [211] 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, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10834–10843.
- [212] E. Yamamoto, K. Kuroda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2016**, *89*, 501–539.
- [213] Q. He, J. Shi, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 5845–5855.
- [214] S. Williams, A. Neumann, I. Bremer, Y. Su, G. Dräger, C. Kasper, P. Behrens, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2015**, *26*, 125.
- [215] M. Thommes, K. Kaneko, A. V. Neimark, J. P. Olivier, F. Rodriguez-Reinoso, J. Rouquerol, K. S. W. Sing, *Pure Appl. Chem.* **2015**, *87*, 1051–1069.
- [216] J. Rouquerol, D. Avnir, C. W. Fairbridge, D. H. Everett, J. M. Haynes, N. Pernicone, J. D. F. Ramsay, K. S. W. Sing, K. K. Unger, *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 1739–1758.
- [217] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Fröba, *Angew. Chemie* **2006**, *118*, 3290–3328.
- [218] T. Asefa, Z. Tao, *Chem. Res. Toxicol.* **2012**, *25*, 2265–2284.
- [219] N. Lang, A. Tuel, *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 1961–1966.
- [220] M. Grün, K. K. Unger, A. Matsumoto, K. Tsutsumi, *Microporous Mesoporous Mater.* **1999**, *27*, 207–216.
- [221] Z.-A. Qiao, L. Zhang, M. Guo, Y. Liu, Q. Huo, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 3823–3829.
- [222] K. Suzuki, K. Ikari, H. Imai, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 462–463.
- [223] M. Qhobosheane, S. Santra, P. Zhang, W. Tan, *Analyst* **2001**, *126*, 1274–1278.
- [224] N. Nuraje, K. Su, H. Matsui, *New J. Chem.* **2007**, *31*, 1895–1898.
- [225] S.-Y. Chen, C.-Y. Tang, W.-T. Chuang, J.-J. Lee, Y.-L. Tsai, J. C. C. Chan, C.-Y. Lin, Y.-C. Liu, S. Cheng, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 3906–3916.
- [226] F. Rambaud, K. Vallé, S. Thibaud, B. Julián-López, C. Sanchez, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 2896–2905.
- [227] J. Wang, C.-K. Tsung, R. C. Hayward, Y. Wu, G. D. Stucky, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2005**, *44*, 332–336.
- [228] T. Delclos, C. Aimé, E. Pouget, A. Brizard, I. Huc, M. H. Delville, R. Oda, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 1929–1935.
- [229] S. Huh, J. W. Wiench, J.-C. Yoo, M. Pruski, V. S.-Y. Lin, *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 4247–4256.
- [230] N. Hao, L. Li, F. Tang, *Biomater. Sci.* **2016**, *4*, 575–591.
- [231] L.-P. Yang, P. Zou, C.-Y. Pan, *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 1843–1849.
- [232] R. Atluri, Z. Bacsik, N. Hedin, A. E. Garcia-Bennett, *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, *133*, 27–35.
- [233] W. Wang, P. Wang, X. Tang, A. A. Elzatahry, S. Wang, D. Al-Dahyan, M. Zhao, C. Yao, C.-T. Hung, X. Zhu, et al., *ACS Cent. Sci.* **2017**, *3*, 839–846.
- [234] A. B. Fuertes, P. Valle-Vigón, M. Sevilla, *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *349*, 173–180.
- [235] M.-H. Kim, H.-K. Na, Y.-K. Kim, S.-R. Ryoo, H. S. Cho, K. E. Lee, H. Jeon, R. Ryoo, D.-H. Min, *ACS Nano* **2011**, *5*, 3568–3576.
- [236] H.-K. Na, M.-H. Kim, K. Park, S.-R. Ryoo, K. E. Lee, H. Jeon, R. Ryoo, C. Hyeon, D.-H. Min, *Small* **2012**, *8*, 1752–1761.
- [237] A. B. D. Nandiyanto, S.-G. Kim, F. Iskandar, K. Okuyama, *Microporous Mesoporous Mater.* **2009**, *120*, 447–453.
- [238] J. Hu, M. Chen, X. Fang, L. Wu, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5472–5491.

- [239] C.-H. Lin, J.-H. Chang, Y.-Q. Yeh, S.-H. Wu, Y.-H. Liu, C.-Y. Mou, *Nanoscale* **2015**, *7*, 9614–9626.
- [240] J. Kim, J. E. Lee, J. Lee, J. H. Yu, B. C. Kim, K. An, Y. Hwang, C.-H. Shin, J.-G. Park, J. Kim, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 688–689.
- [241] D. Kwon, B. G. Cha, Y. Cho, J. Min, E.-B. Park, S.-J. Kang, J. Kim, *Nano Lett.* **2017**, *17*, 2747–2756.
- [242] S. Inagaki, S. Guan, Y. Fukushima, T. Ohsuna, O. Terasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9611–9614.
- [243] T. Asefa, M. J. MacLachlan, N. Coombs, G. A. Ozin, *Nature* **1999**, *402*, 867–871.
- [244] B. J. Melde, B. T. Holland, C. F. Blanford, A. Stein, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3302–3308.
- [245] P. Van Der Voort, D. Esquivel, E. De Canck, F. Goethals, I. Van Driessche, S. S. Francisco Romero, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3913–3955.
- [246] W. J. Hunks, G. A. Ozin, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 3716–3724.
- [247] B. Hatton, K. Landskron, W. Whitnall, D. Perovic, G. A. Ozin, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 305–312.
- [248] S. S. Park, M. S. Moorthy, C.-S. Ha, *NPG Asia Mater.* **2014**, *6*, e96, doi: 10.1038/am.2014.13.
- [249] B. Guan, Y. Cui, Z. Ren, Z.-A. Qiao, L. Wang, Y. Liu, Q. Huo, *Nanoscale* **2012**, *4*, 6588–6596.
- [250] N. Mizoshita, Y. Goto, Y. Maegawa, T. Tani, S. Inagaki, *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 2548–2554.
- [251] E.-Y. Jeong, A. Burri, S.-Y. Lee, S.-E. Park, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 10869–10875.
- [252] H. Takeda, Y. Goto, Y. Maegawa, T. Ohsuna, T. Tani, K. Matsumoto, T. Shimada, S. Inagaki, *Chem. Commun.* **2009**, 6032–6034.
- [253] M. A. Wahab, J. N. Beltramini, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 79129–79151.
- [254] A. Vinu, K. Z. Hossain, K. Ariga, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2005**, *5*, 347–371.
- [255] A. Mehmood, H. Ghafar, S. Yaqoob, U. F. Gohar, B. Ahmad, *J. Dev. Drugs* **2017**, *06*, doi: 10.4172/2329-6631.1000174.
- [256] N. H. N. Kamarudin, A. A. Jalil, S. Triwahyono, N. F. M. Salleh, A. H. Karim, R. R. Mukti, B. H. Hameed, A. Ahmad, *Microporous Mesoporous Mater.* **2013**, *180*, 235–241.
- [257] T. Vallant, H. Brunner, U. Mayer, H. Hoffmann, T. Leitner, R. Resch, G. Friedbacher, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 7190–7197.
- [258] D. K. Schwartz, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2001**, *52*, 107–137.
- [259] M. H. Lim, A. Stein, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3285–3295.
- [260] M. E. McGovern, K. M. R. Kallury, M. Thompson, *Langmuir* **1994**, *10*, 3607–3614.
- [261] J. A. Howarter, J. P. Youngblood, *Langmuir* **2006**, *22*, 11142–11147.
- [262] F. de Juan, E. Ruiz-Hitzky, *Adv. Mater.* **2000**, *12*, 430–432.
- [263] J. M. Rosenholm, A. Duchanoy, M. Lindén, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 1126–1133.
- [264] L. Zhu, X. Liu, T. Chen, Z. Xu, W. Yan, H. Zhang, *Appl. Surf. Sci.* **2012**, *258*, 7126–7134.
- [265] M. Ohashi, M. P. Kapoor, S. Inagaki, *Chem. Commun.* **2008**, 841–843.
- [266] M. A. O. Lourenço, A. Mayoral, I. Díaz, A. R. Silva, P. Ferreira, *Microporous Mesoporous Mater.* **2015**, *217*, 167–172.
- [267] K. S. Soppimath, D. C.-W. Tan, Y.-Y. Yang, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 318–323.
- [268] S. Balivada, R. S. Rachakatla, H. Wang, T. N. Samarakoon, R. K. Dani, M. Pyle, F. O. Kroh, B. Walker, X. Leaym, O. B. Koper, et al., *BMC Cancer* **2010**, *10*, 119.

- [269] V. Salgueiriño-Maceira, M. A. Correa-Duarte, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 4131–4144.
- [270] K. Wang, W. Tan, X. He, in *2005 IEEE Eng. Med. Biol. 27th Annu. Conf.*, IEEE, **2005**, pp. 717–719.
- [271] W. Tan, K. Wang, X. He, X. J. Zhao, T. Drake, L. Wang, R. P. Bagwe, *Med. Res. Rev.* **2004**, *24*, 621–638.
- [272] S. Nayak, H. Lee, J. Chmielewski, L. A. Lyon, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10258–10259.
- [273] M. De, P. S. Ghosh, V. M. Rotello, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 4225–4241.
- [274] W. Schärrtl, *Nanoscale* **2010**, *2*, 829–843.
- [275] S. K. Sahoo, V. Labhasetwar, *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1112–1120.
- [276] J. L. Gilmore, X. Yi, L. Quan, A. V. Kabanov, *J. NeuroImmune Pharmacol.* **2008**, *3*, 83–94.
- [277] D. F. Williams, *Biomaterials* **2008**, *29*, 2941–2953.
- [278] D. F. Williams, *Engineering* **2018**, *4*, 286–290.
- [279] F. Tang, L. Li, D. Chen, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 1504–1534.
- [280] F. Lu, S.-H. Wu, Y. Hung, C.-Y. Mou, *Small* **2009**, *5*, 1408–1413.
- [281] Q. He, Z. Zhang, F. Gao, Y. Li, J. Shi, *Small* **2011**, *7*, 271–280.
- [282] X. Wang, X. Li, A. Ito, Y. Sogo, T. Ohno, *Acta Biomater.* **2013**, *9*, 7480–7489.
- [283] J. M. Rosenholm, C. Sahlgren, M. Lindén, *Nanoscale* **2010**, *2*, 1870–1883.
- [284] J. L. Vivero-Escoto, I. I. Slowing, V. S.-Y. Lin, B. G. Trewyn, *Small* **2010**, *6*, 1952–1967.
- [285] X. Huang, L. Li, T. Liu, N. Hao, H. Liu, D. Chen, F. Tang, *ACS Nano* **2011**, *5*, 5390–5399.
- [286] I. Slowing, B. G. Trewyn, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14792–14793.
- [287] A. E. Nel, L. Mädler, D. Velegol, T. Xia, E. M. V. Hoek, P. Somasundaran, F. Klaessig, V. Castranova, M. Thompson, *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 543–557.
- [288] A. Verma, F. Stellacci, *Small* **2010**, *6*, 12–21.
- [289] V. Cauda, C. Argyo, T. Bein, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 8693–8699.
- [290] C. E. Ashley, E. C. Carnes, G. K. Phillips, D. Padilla, P. N. Durfee, P. A. Brown, T. N. Hanna, J. Liu, B. Phillips, M. B. Carter, et al., *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 389–397.
- [291] I. I. Slowing, C.-W. Wu, J. L. Vivero-Escoto, V. S.-Y. Lin, *Small* **2009**, *5*, 57–62.
- [292] Y.-S. Lin, C. L. Haynes, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4834–4842.
- [293] J. G. Croissant, Y. Fatieiev, N. M. Khashab, *Adv. Mater.* **2017**, *29*, 1604634.
- [294] K. S. Finnie, D. J. Waller, F. L. Perret, A. M. Krause-Heuer, H. Q. Lin, J. V. Hanna, C. J. Barbé, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2009**, *49*, 12–18.
- [295] Q. He, Z. Zhang, Y. Gao, J. Shi, Y. Li, *Small* **2009**, *5*, 2722–2729.
- [296] Q. He, J. Shi, M. Zhu, Y. Chen, F. Chen, *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, *131*, 314–320.
- [297] K. Braun, A. Pochert, M. Beck, R. Fiedler, J. Gruber, M. Lindén, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2016**, *79*, 319–327.
- [298] H. Yamada, C. Urata, Y. Aoyama, S. Osada, Y. Yamauchi, K. Kuroda, *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 1462–1471.
- [299] G. Chen, Z. Teng, X. Su, Y. Liu, G. Lu, *J. Biomed. Nanotechnol.* **2015**, *11*, 722–729.
- [300] L. Li, T. Liu, C. Fu, L. Tan, X. Meng, H. Liu, *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2015**, *11*, 1915–1924.
- [301] T. Fontecave, C. Sanchez, T. Azais, C. Boissière, *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 4326–4336.

- [302] V. Cauda, A. Schlossbauer, T. Bein, *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, *132*, 60–71.
- [303] M. Rahman, S. Laurent, N. Tawil, L. Yahia, M. Mahmoudi, *Protein-Nanoparticle Interactions*, Springer-Verlag GmbH, Berlin, Heidelberg, **2013**.
- [304] V. H. Nguyen, B.-J. Lee, *Int. J. Nanomedicine* **2017**, *12*, 3137–3151.
- [305] A. Albanese, P. S. Tang, W. C. W. Chan, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2012**, *14*, 1–16.
- [306] Y. Shi, M. L. Miller, A. J. Di Pasqua, *Comments Inorg. Chem.* **2016**, *36*, 61–80.
- [307] 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, et al., *Sci. Transl. Med.* **2014**, *6*, 1–10.
- [308] A. C. Anselmo, S. Mitragotri, *AAPS J.* **2015**, *17*, 1041–1054.
- [309] S. Zhao, S. Zhang, J. Ma, L. Fan, C. Yin, G. Lin, Q. Li, *Nanoscale* **2015**, *7*, 16389–16398.
- [310] D. Bobo, K. J. Robinson, J. Islam, K. J. Thurecht, S. R. Corrie, *Pharm. Res.* **2016**, *33*, 2373–2387.
- [311] N. Hao, L. Li, F. Tang, *Int. Mater. Rev.* **2017**, *62*, 57–77.
- [312] T. Yu, D. Hubbard, A. Ray, H. Ghandehari, *J. Control. Release* **2012**, *163*, 46–54.
- [313] M. Levy, N. Luciani, D. Alloyeau, D. Elgrabli, V. Deveaux, C. Pechoux, S. Chat, G. Wang, N. Vats, F. Gendron, et al., *Biomaterials* **2011**, *32*, 3988–3999.
- [314] P. Aisen, M. Wessling-Resnick, E. A. Leibold, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 200–206.
- [315] Q. Feng, Y. Liu, J. Huang, K. Chen, J. Huang, K. Xiao, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1–13.
- [316] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer, New York, **2006**.
- [317] J. E. Moffatt, T. B. Payten, G. Tsiminis, T. J. de Prinse, L. Da Silva Teixeira, E. Klantsataya, D. J. Ottaway, B. W. Smith, N. A. Spooner, *Appl. Spectrosc.* **2021**, *75*, 674–689.
- [318] B. D. Wagner, *Molecules* **2009**, *14*, 210–237.
- [319] R. C. Benson, H. A. Kues, *J. Chem. Eng. Data* **1977**, *22*, 379–383.
- [320] K. P. C. Vollhardt, N. E. Schore, *Organische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- [321] U. Resch-Genger, M. Grabolle, S. Cavaliere-Jaricot, R. Nitschke, T. Nann, *Nat. Methods* **2008**, *5*, 763–775.
- [322] A. P. Demchenko, *Methods Appl. Fluoresc.* **2020**, *8*, 022001.
- [323] L. D. Lavis, R. T. Raines, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 855–866.
- [324] W. R. Ware, *J. Phys. Chem.* **1962**, *66*, 455–458.
- [325] C. D. Geddes, K. Apperson, J. Karolin, D. J. S. Birch, *Anal. Biochem.* **2001**, *293*, 60–66.
- [326] M. S. Mehata, H. B. Tripathi, *J. Lumin.* **2002**, *99*, 47–52.
- [327] D. L. Dexter, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836–850.
- [328] T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55–75.
- [329] L. Stryer, *Annu. Rev. Biochem.* **1978**, *47*, 819–846.
- [330] M. Ghosh, S. Nath, A. Hajra, S. Sinha, *J. Lumin.* **2013**, *141*, 87–92.
- [331] N. Chekina, D. Horák, P. Jendelová, M. Trchová, M. J. Beneš, M. Hrubý, V. Herynek, K. Turnovcová, E. Syková, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 7630–7639.
- [332] B. Dubertret, M. Calame, A. J. Libchaber, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 365–370.
- [333] F. Bertorelle, C. Wilhelm, J. Roger, F. Gazeau, C. Ménager, V. Cabuil, *Langmuir* **2006**, *22*, 5385–5391.
- [334] S. K. Mandal, N. Lequeux, B. Rotenberg, M. Tramier, J. Fattaccioli, J. Bibette, B. Dubertret, *Langmuir* **2005**, *21*, 4175–4179.
- [335] Q. Zhang, R. Su, J.-P. Wang, Q. Zhang, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2016**, *16*, 7427–7432.

- [336] J. Bravo, L. Zhai, Z. Wu, R. E. Cohen, M. F. Rubner, *Langmuir* **2007**, *23*, 7293–7298.
- [337] P. Yang, S. Gai, J. Lin, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 3679–3698.
- [338] V. Mamaeva, C. Sahlgren, M. Lindén, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65*, 689–702.
- [339] Y. Zhou, G. Quan, Q. Wu, X. Zhang, B. Niu, B. Wu, Y. Huang, X. Pan, C. Wu, *Acta Pharm. Sin. B* **2018**, *8*, 165–177.
- [340] T. Limnell, H. A. Santos, E. Mäkilä, T. Heikkilä, J. Salonen, D. Y. Murzin, N. Kumar, T. Laaksonen, L. Peltonen, J. Hirvonen, *J. Pharm. Sci.* **2011**, *100*, 3294–3306.
- [341] M. Vallet-Regi, A. Rámila, R. P. del Real, J. Pérez-Pariente, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 308–311.
- [342] Y. Wang, Q. Zhao, N. Han, L. Bai, J. Li, J. Liu, E. Che, L. Hu, Q. Zhang, T. Jiang, et al., *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* **2015**, *11*, 313–327.
- [343] S.-W. Song, K. Hidajat, S. Kawi, *Langmuir* **2005**, *21*, 9568–9575.
- [344] V. Cauda, L. Mühlstein, B. Onida, T. Bein, *Microporous Mesoporous Mater.* **2009**, *118*, 435–442.
- [345] Y. Hu, J. Wang, Z. Zhi, T. Jiang, S. Wang, *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *363*, 410–417.
- [346] B. Chang, J. Guo, C. Liu, J. Qian, W. Yang, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 9941–9947.
- [347] F. Balas, M. Manzano, P. Horcajada, M. Vallet-Regi, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8116–8117.
- [348] E. Aznar, M. Oroval, L. Pascual, J. R. Murguía, R. Martínez-Mañez, F. Sancenón, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 561–718.
- [349] J.-H. Xu, F.-P. Gao, L.-L. Li, H. L. Ma, Y.-S. Fan, W. Liu, S.-S. Guo, X.-Z. Zhao, H. Wang, *Microporous Mesoporous Mater.* **2013**, *182*, 165–172.
- [350] T. Xia, M. Kovoichich, M. Liong, H. Meng, S. Kabehie, S. George, J. I. Zink, A. E. Nel, *ACS Nano* **2009**, *3*, 3273–3286.
- [351] J. Park, J. Park, H. Shin, *Mater. Lett.* **2007**, *61*, 156–159.
- [352] M. Rai, A. Yadav, A. Gade, *Biotechnol. Adv.* **2009**, *27*, 76–83.
- [353] N. Schmidt, J. Schulze, D. P. Warwas, N. Ehlert, T. Lenarz, A. Warnecke, P. Behrens, *PLoS One* **2018**, *13*, e0194778.
- [354] F. Jia, X. Liu, L. Li, S. Mallapragada, B. Narasimhan, Q. Wang, *J. Control. Release* **2013**, *172*, 1020–1034.
- [355] A. Baeza, E. Guisasola, E. Ruiz-Hernández, M. Vallet-Regí, *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 517–524.
- [356] S. Laurent, M. Mahmoudi, *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* **2011**, *2*, 367–390.
- [357] J. Schroder, *J. S. Afr. Vet. Assoc.* **1989**, *60*, 122–124.
- [358] M. A. Kohanski, D. J. Dwyer, J. J. Collins, *Nat. Rev. Microbiol.* **2010**, *8*, 423–435.
- [359] P. C. Sharma, A. Jain, S. Jain, R. Pahwa, M. S. Yar, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2010**, *25*, 577–589.
- [360] D. B. Williams, C. B. Carter, *Transmission Electron Microscopy*, Springer, New York, **2009**.
- [361] J. Landers, G. Y. Gor, A. V. Neimark, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2013**, *437*, 3–32.
- [362] R. Allmann, *Röntgen-Pulverdiffraktometrie: Rechnergestützte Auswertung, Phasenanalyse und Strukturbestimmung*, Springer-Verlag GmbH, Berlin, Heidelberg, **2003**.
- [363] P. Scherrer, *Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen, Mathematisch-Physikalische Klasse* **1918**, 98–100.

- [364] S. Foner, *Rev. Sci. Instrum.* **1959**, *30*, 548–557.
- [365] J. Bauch, R. Rosenkranz, *Physikalische Werkstoffdiagnostik*, Springer Vieweg, Berlin, Heidelberg, **2017**.
- [366] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, Thieme, Stuttgart, New York, **2007**.
- [367] V. Yathindranath, L. Rebbouh, D. F. Moore, D. W. Miller, J. van Lierop, T. Hegmann, *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 1457–1464.
- [368] Y. T. Tao, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4350–4358.
- [369] V. I. Shubayev, T. R. Pisanic, S. Jin, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2009**, *61*, 467–477.
- [370] M. Colilla, I. Izquierdo-Barba, S. Sánchez-Salcedo, J. L. G. Fierro, J. L. Hueso, M. Vallet-Regí, *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 6459–6466.
- [371] A. M. El-Toni, S. Yin, T. Sato, *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *300*, 123–130.
- [372] Q. He, X. Cui, F. Cui, L. Guo, J. Shi, *Microporous Mesoporous Mater.* **2009**, *117*, 609–616.
- [373] N. Schmidt, *Entwicklung von auf nanoporösen Silica-Nanopartikeln basierenden Implantat-assoziierten Freisetzungssystemen für Wachstumsfaktoren*, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2019**.
- [374] A. Satalov, *Nanoporous Silica Nanoparticles and Bone Morphogenetic Protein 2 for Bone Regeneration*, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2017**.
- [375] K. F. W. Besecke, *Entwicklung von Freisetzungssystemen für Biomoleküle für regenerative Anwendungen*, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2020**.
- [376] P. L. Rodriguez, T. Harada, D. A. Christian, D. A. Pantano, R. K. Tsai, D. E. Discher, *Science* **2013**, *339*, 971–975.
- [377] F. Hoffmann, M. Güngerich, P. J. Klar, M. Fröba, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 5648–5660.
- [378] P. T. M. Nguyen, C. Fan, D. D. Do, D. Nicholson, *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 5475–5484.
- [379] M. Lizondo, M. Pons, M. Gallardo, J. Estelrich, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1997**, *15*, 1845–1849.
- [380] F. K. Crundwell, *ACS Omega* **2017**, *2*, 1116–1127.
- [381] S. Sahoo, C. K. Chakraborti, S. C. Mishra, U. N. Nanda, S. Naik, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2011**, *3*, 165–170.
- [382] A. Blume, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1996**, *1*, 64–77.
- [383] D. Dahlhaus, *Untersuchung von magnetischen Nanopartikeln hinsichtlich ihrer biologischen Verträglichkeit und der Nutzung als Wirkstoffträger*, Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, **2018**.
- [384] H. C. Janßen, *Magnetische Nanopartikel als Wirkstoff-Carrier für die Therapie von Implantat-assoziierten Infektionen: Eine Untersuchung der Biokompatibilität, Verteilung und Akkumulation im Mausmodell*, Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, **2020**.
- [385] C. Liu, J. Guo, W. Yang, J. Hu, C. Wang, S. Fu, *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 4764–4770.
- [386] Y.-W. Jun, Y.-M. Huh, J.-S. Choi, J.-H. Lee, H.-T. Song, S. Kim, S. Yoon, K.-S. Kim, J.-S. Shin, J. S. Suh, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5732–5733.
- [387] S.-H. Noh, W. Na, J.-T. Jang, J.-H. Lee, E. J. Lee, S. H. Moon, Y. Lim, J.-S. Shin, J. Cheon, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 3716–3721.
- [388] S. Sun, C. B. Murray, D. Weller, L. Folks, A. Moser, *Science* **2000**, *287*, 1989–1992.

- [389] L. Wu, A. Mendoza-Garcia, Q. Li, S. Sun, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 10473–10512.

8 Anhang

8.1 Chemikalienverzeichnis

Tabelle 8.1: Verwendete Chemikalien mit Reinheit und Bezugsquelle.

Chemikalien	Reinheit	Bezugsquelle
[Hydroxy(polyethyleneoxy)propyl] Triethoxysilane (PEG-Silane, MW 575-750 g mol ⁻¹)	50% in Ethanol	Gelest Inc.
1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin	≥99%	Sigma Aldrich
1,4-Bis(triethoxysilyl)benzol	96%	Sigma Aldrich
4',6-diamidino-2-phenylindol	-	Thermo Fisher Scientific
3-Aminopropyltrimethoxysilan	97%	Sigma Aldrich
Ammoniumhydroxid (25 %)	≥25%	Honeywell
Ammoniumnitrat	≥99.5%	Sigma Aldrich
CellTiter-Blue®-Reagenz	-	Promega
Cetyltrimethylammoniumbromid	≥98%	Sigma Aldrich
Chloroform	≥99%	Sigma Aldrich
Dulbecco's Modified Eagle's Medium	-	Merck Millipore
Eisen(II)-chlorid Tetrahydrat	≥99.0%	Sigma Aldrich
Eisen(III)-acetylacetonat	≥99.9%	Sigma Aldrich
Eisen(III)-chlorid Hexahydrat	97%	Sigma Aldrich
Enrofloxacin	≥99.0%	Sigma Aldrich
Ethanol (absolut)	≥99.5%	Merck KGaA
Ethylacetat	99.8%	Sigma Aldrich
Fluorescein-Isothiocyanat Isomer I	≥90%	Sigma Aldrich
Fluoromount-G™	-	Thermo Fisher Scientific
Natriumborhydrid	98.0%	Sigma Aldrich
Ölsäure	90%	Sigma Aldrich
Paraformaldehyd	95.0%	Sigma Aldrich
PBS	-	Sigma Aldrich
Phalloidin-iFluor 488	-	Abcam
Rhodamin B-isothiocyanat mixed isomers	mixed isomers	Sigma Aldrich
Tetraethylorthosilikat	≥99.0%	Sigma Aldrich
Trinatriumcitrat	≥98%	Sigma Aldrich
Triton X-100	-	Sigma Aldrich

8.2 Zusatzinformationen

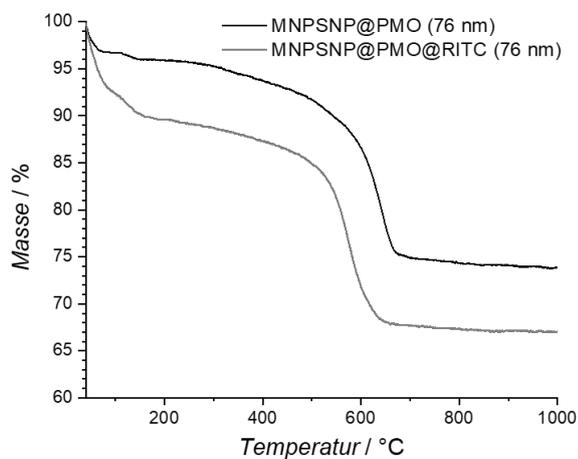


Abbildung 8.1: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten MNPSNP@PMO (76 nm) (schwarz) und der RITC-modifizierten MNPSNP@PMO@RITC (76 nm) (grau).

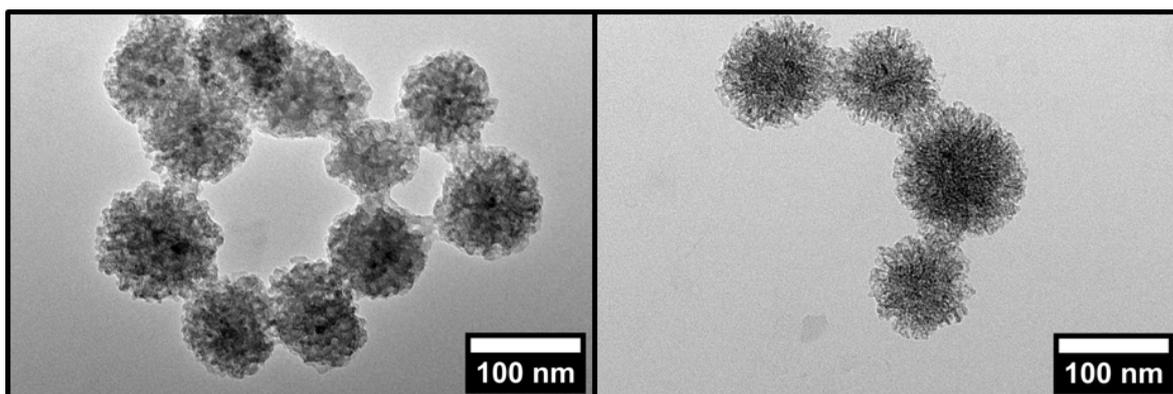


Abbildung 8.2: TEM-Aufnahmen von MNPSNP-EFX nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 8.5 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

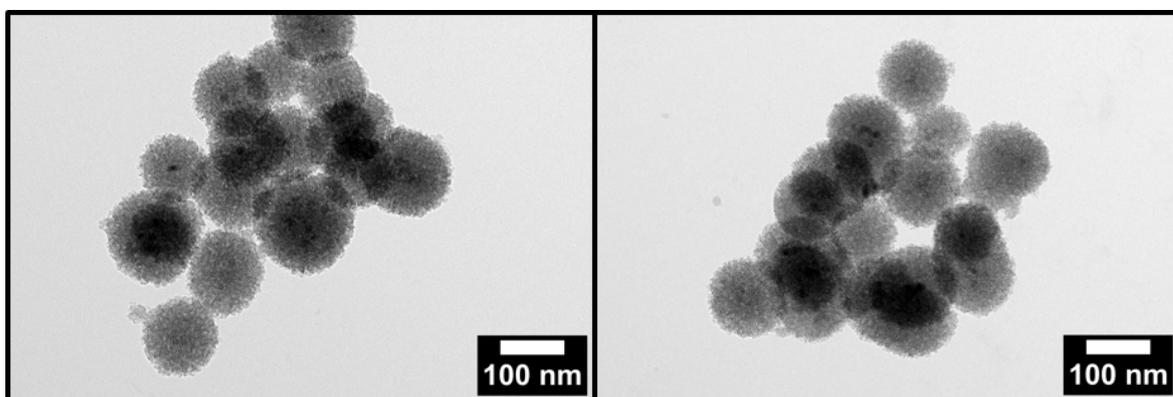


Abbildung 8.3: TEM-Aufnahmen von MNPSNP@PEG-EFX nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 8.5 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

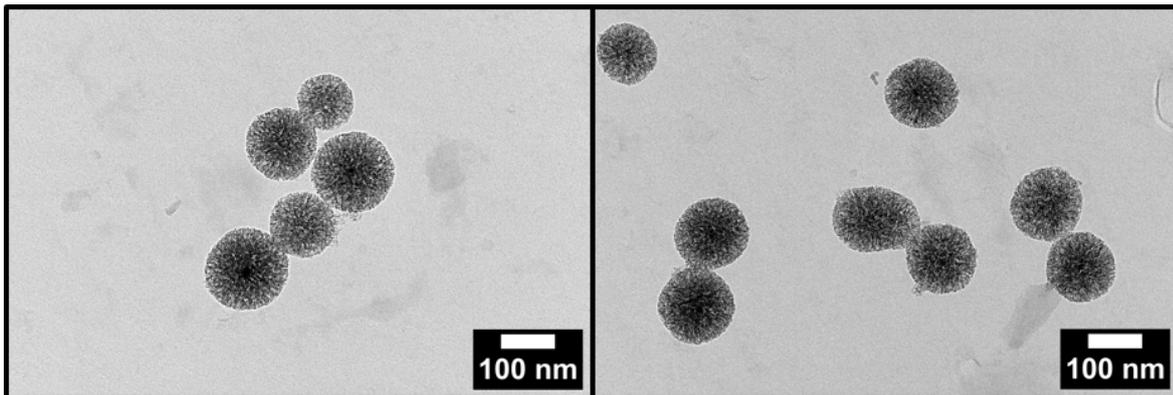


Abbildung 8.4: TEM-Aufnahmen von MNPSNP@RITC-PEG-EFX nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 8.5 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

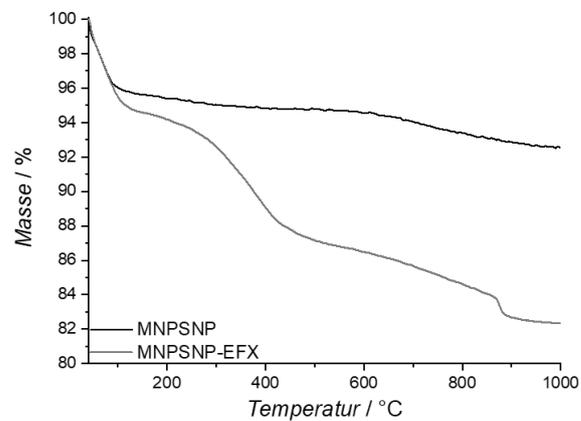


Abbildung 8.5: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten unbeladenen MNPSNPs (schwarz) und MNPSNP-EFX (grau) nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 8.5 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

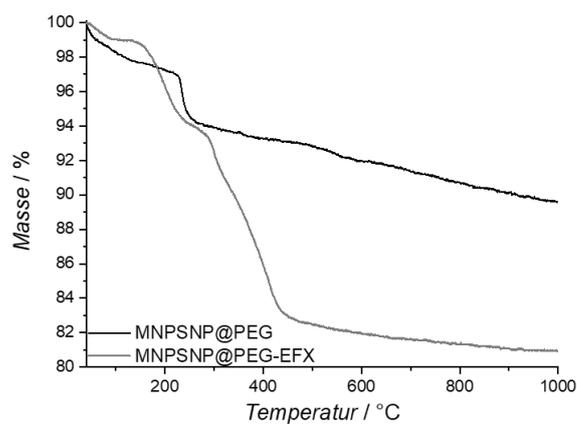


Abbildung 8.6: Thermogravimetrische Analyse der PEG-modifizierten unbeladenen MNPSNP@PEG (schwarz) und MNPSNP@PEG-EFX (grau) nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 8.5 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

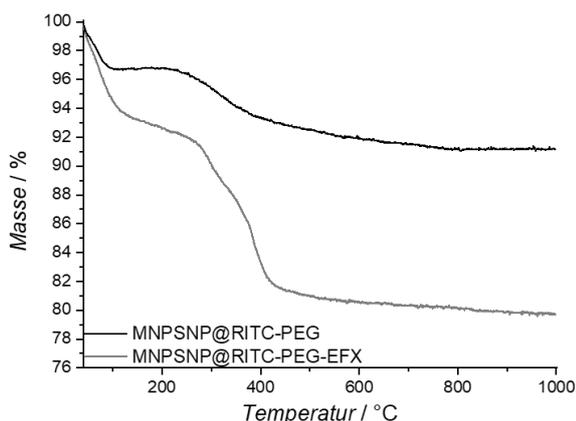


Abbildung 8.7: Thermogravimetrische Analyse der RITC- und PEG-modifizierten unbeladenen MNPSNP@RITC-PEG (schwarz) und MNPSNP@RITC-PEG-EFX (grau) nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 8.5 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

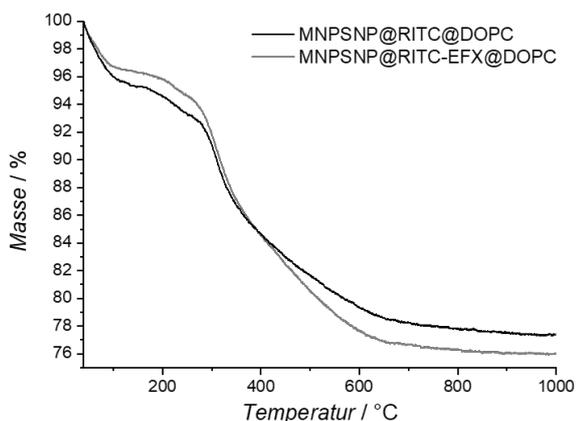


Abbildung 8.8: Thermogravimetrische Analyse der Blindprobe MNPSNP@RITC@DOPC (schwarz) und EFX-beladenen MNPSNP@RITC-EFX@DOPC (grau)

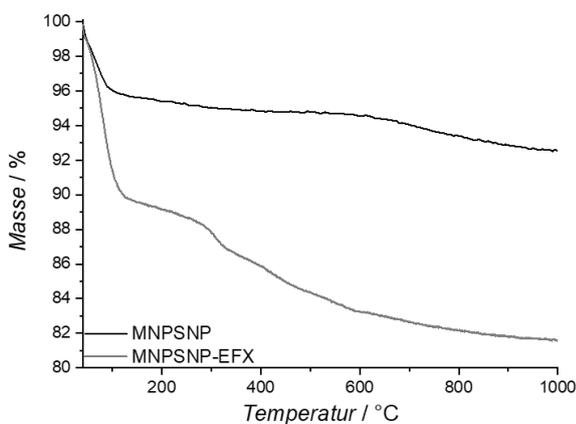


Abbildung 8.9: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten unbeladenen MNPSNPs (schwarz) und MNPSNP-EFX (grau) nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 5.0 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

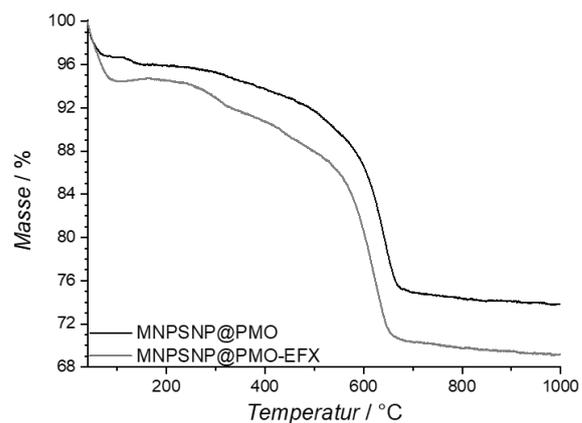


Abbildung 8.10: Thermogravimetrische Analyse der unmodifizierten unbeladenen MNPSNP@PMO (schwarz) und MNPSNP@PMO-EFX (grau) nach Einlagerung von Enrofloxacin bei einem pH-Wert von 5.0 für 24 h und einer Temperatur von 37 °C.

8.3 Lebenslauf

Dawid Peter Warwas

Geburtsdatum: 21.02.1987

Geburtsort: Hindenburg, Oberschlesien

Beruflicher Werdegang

07/2023 – heute **Chemiker für spektrale Datenanalyse und Referenzdaten**
Anton Paar OptoTec GmbH

05/2020 – 06/2023 **Projektleiter in der Qualitätskontrolle**
Haupt Pharma Wülfing GmbH, Aenova Group

07/2015 – 12/2019 **Wissenschaftlicher Mitarbeiter**
Institut für Anorganische Chemie
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

Bildungsweg

07/2015 – heute **Promotionsvorhaben zum Dr. rer. nat. im Fachgebiet Chemie**
Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Peter Behrens
Institut für Anorganische Chemie
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

10/2012 – 06/2015 **Master of Science, Material- and Nanochemie**
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

10/2007 – 09/2012 **Bachelor of Science, Chemie**
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

08/2006 – 04/2007 **Zivildienst**
Kinderklinik der Medizinischen Hochschule Hannover

06/2006 **Allgemeine Hochschulreife**
Gymnasium Burgdorf

8.4 Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge

Artikel

Fluorescent properties of rhodamine modified magnetic nanoporous core-shell nanoparticles

D. P. Warwas, F. Lübkeermann-Warwas, D. Pluta, K. F. W. Besecke, M. Schäfer, M. Jahns, M. R. Krey, P. Taptimthong, M. C. Wurz, N. C. Bigall, P. Behrens
in Präparation.

Cathodic electrodeposition of nanoporous titanium dioxide in the presence of non-ionic triblock copolymers

P. Abendroth, S. Zailskas, S. Reinhard, D. P. Warwas, D. Nettelroth, M. Jahns, A. Mohmeyer, P. Behrens
in Präparation.

Effect of release conditions on porosity and degradation of nanoporous nanoparticles

M. Jahns, D. P. Warwas, T. R. Jones, K. Nolte, S. Behrens, P. Behrens
in Präparation.

Implant-based targeting of magnetic nanoporous silica nanoparticles – Influence of macrophage depletion and infection

J. Reifenrath, H. C. Janßen, D. P. Warwas, M. Kietzmann, P. Behrens, E. Willbold, M. Fedchenko, N. Angrisani,
Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2020, 30, 102289.

Biodistribution, biocompatibility and targeted accumulation of magnetic nanoporous silica nanoparticles as drug carriers in orthopedics

H. C. Janßen, N. Angrisani, S. Kalies, F. Hansmann, M. Kietzmann, D. P. Warwas, P. Behrens, J. Reifenrath
J. Nanobiotechnol., 2020, 18:14.

Nanoporous Hybrid Core-Shell Nanoparticles for Sequential Release

M. Jahns, D. P. Warwas, M. R. Krey, K. Nolte, S. König, M. Fröba, P. Behrens

J. Mater. Chem. B, 2020, 8, 776 - 786.

A Low-Temperature Approach for the Phase-Pure Synthesis of MIL-140 Structured Metal-Organic Frameworks

M. Schulz, N. Marquardt, M. Schäfer, D. P. Warwas, S. Zailskas, A. Schaate

Chem. Eur. J., 2019, 25, 1 – 12.

Electrically Conducting Nanocomposites of Carbon Nanotubes and Metal-Organic Frameworks with Strong Interactions between the two Components

H. A. Schulze, B. Hoppe, M. Schäfer, D. P. Warwas, P. Behrens

ChemNanoMat, 2019, 5, 1159 – 1169.

Macrophage entrapped silica coated superparamagnetic iron oxide particles for controlled drug release in a 3D cancer model

S. Ullah, K. Seidel, S. Türkkan, D. P. Warwas, T. Dubich, M. Rohde, H. Hauser, P. Behrens, A. Kirschning, M. Köster, D. Wirth

J. Control. Release, 2019, 294, 327 – 336.

In vitro and in vivo accumulation of magnetic nanoporous silica nanoparticles on implant materials with different magnetic properties

H. C. Janßen[§], D. P. Warwas[§], D. Dahlhaus, J. Meißner, P. Taptimthong, M. Kietzmann, P. Behrens, J. Reifenrath, N. Angrisani

J. Nanobiotechnol, 2018, 16:96.

Delamination and Photochemical Modification of a Novel Two-Dimensional Zr-Based Metal–Organic Frameworks

A. Mohmeyer, A. Schaate, B. Brechtken, J. C. Rohde, D. P. Warwas, G. Zahn, R. J. Haug, P. Behrens

Chem. Eur. J., 2018, 24, 12848 – 12855.

Long-term delivery of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) from nanoporous silica nanoparticles improves the survival of spiral ganglion neurons in vitro

N. Schmidt, J. Schulze, D. P. Warwas, N. Ehlert, T. Lenarz, A. Warnecke, P. Behrens
PLoS ONE. 2018;13:e0194778.

Graphene-like metal–organic frameworks: morphology control, optimization of thin film electrical conductivity and fast sensing applications

B. Hoppe, K. D. J. Hindricks, D. P. Warwas, H. A. Schulze, A. Mohmeyer, T. J. Pinkvos, S. Zailskas, M. R. Krey, C. Belke, S. König, M. Fröba, R. J. Haug, P. Behrens
CrystEngComm, 2018, 20, 6458 – 6471.

Vorträge

Superparamagnetic silica core-shell nanoparticles for the implant-directed magnetic drug targeting

D. P. Warwas, T. Herrmann, K. Nolte, H. C. Janßen, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Taptimthong, M. C. Wurz, P. Behrens
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V (DGBM), 2018, Braunschweig

Implant-directed treatment of implant-associated infections via multifunctional magnetic silica core-shell nanoparticles

D. P. Warwas, K. Nolte, H. C. Janßen, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Taptimthong, M. C. Wurz, P. Behrens
30. Deutsche Zeolith-Tagung, 2018, Kiel

Multifunctional magnetic silica core-shell nanoparticles as drug carriers for the treatment of implant-associated infections

D. P. Warwas, H. C. Janßen, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Taptimthong, M. C. Wurz, P. Behrens
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V (DGBM), 2017, Würzburg

Posterbeiträge**Implant-directed magnetic drug targeting with magnetic nanoporous silica nanoparticles as promising drug carriers**

D. P. Warwas, T. Herrmann, H. C. Janßen, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Taptimthong, M. C. Wurz, P. Behrens
15. Nanoday des Laboratoriums für Nano- und Quantenengineering (LNQE), 2019, (Posterpreis), Hannover

Magnetic nanoporous silica nanoparticles: Promising multifunctional drug carriers for implant-directed magnetic drug targeting

D. P. Warwas, T. Herrmann, K. Nolte, H. C. Janßen, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Taptimthong, M. C. Wurz, P. Behrens
31. Deutsche Zeolith-Tagung, 2019, Dresden

Superparamagnetic nanoporous silica nanoparticles for implant-directed magnetic drug targeting

D. P. Warwas, T. Herrmann, K. Nolte, H. C. Janßen, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Taptimthong, M. C. Wurz, P. Behrens
14. Nanoday des Laboratoriums für Nano- und Quantenengineering (LNQE), 2018, Hannover

Implant-directed magnetic drug targeting via multifunctional superparamagnetic silica core-shell nanoparticles

D. P. Warwas, K. Nolte, H. C. Janßen, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Taptimthong, M. C. Wurz, P. Behrens
117. Bunsentagung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft für physikalische Chemie e.V., 2018, Hannover

Implant-directed magnetic drug targeting with multifunctional magnetic silica core-shell nanoparticles as drug carriers

D. P. Warwas, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Behrens
2. Internationales Symposium von Biofabrication, 2017, Hannover

Multifunctional magnetic core-shell nanoparticles as drug carriers for implant-directed magnetic drug targeting

D. P. Warwas, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Behrens
29. Deutsche Zeolith-Tagung, 2017, Würzburg

Multifunctional core-shell nanoparticles for implant-directed magnetic drug targeting and bioimaging

D. P. Warwas, J. Reifenrath, N. Angrisani, M. Kietzmann, J. Meißner, P. Behrens
26. ATC: Industrial Inorganic Chemistry – Materials and Processes, 2017, Frankfurt am Main

Multifunctional magnetic nanoparticles as potential drug carriers for implant-directed magnetic drug targeting

D. P. Warwas, J. Reifenrath, M. Kietzmann, P. Behrens
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V (DGBM), 2016, Aachen

Synthesis and characterization of multifunctional magnetic nanoparticles for implant-directed magnetic drug targeting

D. P. Warwas, J. Reifenrath, M. Kietzmann, P. Behrens
Iron in functional materials-Symposium, 2016, Hannover