
**Beiträge zur Optimierung von
Mittelohrprothesen: Strategien zur
antibakteriellen Modifizierung und zur
Entwicklung eines Trommelfellpolsters**

Der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades

Doktor der Naturwissenschaften
-Dr. rer. nat.-

genehmigte Dissertation
von

Dipl.-Chem. Tammo Lüßenhop
geboren am 07.09.1978 in Hannover

2013

Referent: Prof. Dr. Peter Behrens

Korreferent: Prof. Dr. Peter Paul Müller

Tag der Promotion: 23. September 2013

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die Dissertation „Beiträge zur Optimierung von Mittelohrprothesen: Strategien zur antibakteriellen Modifizierung und zur Entwicklung eines Trommelfellpolsters“ selbstständig verfasst und dass alle benutzten Hilfsmittel sowie eventuell zur Hilfeleistung herangezogene Institutionen vollständig angegeben wurden. Die Dissertation wurde nicht schon als Diplom- oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet.

Hannover, den 26.09.2013

Dipl.-Chem. Tammo Lübenhop

Danksagung

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Peter Behrens für die persönliche und umfassende Betreuung meiner Arbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. Peter Paul Müller vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig danke ich für die Übernahme des Korreferats und für die stets gute Zusammenarbeit im Sonderforschungsbereich 599.

Besonders gedankt sei des Weiteren allen aktiven und ehemaligen Mitgliedern des Teilprojekts D1, die mich in vielfältiger Weise unterstützt haben:

- Herrn Dr. Muhammad Badar, Herrn Muhammad Imran Rahim und Frau Bushra Rais für die Anfertigung von Bakterientestungen und Zellkompatibilitätstest
- Frau Dr. Silke Besdo und Frau Laura Doniga-Crivat für die außerordentlich hilfreichen Diskussionen bei der Entwicklung des Trommelfellkissens
- Herrn Dr. Nils Prenzler für die sehr gute Zusammenarbeit sowie seine Unterstützung bei sämtlichen Fragen des HNO-Bereichs
- Frau Franziska Duda für die Hilfe bei der Herstellung der Silber-Silicabeschichtungen und den produktiven „inoffiziellen“ Projekttreffen
- Frau Dr. Nina Ehlert für die anregenden Diskussionen

Ohne die freundliche und unkomplizierte Nachbarschaftshilfe der Institute für Analytische Chemie und Lebensmittelchemie wären mir viele Messungen nicht möglich gewesen. Mein Dank gilt besonders Frau Stella Kittel für die Durchführung der AAS-Messungen sowie Herrn Paul Haase-Aschoff für die Unterstützung bei den rheologischen Messungen.

Bei Herrn Jörn Zimmermann möchte ich für die Erstellung der Rheologiegrafik bedanken.

Ganz besonders danke ich Frau Gesa Wißmann und Herrn Hendrik Fullriede für ihre stete Hilfsbereitschaft, vielfältige Unterstützung und das tolle Arbeitsklima in Labor 5. Ebenfalls danke ich Herrn Marc Kieke für die Hilfestellung bei den XRD-Messungen und -Auswertungen.

Außerdem möchte ich dem restlichen Bio-Team, Frau Natalja Wendt, Frau Tanja Heemeier, Frau Dr. Anne Christel, Frau Dr. Sina Williams, Herrn Philipp Abendroth und Frau Dr. Olga Kufelt für die ausgiebigen wissenschaftlichen Diskussionen danken.

Eine besonders große Hilfe bei der Herstellung der unzähligen Proben waren die beiden HiWinen Frau Gesche Berkhan und Frau Mandy Jahns. Ihnen sei herzlich gedankt.

Des Weiteren danke ich dem gesamten Arbeitskreis für das tolle Miteinander, die stete Hilfsbereitschaft und die wunderschöne Zeit. Insbesondere die Kaffeepausen werden mir in guter Erinnerung bleiben.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. Florian Waltz und Herrn Georg Platz, die mit sonntägigen Trainingseinheiten und Kaffeeklatschtreffen immer wieder für eine Abwechslung zum Laboralltag gesorgt haben.

Ganz besonders danke ich meiner Mutter und meinen Großeltern für die Unterstützung und die Motivation während des gesamten Studiums.

Ein großer Dank gilt ebenso Herrn Reinhard Klinger, der maßgeblich zu meinem Werdegang beigetragen hat.

Am Ende möchte ich mich bei Frau Ina Plagemann bedanken. Sie hat mich liebevoll durch das gesamte Studium begleitet und stand mir immer zur Seite.

Kurzzusammenfassung

Die Optimierung von Implantaten spielt bei einer immer älter werdenden Gesellschaft eine entscheidende Rolle. Dabei muss das Implantat nicht nur die ausgefallene Körperfunktion bestmöglich ersetzen, sondern soll auch die Lebensqualität des Patienten deutlich steigern. Dazu müssen die Haltbarkeit und die Lebensdauer des Implantats so groß wie möglich sein, sodass Revisionseingriffe minimiert werden können. Hierbei spielen vor allem die Infektionsbekämpfung und die Einheilung und Integration des Implantates eine Schlüsselrolle.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden unterschiedliche Strategien zur Funktionalisierung und Verbesserung einer Mittelohrprothese aus Bioverit® II untersucht und entwickelt. Hierbei waren die Infektionsbekämpfung, die Prothesenfixierung und der Schutz des Trommelfells wesentliche Ziele dieser Arbeit. Zur Infektionsbekämpfung wurde unter anderem eine persistente, auf positiv geladenen quartären Ammoniumgruppen (QA-Gruppen) basierende, antibakterielle Polymerbeschichtung entwickelt. Hierzu wurde das kommerziell erhältliche Polymer Poly(4-vinylpyridin) an das Substrat kovalent angebunden und mit unterschiedlichen Halogenalkanen alkyliert. Darüber hinaus wurde versucht, die positive Ladungsdichte durch die Anbindung von quartärnisierten Bipyridin-Gruppen zu erhöhen. Die Charakterisierung der hergestellten Filme erfolgte mittels Fluoresceinfarbstofftest und Kontaktwinkelmessungen. Alle hergestellten Beschichtungen zeigten jedoch in der antibakteriellen Testung keine bakterizide Aktivität.

Des Weiteren wurden zwei Freisetzungssysteme für Silberionen auf Silicabasis entwickelt. Hierzu wurde zum einen eine mesoporöse Silicabeschichtung genutzt, um in den Poren in situ Silber-Nanopartikel zu generieren. Zum anderen wurde eine nicht poröse Silber-Silica-Beschichtung entwickelt, bei der die Silberionen in der Syntheselösung durch einen Kronenether komplexiert wurden. Durch einen Calcinationsschritt war es möglich, die Silberionen zu elementarem Silber zu reduzieren. Die Testung der antibakteriellen Wirkung zeigte, dass beide Silber-Silicabeschichtungen eine gute und schnelle Reduktion der Anzahl der getesteten Bakterien bei guter Zellkompatibilität aufwiesen.

Für eine bessere Fixierung der Prothese in der Paukenhöhle und zum Schutz des Trommelfells wurden verschiedene Polydimethylsiloxan-Silicone (PDMS-Silicone) hergestellt und auf ihre Anwendbarkeit als Trommelfellkissen untersucht. Hierzu wurde unter anderem ein kommerziell erhältliches Silicon (Sylgard® 184) mit unterschiedlichen Siloxanen modifiziert. Die viskoelastischen Eigenschaften konnten mit Hilfe der Rheologie untersucht werden. Ebenso erfolgten an einigen ausgewählten Proben zyklische Zugversuche, um das Hystereseverhalten der Silicone zu untersuchen. Durch das Hinzumischen von Siloxanen zum Sylgard® 184 war es möglich, unterschiedlich feste Silicone mit variierenden viskoelastischen Eigenschaften zu erzeugen, so dass hier eine breite Materialauswahl zur Gestaltung eines Trommelfellkissens geschaffen werden konnte.

Stichworte: alkyliertes Poly(4-vinylpyridin), Bipyridin, antibakterielle Beschichtungen, mesoporöses Siliciumdioxid, Silber, PDMS-Silicon, Siloxan

Abstract

In an aging society, the optimization of implants plays a crucial role. For this purpose the implants have to compensate the lost body functions and enhance significantly the quality of life of patients. To minimize revision surgeries the durability and longevity of implants have to be as high as possible. Especially the prevention of infections and the integration of the implant play a key role.

In this work, different strategies for the functionalization and improvement of a middle ear prosthesis made of Bioverit® II were studied and developed. In this context, infection control, fixation of the prosthesis in the middle ear cavity and protection of the tympanic membrane were the main aims of this work. To prevent infections, a persistent polymer coating based on positively charged quarternary ammonium groups was developed. For this purpose, the commercially available polymer poly(4-vinylpyridine) was covalently attached onto a substrate surface and was alkylated with various alkyl halides. Furthermore, it was attempted to increase the charge density by binding alkylated bipyridine to the PVP. For the characterization of the produced coatings, contact angle measurements and fluorescein dye tests were used. However, all produced coatings showed no antibacterial effect in bacterial testing.

Furthermore, two different silica-based delivery systems for silver ions were developed. For this purpose, silver nanoparticles were generated in situ in the pores of mesoporous silica films. Furthermore, a non-porous silver-silica coating was developed, where for the synthesis the silver ions were complexed by a crown ether to keep them in solution. It was possible to reduce the silver ions to elementary silver by calcination. The testing of antibacterial activity indicated that both silver-silica coatings have the ability to reduce bacteria densities rapidly while exhibiting good cell compatibility.

For a better fixation of the prosthesis in the middle ear cavity and for the protection of the tympanic membrane different polydimethylsiloxane silicones (PDMS-silicones) were produced and examined for applicability as a tympanic membrane pad. For this aim a commercially available silicone (Sylgard® 184) was modified with different siloxanes. The viscoelastic properties were determined by rheology measurements. In addition some samples were tested with cyclic tensile measurements to investigate the hysteresis behavior of the silicone samples. With addition of siloxanes to Sylgard® 184 it was possible to produce different rigid silicones with varying viscoelastic properties so that a broad spectrum of materials with different mechanic properties was established for the elaboration of a tympanic membrane pad.

Keywords: alkylated poly(4-vinylpyridine), bipyridine, antibacterial coatings, mesoporous silica, silver, PDMS-silicone, siloxane.

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	XIII
1 Einleitung.....	1
2 Allgemeine Grundlagen.....	6
2.1 Die Anatomie des Ohres.....	6
2.1.1 Anatomie des Mittelohres.....	8
2.1.2 Pathologie des Mittelohres.....	9
2.2 Die Mittelohrprothese.....	10
2.3 Funktionalisierung und Optimierung der Mittelohrprothese aus Bioverit® II.....	13
2.3.1 Implantatassoziierte Infektionen und die Biofilmbildung.....	15
2.4 Antibakterielle Ausrüstung von Implantaten.....	16
2.4.1 Bakterizide Oberflächenbeschichtungen.....	17
2.4.2 Implantatgebundene Freisetzungssysteme.....	20
2.4.3 Strukturierte mesoporöse Silicamaterialien.....	20
2.4.4 Nicht poröse Silicafilme als Freisetzungssystem.....	23
2.5 Silber als antimikrobieller Wirkstoff.....	24
2.5.1 Wirkungsweise von Silberionen auf Bakterienzellen.....	25
2.5.2 Silber in der medizinischen Anwendung.....	26
2.5.3 Risikobewertung von Silber in der medizinischen Anwendung.....	28
2.6 Silicon als Biomaterial.....	33
2.6.1 Siliconelastomere aus Sylgard® 184.....	37
2.6.2 Das Trommelfellkissen - Trommelfellverstärkung aus Silicon.....	38
3 Analytische Methoden.....	40

3.1	Infrarot-Spektroskopie.....	40
3.2	Kontaktwinkel	40
3.3	Fluoresceintest.....	41
3.4	Antibakterielle Aktivität.....	42
3.5	Zellviabilität.....	42
3.6	Röntgenbeugung.....	43
3.7	SCHERRER-Gleichung	44
3.8	Atomabsorptionsspektroskopie	44
3.9	Ellipsometrie.....	45
3.10	Zugprüfung	46
3.11	Rheologie.....	47
4	Experimenteller Teil.....	55
4.1	Kovalente Anbindung und Funktionalisierung von Poly(4-vinylpyridin)	55
4.1.1	Anbindung von 3-Brompropyltrimethoxysilan.....	56
4.1.2	Anbindung von Poly(4-vinylpyridin) und Quarternisierung mit Halogenalkanen.....	57
4.1.3	Poly(4-vinylpyridin)-Funktionalisierung mit Bipyridin als Verstärker	57
4.1.4	Anbindung von [3-(Trimethoxysilyl)propyl]octadecyldimethylammoniumchlorid	57
4.2	Präparation von Silber-Silicabeschichtungen.....	58
4.2.1	Herstellung mesoporöser Silber-Silicafilme	58
4.2.2	Herstellung von polyvinylpyrrolidonstabilisierten Silber-Nanopartikeln..	59
4.2.3	Herstellung nicht poröser Silber-Silicafilme mit Silber-Nanopartikeln.....	59
4.2.4	Herstellung nicht poröser Silber-Silicafilme mit Hilfe eines Kronenethers	59
4.2.5	Untersuchung der Silberfreisetzung.....	60

4.3	Herstellung von Siliconelastomeren.....	61
4.3.1	Vernetzung und Modifizierung von Sylgard® 184.....	61
4.3.2	Vernetzung von Vinyl-PDMS mit Hydro-Siloxanen.....	63
4.3.3	Herstellung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln.....	65
4.3.4	Vinyl-Funktionalisierung der mesoporösen Silica-Nanopartikel.....	66
4.3.5	Lösungsmittelassoziierte Einbettung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln in eine Siliconmatrix	66
4.3.6	Mechanische Einbettung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln in Siliconelastomere	67
5	Ergebnisse und Diskussion	68
5.1	Antimikrobielle Beschichtungen auf Basis quartärer Ammoniumgruppen	68
5.1.1	Hydrophobizitätskontrolle mittels Wasserkontaktwinkelbestimmung	71
5.1.2	Quantifizierung der quartären Ammoniumgruppen mit dem Fluoresceinfarbstofftest.....	73
5.1.3	Testung der antibakteriellen Aktivität.....	74
5.2	Silber-Silicafilme.....	77
5.2.1	Polyvinylpyrrolidonstabilisierte Silber-Nanopartikel	78
5.2.2	Charakterisierung der Silber-Silicabeschichtungen.....	80
5.2.3	Silberfreisetzung aus den Silber-Silicafilmen.....	83
5.2.4	Testung der antibakteriellen Aktivität der Silber-Silicafilme	84
5.2.5	Testung der Zellkompatibilität der präparierten Silber-Silicafilme	87
5.2.6	Zusammenfassung.....	93
5.3	Silicon-Elastomere	95
5.3.1	Modifizierung des Sylgard® 184 mit Siloxanen	98
5.3.2	Einbettung von Silica-Nanopartikel in die Siliconmatrix	119
5.3.3	Multihysteresezugversuche.....	120

5.3.4	Zusammenfassung.....	121
6	Zusammenfassung und Ausblick	124
7	Literatur.....	129
Anhang		143
I	Chemikalienverzeichnis	143
II	Rohdaten der Ellipsometermessungen.....	146
III	Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge	151
IV	Lebenslauf	153

Tabellenverzeichnis

Tabelle 4-1: Übersicht der Mischungsverhältnisse der Beimischungen zum Sylgard® 184.	62
Tabelle 4-2: Übersicht der Mischungsverhältnisse der Mischungskombinationen zum Sylgard® 184.	63
Tabelle 4-3: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten.	64
Tabelle 4-4: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten mit Cyclo-Vinyl.	64
Tabelle 4-5: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten mit Cyclo-H.	65
Tabelle 4-6: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten beim lösungsmittelassozierten Einbringen von MPSNP.	66
Tabelle 4-7: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten bei Hinzumischung von MPSNS.	67
Tabelle 5-1: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard®184 nach 14d Inkubation in FCS bei einer Deformation von 1%.	97
Tabelle 5-2: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem H-PDMS bei einer Deformation von 1%.	101
Tabelle 5-3: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem Vinyl-PDMS bei einer Deformation von 1%.	105
Tabelle 5-4: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem Cyclo-H und Cyclo-Vinyl bei einer Deformation von 1%.	107
Tabelle 5-5: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem H-PDMS und 5 % Cyclo-Vinyl bei einer Deformation von 1%.	110
Tabelle 5-6: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und Cyclo-H bei einer Deformation von 1%.	112

Tabelle 5-7: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® (Komponente A) mit hinzugemischtem H-PDMS (29 mPa·s) und Platinkatalysator in Toluol bei einer Deformation von 1%.	115
Tabelle 5-8: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Vinyl-PDMS und H-PDMS bei einer Deformation von 1%.	117

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Schematische Darstellung einer allogenen Mittelohrprothese in der Paukenhöhle mit einem Trommelfellkissen.....	4
Abbildung 2-1: Schematische Darstellung eines menschlichen Ohres. Entnommen aus [40].....	7
Abbildung 2-2: Schematische Darstellung eines gesunden Mittelohres mit dem Trommelfell und der Gehörknöchelchenkette. Nach [40].	8
Abbildung 2-3: Implantierte Bioverit® II-Prothese. Die Fotos wurden von Dr. NILS PRENZLER von der MEDIZINISCHEN HOCHSCHULE HANNOVER angefertigt.	11
Abbildung 2-4: Konzepte zur Funktionalisierung der Mittelohrprothese. Die Bioverit®-Prothese wird hierbei mit verschiedenen Modifizierungen individuell ausgestattet.	14
Abbildung 2-5: Strukturformel des [3-(Trimethoxysilyl)propyl]octadecyldimethylammoniumchlorids.....	17
Abbildung 2-6: Strukturformeln von einigen antibakteriell wirkenden Substanzen. (1) protonierfähige tertiäre Aminogruppe, ^[89] (2–7) quartäre Ammoniumgruppen mit unterschiedlichen Kettenlängen, ^[89] (8–9) quartäre Phosphoniumgruppen, ^[89] (10–11) hexyliertes Poly(4-vinylpyridin). ^[10,75]	18
Abbildung 2-7: Schema zur kovalenten Anbindung eines Bakterizids als SAM mit Hilfe des <i>Grafting-onto</i> -Verfahren.....	19
Abbildung 2-8: Schema zur kovalenten Anbindung eines Bakterizids als SAM mit Hilfe des <i>Grafting-from</i> -Verfahrens. Im ersten Schritt wird die Ankergruppe auf das Substrat aufgebracht. In einem zweiten Schritt erfolgt die Anbindung der eigentlichen antibakteriellen Gruppe an den Anker.	19
Abbildung 2-9: Vorgang des EISA-Prozesses beim Dip-Coating aus einer komplexen Lösung aus Silica-Precursor, SDA, Ethanol und Wasser. Modifiziert nach [109].	22
Abbildung 2-10: Reduktion der Silberionen zu elementarem Silber durch das Nitrat anion. ^[23]	23
Abbildung 2-11: Verschiedene Kronenether. Links: 12-Krone-4, mitte: 18-Krone-6, rechts: Diaza-18-Krone-6.....	23
Abbildung 2-12: Grundbaueinheit eines Siliconöls.	33
Abbildung 2-13: Grundbaueinheit eines Siliconharzes.....	34

Abbildung 2-14: Verknüpfungsmuster eines Siliconelastomers.	34
Abbildung 2-15: Einige vernetzungsfähige Siloxy-Gruppen. Nach [182].	34
Abbildung 2-16: Strukturformel eines unfunktionalisierten PDMS.	36
Abbildung 2-17: Schematische Hydrosilylierungsreaktion von einem terminierten Vinyl-PDMS und einem H-PDMS.	37
Abbildung 3-1: Kontaktwinkeldarstellung nach YOUNG. ^[195,196]	41
Abbildung 3-2: Siliconprüfkörper mit genormter Geometrie.	47
Abbildung 3-3: Dämpfermodell zur Simulation von idealviskosem Verhalten. Links: eine konstante Kraft wirkt auf den Kolben. Mitte: der Kolben verdrängt die Flüssigkeit und diese strömt durch einen Ringspalt der Zylinderwand. Rechts: Wenn keine Schubkraft mehr wirkt, verbleibt der Kolben in der Endposition. Nach [197].	49
Abbildung 3-4: Links: Wird an die Feder eine konstante Zugkraft angelegt, so findet eine spontane und sprunghafte Verformung statt (Mitte). Rechts: Wenn die Scherkraft nicht mehr wirkt, wird die Feder elastisch, das heißt spontan, sprungartig und vollständig in die Ausgangslage zurückgestellt. Nach [197].	49
Abbildung 3-5: Links: Dämpfer und Feder sind undeformiert im Ruhezustand. Mitte: Eine Kraft wird angelegt, Feder und Dämpfer können nur im selben Maße und gemeinsam auf die Kraft antworten. Rechts: Wirkt nun keine Kraft mehr auf das System, stellt sich die Feder nicht sofort zurück, sondern wegen der dämpfenden Wirkung des Dämpfers erst zeitlich verzögert. Nach [197].	50
Abbildung 3-6: Messvorgang beim Oszillationsversuch. Links: Der Stempel wird auf die Probe, die auf einer beheizbaren und planparallelen Platte liegt gefahren. Rechts: Der Stempel oszilliert mit einer Sinusfunktion und die resultierende <i>Schubspannung</i> τ bzw. die <i>Deformation</i> γ wird über den Stempel detektiert.	51
Abbildung 3-7: Vorgegebene Funktionen der Schubspannung $\tau(t)$ und der daraus resultierenden Scherdeformation $\gamma(t)$. Beide weisen die gleiche Frequenz auf, jedoch sind sie phasenverschoben. Nach [197].	52
Abbildung 4-1: Links: Reaktor zur gleichmäßigen Beschichtung der Substrate, Mitte: PTFE-Einsatz mit Glassubstraten, Rechts Detailaufnahme des PTFE-Einsatzes.	56
Abbildung 4-2: PTFE-Form mit sechs Kammern.	61
Abbildung 5-1: Reaktionsschema der Polymerimmobilisierung und der Polymermodifikationen.	69

Abbildung 5-2: Vergleich der quartären Ammoniumgruppenkonzentration (QA-Gruppen) von mittels Spin-Coating und im Reaktor hergestellten Beschichtungen. Spin-Coating: a) Glas + BPTMS + PVP, b) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin + C ₁₂ . Reaktor: c) Glas + BPTMS + PVP, d) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin + C ₁₂ . C ₁ : Methyl-Gruppe, C ₁₂ : Dodecyl-Gruppe.....	70
Abbildung 5-3: Schema des Beschichtungsvorgangs. Links: Beschichtung mittels Spin-Coating führt zu Multischichten mit nicht kovalent angebondenen Polymereinheiten. Rechts: Die Beschichtung mittels Reaktor führt zu Monolayern und kovalent gebundenen Polymereinheiten.	71
Abbildung 5-4: Wasserkontaktwinkel verschiedener Proben. Die Proben wurden als SAMs auf Glas mit Hilfe des Reaktors abgeschieden. a) Glas, b) Glas + BPTMS, c) Glas + BPTMS + PVP, d) Glas + BPTMS + PVP + C ₁ , e) Glas + BPTMS + PVP + C ₆ , f) Glas + BPTMS + PVP + C ₁₂ , g) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ , h) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin, i) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin + C ₁ , j) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin + C ₁₂ , k) ODMA-Cl. (C ₁ : Methyl-Gruppe, C ₆ : Hexyl-Gruppe, C ₁₂ : Dodecyl-Gruppe).....	72
Abbildung 5-5: Übersicht über die Ergebnisse des Fluoresceinfarbstofftests. Die Proben wurden als SAMs auf Glas mit Hilfe des Reaktors abgeschieden. a) Glas, b) Glas + BPTMS, c) Glas + BPTMS + PVP, d) Glas + BPTMS + PVP + C ₁ , e) Glas + BPTMS + PVP + C ₆ , f) Glas + BPTMS + PVP + C ₁₂ , g) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ , h) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin, i) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin + C ₁ , j) Glas + BPTMS + PVP + C ₄ H ₈ Br ₂ + Bipyridin + C ₁₂ , k) ODMA-Cl. (C ₁ : Methyl-Gruppe, C ₆ : Hexyl-Gruppe, C ₁₂ : Dodecyl-Gruppe).....	73
Abbildung 5-6: Testung der antibakteriellen Aktivität einiger Beschichtungen auf Basis quartärer Ammoniumgruppen mit <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mit einer optischen Dichte von 0.2.....	75
Abbildung 5-7: Bioverit® II Prothese vier Tage nach der Implantation. Die Fotos wurden von FRANZISKA DUDA an der MEDIZINISCHEN HOCHSCHULE HANNOVER angefertigt.	77
Abbildung 5-8: Größenbestimmung der PVPo-stabilisierten Silber-Nanopartikel mittels dynamischer Lichtstreuung.	79

Abbildung 5-9: Thermogravimetrische Untersuchung von PVPO-stabilisierten Silber-Nanopartikeln.....	79
Abbildung 5-10: Röntgendiffraktogramm eines calcinierten mesoporösen Silicafilms auf einem Siliciumsubstrat. Der Träger wurde einmal gedippt.....	81
Abbildung 5-11: Röntgendiffraktogramm des mesoporösen Silber-Silicafilms auf einem Siliciumträger. Der Träger wurde 10-mal gedippt. Die Reflexlagen des Silbers (rot) sind farbig markiert.....	81
Abbildung 5-12: Röntgendiffraktogramm des nicht porösen Silber-Silicafilms, der mit dem Kronenether 18C6 hergestellt wurde, auf einem Siliciumträger. Der Träger wurde 10-mal gedippt. Die Reflexlagen des Silbers (rot) und des Siliciums (grün) sind farbig markiert.	82
Abbildung 5-13: Silberfreisetzung aus mesoporösen und nicht porösen Silber-Silicafilmen. Als Freisetzungsmittel wurde 0.154 M NaNO ₃ -Lösung verwendet.	83
Abbildung 5-14: Testung der antibakteriellen Aktivität der Silber-Silicafilme gegen <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mit einer optischen Dichte von 0.1 nach unterschiedlichen Zeitpunkten. 1) mesoporöser Silber-Silicafilm, 2) nicht poröser Silber-Silicafilm mit 18C6 hergestellt, 3) Positivkontrolle: mesoporöser Silicafilm mit Ciprofloxacin (250 µg·mL ⁻¹), 4) Negativkontrolle: mesoporöser Silicafilm.....	85
Abbildung 5-15: Übersicht der Lumineszenz von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> auf den hergestellten Silber-Silicafilmen.	86
Abbildung 5-16: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Zellkompatibilität als Dreifachbestimmung (links, mitte, rechts) an Fibroblasten (NIH 3T3). Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde; mesoporöser Silber-Silicafilm.....	88
Abbildung 5-17: Übersicht und Gegenüberstellung der Anzahl der Fibroblasten auf den unterschiedlichen Silicafilmen.	89
Abbildung 5-18: REM-Aufnahmen des Fibroblastenwachstums. Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: mesoporöser Silber-Silicafilm; nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde.....	90
Abbildung 5-19: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Zellkompatibilität als Dreifachbestimmung (links, mitte, rechts) an Osteosarkomzellen (MG 63).	

Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde; mesoporöser Silber-Silicafilm.....	91
Abbildung 5-20: Anzahl der Osteosarkomzellen auf den untersuchten Proben.	92
Abbildung 5-21: REM-Aufnahmen des Osteosarkomwachstums. Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: mesoporöser Silber-Silicafilm; nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde.	93
Abbildung 5-22: Infrarotspektren von unterschiedlich modifiziertem Sylgard® 184. a) Sylgard® 184, b) Sylgard® + 20% H-PDMS (12 mPa·s), c) Sylgard® + 20% H-PDMS (29 mPa·s), d) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS (490 mPa·s), e) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS (970 mPa·s), f) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS (4700 mPa·s), g) Sylgard® + 5% Cyclo-Vinyl, f) Sylgard® + 10% Cyclo-H.	96
Abbildung 5-23: Rheologische Moduln des Sylgard® 184 nach 14-tägiger Inkubation in FCS.....	97
Abbildung 5-24: Schema zur Modifizierung des Sylgard® 184 mit verschiedenen Siloxanen in unterschiedlichen Konzentrationen.....	98
Abbildung 5-25: Addition von H-PDMS (12 mPa·s). a) Sylgard® + 10% H-PDMS, b) Sylgard® + 20% H-PDMS, c) Sylgard® + 30% H-PDMS.	99
Abbildung 5-26: Addition von H-PDMS (29 mPa·s). a) Sylgard® + 10% H-PDMS, b) Sylgard® + 20% H-PDMS, c) Sylgard® + 30% H-PDMS.	100
Abbildung 5-27: Addition von Vinyl-PDMS (490 mPa·s). a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS.....	102
Abbildung 5-28: Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s). a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS.....	103
Abbildung 5-29: Addition von H-PDMS (4700 mPa·s). a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS.....	104
Abbildung 5-30: Addition von Cyclo-Siloxanen. a) Sylgard® + 2% Cyclo-H, b) Sylgard® + 10% Cyclo-H, c) Sylgard® + 1% Cyclo-Vinyl, d) Sylgard® + 5% Cyclo-Vinyl, e) Sylgard® + 2% Cyclo-Vinyl + 1% Cyclo-H.	106
Abbildung 5-31: Addition von H-PDMS (12 mPa·s) und 5% Cyclo-Vinyl. a) Sylgard® + 10% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, b) Sylgard® + 20% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, c) Sylgard® + 30% H-PDMS + Cyclo-Vinyl.	108

Abbildung 5-32: Addition von H-PDMS (29 mPa·s) und 5% Cyclo-Vinyl. a) Sylgard® + 10% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, b) Sylgard® + 20% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, c) Sylgard® + 30% H-PDMS + Cyclo-Vinyl.	109
Abbildung 5-33: Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und 5% Cyclo-H. a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS + Cyclo-H.	111
Abbildung 5-34: Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und 10% Cyclo-H. a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS + Cyclo-H.	112
Abbildung 5-35: Addition von H-PDMS (12 mPa·s) und 10% Pt-Katalysator zur A-Komponente des Sylgard®. a) Sylgard® (A) + 5% H-PDMS, b) Sylgard® (A) + 10% H-PDMS, c) Sylgard® (A) + 15% H-PDMS, d) Sylgard® (A) + 20% H-PDMS.	113
Abbildung 5-36: Addition von H-PDMS (29 mPa·s) und 10% Pt-Katalysator zur A-Komponente des Sylgard®. a) Sylgard® (A) + 5% H-PDMS, b) Sylgard® (A) + 10% H-PDMS, c) Sylgard® (A) + 15% H-PDMS, d) Sylgard® (A) + 17% H-PDMS, e) Sylgard® (A) + 20% H-PDMS.	114
Abbildung 5-37: a) Vinyl-PDMS (970 mPa·s) + 30% H-PDMS (12 mPa·s), b) Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 20% H-PDMS (12 mPa·s), c) Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 30% H-PDMS (12 mPa·s), d) Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 30% H-PDMS (29 mPa·s).	116
Abbildung 5-38: Moduln von einem Knorpel aus dem Tragus im Vergleich zum Sylgard® 184.	118
Abbildung 5-39: Spannungs-Dehnungs-Diagramm des Multihystereseversuchs von Sylgard® 184 und von Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS (490 mPa·s).....	121

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
AgNO ₃	Silbernitrat
AgNP	Silber-Nanopartikel
ALP	alkalische Phosphatase
ATR	attenuated total reflection (dt.: abgeschwächte Totalreflexion)
BMP2	Bone morphogenetic protein 2
BPTMS	3-Bromopropyltrimethoxysilan
C ₁	Methyl-Gruppe
C ₁₂	Dodecyl-Gruppe
C ₆	Hexyl-Gruppe
cmc	critical micelle concentration (dt.: kritische Mizellenkonzentration)
Cyclo-H	2,4,6,8-Tetramethylcyclotetrasiloxan
Cyclo-Vinyl	2,4,6,8-Tetramethyl-2,4,6,8-tetravinylcyclotetrasiloxan
DBU	1,8-Diaza-bicyclo[5.4.0]undec-7-en
DNA	Deoxyribonucleic acid (dt.: Desoxyribonukleinsäure)
EISA	evaporation-induced self-assembly (dt.: verdampfungsinduzierte Selbstorganisation)
FCS	fetales Kälberserum
GGT	γ-Glutamyltranspeptidase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HDL	high-density lipoprotein
HDPE	high-density-polyethylene
Hz	Hertz
IL	Interleukin
IR	Infrarot
LDH	L-Lactat-dehydrogenase
Mio.	Million
MMP	Matrix-Metalloproteinase
MPSNP	mesoporöse Silica-Nanopartikel

Mrd.	Milliarde
NaCl	Natriumchlorid
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NaNO ₃	Natriumnitrat
ODMA-Cl	[3-(Trimethoxysilyl)propyl]octadecyldimethylammoniumchlorid
PBS	phosphate buffered saline
PDMS	Polydimethylsiloxan
PLGA	Polyactid-co-Glycolid
PORP	partial ossicular replacement prosthesis
ppb	parts per billion
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVP	Poly(4-vinylpyridin)
PVPo	Polyvinylpyrrolidon
QA-Gruppen	quartäre Ammoniumgruppen
REM	Rasterelektronenmikroskopie
SAM	self-assembled monolayer (dt.: selbstorganisierte Monoschicht)
SBF	simulated body fluid (dt.: simulierte Körperflüssigkeit)
SDA	strukturdirigierende Agenzien
TEOS	Tetraethylorthosilicat
TNF	Tumornekrosefaktor
TORP	Total ossicular replacement prosthesis
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

Im Rahmen dieser Arbeit sollen Möglichkeiten zur chemischen Modifizierung von Mittelohrprothesen vorgestellt werden. Durch eine immer älter werdende Gesellschaft steigt die Nachfrage an Implantaten kontinuierlich. Alleine in Deutschland werden jährlich ungefähr 1.7 Mio. Implantate eingesetzt, davon entfallen etwa 1 Mio. auf die Zahnimplantate und 125000 auf Kniegelenkimplantate.^[1,2] Dabei werden immer größere Anforderungen an die Implantate gestellt. Zum einen soll die Lebensqualität des Patienten durch das Implantat deutlich verbessert werden, was bedeutet, dass die Funktion des Implantats so gut wie möglich der ausgefallenen Körperfunktion entspricht, zum anderen muss die Lebensdauer des Implantats so hoch wie möglich sein, sodass keine Revisionseingriffe nötig sind. Dazu ist es notwendig, die Formen und die Materialien der Implantate immer weiter zu optimieren, sodass die Einheilung gefördert und die Integration gesteigert werden kann. Hierzu sind jedoch ausgiebige Untersuchungen und Simulationen zur Bewegungsphysiologie und der Interaktion zwischen Implantatoberfläche und Gewebe erforderlich. Trotz des technologischen Fortschritts erfüllen die heute verfügbaren Implantate nur bedingt die Anforderungen wie Biokompatibilität, Biostabilität, Biofunktionalität und Biointegration, was zu einem teilweisen oder vollständigen Funktionsverlust des Implantats im Laufe der Zeit führen kann.^[3] Ein schwerwiegendes Problem stellen dabei implantatassoziierte Infektionen dar, die in der Regel mit dem Verlust des Implantats verbunden sind und zu einem Revisionseingriff führen.^[4] Solche Eingriffe stellen eine hohe Belastung für den Patienten dar und führen alleine in Deutschland zu Revisionskosten von über 1 Mrd. € pro Jahr.^[5] Nicht selten sind solche Infektionen nosokomial und werden durch Bakterien verursacht, die eine ausgeprägte Resistenz gegenüber Antibiotika zeigen.^[6]

Im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 599 „Zukunftsfähige bioresorbierbare und permanente Implantate aus metallischen und keramischen Werkstoffen“ werden gezielt Probleme aus der klinischen Anwendung aufgegriffen und Implantate so optimiert, dass diese bekämpft werden können. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Mittelohrprothese, also ein Dauerimplantat, auf unterschiedliche Weise modifiziert. Als Prothesenmaterial

wurde die Glasglimmerkeramik Bioverit® II gewählt, da diese sich durch eine hohe Bioinertheit, eine gute Langzeitstabilität, eine gute Bearbeitbarkeit und vielseitige Möglichkeiten der chemischen Oberflächenfunktionalisierung auszeichnet.

Eine solche Prothese ersetzt die Gehörknöchelchen, die z. B. durch entzündliche Prozesse wie eine chronische Mittelohrentzündung geschädigt oder gar zerstört wurden. Eine solche Schädigung der Gehörknöchelchen führt zu einer starken Beeinträchtigung der Schallweiterleitung. Im ungünstigsten Fall werden die Ossikel so stark zerstört, dass eine Rekonstruktion der Schalleitungskette mit einer Mittelohrprothese notwendig wird. Bei dem Mittelohr handelt es sich um ein halboffenes, belüftetes System, das potenziell mit pathogenen Keimen im Kontakt steht; daher ist nach der Implantation mit rezidivierenden Infekten zu rechnen.^[7-9] Aus diesem Grund soll die Mittelohrprothese antibakteriell ausgestattet werden. Hierzu wurden zwei unterschiedliche Systeme untersucht, zum einen auf Basis einer persistenten Polymerbeschichtung und zum anderen auf Basis einer Silberionenfreisetzung aus Silicabeschichtungen. Die erste Entwicklung beruht auf einer antibakteriellen Polymerbeschichtung, die quarternisierte Ammoniumgruppen enthält. Diese Beschichtung soll persistent und antiadhärent wirken. Im Gegensatz zu herkömmlichen Freisetzungssystemen auf Antibiotikabasis wird die Wirkung bakterizider Polymerbeschichtungen nicht durch eine Freisetzung verringert oder beeinflusst, sodass diese prinzipiell auch langfristig antibakteriell aktiv sein können. So wäre es möglich, Spätinfektionen effizient zu verhindern. Des Weiteren ist die Verwendung von Antibiotika häufig problematisch, da die Resistenz der Bakterien gegenüber Antibiotika stetig zunimmt und Resistenztestungen keine Standarduntersuchung darstellen.

In dieser Arbeit wurde das kommerziell erhältliche, bereits als antibakteriell beschriebene Polymer Poly(4-vinylpyridin) (PVP) verwendet.^[10] Dieses Polymer wurde an die Oberfläche von Substratmaterialien angebunden und in verschiedener Weise modifiziert, um eine möglichst starke antibakterielle Wirkung zu erzielen.

Als ein weiteres Prinzip zur antibakteriellen Ausstattung der Mittelohrprothese soll der Einsatz von Silberionen erprobt werden. Die antiseptische Wirkung von Silber wurde bereits von HIPPOKRATES in der Antike beschrieben.^[11-13] Silberionen haben im Gegen-

satz zu Antibiotika einen komplexen Wirkungsmechanismus und zeigen gegen Prokaryonten, unabhängig von der Gramanfärbbarkeit, Pilze und Viren, eine abtötende Wirkung.^[14–18] Die Bildung von Resistenzen ist möglich, jedoch ausgesprochen selten.^[19–21] Daher stehen Silberverbindungen seit ungefähr zehn Jahren wegen ihrer hohen antimikrobiellen Aktivität im Fokus der Forschung.^[22] Silber in Form von Silbersulfadiazin wird in der topischen Therapie von Brandverletzungen verwendet und stellt das derzeitige Haupteinsatzgebiet für Silber als Medizinprodukt dar.^[12] Für die Freisetzung von Silberionen aus einer Mittelohrprothese sollen Silbernanopartikel in eine Matrix eingebettet werden. Durch die Verwendung von Nanopartikeln aus elementarem Silber ist es möglich, die Silberionenfreisetzung zu verlangsamen, sodass eine längere und kontinuierliche Freisetzung erfolgen kann. Als Matrix sollen zwei unterschiedliche Systeme auf der Basis von Silicabeschichtungen entwickelt werden, die mittels Dip-Coating auf die Substrate aufgebracht werden konnten. Eine der beiden Systeme basiert auf einer mesoporösen Silicabeschichtung, in deren Poren nach dem Beschichtungsprozess Silberionen durch einen Imprägnierungsschritt eingebracht werden können. Durch einen anschließenden Pyrolyseschritt werden die Silberionen zu elementarem Silber reduziert.^[23] Solche mesoporösen Silicabeschichtungen wurden im Sonderforschungsbereich 599 entwickelt und stellen eine etablierte funktionelle Beschichtung auf Mittelohrprothesen dar, die unter anderem einen positiven Effekt auf die Mukosabildung hat. Eine Ossifikation wird hingegen tendenziell inhibiert.^[7,24–26] Die Nutzung der mesoporösen Silicabeschichtung als Freisetzungssystem für Antibiotika wurde ebenfalls im Sonderforschungsbereich entwickelt und zeigte sowohl *in vitro* als auch *in vivo* gute Resultate.^[8,27] Eine weitere antibakterielle Beschichtung auf Silberbasis soll eine nicht poröse Silicabeschichtung erzeugt werden, in der Silber-Nanopartikel eingebettet sind. Neben der Infektionsbekämpfung stehen die Fixierung der Prothese in der Paukenhöhle und der Schutz des Trommelfells im Fokus dieser Arbeit. Der derzeitige Gold-Standard für die Verstärkung des Trommelfells bei dem Einsatz einer alloplastischen Mittelohrprothese ist die Nutzung eines autogenen Knorpels aus dem Tragus.^[28] Hierzu wird der Knorpel zwischen dem Prothesenteller und dem Trommelfell als Polsterung interponiert (Abbildung 1–1).

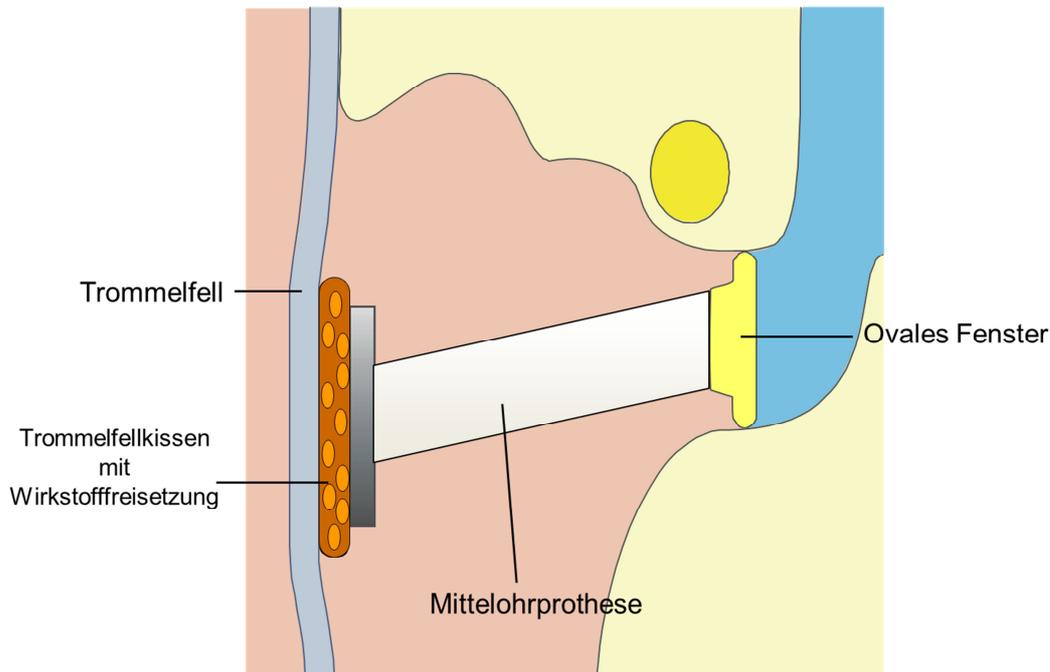


Abbildung 1-1: Schematische Darstellung einer allogenen Mittelohrprothese in der Paukenhöhle mit einem Trommelfellkissen.

Die Prothese wird dadurch zusätzlich in der Paukenhöhle fixiert, sodass das Verrutschen der Prothese und die Perforation des Trommelfells durch *Extrudieren* der Prothese minimiert werden.^[29] Studien konnten zeigen, dass Knorpeltransplantate im Laufe der Zeit teilweise Degenerierung und tote Chondrozyten aufweisen. Ebenso wird die Struktur des Knorpeltransplantats durch zelluläre Resorption, Infiltration oder Vaskularisation beeinträchtigt.^[28] Die strukturellen Veränderungen können zu einer veränderten Schallleitung führen. Um diese nachteiligen Effekte zu vermeiden soll im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 599 ein neuartiges Trommelfellkissen aus einem Polydimethylsiloxan-Silicon (PDMS-Silicon) hergestellt werden. Beim PDMS handelt es sich um ein bioinertes, biostabiles und hämokompatibles Silicon, das keine Additive wie Weichmacher, Stabilisatoren oder Alterungsschutzmittel benötigt.^[30] Daher sind PDMS-Silicone in der Medizin als Verbrauchsmaterial, aber auch als Implantatmaterial weit verbreitet.^[31–34] Durch die gezielte Modifizierung der Festigkeit und des viskoelastischen Verhaltens soll das Schwingungsverhalten des Trommelfellkissens so beeinflusst werden, dass keine Dämpfung der Schallleitung in dem Frequenzbereich von 1000–5000 Hz hervorgerufen wird; hohe Schallamplituden, die durch eine zu hohe Lautstärke verursacht werden, sollen hingegen gedämpft werden. Dazu ist es notwendig, geeignete Füllstoffe wie z. B.

Silica-Nanopartikel in einer geeigneten Konzentration in das Silicon einzubringen, so dass ein frequenzabhängiges Dämpfungsverhalten resultiert.^[35–38] Der Füllstoff bildet oberhalb der Perkolationschwelle ein Füllstoffnetzwerk aus, was die dynamischen Eigenschaften des Elastomers beeinflusst.^[35–38]

Hierzu wird in dieser Arbeit zum einen das von DOW CORNING produzierte Sylgard® 184 als kommerziell erhältliches Zweikomponentensilicon verwendet. Durch das Hinzumischen von verschiedenviskosen PDMS-Sorten, von zyklischen Siloxanen und von Silica-Nanopartikeln, die zuvor mit Vinyl-Gruppen funktionalisiert wurden, sollen die Festigkeit und das viskoelastische Verhalten des Silicons beeinflusst werden. Zum anderen wurde die Herstellung von PDMS-Siliconen aus terminal funktionalisiertem Vinyl-PDMS und Hydro-PDMS (H-PDMS) untersucht. Durch die richtige Kombination von Vinyl-PDMS und H-PDMS sollen mit Hilfe eines Platinkatalysators feste Silicone erzeugt werden.

2 Allgemeine Grundlagen

Dieses Kapitel soll ein Verständnis über die Funktionalisierung einer Mittelohrprothese vermitteln. Hierzu wird als erstes auf die Anatomie und Pathologie des Ohres eingegangen. Des Weiteren werden antimikrobielle Beschichtungen zur Infektionsprophylaxe vorgestellt. Für die Infektionsbekämpfung stehen zum einen persistente antibakterielle Polymerbeschichtungen, zum anderen implantatgebundene Freisetzungssysteme auf Silberbasis im Vordergrund. Des Weiteren wird Silicon als Biomaterial vorgestellt und dessen potenzieller Einsatz als Trommelfellkissen untersucht.

2.1 Die Anatomie des Ohres

Das Ohr ist ein Sinnesorgan, das zur akustischen Wahrnehmung von Schallwellen und somit von Tönen dient. Hierbei wandelt das Ohr die mechanischen Schallwellen in elektrische Nervenimpulse um und leitet diese an das Gehirn weiter. Die auditive Wahrnehmung des Menschen liegt dabei in einem Frequenzbereich von 20–16000 Hz.^[39] Des Weiteren ist das Ohr maßgeblich für den Gleichgewichtssinn verantwortlich. Das Ohr (Abbildung 2-1) setzt sich aus drei abgegrenzten Bereichen zusammen: dem äußeren Ohr, dem Mittelohr und dem Innenohr.

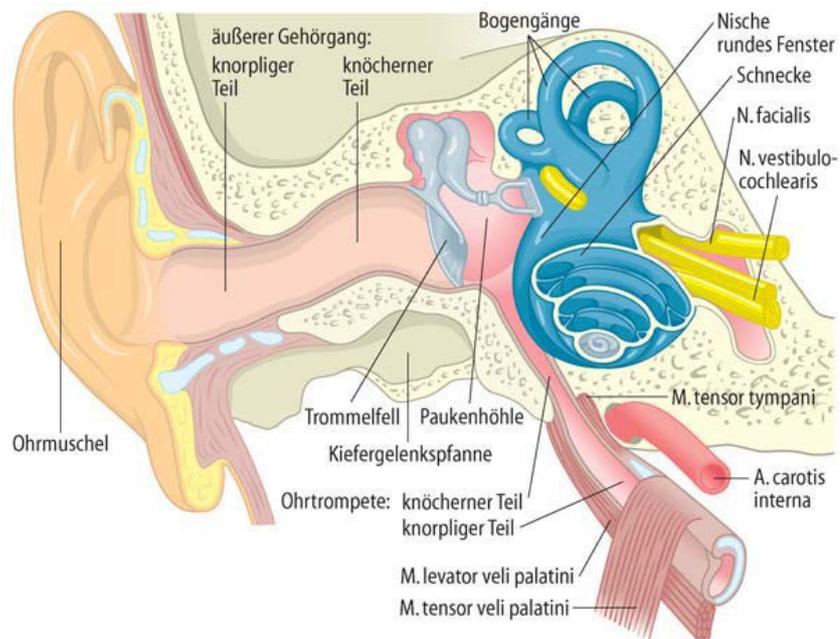


Abbildung 2-1: Schematische Darstellung eines menschlichen Ohres. Entnommen aus [40].

Das äußere Ohr besteht aus der Ohrmuschel, den Ohrläppchen und dem äußeren Gehörgang und reicht bis zum Trommelfell. Durch das Trommelfell wird das äußere Ohr vom Mittelohr abgegrenzt. Die Ohrmuschel fängt den Schall ein und leitet diesen durch den äußeren Gehörgang bis zum Trommelfell weiter, das dadurch in Schwingungen versetzt wird. Das Trommelfell ist eine dünne Membran, welche trichterförmig in das Mittelohr reicht. Die Schwingungen werden durch das Trommelfell an die Gehörknöchelchen im Mittelohr weitergegeben und verstärkt. Der so verstärkte Schall wird über das zum Innenohr gehörige ovale Fenster auf die mit Lymphe gefüllte Gehörschnecke (*Cochlea*) übertragen, sodass eine sogenannte Wanderwelle entsteht.^[41] Durch diese Wanderwelle wird die Basilarmembran im Innenohr ausgelenkt, sodass die Zilien auf den Sinneszellen (Haarzellen) des Innenohres stimuliert werden. Daraus resultiert eine Veränderung des Membranpotentials. Die Haarzellen leiten die erzeugten Signale an unter ihnen liegende Nervenzellen weiter, die ihrerseits Signale über den Hörnerv (*N. cochlearis*) an das Gehirn abgeben.^[41]

2.1.1 Anatomie des Mittelohres

Das Mittelohr (Abbildung 2-2) besteht aus der Innenseite des Trommelfells, der Paukenhöhle mit den darin befindlichen Gehörknöchelchen und dem ovalen Fenster. Das gesamte Mittelohr ist mit Mukosa ausgekleidet.

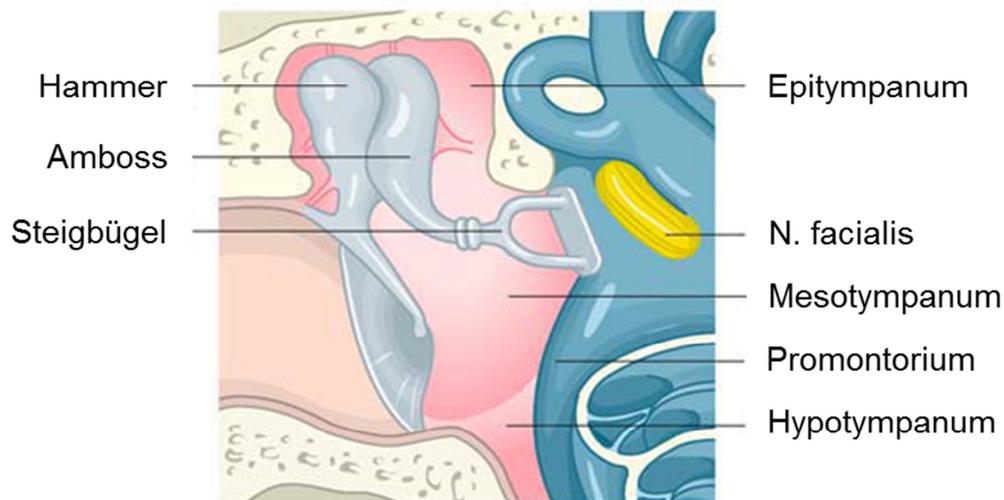


Abbildung 2-2: Schematische Darstellung eines gesunden Mittelohres mit dem Trommelfell und der Gehörknöchelchenkette. Nach [40].

Die Paukenhöhle wird in drei Bereiche unterteilt: der mittlere Bereich *Mesotympanum*, der an das Trommelfell grenzt, das darüber liegende *Epitympanum* und den unteren Abschnitt *Hypotympanum*. Die Gehörknöchelchenkette (*Ossikelkette*) setzt sich aus den Ossikeln Hammer (*Malleus*), Amboss (*Incus*) und Steigbügel (*Stapes*) zusammen. Das ovale Fenster stellt die Grenze von Mittelohr zum Innenohr dar und wird durch die Fußplatte des Steigbügels verschlossen. Um den Druckausgleich mit der äußeren Umwelt zu gewährleisten, ist das Mittelohr über die Ohrtrumpete (Eustachische Röhre) mit dem Nasenrachenraum verbunden.

Das Mittelohr fungiert als Impedanzwandler zwischen dem Außen- und dem Innenohr, in dem Schallwellen in Flüssigkeitswellen umgewandelt werden. Ohne funktionierendes Mittelohr würde der auf das ovale Fenster treffende Schall um bis zu 98% reflektiert werden.^[42] Die Gehörknöchelchen verringern die Schallreflexion, sodass durchschnittlich 60% des Schalls an das Innenohr weitergegeben werden. Diese Impedanzanpassung bewirkt außerdem, dass die auf das Innenohr übertragende Schallenergie um den Fak-

tor 30 gesteigert wird.^[43] Diese Verstärkung wird zum einen durch den Flächenunterschied zwischen Steigbügelfußplatte und Trommelfell hervorgerufen, was durch die Hebelwirkung eine Druckerhöhung am ovalen Fenster hervorruft. Am empfindlichsten ist die Schallübertragung in einem Frequenzbereich zwischen 1000-5000 Hz, wo sehr niedrige Schalldrücke bereits die Hörschwelle erreichen.^[43]

2.1.2 Pathologie des Mittelohres

Eine typische und häufige Erkrankung des Mittelohres ist die Mittelohrentzündung (*Otitis media*). Hierbei können zwei Formen unterschieden werden, die akute (*Otitis media acuta*) und die chronische Mittelohrentzündung (*Otitis media chronica*). Eine häufige Ursache von Mittelohrentzündungen stellen bakterielle und virale Infektionen dar. Meist ist die akute Mittelohrentzündung Folge eines viralen Infekts im Nasen-Rachen-Raum, auf den sich eine bakterielle Superinfektion mit Biofilmbildung legt.^[44-46] Die wichtigsten Erreger der akuten Mittelohrentzündung sind *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* und *Moraxella catarrhalis*.^[46,47] Bei der chronischen Mittelohrentzündung können zwei Formen unterschieden werden: die *Otitis media mesotympanalis* und die *Otitis media epitympanalis*.^[40] Die *Otitis media mesotympanalis* ist eine chronische Schleimhauteiterung, bei der ein zentraler Trommelfelldefekt vorliegt, die Gehörknöchelchen werden selten geschädigt. Die *Otitis media epitympanalis*, auch chronische Knocheneiterung genannt, ist durch einen randständigen Trommelfelldefekt und durch eine stark riechende Eiterung gekennzeichnet. Die Entzündung weitet sich dabei auf die benachbarten knöchernen Strukturen aus und können sogar bis zur Schädelbasis übergreifen; unbehandelt werden die Gehörknöchelchen häufig zerstört. Der chronischen Mittelohrentzündung geht meist ein lang anhaltender, massiver Entzündungsprozess voraus. Dabei spielen besonders die Keime *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, andere *Enterobacteriaceae*, Anaerobier und seltener Schimmelpilze eine entscheidende Rolle.^[46] Die Paukenhöhle des Mittelohres ist physiologischerweise luftgefüllt. Bei einer Mittelohrentzündung füllt sich die Paukenhöhle mit Flüssigkeit, sodass die Schallübertragung massiv beeinträchtigt wird. Wenn der entzündliche Prozess unzureichend therapiert wird, können die Ossikel nachhaltig geschädigt werden.^[40]

Eine besondere Form der chronischen Knocheneiterung ist das Cholesteatom. Hierbei handelt es sich um eine Migration des verhornenden Plattenepithels des äußeren Gehörganges durch einen randständigen Defekt des Trommelfells ins Mittelohr.^[48] Das führt in der Regel zu einer eitrigen Entzündung der knöchernen Struktur des Mittelohres, wobei die Gehörknöchelchen langfristig zerstört werden können. Das Cholesteatom muss in der Regel operativ entfernt werden, was häufig eine radikale chirurgische Sanierung der Mittelohrräume darstellt.^[48] Dies bedeutet, dass eine Rekonstruktion des Hörapparates notwendig wird.

Darüber hinaus stellt die Otosklerose eine bedeutende Erkrankung des Gehörknöchelchenapparates dar. Hierbei kommt es zu einem entzündungsbedingtem Knochenumbau im Bereich der knöchernen Schnecke, sodass es zu einer Fixierung des Steigbügels am ovalen Fenster kommen kann, was wiederum eine Versteifung der Ossikelkette und somit eine Schallleitungsschwerhörigkeit zur Folge hat. In den meisten Fällen kann eine Stapesplastik eine Hörverbesserung erzielen.^[48]

2.2 Die Mittelohrprothese

Entzündliche Prozesse, wie die Bildung eines Cholesteatoms, können die Gehörknöchelchen massiv schädigen oder sogar zerstören. Hierbei muss das Mittelohr von entzündlichem Gewebe befreit werden, was einen chirurgischen Eingriff zur Folge hat und häufig eine Rekonstruktion des Schallübertragungssystems mit sich zieht. Die Tympanoplastik wurde von WULLSTEIN in fünf Typen, je nach Schwere der Ossikeldestruktion, eingeteilt:^[49]

Typ I – Myringoplastik: Hierbei handelt es sich um die Rekonstruktion des Trommelfells mit einer Trommelfellplastik, die Gehörknöchelchenkette bleibt intakt.

Typ II – Ossikuloplastik: Hier werden die noch funktionierenden Gehörknöchelchen wiederhergestellt und defekte Ossikel durch Prothesen ersetzt.

Typ III: Bei diesem Typ sind mindestens Hammer und Amboss defekt und müssen ersetzt werden. Hier lassen sich zwei Arten unterscheiden:

- **PORP** (*partial ossicular replacement prosthesis*): Hammer und Amboss müssen ersetzt werden, Reste des Stapes sind noch vorhanden. Die Prothese reicht vom Trommelfell bis zum Stapeskopf.
- **TORP** (*total ossicular replacement prosthesis*): Die gesamte Ossikelkette ist entfernt, die Prothese reicht vom Trommelfell bis zur Steigbügel Fußplatte am ovalen Fenster.

Typ IV – Schallprotektion: Hier werden die Schallschwingungen direkt vom Trommelfell auf das ovale Fenster übertragen. Zum Schallschutz wird eine künstliche Pauke angelegt (kleine Pauke).

Typ V: Die Ossikel fehlen vollständig und das ovale Fenster ist verschlossen. Hier wird ein direkter Zugang zum Innenohr geschaffen. Diese Technik gilt heute als obsolet.

In der Abbildung 2-3 ist eine zwischen Stapesfußplatte und Trommelfell implantierte Bioverit® II-Prothese (TORP) in einem Kaninchenmittelohr gezeigt. Deutlich ist hierbei der Abstandshalter aus Knorpel zu erkennen, der einen direkten Kontakt von Prothese und Paukenhöhlenwand vermeiden soll.

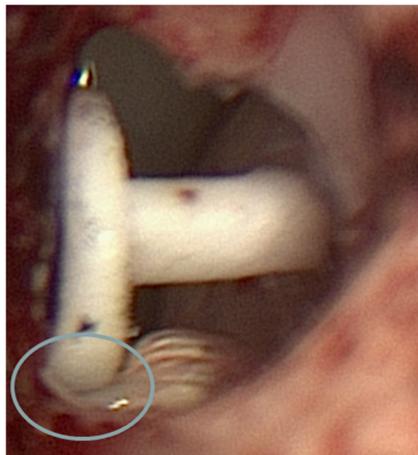


Abbildung 2-3: Implantierte Bioverit® II-Prothese. Die Fotos wurden von Dr. NILS PRENZLER von der MEDIZINISCHEN HOCHSCHULE HANNOVER angefertigt.

Als Material für Mittelohrprothesen kommen unterschiedlichste Werkstoffe in Frage. Am geeignetsten sind autogene Transplantate, die eine Revitalisierung von bis zu 50% aufweisen.^[50] Bei der autogenen Transplantation sind Spender und Empfänger identisch, das bedeutet, es finden keine Fremdkörperreaktionen wie Abstoßung statt.^[51] Den größten Teil der Prothesen machen die alloplastischen Ossikelimplantate aus, die eine gute Verträglichkeit zeigen und sich patientenindividuell anpassen lassen. Hierbei kommen unterschiedlichste Werkstoffe wie Kunststoffe, Metalle und Keramiken zum Einsatz.^[50]

Mittelohrprothesen aus Kunststoff bestehen hauptsächlich aus porösem Polyethylen (HDPE = *high-density polyethylene*) mit einer Porengröße vom 30–40 µm, was eine Integration des Gewebes in das Implantat fördern soll. Die Langzeitstabilität ist jedoch mit einer Extrusionsrate von bis zu 83% unbefriedigend.^[50]

Im Fall von metallischen Prothesen kommen vor allem Gold und Titan zum Einsatz. Beide Metalle zeigen eine gute Bioverträglichkeit und werden von Mukosa überwachsen. Im Fall des Goldes findet jedoch nur ein unzureichendes Einwachsen statt, sodass die Extrusionsrate unbefriedigend ist. Titan ist ein häufig verwendetes Implantatmaterial. Es zeigt eine gute Osteointegration, was bei Osteosynthesematerialien oder bei Zahnimplantaten von Vorteil ist. Die starke Tendenz zur Osteointegration ist jedoch im Mittelohr unerwünscht, da sich das Einwachsen von Knochengewebe in das Titanimplantat negativ auf die Schallleitung auswirkt und so zu einer Verminderung der Hörfähigkeit führt.^[9,50]

Bei den keramischen Mittelohrprothesen werden Aluminiumoxid, Hydroxylapatit und Gläser wie Bioverit® verwendet. Aluminiumoxid ist eine bioinerte Keramik, die in der Implantologie weit verbreitet ist. Die Aluminiumoxid-Prothesen werden nach 4–6 Wochen vom Bindegewebe eingehüllt. Implantate aus Hydroxylapatit weisen ebenfalls eine gute Bioverträglichkeit und eine geringe Extrusionsrate auf.^[50]

Das Prothesenmaterial, was auch in dieser Arbeit Verwendung fand, ist das Bioverit® II. Hierbei handelt es sich um eine unporöse, langzeitstabile und bioinerte Glasglimmerkeramik. Durch die Glimmerkristallphase ist das Bioverit® II sehr leicht bearbeitbar, so-

dass auch kleinste Geometrien erzeugt werden können. Des Weiteren lässt sich eine Prothese aus Bioverit® II auch noch im Operationsaal patientenindividuell anpassen.^[52] Eine Ossifikation kann durch Beschichten mit mesoporösem Silica tendenziell reduziert und die Neubildung von Mukosa begünstigt werden.^[53]

2.3 Funktionalisierung und Optimierung der Mittelohrprothese aus Bioverit® II

Für die Optimierung der Mittelohrprothese werden unterschiedlichste Ansätze verfolgt. Die Verbesserung der Schallleitung, eine gute Einheilung und die Reduzierung von Revisionen sind dabei wesentliche Aspekte. Das Prothesenmaterial ist für eine optimale Schallleitung nur wenig bedeutend, vielmehr stehen für die Optimierung der Mittelohrprothese die Prothesengeometrie, die Oberflächenstrukturierung und eine optimale Anbindung an das Trommelfell und den Stapesrest im Vordergrund.^[9,54] Ebenso zeigt sich, dass eine antimikrobielle Ausstattung der Prothese positive Auswirkungen hat. Die Prothese wird oft in eine entzündliche Umgebung implantiert bzw. steht im halboffenen System des Mittelohres potenziell mit pathogenen Keimen im Kontakt, daher ist mit rezidivierenden Infekten zu rechnen.^[7-9]

Im Rahmen des Teilprojekts D1 „Funktionalisierte Mittelohrprothesen“ des Sonderforschungsbereichs 599 „Zukunftsfähige bioresorbierbare und permanente Implantate aus metallischen und keramischen Werkstoffen“ steht die Funktionalisierung und Optimierung der Mittelohrprothese (TORP) aus Bioverit® II im Vordergrund. Hierzu wurden unter anderem ausgiebige Untersuchungen mit nanostrukturierten Implantatoberflächen durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass die Nanostrukturierung der Implantatoberfläche tendenziell einen positiven Einfluss auf das Wachstum von Mukosazellen hat.^[26,53,55] Hierbei hängt die Zelladhäsion weniger von den Materialeigenschaften, als von der Nanostrukturierung und der Anwesenheit von Proteinen ab.^[56] Dazu wurde eine mesoporöse Silicabeschichtung entwickelt, die sich sowohl *in vitro* als auch *in vivo* als sehr biokompatibel erwiesen hat.^[24,26,53,55,57,58] Diese mesoporöse Silicabeschichtung konnte unter anderem als Basis für die Immobilisierung von bioaktiven Molekülen, wie dem Wachstumsfaktor BMP2 (*bone morphogenetic protein 2*), genutzt werden, um eine

Fixierung am Stapesrest oder am ovalen Fenster zu erreichen.^[7,58] Um das Extrudieren der Prothese zu minimieren und die Anbindung der Prothese an das Trommelfell zu verbessern, wurde im Rahmen dieser Arbeit Silicon als vielversprechendes Material für ein Trommelfellkissen untersucht (siehe Abschnitt 2.6).

Ein Schwerpunkt der Prothesenmodifizierung liegt in der antimikrobiellen Ausrüstung. Eine Übersicht über die Modifizierungsstrategien ist in der Abbildung 2-4 dargestellt.

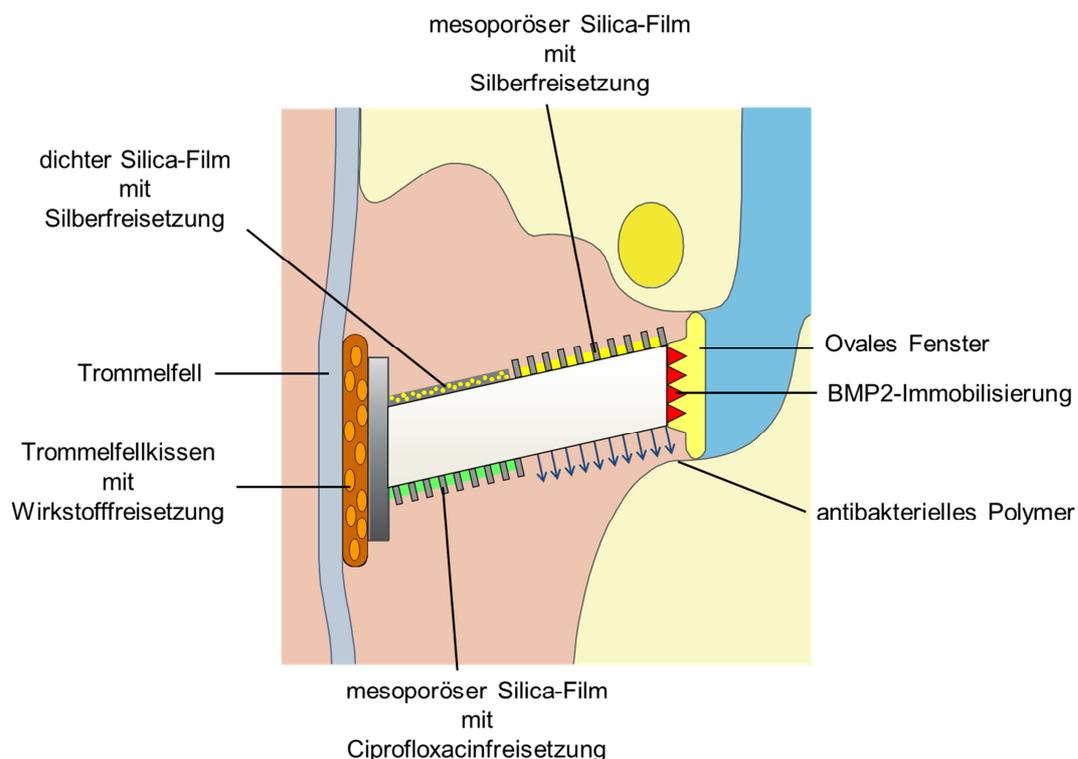


Abbildung 2-4: Konzepte zur Funktionalisierung der Mittelohrprothese. Die Bioverit®-Prothese wird hierbei mit verschiedenen Modifizierungen individuell ausgestattet.

Hierzu wurde die mesoporöse Silicabeschichtung als Reservoir für die Freisetzung von antimikrobiellen Wirkstoffen wie Ciprofloxacin oder Silber genutzt.^[8] Durch die chemische Modifikation der Oberfläche, konnte die Beladung mit Ciprofloxacin deutlich erhöht und die Freisetzung gesteuert werden. Auch konnten *in vivo* Studien im Maus- und im Kaninchenmodell die antibakterielle Aktivität belegen.^[8,27] Da das Wirkungsspektrum von Antibiotika begrenzt ist, wurde auch Silber als antimikrobielle Substanz in eine mesoporöse und in eine nicht poröse Silicabeschichtung eingebracht (Abschnitt 2.5). Ein

weiterer Ansatz ist die antimikrobielle Ausstattung mit einer Polymerbeschichtung (Abschnitt 2.4.1).

2.3.1 Implantatassoziierte Infektionen und die Biofilmbildung

Nosokomiale Infektionen stellen eine ernsthafte Komplikation dar. Der jährlich daraus resultierende volkswirtschaftliche Schaden wurde in den USA auf über 11 Mrd. \$ geschätzt, wobei fast die Hälfte aller nosokomialen Infektionen mit klinischen Materialien assoziiert wird.^[4,59–61] Implantatassoziierte Infektionen werden häufig von Biofilmen hervorgerufen, was meist eine Entfernung des Implantates zur Folge hat.^[4,6,59,62] Biofilme können über mehrere Monate im Mittelohr persistent vorliegen, ohne eine Entzündung auszulösen.^[45] Bei Biofilmen handelt es sich um an Oberflächen adhärierte Mikroorganismen, die symbiotisch eine strukturierte Gemeinschaft bilden. Hierbei sind die Mikroorganismen in eine bakteriell gebildete extrazelluläre Polymermatrix eingebettet, die das feste Anhaften an Oberflächen erlaubt.^[63] Hierzu werden die notwendigen Proteine für die Biofilmbildung über eine veränderte Genexpression gesteuert.^[64,65] Die Bakterien können dabei über Signalmoleküle miteinander kommunizieren. Dieses Phänomen wird auch als *Quorum-Sensing* bezeichnet.^[66,67] Des Weiteren wird durch die Polymermatrix der Austausch von Genmaterial untereinander erleichtert und der Genpool somit stark erweitert. Daraus resultierend weisen Biofilme in der Regel eine erhöhte Resistenz gegenüber Antibiotika und Bioziden auf. Außerdem wird die Penetrationswirkung von Antibiotika und Bioziden stark herabgesetzt, da die Wirkstoffe die Matrix des Biofilms nur schwer durchdringen können. Das hat zur Folge, dass im Vergleich zu planktonischen Bakterien des gleichen Stammes eine 500–5000-fach höhere Dosis des Wirkstoffs eingesetzt werden muss, um den Biofilm abzutöten.^[68]

Für die Bildung eines Biofilmes ist zu allererst die Adhäsion der Bakterien an der Oberfläche notwendig. Die Anheftung erfolgt durch physikochemische Wechselwirkung mit der Oberfläche.^[69] Hierbei spielen die Oberflächenenergien der zu besiedelnden Oberfläche und der Bakterien eine wichtige Rolle. Bakterien mit einer hohen Oberflächenenergie bevorzugen Oberflächen mit ebenfalls hoher Oberflächenenergie. Die Anhaftung von Blut- und Gewebebestandteilen wie Fibronektin, Fibrinogen, Vitronektin, Laminin, Lektin, Kollagen und anderen Proteinen an Implantaten erfolgt *in vivo* sehr schnell.^[59]

Diese adhärennten körpereigenen Bestandteile begünstigen die Besiedlung des Implantats mit Bakterien und beeinflussen wahrscheinlich rezeptorspezifische Interaktionen im Biofilm.^[4,59,62,63] Pili spielen ebenso bei der Adhäsion der Bakterien an die Oberfläche eine wichtige Rolle.^[65] Die Besiedlung von Oberflächen durch Bakterien ist ein komplexer Vorgang. Die Strategie der Anhaftung der Bakterien variiert dabei spezie- und oberflächenabhängig. Der Mechanismus der Biofilmbildung ist bis jetzt noch nicht völlig verstanden.^[4,59]

2.4 Antibakterielle Ausrüstung von Implantaten

Der Nachfrage und der Einsatz von Implantaten steigt stetig an.^[70,71] Alleine in Deutschland werden jährlich ungefähr 1.7 Mio. Implantate eingesetzt, darunter fallen 1 Mio. Zahnimplantate.^[1] Dabei stellen implantatassoziierte Infektionen eine schwerwiegende Komplikation dar, die häufig mit der Revision des Implantates verbunden ist.^[4] Die Revisionskosten belaufen sich alleine in Deutschland auf geschätzte 1 Mrd. € pro Jahr.^[5] Die Erreger werden hierbei oft bereits während der Operation eingebracht oder liegen wie im Fall des Mittelohres latent vor.^[4,6,72] Im Fall des Mittelohres liegt von vornherein kein steriles Milieu vor, sodass eine Mittelohrprothese durchgängig potenziell infektionsgefährdet ist.^[9,44,45,47] Auch können postoperative Infektionen viele Jahre nach der Implantation zu einer Besiedlung des Implantates mit Bakterien führen.^[1] Das Infektionsrisiko nimmt beim Herzklappenersatz statistisch sogar um 0.5% pro Jahr zu.^[1] Da die gewebeeigene lokale Immunantwort durch die eingesetzte Prothese herabgesetzt sein kann, reicht oft eine geringere Keimzahl von 10^2 – 10^5 Bakterien aus, um Infektionen hervorzurufen.^[6,73,74]

Um das Infektionsrisiko bei Implantaten zu senken, stehen antibakteriell funktionalisierte Implantate im Fokus der Medizintechnik.^[9,59] Hierzu sind unterschiedliche Strategien möglich. Zum einen kann das Prothesenmaterial mit antiadhärennten oder bakteriziden Beschichtungen versehen werden. Zum anderen können die Implantate mit einem Freisetzungssystem ausgestattet werden, das antibakterielle Substanzen abgibt.^[8,75–77]

2.4.1 Bakterizide Oberflächenbeschichtungen

Persistente antibakterielle Oberflächen und Beschichtungen auf Polymerbasis stehen seit einem Jahrzehnt im Interesse der Forschung.^[78] Ein besonderer Fokus liegt dabei auf quarternisierten Polymeren, die an der Oberfläche immobilisiert werden.^[10,75,79,80] Hierbei wurden antimikrobiell wirkende, nicht gebundene, kationische Peptide wie das Magainin und das Tachyplesin als Vorbild genommen.^[75,81–83] Seit mehr als 30 Jahren werden Mittel für die antibakterielle Oberflächenbeschichtung kommerziell vertrieben. Ein Beispiel für eine solche antibakteriell wirksame Beschichtung ist das ehemals von DOW CORNING vertriebene DOW CORNING 5700® ANTIMICROBIAL AGENT.^[84] Hierbei handelt es sich um [3-(Trimethoxysilyl)propyl]octadecyldimethylammoniumchlorid (ODMA-Cl), das in der Abbildung 2-5 gezeigt ist.

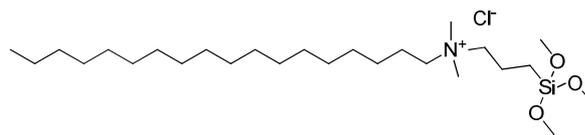


Abbildung 2-5: Strukturformel des [3-(Trimethoxysilyl)propyl]octadecyldimethylammoniumchlorids.

Die Wirksamkeit des ODMA-Cl wurde in verschiedensten Studien evaluiert.^[84–87] Diese antimikrobiellen Beschichtungen werden hauptsächlich für die antimikrobielle Ausstattung von Alltagsgegenständen wie Türklingen, Kühlschränken und Textilien verwendet.^[85,87,88] In einer *in vivo*-Studie an Ratten wurde ein antibakterieller Effekt des ODMA-Cl gegenüber *Staphylococcus aureus* beschrieben.^[85]

In der Implantologie stellen bakterielle Infektionen ein schwerwiegendes und häufiges Problem dar.^[61] Um die Infektionsrate dauerhaft zu senken, ist es wünschenswert das Implantat persistent antibakteriell oder antiadhärent auszustatten, um auch Spätinfektionen effizient zu vermeiden. Eine Möglichkeit der dauerhaften Infektionsbekämpfung ist die Beschichtung des Implantats mit einer bakteriziden Beschichtung auf Basis von positiv geladenen Gruppen, wie z. B. quartären Ammoniumgruppen oder quartären Phosphoniumverbindungen. Einige antibakteriell wirkende Beschichtungssubstanzen sind in der Abbildung 2-6 dargestellt.^[10,75,84,89]

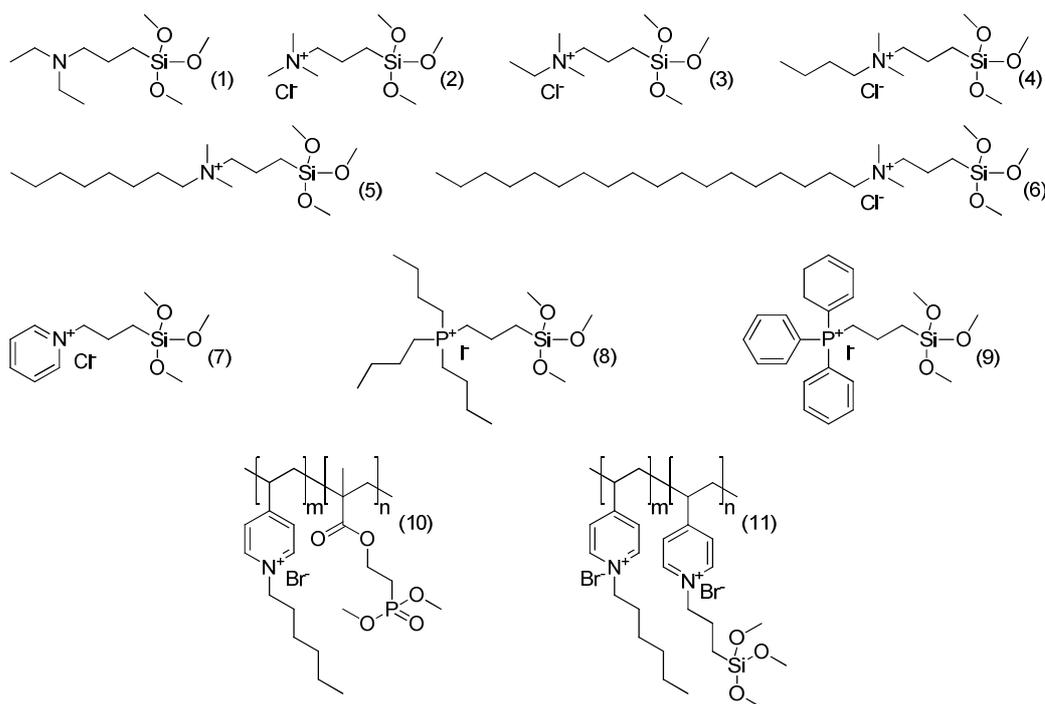


Abbildung 2-6: Strukturformeln von einigen antibakteriell wirkenden Substanzen. (1) protonierfähige tertiäre Aminogruppe,^[89] (2–7) quartäre Ammoniumgruppen mit unterschiedlichen Kettenlängen,^[89] (8–9) quartäre Phosphoniumgruppen,^[89] (10–11) hexyliertes Poly(4-vinylpyridin).^[10,75]

Die gezeigten bakteriziden Substanzen besitzen eine antibakteriell wirkende kationische Gruppe und eine Ankergruppe, mit der sie an das Substrat angebunden werden können. Hierbei variiert die Ankergruppe je nach Substrat. Für keramische und metallische Oberflächen werden in der Regel Silangruppen verwendet.^[88] Für Titan eignen sich besonders Phosphonatgruppen.^[75] Hierzu können zwei unterschiedliche Anbindungsstrategien verfolgt werden. Zum einen kann die Ankergruppe beim sogenannten *Grafting-onto* an der bakteriziden Substanz angebunden sein und durch Kondensation auf das Substrat aufgebracht werden (Abbildung 2-7).^[88,90] Zum anderen ist es möglich, die Ankergruppen vorher als *self-assembled monolayer* (SAM) auf das Substrat anzubinden und in einem zweiten Schritt das Bakterizid an den Anker zu binden. Dieser Prozess wird *Grafting-from* genannt (Abbildung 2-8) und wurde auch in dieser Arbeit verfolgt.

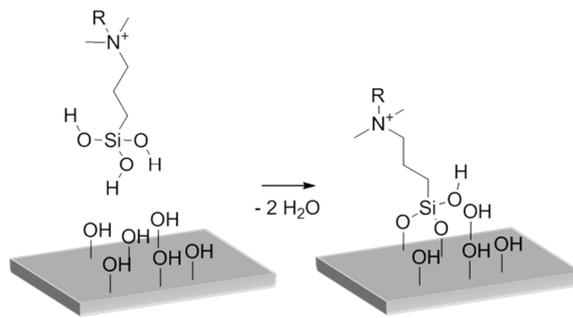


Abbildung 2-7: Schema zur kovalenten Anbindung eines Bakterizids als SAM mit Hilfe des *Grafting-onto*-Verfahrens.

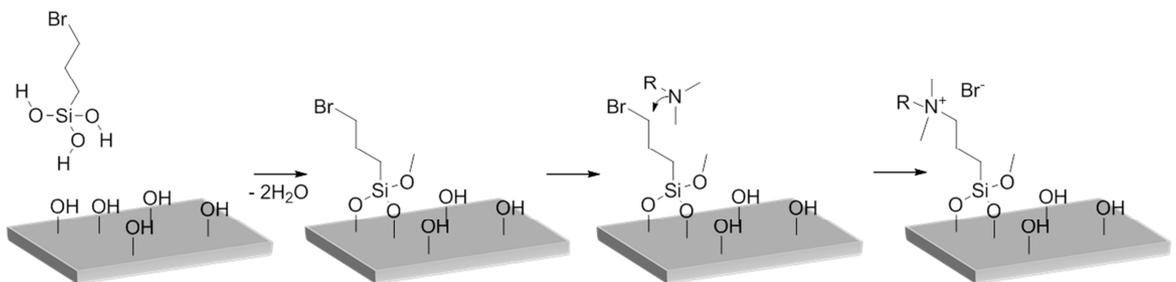


Abbildung 2-8: Schema zur kovalenten Anbindung eines Bakterizids als SAM mit Hilfe des *Grafting-from*-Verfahrens. Im ersten Schritt wird die Ankergruppe auf das Substrat aufgebracht. In einem zweiten Schritt erfolgt die Anbindung der eigentlichen antibakteriellen Gruppe an den Anker.

Die Wirkungsweise dieser kationischen Substanzen ist nicht eindeutig geklärt.^[91] Gesichert ist hingegen, dass positiv geladene Gruppen eine disruptive Wirkung auf die Bakterienzellwand haben und so das Bakterium schädigen.^[91] Hierbei stellt die Phospholipiddoppelschicht das Hauptangriffsziel dar.^[91,92] Die wahrscheinlichste Ursache für die Schädigung der Bakterienzellwand sind elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den positiv geladenen Gruppen der antibakteriellen Substanz und der negativ geladenen Phospholipiddoppelschicht der Bakterienzellwand.^[93] Hierbei spielt die Ladungsdichte der positiv geladenen Substanzen eine entscheidende Rolle.^[94,95] Der Einfluss der Länge der quartärenisierenden Alkylgruppe ist in der Literatur uneinheitlich, da antibakteriell wirkende Kettenlängen von C₁–C₁₈ beschrieben werden.^[10,89,96–98] Aus diesem Grund scheint die geläufige Theorie, dass die Alkylkette die Bakterienzellwand penetriert und dadurch Zytoplasma austritt als unwahrscheinlich. Vielmehr spielen wahrscheinlich die Ladungsdichte bei sehr kurz-kettigen Gruppen wie bei C₁ oder hydrophobe und somit antiadhärente Eigenschaften bei sehr lang-kettigen Gruppen wie bei C₁₂ und C₁₈ eine Rolle. Ein möglicher Mechanismus wurde von KÜGLER *et al.* beschrieben.^[95] Demnach

werden die zweiwertigen Kationen wie Ca^{2+} und Mg^{2+} , die zum Ladungsausgleich der Phospholipiddoppelschicht dienen, durch die positiv geladenen antibakteriellen Gruppen verdrängt. Durch den Verlust der zweiwertigen Kationen verliert die äußere Bakterienzellmembran ihre Stabilität, was letztendlich zum Bakterientod führt.

2.4.2 Implantatgebundene Freisetzungssysteme

Eine weitere Strategie Oberflächen antibakteriell auszustatten ist es bakterizide Substanzen freizusetzen. Als mögliche Wirkstoffe zur Bekämpfung von Infektionen können Antibiotika, Silber, Kupfer oder auch Antiseptika wie Chlorhexidin genutzt werden.^[8,99,100] Hierbei können die Wirkstoffe direkt aus einer auf die Oberfläche aufgetragenen Beschichtung freigesetzt werden, wie es z. B. von der Firma BIO-GATE für die Freisetzung von Silber genutzt wird.^[101] Eine weitere Möglichkeit der Freisetzung von Wirkstoffen ist die Einbettung in eine Matrix wie einem Polymer, z. B. Polylactid-co-Glycolid (PLGA), oder in eine nicht poröse Silica-Beschichtung.^[102-104] Dazu wird der Wirkstoff entweder verkapselt oder frei in der Matrix eingebaut.^[103,104] Der große Vorteil dieser Beschichtungen ist die gute Einstellbarkeit der Wirkstoffkonzentration in der Beschichtung. Des Weiteren ist es möglich, eine poröse Beschichtung zu nutzen um Wirkstoffe freizusetzen.^[8] Eine innovative Strategie ist die Nutzung von mesoporösen Silicafilmen. Hierzu wird zuerst das Implantat mit einem amorphen mesoporösen Silicafilm beschichtet und in einem weiteren Schritt der Wirkstoff in die Poren eingebracht. Durch eine chemische Funktionalisierung der Poren ist es möglich die Menge an eingelagerten Wirkstoff deutlich zu erhöhen und eine kontrollierte Wirkstofffreisetzung zu erreichen.^[8] Die mit dem Wirkstoff beladenen Poren lassen sich durch eine nachträgliche chemische Modifizierung mit Bis-Silanen verschließen.^[8]

2.4.3 Strukturierte mesoporöse Silicamaterialien

Geordnetes mesoporöses Silica der M41S-Klasse wurde erstmals 1992 durch die MOBIL OIL CORPORATION beschrieben.^[105-107] Hierbei handelt es sich um amorphes Siliciumdioxid, das durch hinzugemischte Tenside, die als strukturdirigierende Agenzien (SDAs) fungieren, mesostrukturiert wird. Mesoporöse Materialien besitzen eine große spezifische Oberfläche und eine enge Porenweitenverteilung. Dadurch eignen sich diese Materialien

als potenzielle Adsorbaten, als Trägermaterial für die Katalyse, zur Chromatografie oder für die Gasspeicherung.^[108]

Die Strukturierung wird durch die Selbstorganisation von Tensiden in wässriger Lösung erreicht.^[109] Die Tenside bilden ab einer kritischen Mizellenkonzentration *cmc* (*critical micelle concentration*) Mizellen, deren Morphologie konzentrations- und temperaturabhängig ist. Als erstes bilden sich ab der 1. *cmc* sphärische Mizellen aus, die bei einer weiteren Erhöhung der Tensidkonzentration bei konstanter Temperatur zur 2. *cmc* führt. Das hat zur Folge, dass es zu langreichweitigen Wechselwirkungen kommt und die Mizellen stäbchenförmig aggregieren. Diese Phase wird auch als lyotrope Flüssigkristallphase bezeichnet. Um diese Template kondensiert der siliciumhaltige Precursor in Form von amorphem Siliciumdioxid aus und bildet eine anorganische Matrix. Durch einen Calcinationsprozess oder durch eine Extraktion ist es möglich das organische Templat aus dieser Matrix zu entfernen, sodass charakteristische Hohlräume entstehen. Der Porendurchmesser der mesoporösen Materialien liegt dabei im Bereich von 2–50 nm.

Die Herstellung von mesoporösen Silicafilmen erfolgt durch den sogenannten *evaporation-induced-self-assembly*-Prozess (EISA-Prozess).^[109] Der Mechanismus beruht ebenso auf der Selbstorganisation von amphiphilen Tensiden in wässriger Lösung. Hierbei liegt zu Beginn eine homogene Lösung aus dem SDA und dem Silica-Precursor in einem flüchtigen Lösungsmittel vor. In der Abbildung 2-9 ist schematisch der Selbstorganisationsprozess bei der Filmherstellung gezeigt.

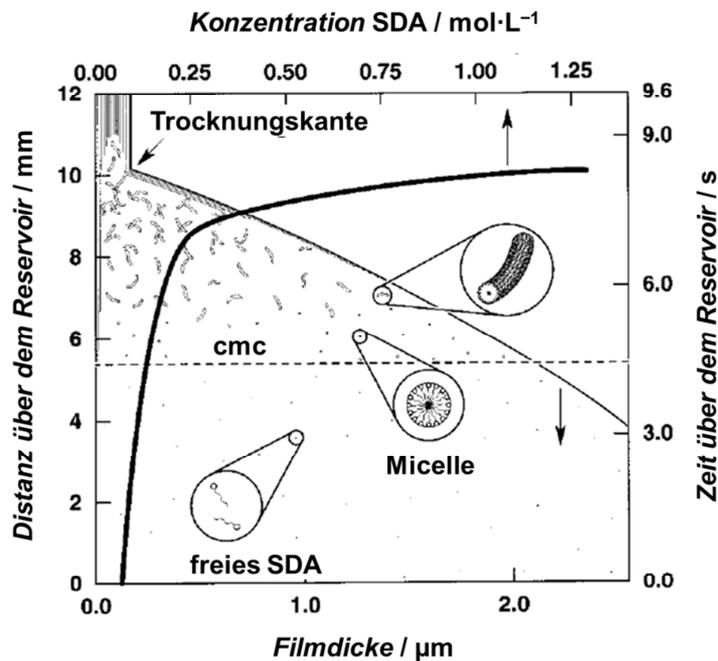


Abbildung 2-9: Vorgang des EISA-Prozesses beim Dip-Coating aus einer komplexen Lösung aus Silica-Precursor, SDA, Ethanol und Wasser. Modifiziert nach [109].

Die Strukturierung des Films lässt sich durch unterschiedliche Parameter, wie die Wahl des SDAs, die Temperatur und die Verdampfungsrate beeinflussen.^[109] Die Konzentration des SDAs liegt dabei unterhalb der cmc, sodass keine Mizellen gebildet werden. Verdunstet das flüchtige Lösungsmittel direkt über dem Reservoir, so erhöht sich die Konzentration des SDAs und es kommt zu einer stufenweisen Überschreitung der cmc, was zur Ausbildung der lyotropen Phase und zur Mesostrukturierung des Films führt.

Die Nutzung von mesoporösen Silicabeschichtungen als Freisetzungssystem wurde in dem Sonderforschungsbereich 599 ausgiebig untersucht und weiterentwickelt.^[7,8,25–27,110] Hierzu wurde die Silicabeschichtung zum einen als Träger für Funktionalisierungen wie z. B. die Immobilisierung von BMP2 genutzt.^[7,110] Zum anderen konnte das geordnete Porensystem für eine kontrollierte Freisetzung des Antibiotikums Ciprofloxacin genutzt werden.^[8] Durch eine gezielte Funktionalisierung des Films, vor dem Beladen mit dem Antibiotikum, konnte die freigesetzte Menge deutlich gesteigert werden.

Darauf aufbauend wurde im Rahmen dieser Arbeit ein System für die Freisetzung von Silberionen als antimikrobiell wirkende Substanz entwickelt. Die Insertion des Silbers in den mesoporösen Silicafilm erfolgte durch die Imprägnierung mit einer 0.5 M Silbernitrat-Lösung und einer anschließenden pyrolytischen Reduktion der Silberionen zu elementarem Silber (Abbildung 2-10).^[23]



Abbildung 2-10: Reduktion der Silberionen zu elementarem Silber durch das Nitrat anion.^[23]

2.4.4 Nicht poröse Silicafilme als Freisetzungssystem

Eine weitere Möglichkeit zur Freisetzung von Silberionen aus einer Beschichtung ist die Verwendung eines nicht porösen Silicafilms.^[111] Hierzu wird die Silberspezies direkt in der Syntheselösung gelöst oder dispergiert und über einen Beschichtungsprozess, wie Dip-Coating, Spin-Coating oder Spray-Coating auf das Substrat aufgebracht. Als Silberquelle sind die Nutzung von Silber-Nanopartikeln oder Silbersalzen wie Silbernitrat möglich, die in das Silica-Sol dispergiert werden.^[112] Die Menge an Wasser muss jedoch für das Einbringen des in Ethanol schwerlöslichen Silbernitrats angepasst werden.^[113,114] Eine weitere Strategie die Silberionen in dem Silica-Sol zu lösen, ist die Nutzung eines Kronenethers. Bei den Kronenethern handelt es sich um zyklische Ether, die die Fähigkeit besitzen Kationen zu komplexieren. Einige Kronenether sind in der Abbildung 2-11 dargestellt.

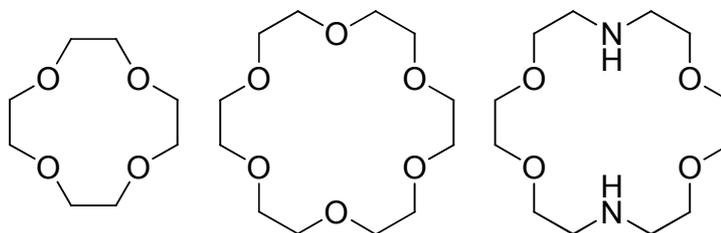


Abbildung 2-11: Verschiedene Kronenether. Links: 12-Krone-4, mitte: 18-Krone-6, rechts: Diaza-18-Krone-6.

Bei der Komplexbildung treten attraktive Wechselwirkungen zwischen den negativ polarisierten Sauerstoffatomen des Kronenethers und dem Kation auf. Die Komplexbil-

dungskonstante hängt dabei vom Kation und von der Größe des Kronenethers ab. Für Silber erwies sich 18-Krone-6 als geeigneter Kronenether, da die Komplexbildungskonstante mit $2.7 \cdot 10^9 \text{ mol}^2 \cdot \text{L}^{-2}$ ausreichend hoch ist.^[115] Durch den hydrophilen und gleichzeitig auch hydrophoben Charakter des Kronenethers sind diese in der Regel gut in Wasser und in organischen Lösungsmitteln löslich. So lässt sich das Silberkation in der ethanolischen Phase des Silica-Sols lösen. Nach dem Beschichtungsprozess kann der Kronenether durch Calcination vollständig entfernt und das Silberkation zu elementarem Silber reduziert werden.

2.5 Silber als antimikrobieller Wirkstoff

Eine der potentesten Substanzen gegen Prokaryonten, Pilze und Viren sind Silberionen.^[14–18] Im Vergleich zu anderen Metallionen zeigen Silberionen die höchste Toxizität gegenüber Mikroorganismen.^[116] Schon in der Antike wurde von HIPPOKRATES die antiseptische Wirkung von Silber beschrieben.^[11–13] Bereits Ende des 19. Jahrhunderts wurden Silberverbindungen standardmäßig gegen Brandverletzungen eingesetzt.^[15] Seit Mitte des 20. Jahrhunderts wird Silberchlorid zur Wasserdesinfektion verwendet und wird bis heute zur Trinkwasseraufbereitung vom Militär und von Outdoor-Aktivisten genutzt.^[117] Wegen der außerordentlich hohen antimikrobiellen Aktivität der Silberverbindungen stehen diese seit ungefähr zehn Jahren im Fokus der Forschung.^[22] Mittlerweile lassen sich in allen Bereichen des täglichen Lebens antimikrobielle Silberprodukte finden; die Bandbreite reicht von Kühlschrankschalen mit Silberionen über silberhaltige Duschgele und Deodorants bis hin zu der Unterwäsche mit Silberfäden. Jedoch ist auf Grund einer möglichen Resistenzbildung gegenüber Silberionen die breite Anwendung in nichtmedizinischen Produkten sehr bedenklich.^[19–21]

Als Silberquellen werden hauptsächlich Silber-Nanopartikel oder Silbersalze wie Silberchlorid, Silbernitrat oder Silbersulfadiazin verwendet.^[118] Bei den gutlöslichen Silbersalzen wie Silbernitrat liegen die Silberionen frei in wässriger Lösung vor. Bei den schwerlöslichen Silbersalzen wie Silberchlorid und Silbersulfadiazin ist die freie Silberionenkonzentration abhängig vom jeweiligen Löslichkeitsprodukt.^[119] Im Fall von Silber-Nanopartikeln hängt die oxidative Silberionenfreisetzung von unterschiedlichen Pa-

rametern, wie Partikelgröße und Funktionalisierung ab; je kleiner die Nanopartikel sind, desto höher ist die Silberionenfreisetzung.^[120,121] Die antimikrobielle Wirkung hängt dabei maßgeblich von der Silberionenkonzentration ab. *In vivo* bilden Silberionen zum größten Teil mit Sulfiden und Seleniden die schwerlöslichen Silbersalze Silbersulfid und Silberselenid oder bilden mit Albuminen und Makroglobulinen schwerlösliche Silberkomplexe, die inert sind und keine antibakterielle Aktivität haben.^[122] Daher muss die Silberionenkonzentration *in vivo* deutlich höher als *in vitro* sein. Jedoch ist es nicht möglich, eine allgemeingültige Silberkonzentration festzulegen, da die Konzentration der aktiven Silberspezies sehr patientenindividuell sind.^[123]

2.5.1 Wirkungsweise von Silberionen auf Bakterienzellen

Die Wirkung der Silberionen auf Zellen ist sehr komplex und bis heute nicht vollständig aufgeklärt.^[124] Die schädigende Wirkung der Silberionen beruht hauptsächlich auf der hohen Affinität zu Elektronendonatoren wie Thiolgruppen, Carboxygruppen, Hydroxygruppen Amininen, Imidazolen und Indolen.^[125] Zum einen wird die Zellwand der Zellen beschädigt, zum anderen werden die unterschiedlichsten Stoffwechselprozesse gestört. Auch zeigen Silberionen starke Wechselwirkungen mit der DNA, sodass die Proliferation inhibiert wird.^[126]

In den Studien von FENG *et al.* konnte die zellwandschädigende Wirkung von Silberionen auf *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* gezeigt werden.^[126] Hierzu wurde eine frisch kultivierte Bakterienkultur mit Silbernitrat ($9.3 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$) versetzt und für weitere 4-12 Stunden bei 37 °C bebrütet. Die Charakterisierung erfolgte mittels Transmissionselektronenmikroskopie und energiedispersiver Röntgenspektroskopie. Nach der Zugabe von der Silbernitratlösung löste sich die Bakterienzellwand von der Zytoplasmamembran und im Innern der Bakterienzelle konnte Silber in Form kleiner Körnchen beobachtet werden. Als Folge konnten sich Silberionen in die DNA einlagern und so die Doppelhelix fixieren. Durch diese Fixierung verliert die DNA die Fähigkeit der Entfaltung, sodass die Proliferation inhibiert wird. Dieser Befund konnte sowohl an gramnegativen Stäbchen (*Escherichia coli*), als auch an grampositiven Kokken (*Staphylococcus aureus*) beobachtet werden.^[126,127] Außerdem konnte an *Vibrio cholera* gezeigt werden, dass eines der Hauptangriffsziele der Silberionen die NADH:Coenzym-Q-Oxido-

reduktase in der Zellwand von Bakterien ist.^[128] Wie stark die Beeinflussung von Silberionen auf eine Bakterienart ist, hängt von vielen Faktoren ab. Die erste Barriere für die Silberionen stellt die Bakterienzellwand dar, hierbei hängt die Schädigungswirkung unter anderem von deren Dicke und deren Aufbau ab. Die Dicke der Mureinschicht, eine Glycoproteinschicht, die am Aufbau der Bakterienzellwand beteiligt ist, ist hier ein entscheidendes Kriterium. Bei gramnegativen Bakterien ist diese Mureinschicht dünn, sodass Silberionen leichter die Zellwand schädigen können; grampositive Bakterien hingegen haben eine sehr viel dickere Mureinschicht, sodass eine höhere Silberionenkonzentration vorliegen muss um eine Schädigung zu erzielen.^[124]

Durch die hohe Affinität des Silbers zu Thiolgruppen können schwefelhaltige Enzyme und Proteine inhibiert werden, sodass wichtige Stoffwechselfunktionen nachhaltig gestört werden können.^[124,126] Dadurch werden die unterschiedlichsten Enzyme in der Atmungskette des Bakteriums inhibiert.^[129] Auch konnte die Bildung von hochtoxischen Hydroxyl-Radikalen nach der Silberapplikation nachgewiesen werden, die Proteine denaturieren und die DNA schädigen.^[129]

2.5.2 Silber in der medizinischen Anwendung

Wie bereits erwähnt wurde Silber als therapeutische Substanz bereits in der Antike von HIPPOKRATES als Mittel zur Wundheilung und zur Behandlung von Geschwüren beschrieben.^[130] Im 19. Jahrhundert wurden Silberverbindungen gegen Tetanus, Rheuma, Hauterkrankungen und Gonorrhoe eingesetzt, bis die Antibiotika Silber als therapeutisches Mittel verdrängten.^[53] Im Angesicht einer steigenden Zahl von antibiotikaresistenten Bakterienstämmen wird Silber als antimikrobielle Substanz für die Medizin immer beliebter. So werden silberfunktionalisierte Medizinprodukte wie Augentropfen, Knochenzement, zentrale Venenkatheter, Drainagenkatheter oder Blasenkateter, aber auch Verbände für Wund- und Brandverletzungen eingesetzt bzw. in klinischen Studien untersucht.^[100,131–136] Ein wichtiges medizinisches Anwendungsgebiet war die 1880 von CREDE eingeführte Prophylaxe gegen die eitrige Bindehautentzündung (*Ophthalmia neonatorum*), die von *Neisseria gonorrhoeae* und von *Chlamydia trachomatis* bei Neugeborenen hervorgerufen wird. Hierzu wurde den Neugeborenen eine 1–2% Silbernitratlösung in die Augen getropft. Durch diese Prophylaxe konnte die eitrige Form der

Bindehautentzündung auf nahezu null gesenkt werden.^[137] Diese Therapie war bis 1992 in Deutschland im Rahmen der Neugeborenenprophylaxe vorgeschrieben.^[138]

Der aktuelle Fokus der Forschung liegt vor allem in der Entwicklung silberfunktionalisierter Implantatmaterialien. Hierzu wurde unter anderem in einem Mausmodell ein mit Silber-Nanopartikeln funktionalisierter Katheter untersucht. Für diese Studie wurden sieben Mäusen ein mit dem radioaktiven Silberisotop ^{110m}Ag beschichteter Katheter subkutan implantiert. Während der Implantationszeit wurden Kot- und Urinproben genommen und der Silbergehalt radiologisch bestimmt. Nach zehn Tagen wurden die Tiere euthanasiert und alle Organe radiologisch auf Silber untersucht. Es fanden sich keine Anzeichen auf entzündliche Prozesse oder toxische Reaktionen.^[139] Darauf aufbauend wurde im Jahr 2008 von der Università Cattolica del Sacro Cuore in Italien eine Phase-IV-Studie beendet, jedoch sind die Resultate noch nicht veröffentlicht worden.^[140]

Das derzeitige Haupteinsatzgebiet für Silber als Medizinprodukt ist die Verwendung von Silbersulfadiazin in der topischen Therapie von Brandverletzungen. Hier stellt Silbersulfadiazin sogar den Gold-Standard dar.^[12] Für die Anwendung werden silbersulfadiazinhaltige Salben und Cremes oder silberhaltige Wundverbände verwendet.^[12] Wegen der antientzündlichen und wundheilenden Wirkung von Silber werden silberhaltige Wundverbände auch in der Bekämpfung von Hauterkrankungen wie *Ulcus cruris* (offenes Bein), *Cystitis* (Entzündung der Harnblase) oder *Dekubitus* (Wundliegeneschwür) eingesetzt.^[11,134,141–144] Die entzündungshemmende Wirkung von Silberionen beruht auf der Verringerung der Expression von proinflammatorischen Zytokinen und Reduzierung der Gelatinaseaktivität. KAILASH *et al.* konnten in einem Rattenmodell zeigen, dass die intracoloniale Applikation von $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ oder die orale Gabe von $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Silber-Nanopartikeln zu einer signifikanten Reduzierung der Expression der Matrix-Metalloproteinase MMP-9, vom Tumornekrosefaktor (TNF- α) und von Interleukinen (IL-1 β , IL-12) führt.^[145] Die Suppression der Matrix-Metalloproteinasen (MMP-2, MMP-9) konnte ebenso von WRIGHT *et al.* in einem Schweinemodell mit silberhaltigen Wundauflagen verifiziert werden.^[146] Ebenso führt die intravesicale Applikation von 0.5 mL einer 1%-igen Silber-Nanopartikeldispersion bei Ratten zu einer Senkung der TNF- α -Freisetzung und der Mastzelleninfiltration- und degranulation in der Harnblase.

Das hat zur Folge, dass die Konzentration von Histamin als Entzündungsmediator im Urin gesenkt wird.^[143]

Für die Freisetzung werden unterschiedlichste Freisetzungssysteme angewendet, wie z. B. Beschichtungen aus elementarem Silber auf Prothesen, Silber-Nanopartikel in Kathetern oder ionische Silberverbindungen wie Silbersulfadiazin als Wundauflage.^[12,100,101] Dabei können die Silber-Nanopartikel entweder in eine Matrix eingebracht oder auf der Oberfläche abgeschieden bzw. aufgebracht werden.^[100,131,134,147,148] Die lokal vorliegende freie Silberionenkonzentration ist für die antibakterielle Wirkung entscheidend, wobei die Größe und die Morphologie der Silber-Nanopartikel eine wichtige Rolle bei der Silberionenfreisetzung spielen.^[118,121,149] Die Freisetzungsraten der Silberionen lässt sich jedoch in Geweben und in Körperflüssigkeiten nur bedingt kontrollieren. Eine Ursache dafür sind die komplexen Zusammensetzungen dieser Medien und die daraus resultierenden Gleichgewichte.^[118]

2.5.3 Risikobewertung von Silber in der medizinischen Anwendung

In der Fachwelt wird Silber als antimikrobielle Substanz kontrovers diskutiert.^[118,123] Das liegt hauptsächlich an der potenziellen Toxizität von Silberionen auf eukaryontische Zellen und an der oft gegensätzlichen Ergebnislage. *In vitro*-Experimente zeigen, dass je nach Zelllinie bereits Silberkonzentrationen von $23 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Stoffwechselstörungen oder sogar Apoptose bei eukaryontischen Zellen auslösen können.^[57] Jedoch gibt es in der Literatur hinsichtlich der Zytotoxizität die unterschiedlichsten Ergebnisse in der Silber sowohl als sehr zytotoxisch als auch wenig zytotoxisch eingestuft wird.^[150,151] Auch *in vivo*-Untersuchungen zeigen, dass die Empfindlichkeit gegenüber Silberionen stark von der Spezies und von der individuellen Konstitution abhängig ist.^[69,72]

Die ausführlichsten Dokumentationen nach der Silberverabreichung beim Menschen gibt es im Zusammenhang mit der Argyria und der Argyrose.^[153] Bei der Argyria handelt es sich um eine irreversible schiefergraue oder graublau Verfärbung vor allem der lichtexponierten Bereiche wie der Haut und den Augen.^[154,155] Im Gegensatz zur Argyria ist bei der Argyrose nicht die gesamte Hautoberfläche betroffen, sondern nur lokal begrenzte Bereiche, die mit silberhaltigen Produkten lange Zeit in Kontakt standen.^[156] Der

Begriff Argyria wurde zum ersten Mal im Jahr 1840 von FUCHS eingeführt und leitet sich vom griechischen Wort für Silber *argyros* ab.^[157] Die Argyria wird durch die Verwendung von silberhaltigen Produkten über einen langen Zeitraum verursacht. Dabei kommt es zu einer Überschreitung der Silberaufnahmekapazität in der Leber und der Niere, die die wichtigsten Organe für die Ausscheidung von Silber sind.^[123] Durch die Überladung mit Silber werden inertes Silberselenid und Silbersulfid in der Papillarschicht der Dermis, in den Haarfollikeln, in den Schweiß- und Talgdrüsen, dem Gefäßsystem, der Basalmembranen der Nierenglomeruli, des *Plexus choroideus* sowie der Portalfelder der Leber eingelagert und akkumuliert.^[158]

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, dass bei hohen hepatozellulären Silberkonzentrationen das Silber inert als Silbersalz oder lysomal gebunden vorliegt und normal über die Galle ausgeschieden werden kann.^[123,159,160] Die Gallensekretion ist dabei wegen der Eliminierung des Silbers um das 16–20-fache erhöht.^[152] Darüber hinaus verursacht die Einlagerung der inerten Silberverbindungen in der Dermis eine gesteigerte Melaninsynthese in der Epidermis, was zu irreversibler Hautverfärbung führt.^[153,158,161,162] Die Epidermis ist jedoch nicht von der Silbereinlagerung betroffen.^[163–165] Eine zelluläre Schädigung oder eine veränderte sensorische Wahrnehmung der Haut ist dabei nicht auszumachen.^[166] Ebenso gibt es keinerlei Hinweise auf eine irreversible Leberschädigung bei Patienten mit Silberkonzentrationen im Blut von $>1.9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ oder bei einer ausgeprägten Argyria.^[160,167] Die Blut-Hirn-Schranke wird vermutlich von den Silberionen und Silber-Nanopartikeln nicht passiert.^[158] Der mechanistische Prozess der Argryriabildung ist zu weiten Teilen ungeklärt und unverstanden. Gesichert ist nur, dass die Ursache der Argyria ein Ungleichgewicht der löslichen und unlöslichen Silberverbindungen in der mittleren und obersten Dermis ist. Auch die Aktivität der lysosomalen Reduktasen spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Argyria.^[123] MATSUMURA *et al.* konnten in Biopsien zeigen, dass bei Argryriapatienten eine 10-fach höhere Selenkonzentration im Gewebe vorliegt.^[168] Durch Phagozytose können Makrophagen kleine Mengen an Silberselenid und Silbersulfid eliminieren und so das Gewebe regenerieren.^[158]

Die Mindestmenge an aufgenommenem Silber, die eine Argyria auslösen kann, wird auf 4–6 g geschätzt.^[158] Auf der Basis der Epidemiologie und Pharmakologie wird eine Gesamtaufnahmemenge von 10 g (93 mmol) Silber auf die gesamte Lebenszeit von der WHO (*World Health Organization*) als unbedenklich eingestuft. Ebenso stellt eine Silberkonzentration von $0.9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ im Trinkwasser kein gesundheitliches Risiko dar.^[162] Die gastrointestinale Aufnahme von Silber liegt bei weniger als 10%.^[161] BLUMBERG *et al.* berichten von einer Argyriapatientin, die über viele Jahre, in einem 14-tägigen alternierenden Rhythmus, silbernitrat-haltige Kapseln (278 nmol Ag pro Tag) als Selbstmedikation einnahm. Die Gesamtmenge an Silber betrug 6.4 g (59 mmol). Im Blut lies sich eine Silberkonzentration von $4.6 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (normal: $21 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) nachweisen. Die Patientin hatte bis auf die Verfärbungen durch die Argyria keine weiteren Auffälligkeiten.^[169] Ein ähnlicher Fall wird von STEINIGER *et al.* beschrieben, bei dem ein Patient per Selbstmedikation silberhaltige Rollkuren (Oral) gegen ein *Ulcus duodeni* (Zwölffingerdarmgeschwür) über mehr als 10 Jahre durchgeführt hatte. Bei dem Patienten wurde eine ausgeprägte Argyria diagnostiziert. Nach dem Tod des Patienten (er starb an einer Koronarinsuffizienz durch ausgeprägtem Nikotinabusus), zeigte die Sektion, dass der Patient 35 g (324 mmol) Silber aufgenommen hatte. Dieser Patient zeigte jedoch keine weiteren Symptome, die auf das Silber zurückzuführen waren.^[158] Die geringe systemische Toxizität bei der oralen Aufnahme wurde durch eine Studie von SHARMA *et al.* an 30 gesunden Probanden untersucht. Hierzu bekamen die Studienteilnehmer 20 Tage lang 50 mg ($0.46 \text{ }\mu\text{mol}$) elementares Silber pro Tag. Dabei zeigte sich eine signifikante Senkung der Phospholipide, Triglyceride, des Cholesterins und des Blutzuckerspiegels. Das HDL (*high-density lipoprotein*) zeigte hingegen einen deutlichen Anstieg. Ebenso waren die Enzyme ALP (*alkalische Phosphatase*), GOT (*Glutamat-Oxalacetat-Transaminase*), GPT (*Glutamat-Pyruvat-Transaminase*), GGT (*γ -Glutamyltranspeptidase*) und LDH (*L-Lactat-dehydrogenase*) im Plasma verringert. Die Protein- und Albuminkonzentration wiesen keine Veränderung im Plasma auf. Die Autoren bewerteten die Veränderung der oben genannten Blutwerte als positiven Effekt, der bei *Diabetes mellitus* (Zuckerkrankheit), *Adipositas* (Fettleibigkeit) und *Atherosklerose* (Arterienverkalkung) förderlich sein könnten.^[170] Diese Ergebnisse stehen jedoch in einem leichten Widerspruch zu einer anderen Studie von KIM *et al.* an Ratten. Dabei wurden Ratten 60 nm große Silber-Nanopartikel in drei unterschiedlichen Konzentrationen

nen oral appliziert und die klinischen Befunde nach 28 Tagen ermittelt. Die erste Gruppe bekamen eine geringe Silberkonzentration von $0.28 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, die zweite Gruppe $2.8 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ und der dritten Gruppe wurde eine hohe Silberkonzentration von $9.3 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ verabreicht. In keiner der drei Gruppen konnte eine Veränderung des Körpergewichts beobachtet werden. Ab einer Konzentration von $2.8 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ war eine leichte Erhöhung der ALP und des Cholesterins zu erkennen.^[171] Die beiden kontroversen Studien zeigen, dass die Wirkung des Silbers auf die Blutparameter stark von der eingesetzten Silberkonzentration abhängig ist. Kleine Silberkonzentrationen von 50 mg pro Tag und Mensch zeigen einen positiven Effekt auf die Blutwerte, wie SHARMA *et al.* zeigen konnten.^[170] Hohe Silberkonzentrationen, wie sie von KIM *et al.* eingesetzt wurden, zeigen eine Erhöhung bei der ALP und beim Cholesterin, die anderen Blutparameter waren nicht signifikant verändert.^[171]

Die Argyria ist nicht nur bei der oralen Medikation möglich, sondern auch durch die Inhalation von silberhaltigen Stäuben oder silberhaltigem Rauch. In einer Inhalationsuntersuchung von SUNG *et al.* wurden Ratten in einer Inhalationskammer für sechs Stunden am Tag Silber-Nanopartikeln (18 nm) ausgesetzt. Die Ratten wurden fünf Tage in der Woche über einen Gesamtzeitraum von 90 Tagen den Silber-Nanopartikeln (AgNP) ausgesetzt. Es wurden drei unterschiedliche Silber-Nanopartikelkonzentrationen an männlichen und an weiblichen Ratten untersucht, $0.7\cdot 10^6 \text{ AgNP}\cdot\text{cm}^{-2}$, $1.4\cdot 10^6 \text{ AgNP}\cdot\text{cm}^{-2}$ und $2.9\cdot 10^6 \text{ AgNP}\cdot\text{cm}^{-2}$. Dabei zeigte sich eine statistisch signifikante Reduzierung der Atemvolumina nach 90 Tagen. Die weibliche Gruppe, die der hohen Silber-Nanopartikelkonzentration ($2.9\cdot 10^6 \text{ AgNP}\cdot\text{cm}^{-2}$) ausgesetzt war, zeigte dazu auch leicht erhöhte Entzündungsparameter.^[172] Einen Fall von inhalativer Argyria beschreiben EAST *et al.* Dabei hat eine gesunde Patientin über einen Zeitraum von zwei Jahren Silberacetat zur Raucherwöhnung konsumiert und bekam eine Argyria. Die aufgenommene Gesamtsilbermenge wurde mittels Neutronenaktivierung bestimmt und betrug 6.4 g. Darauf entfielen $71.7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ auf die Haut was eine 8000-fach erhöhte Konzentration darstellt, $0.08 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ auf die Kopfbehaarung und $0.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ auf die Fingernägel. Die Patientin zeigte sonst keine Auffälligkeiten.^[173]

Die Ausbildung einer Argyria ist dabei stark von der individuellen Disposition abhängig.^[123] TROP *et al.* beschreiben einen sehr seltenen Fall von argyriaähnlichen Symptomen bei einem Patienten der gegen Brandverletzungen (30% verbrannter Fläche) Wundauflagen mit Silber-Nanopartikeln bekam. Nach einer Woche der lokalen Wundbehandlung zeigte sich eine gräuliche Verfärbung des nicht behandelten Gesichts. Der Patient wies des Weiteren erhöhte Werte der Leberenzyme auf. Die Wundbehandlung zeigte hingegen sehr gute Erfolge. Nach dem Absetzen der silberhaltigen Wundverbände normalisierten sich die Werte der Leberenzyme und die gräuliche Verfärbung verschwand.^[174]

Nach dem aktuellen Kenntnisstand gibt es keine Hinweise auf eine mutagene oder kancerogene Wirkung von Silber und Silberverbindungen.^[175] Belegt ist hingegen das sehr seltene Auftreten von Kontaktallergien gegenüber Silber.^[153,176] Des Weiteren ist die Ausbildung einer Argyria stark von der Applikationsdauer und der somit insgesamt aufgenommenen Silbermenge abhängig.^[123,177] Die individuelle Disposition scheint dabei eine ebenso wichtige Rolle zu spielen.^[158,178] Lebensbedrohliche oder irreversible Schädigungen, bis auf eine veränderte Hautfarbe, sind bei der Argyria nicht nachweisbar.^[161,179] Ein wichtiger Faktor der Toxizitätsreduzierung scheint die Selenkonzentration im Organismus zu sein. Die Bildung von inertem Silberselenid reduziert die akute Toxizität der Silberionen, führt jedoch zur Argyria.^[165,168,180,181] In Biopsien von Argypriapatienten konnte eine 10-fach höhere Selenkonzentration im Gewebe nachgewiesen werden.^[168]

2.6 Silicon als Biomaterial

Silicone sind Polyorganosiloxane, die Ketten oder Netzwerkstrukturen ausbilden. Hierbei sind Siliciumatome mit Sauerstoffatomen alternierend verknüpft. Die freien Valenzen der Siliciumatome sind dabei mit organischen Gruppen oder mit Wasserstoffatomen abgesättigt.^[182] Silicone lassen sich in drei Klassen einteilen:

- Siliconöle
- Siliconharze
- Siliconelastomere

Die Siliconöle (Abbildung 2-12) sind je nach Viskosität lang- oder kurzkettige, lineare Polyorganosiloxane, die nicht oder nur wenig vernetzt sind. Der Viskositätsbereich variiert bei Raumtemperatur zwischen 10 mPa·s und 10⁶ mPa·s.^[182] Siliconöle werden hauptsächlich als Schmiermittel, Dämpfungsmittel, als Heizflüssigkeit oder als Additiv in Kosmetika eingesetzt.

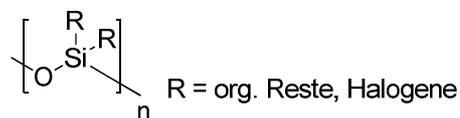


Abbildung 2-12: Grundbaueinheit eines Siliconöls.

Bei den Siliconharzen (Abbildung 2-13) handelt es sich um vernetzte Polymethylsiloxane oder Polymethylphenylsiloxane, die eine hohe Dauerwärmebeständigkeit aufweisen, jedoch recht spröde sind. Siliconharze werden unter anderem für hitzebeständige Oberflächenbeschichtungen, kratzfeste Schutzlacke oder für die Imprägnierung von Baustoffen verwendet.^[182]

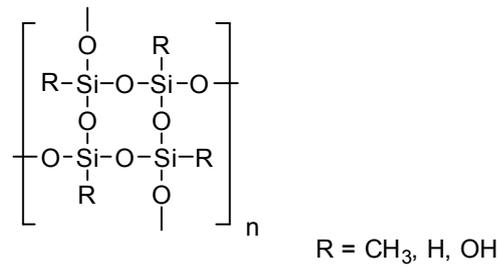


Abbildung 2-13: Grundbaueinheit eines Siliconharzes.

Die Siliconelastomere (Abbildung 2-14) sind ebenfalls vernetzte Silicone, die jedoch im Gegensatz zu den Siliconharzen einen geringeren Vernetzungsgrad aufweisen und daher ein viskoelastisches Verhalten zeigen.

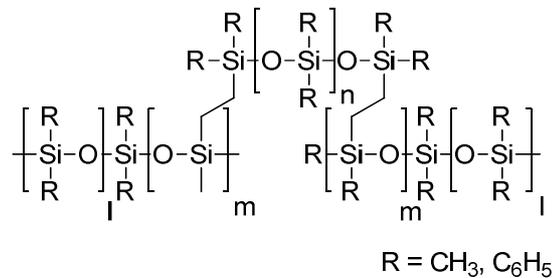


Abbildung 2-14: Verknüpfungsmuster eines Siliconelastomers.

Für die Vernetzung der Silicone müssen die zu vernetzenden Siliconeinheiten potenzielle Vernetzungsstellen aufweisen. Einige vernetzungsfähige Gruppen sind in der Abbildung 2-15 dargestellt.

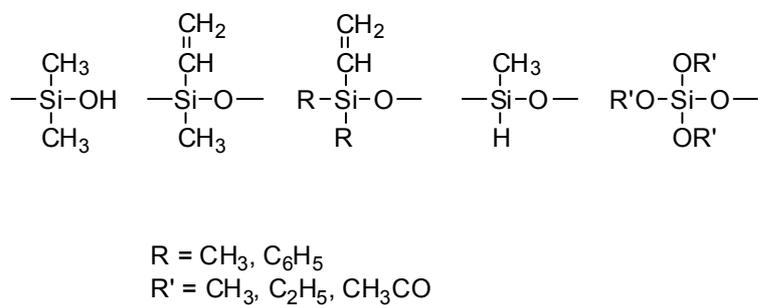


Abbildung 2-15: Einige vernetzungsfähige Siloxy-Gruppen. Nach [182].

Zu den vernetzungsfähigen Gruppen gehören Hydroxy-, Vinyl-, Hydro- oder Alkoxygruppen. Diese Gruppen können terminal, statistisch oder definiert blockartig angeord-

net sein. Die Konzentration der Vernetzerguppen hat dabei einen maßgeblichen Einfluss auf die Eigenschaften des Silicons. Für Siliconelastomere sind Vernetzerkonzentrationen von 0.03 bis 1.5 Molprozent typisch; eine höhere Konzentration führt zu duromeren Siliconen.^[182]

Die mechanischen Eigenschaften des Silicons können über die Länge der Monomereinheiten, den Vernetzungsgrad und über das Hinzumischen eines Füllstoffes wie Silica eingestellt werden.^[183] Um die Festigkeit des Elastomers deutlich zu erhöhen, werden Füllstoffe wie oberflächenreiches Silica zum Silicon hinzugemischt. Die Festigkeit kann hierdurch um den Faktor 10–30 erhöht werden.^[182] Hierbei bildet der Füllstoff oberhalb der Perkolationschwelle ein Füllstoffnetzwerk aus, was die dynamischen Eigenschaften des Elastomers stark beeinflusst.^[35–38] Durch das Vorhandensein eines Füllstoffnetzwerkes zeigen die Elastomere ein deformationsabhängiges, nichtlineares Verhalten; dieser Effekt wird auch als PAYNE-Effekt bezeichnet.^[184] Durch die Zugabe von unfunktionalisierten Silicapartikeln kann zwar die Festigkeit des Elastomers erhöht werden, jedoch zeigen die Elastomere in diesem Fall eine erhöhte Brüchigkeit.^[183] Das lässt sich jedoch durch die Verwendung von vinylfunktionalisierten Silicapartikeln beheben. Durch die Funktionalisierung mit Vinylgruppen an der Oberfläche der Silicapartikel werden diese kovalent im Silicon-Netzwerk fixiert und verhindern die Rissweiterleitung. Je nach Festigkeitsgrad können bis zu 30% Silica in das Silicon eingebracht werden.^[34] Eine weitere Möglichkeit die mechanischen Eigenschaften des Silicons zu beeinflussen ist die Variation des Vernetzungsgrads. Je höher der Vernetzungsgrad gewählt wird, desto fester wird das Silicon. Jedoch hat dies zur Folge, dass mit gesteigertem Vernetzungsgrad die Agglomeration der Silicapartikel zunimmt, was wiederum zu inhomogenen und zu brüchigen Elastomeren führt.^[183]

Silicone sind in der Medizin weit verbreitet und finden vielfältige Anwendungen. Zum ersten Mal wurden PDMS-Silicone im Jahr 1955 in der Medizin als Drainageschlauch verwendet.^[185] Heutzutage sind Silicone in einer Vielzahl von Medizinprodukten zu finden, wie z. B. in Cochleaimplantaten, Schutzüberzügen für Herzschrittmachern, Beschichtung von künstlichen Herzklappen, Brustimplantaten, flexiblen künstlichen Gelenken, Augenimplantaten, Kathetern, künstlichen Gefäßen, aber auch in der Innenaus-

kleidung von Spritzen und von Blutkonservenbeuteln.^[30,185] Während einer zweijährigen *in vivo* Biokompatibilitätsstudie konnte eine leichte fibröse Einkapselung der Explantate durch Bindegewebe festgestellt werden.^[185] Durch Oberflächentexturierung und Modifizierung ist es jedoch möglich eine Verkapselung des Implantates zurückzudrängen.^[32,34]

Das am häufigsten verwendete Silicon in der Medizin ist das Polydimethylsiloxan oder kurz PDMS (Abbildung 2-16), jedoch werden auch noch andere organofunktionalisierte Polysiloxane, wie phenyl- oder trifluorpropylfunktionalisierte Polysiloxane verwendet.^[34]

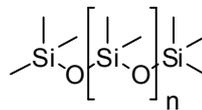


Abbildung 2-16: Strukturformel eines unfunktionalisierten PDMS.

Durch ihre chemische Stabilität und ihre geringe Oberflächenenergie weisen PDMS-Silicone eine gute Bioinertheit, eine hohe Biostabilität und eine gute Hämokompatibilität auf.^[31–33] Des Weiteren sind Silicone thermisch bis zu 200 °C stabil, was sie autoklavierbar macht.^[186] Silicone benötigen keine Additive wie Weichmacher, Stabilisatoren oder Alterungsschutzmittel.^[30] Sie eignen sich daher nicht nur zur äußeren Anwendung, sondern auch als Implantatmaterial.^[34] Durch den großen Anwendungsspielraum gehören die PDMS-Silicone zu den am besten untersuchten Medizinprodukten auf dem Markt.

Die Herstellung bzw. die Vernetzung von PDMS-Elastomeren erfolgt in der Regel durch eine platinkatalysierte Hydrosilylierung eines terminierten Vinyl-PDMS mit einem H-PDMS, bei dem ein Anteil der Methylgruppen durch Wasserstoff substituiert wurde (Abbildung 2-17). Durch diese Art der Vernetzung werden keine Abspaltungsprodukte frei, wie sie z. B. bei der Kondensation von hydroxyterminiertem PDMS auftreten.

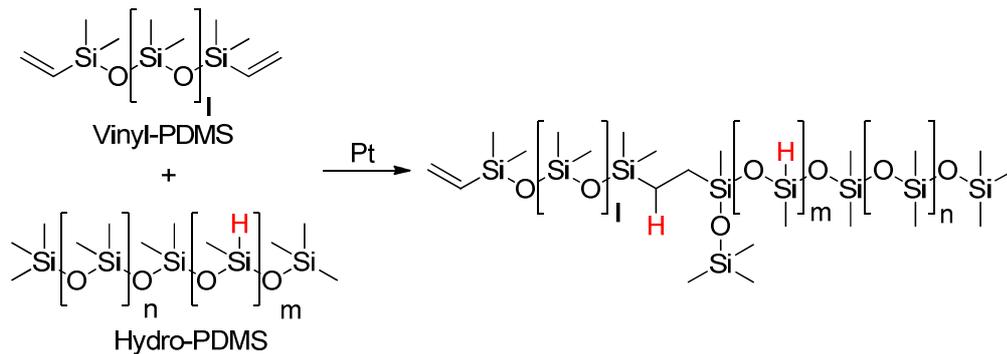


Abbildung 2-17: Schematische Hydrosilylierungsreaktion von einem terminierten Vinyl-PDMS und einem H-PDMS.

Für medizinische Anwendungen müssen das Silicon und die Siliconbausteine den medizinischen Reinheitsgrad (*medical grade*) besitzen. Das bedeutet, dass keine kurzkettigen Moleküle im Silicon vorhanden sein dürfen und dass keine unvernetzten Siliconbestandteile herausgelöst werden können.^[34] Das Herauslösen (*leaching*) von ungebundenen Siliconbestandteilen hat zur Folge, dass die Implantate Risse bekommen könnten und die mechanische Stabilität nicht mehr gewährleistet wäre, toxische Effekte durch das Herauslösen von PDMS-Gruppen ist jedoch nicht zu erwarten.^[187] Im Jahr 2010 wurden Implantate der französischen Firma POLY IMPLANT PROTHÈSE zurückgerufen und vom Markt genommen, weil in diesen ein nichtmedizinisches Silicon verarbeitet wurde und es vermehrt zu undichten und geplatzten Siliconbrustimplantaten gekommen war.^[187]

2.6.1 Siliconelastomere aus Sylgard® 184

Ein häufig verwendetes technisches PDMS-Silicon ist das von DOW CORNING produzierte Sylgard® 184. Hierbei handelt es sich um ein Zweikomponentensystem. Die erste, hochviskose Komponente A (3900 mPa·s) beinhaltet vinylterminiertes PDMS (15–35%), vinylfunktionalisierte Silicapartikel (10–30%) und 2,4,6,8-Tetramethyl-2,4,6,8-tetra-vinylcyclotetrasiloxan (1–5%). Die zweite Komponente B ist niedrigviskos und beinhaltet die H-PDMS-Komponente (55–75%) und den Platinkatalysator.^[186] Weder die genaue Zusammensetzung, noch die mittleren Molmassen und der Funktionalisierungsgrad sind exakt beschrieben, es sind nur grobe Richtwerte veröffentlicht. Das Sylgard® 184 wird in einem Mischungsverhältnis von 10 Teilen der Komponente A und 1 Teil der Komponente B gemischt. Die Aushärtezeit ist temperaturabhängig; bei Raum-

temperatur benötigt das Sylgard® 184 48 Stunden, bei 100 °C 45 Minuten, bei 125 °C 20 Minuten und bei 150 °C 10 Minuten um vollständig zu vernetzen.^[188]

2.6.2 Das Trommelfellkissen - Trommelfellverstärkung aus Silicon

Die Verstärkung des Trommelfells beim Einsatz einer alloplastischen Mittelohrprothese gehört zu den Standardmaßnahmen bei der Rekonstruktion der Schallleitungskette.^[189] Durch den Einsatz eines Polsters oder Kissens zwischen dem Prothesenteller und dem Trommelfell wird die Extrusionsrate der Prothese und die Beschädigung des Trommelfells deutlich gesenkt bzw. herausgezögert.^[190,191] Als Polstermaterial ist Knorpel mit oder ohne Perichondrium der Gold-Standard. Diese Technik wurde erstmals 1966 von WALTNER durchgeführt und beschrieben.^[192] Audiologische Untersuchungen zeigen, dass die Schallleitung beim Einsatz eines Knorpelkissens nicht beeinträchtigt wird und über einen längeren Zeitraum stabil bleibt.^[190] Hierzu wird in der Regel ein Teil des Knorpels aus dem Tragus verwendet. Der Tragusknorpel ist beim erwachsenen Menschen ungefähr 1.5 x 1.5 cm groß und hat eine Dicke von etwa 1–2 mm. Der Tragusknorpel ist ein häufig verwendetes Material in der Mittelohrchirurgie. Er wird unter anderem zum Verstärken des Trommelfells, zur Trommelfellrekonstruktion, zur Behebung von Trommelfellperforationen, zur Rekonstruktion der Gehörgangswände und zur Wiederherstellung der Schallleitungskette verwendet.^[28] Der Tragusknorpel eignet sich besonders gut, da er autogen ist und somit keinerlei Bioinkompatibilität zeigt. Des Weiteren ist der Knorpel ausreichend vorhanden, leicht zu gewinnen und bleibt unmittelbar nach der Transplantation vital.^[28] Durch das Interponieren zwischen dem Prothesenteller und dem Trommelfell mit einem Knorpelkissen wird die Prothese zusätzlich in der Paukenhöhle fixiert und so die Dislokalisierung der Prothese, was zu unbefriedigenden Hörergebnissen führt, minimiert.^[29] Dazu wird eine ungefähr 6–10 mm große und circa 0.5 mm dicke Knorpelscheibe zugeschnitten und mittels Fibrinkleber auf dem Prothesenteller fixiert.^[191–194] Wichtig bei der Größe des Knorpelkissens ist, dass dieses keine Berührung mit den umliegenden Knochenwänden hat, da die Gefahr der Verknöcherung und somit eine Schallübertragungsminderung entstehen kann.^[194]

Wie STEINBACH zeigen konnte, weisen Knorpeltransplantate nach einigen Jahren degenerative Anzeichen und tote Chondrozyten auf. Des Weiteren waren Zweidrittel der

Knorpeltransplantate durch zelluläre Resorption, Infiltration oder Vaskularisation strukturell beeinträchtigt.^[28] Die strukturelle Veränderung kann zu einer veränderten Schallleitung führen, daher wird im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 599 die Nutzung eines Siliconkissens als Trommelfellpolster untersucht. Silicone weisen sich durch die gute Bioinertheit und der ausgesprochen hohen Biostabilität aus, sie zeigen auch nach Jahren kaum veränderte Eigenschaften.^[31–33] Außerdem lassen sich die mechanischen Eigenschaften des Silicons so anpassen, dass die Schallübertragung optimiert werden kann. Dabei soll das Trommelfellkissen die Frequenzen von 1000–5000 Hz nicht dämpfen, jedoch hohe Amplituden (hohe Lautstärke) filtern. Um diese Eigenschaften einstellen zu können, ist ein frequenzabhängiges Schwingungsverhalten des Silicons nötig. Das nichtlineare Schwingungsverhalten lässt sich über das Hinzumischen eines Füllstoffes individuell einstellen.^[35–38] Ebenso ist es möglich das Silicon mit einem Medikamentenfreisetzungssystem auszustatten um z. B. gezielt Cholesteatomrezidive zu verhindern.

3 Analytische Methoden

In diesem Kapitel werden die für die Charakterisierung der hergestellten Proben verwendeten analytischen Methoden vorgestellt. Darüber hinaus werden die Verfahren erläutert, die für die Ermittlung der Silberkonzentrationen in den Silberfreisetzungsexperimenten eingesetzt werden.

3.1 Infrarot-Spektroskopie

Die Infrarot (IR)-Spektroskopie ist ein optisches Messverfahren, mit dessen Hilfe anorganische und organische Verbindungen qualitativ und quantitativ charakterisiert werden können. Hierbei treten Wechselwirkungen zwischen Atomen beziehungsweise Molekülen mit Infrarotstrahlung auf. Die eingestrahlte Infrarotstrahlung wird durch an Bindungen beteiligten Atomen absorbiert und die Atome in Schwingungen versetzt, was eine Änderung der Bindungslängen und Bindungswinkel zur Folge hat. Die absorbierten Energien sind für bestimmte funktionelle Gruppen charakteristisch. Die Voraussetzung für eine IR-aktive Schwingung ist, dass das Dipolmoment des Moleküls sich periodisch mit der Schwingung ändert. Dabei können Valenz- und Deformationsschwingungen unterschieden werden.

Die gemessenen IR-Spektren wurden mit einem Fourier-Transformations-Infrarot-Spektrometer vom Typ Tensor 27 der Firma BRUKER mit Hilfe einer *attenuated-total-reflection*-Einheit (ATR-Einheit) aufgenommen. Die Aufzeichnung und Auswertung der Daten erfolgte mit der Software OPUS 5.0.

3.2 Kontaktwinkel

Mit Hilfe von Kontaktwinkelmessungen lassen sich die Benetzungseigenschaften von Feststoffen mit einer Flüssigkeit bestimmen. Der Kontaktwinkel θ ist hierbei der Winkel, der zwischen der Tangente des Tropfens und der Oberfläche entsteht (Abbildung 3–1).

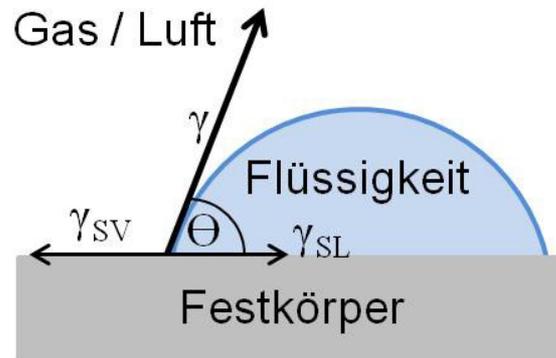


Abbildung 3-1: Kontaktwinkeldarstellung nach YOUNG.^[195,196]

Der Winkel ist abhängig von der Wechselwirkung zwischen der Oberfläche und der Flüssigkeit. Hierbei spreitet sich der Tropfen soweit, bis sich ein Gleichgewicht zwischen Oberflächenspannung und Grenzflächenspannung eingestellt hat. Dieses Gleichgewicht lässt sich an Hand der YOUNGLEICHUNG beschreiben (Gleichung 3-1).^[195]

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma \cos \theta \quad \text{Gleichung 3-1}$$

Dabei beschreibt γ_{SV} die freie Oberflächenenergie des Festkörpers, γ_{SL} stellt die Grenzflächenenergie zwischen Flüssigkeit und Feststoff dar und γ ist die Oberflächenspannung der Flüssigkeit.

3.3 Fluoresceintest

Die Quantifizierung der quartären Ammoniumgruppen erfolgt mittels modifizierten Fluoresceinfarbstofftests^[10]. Hierbei wird das beschichtete Substrat für 60 Minuten in eine 1%-ige Fluoresceinlösung getaucht. Das Fluorescein bindet dabei elektrostatisch an die positiv geladenen quartären Ammoniumgruppen. Die Substrate werden nach der Inkubation ausgiebig mit Reinstwasser gespült. Für die Quantifizierung werden die Substrate 60 Minuten in 2.5 mL einer 0.1%-igen Hexadecyltrimethylammoniumchlorid-Lösung gerührt, sodass das gebundene Fluorescein wieder vom Substrat freigesetzt wird. Im Anschluss werden zu dieser Lösung 250 μ L Phosphatpuffer (pH = 8.0) hinzugegeben. Die Fluoresceinkonzentration der so erhaltenen Lösung wird photometrisch ($\lambda = 501 \text{ nm}$) in einer Dreifachbestimmung bestimmt.

Für die Quantifizierung wurde ein Mikrotiterplattenphotometer Synergy 2 mit der Software gen5 von BIOTEK verwendet. Als Mikrotiterplatten wurden 96-Well-Platten (BRANDplates®, pureGrade™) genutzt.

3.4 Antibakterielle Aktivität

Die Testung der antibakteriellen Aktivität der antimikrobiellen Beschichtungen auf Basis quartärer Ammoniumgruppen und der Silber-Silicabeschichtungen wurde von Dr. MUHAMMAD BADAR und von MUHAMMAD IMRAN RAHIM vom HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR INFEKTIONSFORSCHUNG in Braunschweig durchgeführt. Hierzu wird ein lux-Operon genmodifizierter, lumineszenter *Pseudomonas aeruginosa*-Stamm (PA01 CTX::lux) über Nacht auf einem LB-Agar kultiviert. Die frische Bakterienkultur wird in einer LB-Nährbouillon überführt und solange bebrütet, bis eine OD₆₀₀ von 0.1 bei den Silber-Silicafilmen bzw. 0.2 im Fall der quartären ammoniumgruppenbasierten Beschichtungen (QA-Beschichtungen) erreicht ist. Die antibakteriell beschichteten Substrate werden in Multi-Well-Platten mit je 15 µL der Bakteriensuspension überschichtet und bei 37 °C für 4 Stunden (Silber-Silicafilmen) bzw. 6 Stunden (QA-Beschichtungen) inkubiert. Die Lumineszenz wird bei den Silber-Silicafilmen nach 0, 1, 2, 3 und 4 Stunden, bei den QA-Beschichtungen nach 0 und 6 Stunden detektiert. Es werden jeweils Dreifachbestimmungen durchgeführt.

Die Lumineszenz wurde dabei mit einem IVIS®-200 IN VIVO IMAGING SYSTEM von der Firma XENOGEN gemessen. Die Auswertung erfolgte mit der Software LIVING IMAGE SOFTWARE® in der Version 2.6 (XENOGEN).

3.5 Zellviabilität

Die Testung der Zellkompatibilität wurde von MUHAMMAD IMRAN RAHIM vom HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR INFEKTIONSFORSCHUNG in Braunschweig durchgeführt. Hierzu werden die murine Fibroblasten Zelllinie NIH 3T3 (ATCC CRL-1658) und die Osteosarkomzelllinie MG 63 in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) mit 10% (V/V) fetalem Kälberserum und 1% (V/V) Glutamin und Penicillin-Streptomycin bei 37 °C in

einer feuchten, 5% CO₂ Atmosphäre kultiviert. Mit einer Trypsinlösung werden die Zellen von der Oberfläche der Zellkulturflasche abgelöst und 1:20 mit frischem Zellkulturmedium verdünnt. Aus dieser Zellkultursuspension werden 2 mL auf jede Silber-Silicabeschichtung gegeben. Von jeder Probe werden Dreifachbestimmungen angefertigt. Die Silber-Silicabeschichtungen werden mit der Zellsuspension für 48 Stunden in einer feuchten Atmosphäre bei 37 °C mit 5% CO₂ kultiviert. Die Zellen werden mit *Cell-Proliferation-Dye* angefärbt und fluoreszenzmikroskopisch mit einem ZEISS Axio Observer A-1 untersucht.

Außerdem wird die Zellmorphologie mittels Rasterelektronenmikroskopie (ZEISS Merlin) untersucht. Um die Details deutlicher erkennen zu können, wurden der Kontrast der erstellten Bilder nachträglich um 50% und die Helligkeit um 10% angehoben.

3.6 Röntgenbeugung

Für die Strukturbestimmung wurde die Röntgenbeugung verwendet. Hierbei werden durch periodische Elektronendichtekontraste, die von den Atomen im Kristallgitter hervorgerufen werden, Beugungsreflexe verursacht. Die Wellenlänge der eingestrahlten Röntgenstrahlen liegt in der Größenordnung der Atomabstände in einem Kristallgitter (10^{-10} m). Daher werden die Röntgenstrahlen an dem periodisch aufgebauten Gitter des Festkörpers gestreut und interferieren miteinander. Die Beziehung zwischen der Beugung der Röntgenstrahlen und dem Abstand der Netzebenen im Kristallgitter wird durch die braggische Gleichung (Gleichung 3-2) beschrieben:

$$n\lambda = 2d_{\text{hkl}} \sin \theta_{\text{hkl}} \quad \text{Gleichung 3-2}$$

n : ganze Zahl

λ : Wellenlänge der Röntgenstrahlen

d_{hkl} : Abstand der Netzebenen

θ_{hkl} : Beugungswinkel

Die Charakterisierung der Filme erfolgte mit einem Diffraktometer der Firma STOE und wurde in Reflexion mit θ - θ -Geometrie gemessen.

Die Silicafilme wurden dabei in einem 2θ -Bereich zwischen $1^\circ 2\theta$ und $10^\circ 2\theta$ bzw. im Fall der silberhaltigen Silicafilme im Bereich von $1^\circ 2\theta$ und $50^\circ 2\theta$ gemessen. Für die Auswertung der Daten wurde die Software WinXPow Version 1.08 der Firma STOE verwendet.

3.7 SCHERRER-Gleichung

Mit Hilfe der Röntgenbeugung ist es möglich Informationen zur Größe von nanokristallinen Kristallen zu erhalten. Sind die Kristalle sehr klein, wird der Röntgenstrahl an nur sehr wenigen Netzebenen gebeugt, sodass eine Reflexverbreiterung auftritt. Dieser Zusammenhang wird durch die empirische SCHERRER-Gleichung beschrieben (Gleichung 3-3).

$$d = \frac{K \cdot \lambda}{(HB - b) \cdot \cos \theta} \quad \text{Gleichung 3-3}$$

Hierbei stellt d den Durchmesser der Kristalle dar. Der Formfaktor K beschreibt die Kristallform und liegt zwischen 0.87 und 1.39. Für kubische Systeme (z. B. Silber) ist $K=0.94$. Die Wellenlänge λ hängt von der eingestrahlten Röntgenstrahlung ab und beträgt für die hier verwendeten Berechnungen 1.5406 \AA . Der Term $(HB-b)$ stellt die korrigierte Halbwertsbreite des Kristalls dar. Hierbei wird die zuvor ermittelte gerätespezifische Reflexverbreiterung (b) von der Halbwertsbreite des Kristalls (HB) abgezogen. Für die Ermittlung der Halbwertsbreite wurde der 200-Reflex mit Hilfe eines Lorentz-Fit-Algorithmuses bestimmt.

3.8 Atomabsorptionsspektroskopie

Die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) ist eine spektroskopische Methode um Elemente qualitativ und quantitativ charakterisieren zu können. Durch die Absorption von elektromagnetischer Strahlung werden Elektronen angeregt; hierbei kann die Wechselwirkung zwischen der elektromagnetischen Strahlung und der Materie gemessen werden. Eine Hohlkathodenlampe emittiert Photonen mit einer elementspezifischen Wellen-

länge und mit einer definierten Intensität, sodass die Elektronen des gesuchten Elements in der atomisierten Probe durch diese Photonen angeregt werden. Durch die Absorption resultiert eine Schwächung des eingestrahnten Lichts, die proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe ist. Dieses Verhalten wird durch das Lambert-Beersche Gesetz beschrieben (Gleichung 3-4).

$$E_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} cd = \ln \left(\frac{I_0}{I_t} \right) \quad \text{Gleichung 3-4}$$

E_{λ} : Extinktion bei der Wellenlänge λ

ε_{λ} : Extinktionskoeffizient bei der Wellenlänge λ

c : Stoffmengenkonzentration

d : Schichtdicke des durchstrahlten Körpers

I_0 : Intensität des transmittierten Lichts

I_t : Intensität des eingestrahnten Lichts

Die Atomisierung der Probe erfolgt durch das Einspritzen in ein elektrisch beheiztes Graphitrohr, das auf eine Temperatur von bis zu 3000 °C erwärmt werden kann. Die Atomabsorptionsspektroskopie ist eine relative Messmethode. Hierbei wird die Extinktion von Kalibrierungsstandards aufgenommen und mit der gemessenen Extinktion des Analyten verglichen.

Die Bestimmung der Silberkonzentrationen erfolgte mit einem Gerät der Firma ZEISS vom Typ AAS5 EA MPE5. Die verwendete Hohlkathodenlampe hatte eine Wellenlänge von $\lambda = 328.1$ nm. Die Proben wurden soweit mit Reinstwasser verdünnt, dass die gemessenen Extinktionen im Bereich der Kalibrationsstandards lagen. Die Standards hatten eine Konzentration von 5, 10, 20, 30, 40, 50 ppb Silber.

3.9 Ellipsometrie

Die Bestimmung der Filmdicken erfolgte mit Hilfe der Ellipsometrie. Hierbei handelt es sich um ein spektrales Messverfahren, mit dem dielektrische Materialeigenschaften wie der Brechungsindex und die Permittivität sowie die Schichtdicke bestimmt werden können. Hierzu wird die Änderung des Polarisationszustands des eingestrahnten polarisierten

Lichts während der Reflexion an der Probe gemessen. Die Reflexion an einer Grenzfläche ist nach den Stetigkeitsbedingungen der maxwellschen Gleichungen bzw. der fresnelschen Gleichungen für die Parallel- und Senkrechtpolarisation verschieden. Im Ergebnis ist das reflektierte Licht im allgemeinen Fall elliptisch polarisiert, was der Methode auch den Namen gab.

Für die Auswertung werden die Parallel- und Senkrechtkomponenten unabhängig voneinander betrachtet. Diese liefern die Amplituden- und Phaseninformationen (Ψ und Δ), die das sogenannte Fingerprintspektrum der Probe darstellen und die elektronische Struktur der Probe (Mikrostruktur, Stöchiometrie und Dichte) einschließlich Schichtdicke beschreiben. Durch parametrisierte Modelle können mit speziellen Fit-Algorithmen die experimentellen Amplituden- und Phaseninformationen angefüttet werden und liefern die physikalische Größen wie den Brechungsindex n und den Absorptionskoeffizient k , aber auch die Schichtdicke d .

Die Messungen wurden von NATALJA WENDT mit einem Ellipsometer SE 800 von der Firma SENTECH durchgeführt. Hierzu erfolgte die Beschichtung der Filme auf Silicium-Wafern. Bei den Silicafilmen wurde ein System bestehend aus fünf Schichten angenommen (1. Luft, 2. Rauigkeit, 3. Tauc-Lorentz-Oszillator für die Silicaschicht, 4. Cauchy-Schicht für die native Oxidschicht des Silicium-Wafers, 5. Silicium-Wafer). Die genaue Parametrisierung ist im Anhang aufgeführt.

3.10 Zugprüfung

Die Untersuchung des Hystereseverhaltens der Silicone erfolgt mittels dynamischer Zug-Dehnungs-Versuche. Hierzu werden genormte Siliconproben mit einer genormten Geometrie mechanisch gedehnt. Für die Zugprüfung werden genormte, hantelförmige Prüfkörper verwendet. Die genauen Maße sind in der Abbildung 3-2 dargestellt.

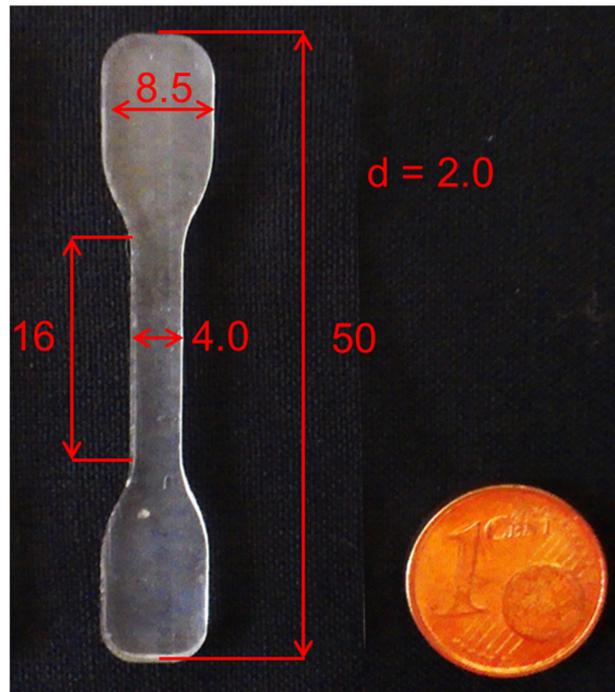


Abbildung 3-2: Siliconprüfkörper mit genormter Geometrie.

Die Probe wurde zunächst mit zwei reflektierenden Positionspunkten versehen, um mit Hilfe eines Lasers die exakte Längenveränderung während des Zugversuchs ermitteln zu können. Der Siliconkörper wurde für die Messung zwischen zwei pneumatische Klemmbacken positioniert und mit einer Geschwindigkeit von 10 mm min^{-1} gedehnt. Dabei erfolgte eine stufenweise, zyklische Dehnung und Entlastung der Siliconprobe. Die Zugintervalle wurden in 5 N-Schritten von 5–50 N abgefahren, hierbei wurde jedes Zugintervall 5-mal durchlaufen. Die Messungen erfolgten an einer Zugprüfmaschine Z010 der Firma ZWICK am DEUTSCHEN INSTITUT FÜR KAUSCHUKTECHNOLOGIE e. V.

3.11 Rheologie

Die Rheologie ist die Lehre von der Verformung und vom Fließverhalten von flüssigen sowie festen Substanzen. Die Beschreibung des rheologischen Scherverhaltens findet zwischen zwei Extremen statt, der Deformation von idealelastischen Festkörpern (z. B. Stahlkugel) und dem Fließen von idealviskosen Flüssigkeiten (z. B. niederviskoses Mineralöl). Beide Extremfälle lassen sich mit Hilfe von Feder-Dämpfermodellen beschreiben.^[197]

Für das Verständnis der Rheologie müssen zunächst einige essenzielle Begriffe näher betrachtet werden:

Die *Schubspannung* τ ist die Scherkraft F , bezogen auf die Scherfläche A (Gleichung 3-5)

$$\tau = \frac{F}{A} \quad \text{Gleichung 3-5}$$

Die *Scherrate* $\dot{\gamma}$ beschreibt die räumliche Veränderung der Fließgeschwindigkeit mit der Geschwindigkeit v und dem Plattenabstand h (Gleichung 3-6).

$$\dot{\gamma} = \frac{v}{h} \quad \text{Gleichung 3-6}$$

Die *Viskosität* η beschreibt den Fließwiderstand eines fließfähigen Fluids, wenn Moleküle gegeneinander verschoben werden. Bei idealviskosen Fluiden ist bei konstanter Temperatur das Verhältnis zwischen der *Schubspannung* τ und der *Scherrate* $\dot{\gamma}$ eine Materialkonstante. Dieses idealviskose Fließverhalten wird auch als newtonsches Gesetz bezeichnet (Gleichung 3-7).^[197]

$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad \text{Gleichung 3-7}$$

Das Verhalten einer idealviskosen Flüssigkeit lässt sich mit Hilfe eines Dämpfers erklären (Abbildung 3-3). Bei der Belastung des Kolbens mit einer konstanten Schubkraft vergrößert sich der Kolbenweg stetig, da die Dämpferflüssigkeit durch den engen Ringspalt der Zylinderwand des Dämpfers fließt. Hierbei ist die Kolbengeschwindigkeit proportional zu der angelegten Scherkraft. Der Proportionalitätsfaktor entspricht der inneren Reibung des Dämpfers. Der Kolben bleibt hingegen sofort stehen, wenn keine Schubkraft mehr wirkt.

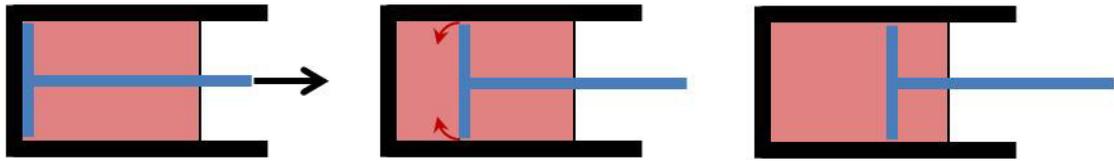


Abbildung 3-3: Dämpfermodell zur Simulation von idealviskosem Verhalten. Links: eine konstante Kraft wirkt auf den Kolben. Mitte: der Kolben verdrängt die Flüssigkeit und diese strömt durch einen Ringspalt der Zylinderwand. Rechts: Wenn keine Schubkraft mehr wirkt, verbleibt der Kolben in der Endposition. Nach [197].

Im Fall eines idealelastischen Festkörpers kann die Probe durch eine äußere Krafteinwirkung vollständig reversibel begrenzt deformiert werden. Hierbei ist das Verhältnis zwischen der *Schubspannung* τ und der *Deformation* γ , bei einer konstanten Temperatur und im reversibel-elastischen Deformationsbereich, eine Materialkonstante und wird als *Schubmodul* G bezeichnet. Der reversibel-elastische Deformationsbereich wird auch *linear-elastischer Bereich* genannt. Der Zusammenhang zwischen der *Schubspannung* τ und der *Deformation* γ kann mit Hilfe des hookeschen Gesetzes beschrieben werden (Gleichung 3-8).^[197]

$$\tau = G \cdot \gamma \quad \text{Gleichung 3-8}$$

Der Schubmodul eines idealelastischen Festkörpers ist hierbei von der Stärke und der Dauer der Scherbelastung unabhängig. Das Verhalten eines idealelastischen Festkörpers kann mit Hilfe des Federmodells dargestellt werden (Abbildung 3-4).

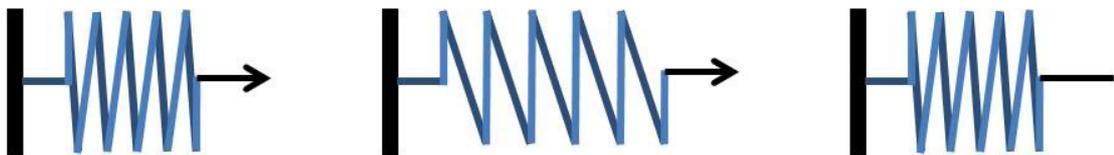


Abbildung 3-4: Links: Wird an die Feder eine konstante Zugkraft angelegt, so findet eine spontane und sprunghafte Verformung statt (Mitte). Rechts: Wenn die Scherkraft nicht mehr wirkt, wird die Feder elastisch, das heißt spontan, sprunghaft und vollständig in die Ausgangslage zurückgestellt. Nach [197].

Bei einem idealelastischen Festkörper wird die zugeführte Deformationsenergie während der Verformung vollständig im Material gespeichert und wird bei Entlastung wieder vollständig freigesetzt. Festkörper mit sehr starken atomaren und molekularen Wechselwirkungen zeigen ein idealelastisches Deformationsverhalten. Hierzu zählen vor allem kristalline Strukturen.

Zeigt ein Material hingegen viskose und elastische Eigenschaften, wird von Viskoelastizität gesprochen. Durch das Einwirken einer äußeren Kraft wird die Probe teilweise reversibel und teilweise irreversibel deformiert. Hierbei verhalten sich der elastische Anteil nach dem Hookeschen Gesetz und der viskose Anteil nach dem Newtonschen Gesetz.

Das viskoelastische Verhalten eines Festkörpers kann z. B. mit dem KELVIN-VOIGT-Modell dargestellt werden. Hierbei wird die Kombination aus Dämpfer- und Federmodell genutzt, die parallelgeschaltet sind (Abbildung 3-5).

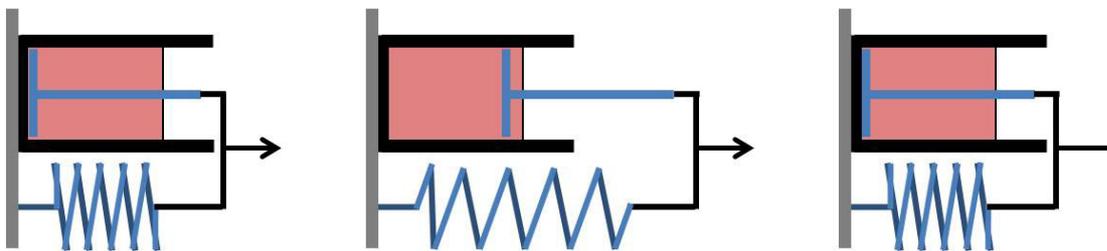


Abbildung 3-5: Links: Dämpfer und Feder sind undeformiert im Ruhezustand. Mitte: Eine Kraft wird angelegt, Feder und Dämpfer können nur im selben Maße und gemeinsam auf die Kraft antworten. Rechts: Wirkt nun keine Kraft mehr auf das System, stellt sich die Feder nicht sofort zurück, sondern wegen der dämpfenden Wirkung des Dämpfers erst zeitlich verzögert. Nach [197].

Im Ruhezustand sind Dämpfer und Feder undeformiert. Wird eine Kraft ausgeübt, können Feder und Dämpfer nur zusammen und gleichzeitig im selben Maße deformiert werden, da beide Elemente starr miteinander verbunden sind. Dabei kann die Feder (elastischer Anteil) nicht spontan und sprunghaft verformt werden, da sie vom Dämpfer (viskoser Anteil) daran gehindert wird. Wenn keine Schubkraft mehr wirkt, ist die Feder bestrebt spontan und sprunghaft in die Ausgangslage zurückzukehren. Dies geschieht jedoch durch die Anwesenheit des Dämpfers nur mit Verzögerung.

Viskoelastische Substanzen lassen sich mit Hilfe des Oszillationstests charakterisieren. Hierbei wird die Probe mit einer definierten Kraft von einem Stempel auf eine beheizbare Platte gedrückt und oszillierend um eine Rotationsachse sinusförmig ausgelenkt; hierbei wird entweder die *Schubspannung* τ , die von Messpunkt zu Messpunkt erhöht wird, vorgegeben und die *Deformation* γ bestimmt oder es wird die *Deformation* γ vorgegeben und die *Schubspannung* τ bestimmt (Abbildung 3-6).

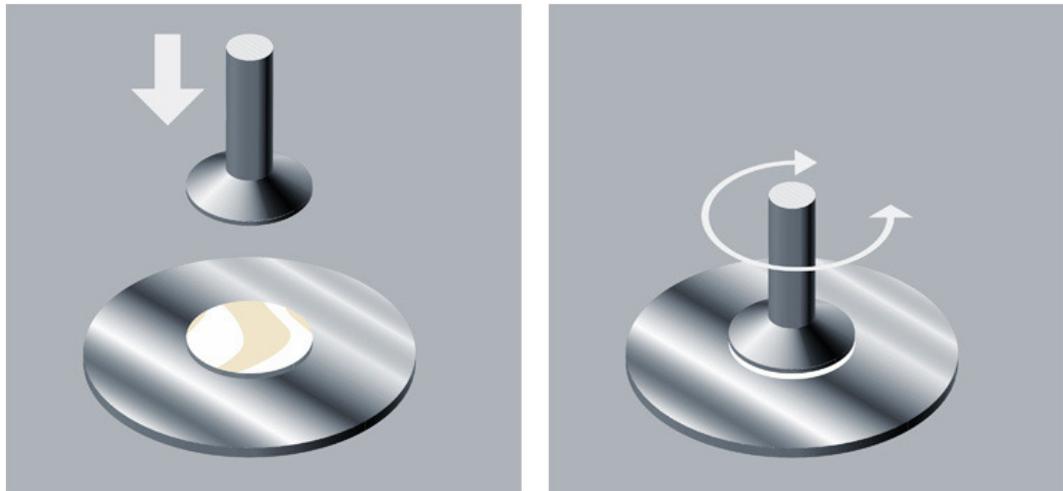


Abbildung 3-6: Messvorgang beim Oszillationsversuch. Links: Der Stempel wird auf die Probe, die auf einer beheizbaren und planparallelen Platte liegt gefahren. Rechts: Der Stempel oszilliert mit einer Sinusfunktion und die resultierende *Schubspannung* τ bzw. die *Deformation* γ wird über den Stempel detektiert.¹

Auch beim Oszillationsversuch gilt das hookesche Gesetz mit dem *komplexen Schubmodul* G^* und der sinusförmigen Funktionen von der *Schubspannung* τ , bzw. der *Schubspannungsamplitude* τ_A und der *Deformation* γ , bzw. der *Deformationsamplitude* γ_A und dem *Verlustwinkel* δ (Gleichung 3-9).^[197]

$$G^* = \frac{\tau(t)}{\gamma(t)} \quad \text{mit} \quad \text{Gleichung 3-9}$$

bei der Deformationsvorgabe:

$$\gamma(t) = \gamma_A \sin(\omega t) \quad \text{Gleichung 3-10}$$

und $\tau(t) = \tau_A \sin(\omega t + \delta) \quad \text{Gleichung 3-11}$

¹ Grafik erstellt von Jörn Zimmermann | Grafik & Illustration
www.z-ground.com

oder bei der Schubspannungsvorgabe:

$$\tau(t) = \tau_A \sin(\omega t) \quad \text{Gleichung 3-12}$$

$$\gamma(t) = \gamma_A \sin(\omega t + \delta). \quad \text{Gleichung 3-13}$$

Aus der grafischen Darstellung (Abbildung 3-7) der Sinusfunktionen von der *Deformation* γ und der *Schubspannung* τ ist es möglich den *Verlustwinkel* δ an der Phasenverschiebung direkt abzulesen.

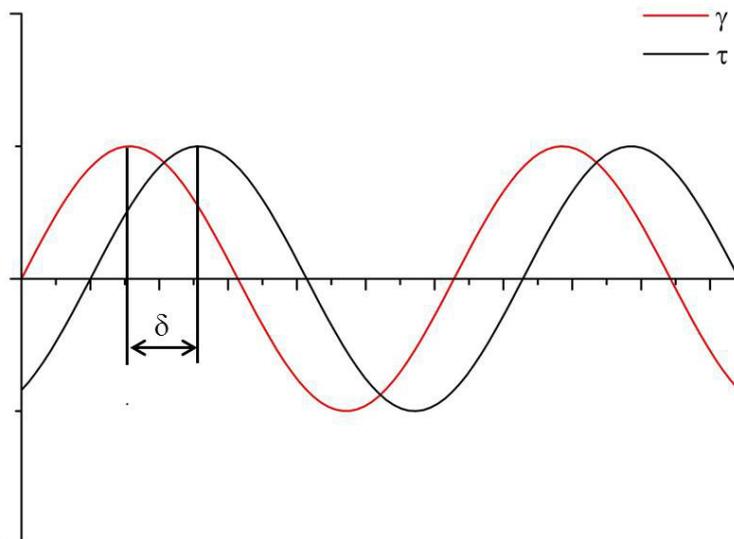


Abbildung 3-7: Vorgegebene Funktionen der Schubspannung $\tau(t)$ und der daraus resultierenden Scherdeformation $\gamma(t)$. Beide weisen die gleiche Frequenz auf, jedoch sind sie phasenverschoben. Nach [197].

Mit dem Oszillationsversuch lassen sich die dynamischen Schubmoduln wie der *komplexe Schubmodul* G^* , der *Speichermodul* G' , der *Verlustmodul* G'' , sowie der *Verlustwinkel* δ und die *dynamische komplexe Viskosität* η^* bestimmen.

Der *Speichermodul* G' ist ein Maß für die durch den Scherprozess reversibel in der Probe gespeicherten Deformationsenergie. Sie wird nach dem Scherprozess vollständig freigesetzt und verursacht die Rückdeformation. Der *Speichermodul* G' repräsentiert demnach das elastische Verhalten einer Probe.^[197] Dabei gilt:

$$G' = \frac{\tau_A}{\gamma_A} \cos \delta . \quad \text{Gleichung 3-14}$$

Der *Verlustmodul* G'' ist hingegen ein Maß für die während des Scherprozesses umgewandelte Energie, die zur Rückdeformation nicht mehr zur Verfügung steht. Diese Energie wird für die Veränderung der Probenstruktur verwendet. Hierbei werden Moleküle oder Partikel gegeneinander verschoben, sodass Reibungswärme erzeugt wird. Die Proben zeigen demnach ein irreversibles Deformationsverhalten. Der *Verlustmodul* G'' charakterisiert das viskose Verhalten einer Probe.^[197] Dabei gilt:

$$G'' = \frac{\tau_A}{\gamma_A} \sin \delta . \quad \text{Gleichung 3-15}$$

Der *Verlustwinkel* δ und der *Verlustfaktor* $\tan \delta$ sind das Verhältnis von *Verlustmodul* G'' und *Speichermodul* G' . Er ist ein Maß für das viskoelastische Verhalten einer Probe (Gleichung 3-16).^[197]

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad \text{mit } 0 \leq \tan \delta \leq \infty \quad \text{Gleichung 3-16}$$

Idealelastische Proben zeigen ein $\delta = 0^\circ$ bzw. $\tan \delta = 0$. Idealviskose Substanzen weisen ein $\delta = 90^\circ$ bzw. $\tan \delta = \infty$ auf. Proben in denen sich das elastische und das viskose Verhalten genau in der Waage halten, die also idealviskoelastisch sind, zeigen ein $\delta = 45^\circ$ bzw. $\tan \delta = 1$, hier gilt $G' = G''$.^[197]

Für die Präparation der Siliconprüfkörper wurden runde Proben, im Durchmesser von 15 mm und einer Dicke von 2.0 mm aus einem 75x15x2 mm großen Siliconkörper herausgestanzt. Die Messung erfolgte mit einem PHYSICA MCR 301 Rheometer der Firma ANTON PAAR in Platte-Platte-Konfiguration. Der Stempel hatte einen Durchmesser von 25 mm. Die Proben wurden auf 37 °C temperiert. Die Anpresskraft der Siliconprüfkörper betrug bei jeder Messung 15 N und die Scherfrequenz 1.59 Hz. Die Deformationsamplitude wurde im Bereich von 0.01–1200% verändert. Als Kreisfrequenz wurden 10 rad·s⁻¹ gewählt. Von jeder Probe wurden mindestens

Doppelbestimmungen durchgeführt. Dazu wurden die Proben mit einer speziell angefertigten Schablone exakt mittig zur Anpressplatte ausgerichtet.

4 Experimenteller Teil

In diesem Kapitel wird die Herstellung der unterschiedlichen Beschichtungen und der Materialien näher erläutert. Zunächst wird auf die Herstellung der persistenten bakteriziden Filme auf Basis quartärer Ammoniumgruppen eingegangen. Danach erfolgt die Beschreibung für die Erzeugung antibakterieller Silber-Silicabeschichtungen und der verwendeten Silber-Nanopartikel. Im Anschluss wird die Herstellung der unterschiedlichen Silicone und deren Mischungsverhältnisse dargestellt. Eine Auflistung der verwendeten Chemikalien ist im Anhang zu finden.

4.1 Kovalente Anbindung und Funktionalisierung von Poly(4-vinylpyridin)

Die kovalente Anbindung des PVP ($M_n = 160000 \text{ g mol}^{-1}$) erfolgt auf $1 \times 1 \text{ cm}$ großen Glassubstraten (Floatglas, Glasbearbeitung Henneberg & Co, Martinroda, Deutschland.), die zuvor mit 3-Bromopropyltrimethoxysilan (BPTMS) funktionalisiert wurden. Das BPTMS dient hierbei als Ankergruppe, um eine kovalente Anbindung des PVP am Glas zu gewährleisten. In einem weiteren Schritt wird das angebundene PVP mit einem Halogenalkan alkyliert. Als Halogenalkan werden Iodomethan, Bromohexan und Bromododekan verwendet.

Die Beschichtung der Substrate erfolgt in einem speziell angefertigten Reaktor (Abbildung 4-1) mit einem Polytetrafluorethyleneinsatz, sodass eine gleichmäßige Funktionalisierung der Glassubstrate realisiert werden kann.

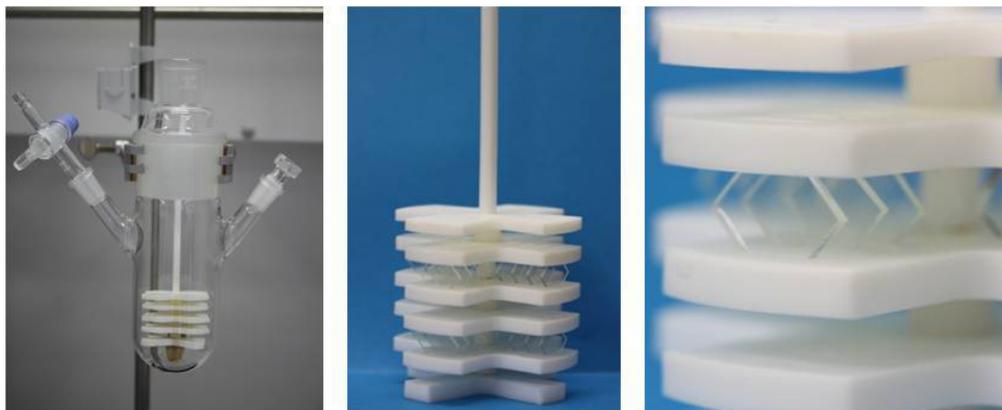


Abbildung 4-1: Links: Reaktor zur gleichmäßigen Beschichtung der Substrate, Mitte: PTFE-Einsatz mit Glassubstraten, Rechts Detailaufnahme des PTFE-Einsatzes.

Der Reaktor besteht aus einem Dreihalsglaszylinder und einem Gestell aus Polytetrafluorethylen (PTFE), in dem bis zu 160 Substrate gleichzeitig homogen beschichtet werden können. Hierzu werden die Substrate senkrecht zwischen zwei eingekerbten PTFE-Platten fixiert. Um eine gleichmäßige Durchmischung zu gewährleisten, sind die einzelnen PTFE-Platten kreuzförmig gestaltet. Die Glassubstrate werden vor der Funktionalisierung mit Aceton im Ultraschallbad gereinigt.

Die im Folgenden beschriebenen Ansatzgrößen beziehen sich immer auf 48 Substrate.

4.1.1 Anbindung von 3-Brompropyltrimethoxysilan

Die Anbindung des BPTMS muss unter Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt werden. Dazu wird der Reaktor mit den gereinigten Substraten unter reduziertem Druck gründlich ausgeheizt und mit Argon gespült.

In einer Argonatmosphäre werden zu 170 mL trockenem Toluol, welches zusätzlich über einem Molekularsieb (4 Å) gelagert wurde, 1.0 mL (5.18 mmol) BPTMS und 200 µL (1.34 mmol) 1,8-Diaza-bicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) hinzugegeben und 12 Stunden bei 80 °C erwärmt. Die Substrate werden nach der Beschichtung gründlich mit Ethanol gespült. Im Anschluss werden die Substrate bei 120 °C für 20 Minuten getrocknet. Eine erfolgreiche Funktionalisierung mit BPTMS ist durch optische Opakheit der Glassubstrate gekennzeichnet.

4.1.2 Anbindung von Poly(4-vinylpyridin) und Quarternisierung mit Halogenalkanen

Für die Anbindung von Poly(4-vinylpyridin) werden 1.0 g (6.26 mmol) PVP in 170 mL Ethanol gelöst und unter Rückfluss im Reaktor erwärmt. Für die Quarternisierung wird nach 5 Stunden zu der PVP-Lösung ein Halogenalkan (0.3 mL (4.82 mmol) Iodomethan, 0.7 mL (5.06 mmol) Bromohexan, 0.8 mL (3.34 mmol) Bromododekan) hinzugeben. Die Substrate werden in dieser Lösung für weitere 12 Stunden im Reaktor unter Rückfluss erwärmt. Im Anschluss werden die Substrate mit Ethanol und Ultraschall gewaschen, sodass unangebundenes Polymer vollständig entfernt wird. Durch die Funktionalisierung mit Iodomethan färben sich die Glassubstrate gelb.

4.1.3 Poly(4-vinylpyridin)-Funktionalisierung mit Bipyridin als Verstärker

Für die Funktionalisierung des PVP wird dieses zunächst wie in Abschnitt 4.1.2 beschrieben an das mit BPTMS funktionalisierte Substrat angebunden und nach 20 h mit Ethanol und Ultraschall gewaschen. In 170 mL Ethanol werden 0.5 mL (4.19 mmol) des Linkers 1,4-Dibromobutan gelöst und die mit PVP funktionalisierten Substrate im Reaktor in dieser Lösung für 12 Stunden unter Rückfluss erwärmt. Die Substrate werden im Anschluss mit Ethanol gewaschen. Die gewaschenen Substrate werden für weitere 12 Stunden im Reaktor unter Rückfluss in einer Lösung aus 170 mL Ethanol und 0.67 g (4.29 mmol) 4,4'-Bipyridin erwärmt. Die Substrate werden erneut mit Ethanol und Ultraschall gereinigt. Für die Alkylierung des mit Bipyridin funktionalisierten PVP werden in 170 mL Ethanol das Halogenalkan (0.3 mL (4.82 mmol) Iodomethan, 0.7 mL (5.06 mmol) Bromohexan, 0.8 mL (3.34 mmol) Bromododekan) gelöst und die Substrate für 12 Stunden im Reaktor unter Rückfluss erwärmt. Die Substrate werden im Anschluss mit Ethanol und Ultraschall gewaschen. Im Fall der Methylierung mit Iodomethan färben sich die Substrate gelb.

4.1.4 Anbindung von [3-(Trimethoxysilyl)propyl]octadecyldimethylammoniumchlorid

Die Anbindung des ODMA-Cl erfolgt analog wie in Abschrift 4.1.1 beschrieben. In einer Argonatmosphäre werden zu 170 mL trockenem Toluol 1.0 mL (1.37 mmol)

ODMA-Cl ($\approx 0.5\%$ Vol.) und $200 \mu\text{L}$ (1.34 mmol) DBU hinzugegeben und 12 Stunden bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt. Im Anschluss werden die Substrate gründlich mit Ethanol und Ultraschall gewaschen. Die Substrate werden bei $120 \text{ }^\circ\text{C}$ für 20 Minuten getrocknet.

4.2 Präparation von Silber-Silicabeschichtungen

Die Herstellung der Filme erfolgt mittels Dip-Coating. Als Dip-Coater wurde der Dip-Roboter DR 3 von RIEGLER & KIRSTEIN GmbH verwendet. Hierzu werden die zuvor mit Aceton und Ultraschall gereinigten Substrate in die Syntheselösung mit einer Geschwindigkeit von $1 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ eingetaucht und für 30 Sekunden in der Lösung belassen, sodass die Substrate vollständig mit der Dip-Lösung benetzt werden. Die Substrate werden mit einer konstanten Ziehgeschwindigkeit von $0.1 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ herausgezogen und für 5 Minuten in der Dip-Kammer bei Raumtemperatur getrocknet. Die Substrate wurden einmal gedippt.

Als Substrate wurden $10\times 10\times 1 \text{ mm}$ Glasplättchen (Floatglas, Glasbearbeitung Henneberg & Co., Martinroda, Deutschland) und Bioverit® II Substrate (3di GmbH, Jena, Deutschland) verwendet.

4.2.1 Herstellung mesoporöser Silber-Silicafilme

Für die Herstellung der mesoporösen Silber-Silicafilme werden 12.6 g Pluronic® F127 in 200 mL Ethanol, 12.6 mL Reinstwasser und $100 \mu\text{L}$ Salzsäure (32%) gelöst und für mindestens 15 Minuten abgedeckt bei Raumtemperatur gerührt. Hierzu werden 33.6 mL Tetraethylorthosilicat (TEOS) hinzugegeben und weitere 24 Stunden bei Raumtemperatur abgedeckt gerührt.^[198] Die Beschichtung der gereinigten Substrate erfolgt wie in Abschnitt 4.2 beschrieben. Nach der Trocknung bei $90 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 Stunden werden die Substrate für 4 Stunden bei $415 \text{ }^\circ\text{C}$ mit einer Aufheizrate von $1 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ calciniert.

Die Insertion der Silber-Nanopartikel in den mesoporösen Film erfolgt durch Imprägnierung mit einer 0.5 M Silbernitratlösung für 3 Tage unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur. Die Filme werden nach der Imprägnierung einmal kurz mit Reinstwasser gewaschen. Die Reduktion der Silberionen zu elementarem Silber erfolgt durch eine thermi-

sche Behandlung. Hierzu wird der Film für 5 Stunden bei 550 °C mit einer Aufheizrate von 1 °C·min⁻¹ erneut calciniert.

4.2.2 Herstellung von polyvinylpyrrolidonstabilisierten Silber-Nanopartikeln

Für die Synthese von Silber-Nanopartikeln werden 50 mg (29.4 mmol) Silbernitrat (AgNO₃) in 0.05 mL Wasser gelöst und 30 mL Aceton hinzugegeben und für 20 Minuten homogenisiert. Portionsweise werden 1.5 g Polyvinylpyrrolidon (PVPO), mit einer mittleren Molmasse von 10000 g·mol⁻¹, unter Rühren hinzugegeben und für weitere 45 Minuten homogenisiert. Die Farbe der Lösung wechselt dabei von weiß nach braun. Nach ungefähr 30 Minuten fällt ein braunes, hochviskoses Gel aus. Das überschüssige Aceton wird abdekantiert und das braunschwarze Gel wird bei 50 °C für 48 Stunden im Umluftofen getrocknet. Nach dem Trocknen wird ein bernsteinfarbener Feststoff erhalten, welcher in Wasser oder Ethanol redispersierbar ist.^[199]

Für die Herstellung einer kolloidalen Dispersion von PVPO-stabilisierten Silber-Nanopartikeln (PVPO-Ag) werden 1 g PVPO-Ag in 10 mL Wasser oder Ethanol gegeben und für ungefähr 1 Stunde bei 70 °C erwärmt. Die Dispersion färbt sich grünblau und ist einige Monate stabil.^[199]

4.2.3 Herstellung nicht poröser Silber-Silicafilme mit Silber-Nanopartikeln

Für die Einbettung von Silber-Nanopartikeln in eine nicht poröse Silicamatrix werden 0.5 g PVPO-Ag in 160 mL Ethanol dispergiert. Dazu werden 25 mL Wasser, 100 µL Salpetersäure (65%) und 12.8 mL Tetraethylorthosilicat (TEOS) hinzugegeben. Nach 30-minütigem Rühren werden die Substrate wie in Abschnitt 4.2 beschrieben beschichtet. Nach 24 Stunden Trocknung bei 60 °C werden die Substrate für 5 Stunden bei 550 °C mit einer Aufheizrate von 1 °C·min⁻¹ calciniert.

4.2.4 Herstellung nicht poröser Silber-Silicafilme mit Hilfe eines Kronenethers

Für die Präparation der nicht porösen Silber-Silicafilme mit Hilfe des Kronenethers 18-Krone-6 (18C6) werden 7.8 g (30 mmol) 18C6 in 50 mL Ethanol gelöst. Dazu werden 5.0 g (29 mmol) Silbernitrat (AgNO₃) gegeben und mit Ultraschall dispergiert, sodass das AgNO₃ vollständig gelöst ist. Die Lösung färbt sich dabei beige. Die so hergestellte

Silberlösung wird in ein Gemisch aus 350 mL Ethanol und 10 mL Reinstwasser gegeben und 200 μ L Salpetersäure (65%) und 50 mL TEOS hinzugemischt. Die Lösung wird für 15 Minuten abgedeckt gerührt. Die gereinigten Substrate werden wie in Abschnitt 4.2 beschrieben beschichtet. Nach der Trocknung bei 60 °C für 24 Stunden werden die Substrate für 5 Stunden bei 550 °C mit einer Aufheizrate von 1 °C·min⁻¹ calciniert.

4.2.5 Untersuchung der Silberfreisetzung

Für die Silberfreisetzung werden Bioverit® II-Substrate mit einer Dimension von 26x38 mm einmal mit dem jeweiligen Silber-Silicafilm, wie im Abschnitt 4.2 beschrieben, beschichtet. Die beschichteten Substrate werden einzeln in speziellen, lichtdichten Kunststoffgefäßen platziert, mit 40 g 0.154 M Natriumnitratlösung überschichtet und bei 37 °C inkubiert. Es werden jeweils Dreifachbestimmungen durchgeführt. Das Wechseln des Freisetzungsmediums erfolgt am ersten Tag nach 30, 60, 120 und 240 Minuten und wird für die Silberquantifizierung aufbewahrt. An den Folgetagen wird das Natriumnitrat mittags getauscht. Als Blindwert werden mesoporöse Silicafilme auf Bioverit® II genutzt.

4.3 Herstellung von Siliconelastomeren

Die Herstellung der Siliconproben erfolgt mit Hilfe einer speziell angefertigten Form aus Polytetrafluorethylen (PTFE) (Abbildung 4-2). Die Kammern der Form haben eine Dimension von 75x15x2 mm.



Abbildung 4-2: PTFE-Form mit sechs Kammern.

Hierzu werden alle Komponenten des Silicons in einem PTFE-Becher gut miteinander vermischt und in die Kammern der PTFE-Form gegeben. Um Luft aus dem Silicon zu entfernen, wird die Form in einer Vakuumkammer für 1 Stunde entgast. Nach der Entgastung wird die PTFE-Form mit einem PTFE-Deckel verschlossen und die verschlossene Form zwischen zwei Stahlplatten mit Schrauben fixiert. Hierbei ist eine Seite der Form offen, sodass bei einer aufrechten Lagerung die gesamte Kammer vom Silicon ausgefüllt wird und überschüssiges Silicon aus der Öffnung austreten kann. Die Vernetzung findet bei 120 °C für 15 Stunden statt, um eine vollständige Vernetzung zu gewährleisten. Die Form wird dabei aufrecht in einem Umluftofen gelagert.

4.3.1 Vernetzung und Modifizierung von Sylgard® 184

Bei Sylgard® 184 handelt es sich um ein kommerzielles Zweikomponenten-PDMS-Silicon von DOW CORNING. Die erste Komponente A enthält unterschiedliche Vinyl-Siloxane wie Vinyl-PDMS, 2,4,6,8-Tetramethyl-2,4,6,8-tetravinylcyclotetrasiloxan

(Cyclo-Vinyl) und mit Vinyl-Gruppen funktionalisierte Silicapartikel. Die zweite Komponente B besteht aus dem Platinkatalysator und aus Hydro-Siloxanen wie H-PDMS. Für die Vernetzung wird vom Hersteller ein Mischungsverhältnis von 10:1 vorgegeben.

Die mechanischen Eigenschaften lassen sich durch das Hinzumischen von Vinyl- und Hydro-Siloxanen beeinflussen. Hierbei werden mit Vinyl-Gruppen terminierte Poly(dimethylsiloxane) (Vinyl-PDMS) mit den Viskositäten 490 mPa·s (500 cSt.) ($M_n \approx 17200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), 970 mPa·s (1000 cSt.) ($M_n \approx 25000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) und 4700 mPa·s (5000 cSt.) ($M_n \approx 50000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) und Hydro-Poly(dimethylsiloxane) (H-PDMS) mit den Viskositäten 12 mPa·s (12 cSt.) ($M_n \approx 1000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Methylhydrosiloxan $\approx 50 \text{ mol}\%$) und 29 mPa·s (30 cSt.) ($M_n \approx 2000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Methylhydrosiloxan $\approx 18 \text{ mol}\%$) zum Sylgard® 184 hinzugemischt. Eine Auflistung der Anteile der beigemischten Komponenten ist in der Tabelle 4-1 zu finden.

Tabelle 4-1: Übersicht der Mischungsverhältnisse der Beimischungen zum Sylgard® 184.

	Vinyl- PDMS 970 mPa·s	Vinyl- PDMS 4700 mPa·s	H-PDMS 12 mPa·s	H-PDMS 29 mPa·s
0.10				
0.20				
0.30				
	0.10			
	0.20			
	0.30			
		0.10		
		0.20		
		0.30		
			0.10	
			0.20	
			0.30	
				0.10
				0.20
				0.30

Ebenso werden Kombinationen aus Vinyl-PDMS und Cyclo-H bzw. H-PDMS und Cyclo-Vinyl getestet. Außerdem werden 2,4,6,8-Tetramethyl-2,4,6,8-tetravinylcyclotetra-

siloxan (Cyclo-Vinyl) und 2,4,6,8-Tetramethylcyclotetrasiloxan (Cyclo-H) zu Sylgard® 184 hinzugemischt. Eine Übersicht der Mischungsverhältnisse der Mischungskombinationen ist in der Tabelle 4-2 dargestellt.

Tabelle 4-2: Übersicht der Mischungsverhältnisse der Mischungskombinationen zum Sylgard® 184.

Vinyl-PDMS 490 mPa·s	Vinyl-PDMS 970 mPa·s	Vinyl-PDMS 4700 mPa·s	H-PDMS 12 mPa·s	H-PDMS 29 mPa·s	Cyclo-Vinyl	Cyclo-H
	0.10					0.05
	0.20					0.05
	0.30					0.05
	0.10					0.10
	0.20					0.10
	0.30					0.10
			0.10		0.05	
			0.20		0.05	
			0.30		0.05	
				0.10	0.05	
				0.20	0.05	
				0.30	0.05	
					0.01	
					0.05	
						0.02
						0.10
					0.02	0.01

4.3.2 Vernetzung von Vinyl-PDMS mit Hydro-Siloxanen

Die Vernetzung von Vinyl-PDMS erfolgt durch die Zugabe von Hydro-Siloxanen und 10% einer 1.3 µM Platin(0)-1,3-divinyl-1,1,3,3-tetramethyldisiloxan-Lösung in Toluol (Pt-Kat) als Katalysator. Eine Übersicht über die Mischungsverhältnisse ist in der Tabelle 4-3 dargestellt.

Tabelle 4-3: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten.

Vinyl- PDMS 490 mPa·s	Vinyl- PDMS 970 mPa·s	Vinyl- PDMS 4700 mPa·s	H-PDMS 12 mPa·s	H-PDMS 29 mPa·s
0.90			0.10	
0.95			0.05	
0.90				0.10
0.95				0.05
	0.90		0.10	
	0.95		0.05	
	0.90			0.10
	0.95			0.05
		0.90	0.10	
		0.95	0.05	
		0.90		0.10
		0.95		0.05

Des Weiteren wurde 2,4,6,8-Tetramethyl-2,4,6,8-tetravinylcyclotetrasiloxan (Cyclo-Vinyl) zu den PDMS-Komponenten beigemischt. Die Mischungsverhältnisse sind in Tabelle 4-4 aufgeführt.

Tabelle 4-4: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten mit Cyclo-Vinyl.

Vinyl- PDMS 490 mPa·s	Vinyl- PDMS 970 mPa·s	Vinyl- PDMS 4700 mPa·s	H-PDMS 12 mPa·s	H-PDMS 29 mPa·s	Cyclo- Vinyl
0.89			0.10		0.01
0.87			0.10		0.03
0.89				0.10	0.01
0.87				0.10	0.03
	0.89		0.10		0.01
	0.87		0.10		0.03
	0.89			0.10	0.01
	0.87			0.10	0.03
		0.89	0.10		0.01
		0.87	0.10		0.03
		0.89		0.10	0.01
		0.87		0.10	0.03

Außerdem wurde 2,4,6,8-Tetramethylcyclotetrasiloxan (Cyclo-H) zu den PDMS-Komponenten hinzugemischt. Die Mischungsverhältnisse sind in der Tabelle 4-5 aufgeführt.

Tabelle 4-5: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten mit Cyclo-H.

Vinyl-PDMS 490 mPa·s	Vinyl-PDMS 970 mPa·s	Vinyl-PDMS 4700 mPa·s	H-PDMS 12 mPa·s	H-PDMS 29 mPa·s	Cyclo-H
0.89			0.10		0.01
0.87			0.10		0.03
0.89				0.10	0.01
0.87				0.10	0.03
	0.89		0.10		0.01
	0.87		0.10		0.03
	0.89			0.10	0.01
	0.87			0.11	0.03
		0.89	0.10		0.01
		0.87	0.11		0.03
		0.89		0.10	0.01
		0.87		0.10	0.03

4.3.3 Herstellung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln

Für die Synthese von mesoporösen Silica-Nanopartikeln (MPSNP) werden 3.16 g (8.67 mmol) Hexadecyltrimethylammoniumbromid (CTAB) und 0.23 g (2.19 mmol) Diethanolamin in 75 mL Reinstwasser und 13.4 mL Ethanol gelöst und in einem PE-Erlenmeyerkolben mit Schraubverschluss für 30 Minuten bei 40 °C gerührt. Es werden 8.56 mL (38.63 mmol) Tetraethylorthosilicat (TEOS) dazugegeben und für weitere 2 Stunden bei 40 °C gerührt. Die Separation der MPSNP erfolgt durch Zentrifugation. Die MPSNP werden zweimal mit Reinstwasser und einmal mit Ethanol gewaschen. Die Trocknung der MPSNP erfolgt bei 60 °C für 24 Stunden. Im Anschluss werden die MPSNP bei 550 °C für 5 Stunden calciniert. Hierbei wird die Temperatur schrittweise über 10 Stunden bis auf 550 °C erhöht.^[200]

4.3.4 Vinyl-Funktionalisierung der mesoporösen Silica-Nanopartikel

Um die MPSNP kovalent in das Silicon einzubringen, werden diese mit einer Vinyl-Gruppe funktionalisiert. Hierzu werden 1.0 g gemörserte und calcinierte MPSNP in 20 mL Toluol mit Hilfe von Ultraschall dispergiert. Dazu werden 40 μL (0.26 mmol) Vinyltrimethoxysilan (VTMS) und 100 μL (0.67 mmol) DBU hinzugegeben und für 2 Stunden bei 80 °C gerührt. Die Separation der mit Vinyl-Gruppen funktionalisierten MPSNP (Vinyl-MPSNP) erfolgt mittels Zentrifugation. Die funktionalisierten MPSNP werden dreimal mit Ethanol gewaschen und für 24 Stunden bei 60 °C getrocknet. Der Anteil an Vinyl-Gruppen beträgt laut CS-Analyse $\approx 10\%$ wt.

4.3.5 Lösungsmittelassoziierte Einbettung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln in eine Siliconmatrix

Für die lösungsmittelassoziierte Einbettung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln (MPSNP) in die Siliconmatrix werden 0.02–0.10 g (1–5%) MPSNP in 3 mL Toluol mit Hilfe von Ultraschall dispergiert. Danach werden die Siliconkomponenten bis auf den Katalysator zu der Dispersion hinzugegeben und erneut unter Zuhilfenahme von Ultraschall homogenisiert. Das Toluol wird vorsichtig unter reduziertem Druck entfernt. Zu dem viskosen Gel werden 10% eines 1.3 μM Pt-Katalysators hinzugegeben. Die Siliconmischung wird für 15 Stunden bei 120 °C vernetzt. Eine Übersicht über die einzelnen Mischungsverhältnisse ist in der Tabelle 4-6 dargestellt.

Tabelle 4-6: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten beim lösungsmittelassoziierten Einbringen von MPSNP.

Vinyl-PDMS 970 mPa·s	H-PDMS		Cyclo-H	Vinyl-MPSNP
	12 mPa·s	30 mPa·s		
1.6	0.4		0	0.02
1.2	0.8		0	0.06
1.2	0.8		0.03	0.10
1.8		0.2	0.01	0.02
1.0		1.0	0.01	0.06
1.0		1.0	0.05	0.10

4.3.6 Mechanische Einbettung von mesoporösen Silica-Nanopartikeln in Siliconelastomere

Für die Addition von MPSNP werden 1–5% mit Vinyl-Gruppen funktionalisierte MPSNP in die PDMS-Matrix mit Hilfe eines Mörsers verrieben, sodass die MPSNP vollständig in der PDMS-Matrix dispergiert sind. Um die zusätzlichen Vinyl-Gruppen der MPSNP abzusättigen, wird die Menge an Hydro-Siloxanen angepasst. Ebenso wird 2,4,6,8-Tetramethylcyclotetrasiloxan (Cyclo-H) zu den PDMS-Komponenten zur Absättigung der Vinyl-Gruppen hinzugesetzt. Zu dieser Mischung werden 10% eines 1.3 μM Pt-Katalysators hinzugegeben. Eine Übersicht über die Mischungsverhältnisse ist in Tabelle 4-7 aufgeführt.

Tabelle 4-7: Mischungsverhältnisse der Siliconkomponenten bei Hinzumischung von MPSNS.

Vinyl-PDMS		H-PDMS		Cyclo-H	Vinyl-MPSNP
970 mPa·s	4700 mPa·s	12 mPa·s	29 mPa·s		
0.787		0.210		0.003	0.110
0.774		0.206		0.005	0.015
0.730		0.243		0.007	0.020
0.596		0.197		0.001	0.197
0.658			0.326	0.004	0.013
0.660			0.313	0.008	0.019
0.683			0.270	0.025	0.022
0.558			0.401	0.014	0.027
	0.739	0.251		0	0.001
	0.737	0.243		0.005	0.015
	0.686	0.292		0.004	0.018
	0.713	0.254		0.010	0.023
	0.746		0.242	0.002	0.010
	0.732		0.248	0.005	0.015
	0.729		0.242	0.009	0.020
	0.671		0.294	0.011	0.023

5 Ergebnisse und Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse zu den antimikrobiellen Beschichtungen und den Silberfreisetzungssystemen, sowie den hergestellten Siliconproben vorgestellt und diskutiert. Des Weiteren werden die Resultate der antibakteriellen Aktivität der antimikrobiellen Beschichtungen und der Silberfreisetzungssysteme sowie die Zellkompatibilität der Silberbeschichtungen vorgestellt. Diese Messungen wurden von Dr. MUHAMMAD BADAR und von MUHAMMAD IMRAN RAHIM vom HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR INFEKTIONSFORSCHUNG in Braunschweig in der Gruppe von Prof. Dr. PETER P MÜLLER durchgeführt.

5.1 Antimikrobielle Beschichtungen auf Basis quartärer Ammoniumgruppen

Für die Präparation der antimikrobiellen Beschichtungen wurden Monolayer aus alkylierten Poly(4-vinylpyridin) (PVP) und *self-assembled monolayer* (SAM) aus [3-(Trimethoxy-silyl)propyl]octadecyldimethylammoniumchlorid (ODMA-Cl) auf Glassubstraten aufgebracht. Eine Übersicht über die Strategie zur Herstellung der Polymerbeschichtungen ist in der Abbildung 5-1 gezeigt.

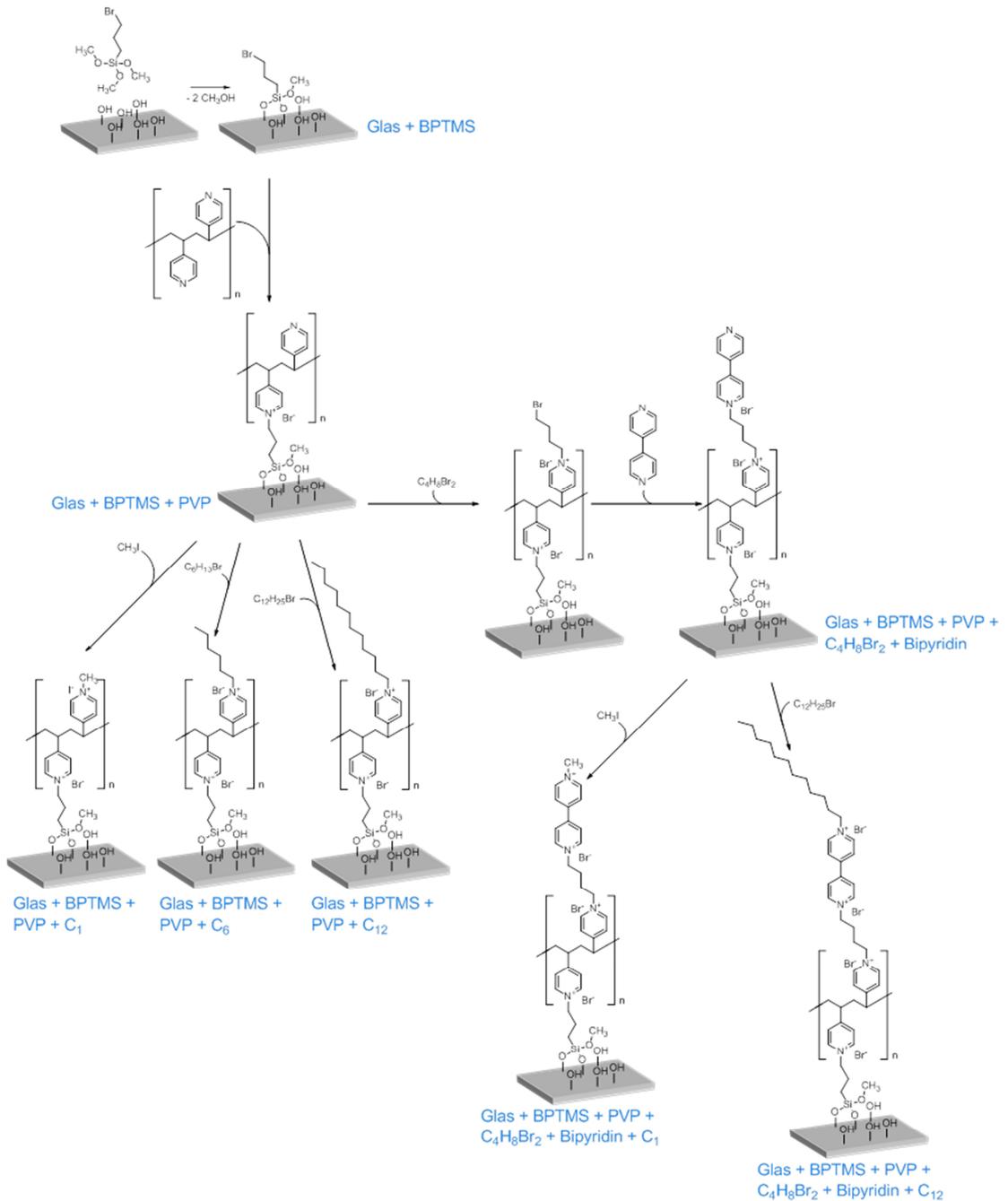


Abbildung 5-1: Reaktionsschema der Polymerimmobilisierung und der Polymermodifikationen.

Hierzu wurde, wie im Abschnitt 4.1 beschrieben, ein spezieller Reaktor entwickelt, der zum einen ein gleichmäßiges Beschichten der Substrate gewährleistet und zum anderen eine ausreichend lange Reaktionszeit der Reaktanden mit der Substaroberfläche zulässt. Andere Beschichtungsmethoden, wie das Spin-Coating oder das Dip-Coating, bringen wesentlich mehr Material auf das Substrat, sodass sich Multischichten statt Monolayers

bilden. Das hat zur Folge, dass die Dichte der positiv geladenen quartären Ammoniumgruppen erhöht wird. Jedoch kann der größte Anteil des Polymers nicht kovalent an das Substrat angebunden werden. Einerseits ist die Reaktionszeit kurz, sodass sich die Reaktionszentren nur unzureichende zueinander ausrichten können, andererseits können nur die Polymermoleküle an die Ankergruppen (BPTMS) kovalent binden, die im direkten Kontakt mit der Ankergruppe stehen. Polymermoleküle, die nicht kovalent an das Substrat gebunden sind, können durch das gegenseitige Verschlaufen der Polymerketten fixiert werden. Auch ein gründliches Waschen und die Behandlung mit Ultraschall reicht häufig nicht aus, um ausschließlich kovalent angebundenes Polymer zu generieren.^[201] Polymerketten, die nicht kovalent an das Substrat angebunden sind, können sich ablösen und zu falsch positiven Ergebnissen in den Bakterientests führen.^[201] Auch zeigt der Fluoresceinfarbstofftest, dass die Menge an adsorbiertem Farbstoff bei dem mittels Spin-Coating beschichteten Substrat um den Faktor 10000 höher liegt als bei der Beschichtung, die im Reaktor generiert wurde (Abbildung 5-2).

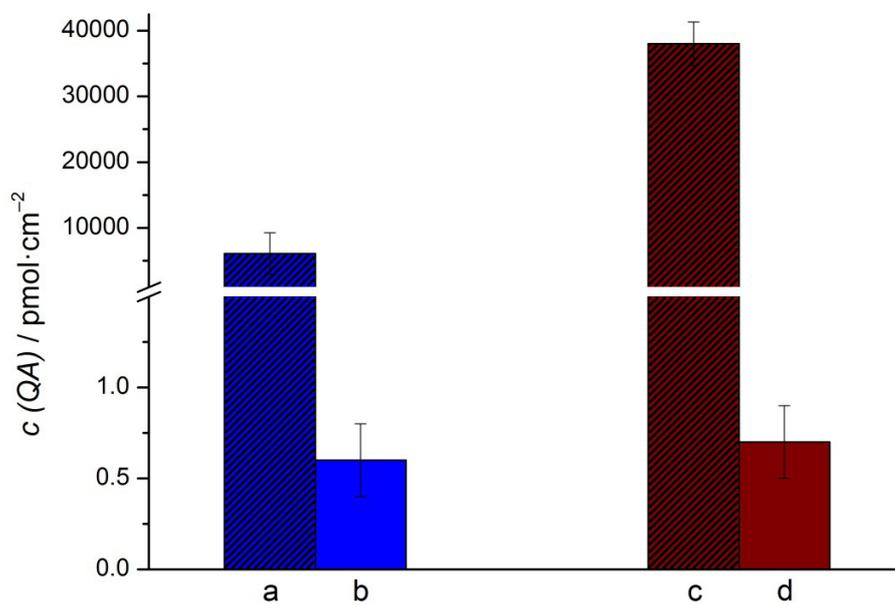


Abbildung 5-2: Vergleich der quartären Ammoniumgruppenkonzentration (QA-Gruppen) von mittels Spin-Coating und im Reaktor hergestellten Beschichtungen. Spin-Coating: a) Glas + BPTMS + PVP, b) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁₂. Reaktor: c) Glas + BPTMS + PVP, d) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁₂. C₁: Methyl-Gruppe, C₁₂: Dodecyl-Gruppe.

Die kovalente Anbindung des Polymers mit Hilfe des Reaktors gewährleistet hingegen, dass nur kovalent angebundenes Polymer auf dem Substrat verbleibt. Durch die geringkonzentrierte Polymerlösung ist der Grad der Verschlaufung der Polymerketten niedrig. Ebenso begünstigen die erhöhte Temperatur und die längere Reaktionszeit der Synthese, dass Polymereinheiten, die nicht an die Ankergruppe gebunden sind, wieder von der Substratoberfläche freigesetzt werden. Eine schematische Darstellung der Multischichtbildung beim Spin-Coating und der Monolayerbildung bei der Synthese im Reaktor ist in der Abbildung 5-3 gezeigt.

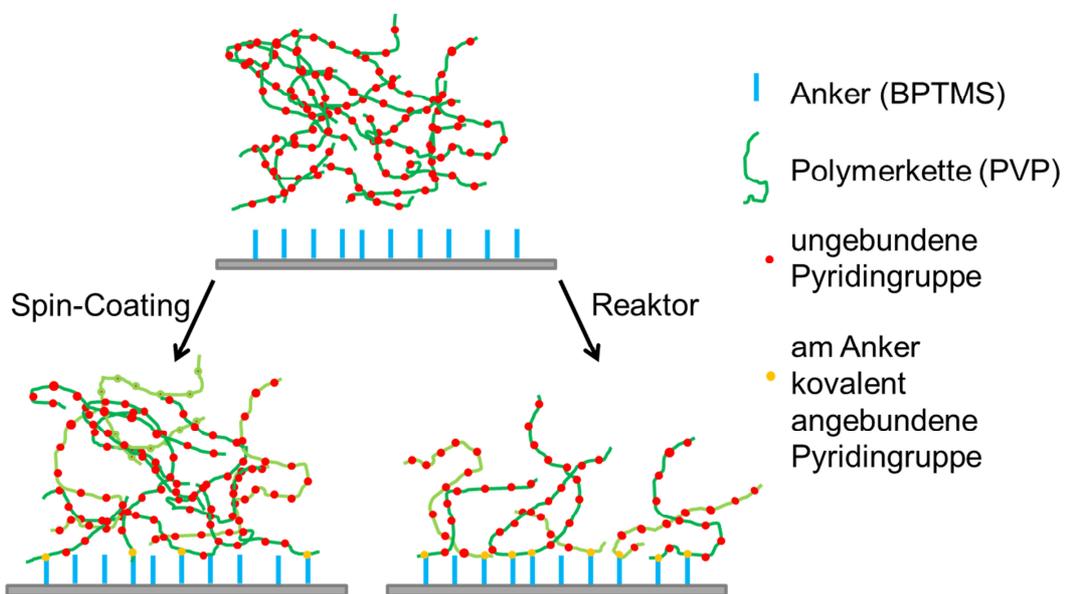


Abbildung 5-3: Schema des Beschichtungsvorgangs. Links: Beschichtung mittels Spin-Coating führt zu Multischichten mit nicht kovalent angebondenen Polymereinheiten. Rechts: Die Beschichtung mittels Reaktor führt zu Monolayern und kovalent gebundenen Polymereinheiten.

5.1.1 Hydrophobizitätskontrolle mittels Wasserkontaktwinkelbestimmung

Die erfolgreiche Anbindung der einzelnen Komponenten wurde mit Hilfe von Wasserkontaktwinkelmessungen kontrolliert. Die Messwerte der einzelnen Messungen streuen zum Teil sehr stark und die Standardabweichung ist bei den meisten Proben hoch. Eine mögliche Ursache für diese große Schwankung ist vermutlich die kleine Substratgröße von 1x1 cm, was zu signifikanten Randeffekten bei der Kontaktwinkelmessung führt. Jedoch lassen sich Trends erkennen. In der Abbildung 5-4 ist eine Übersicht über die hergestellten Beschichtungen dargestellt.

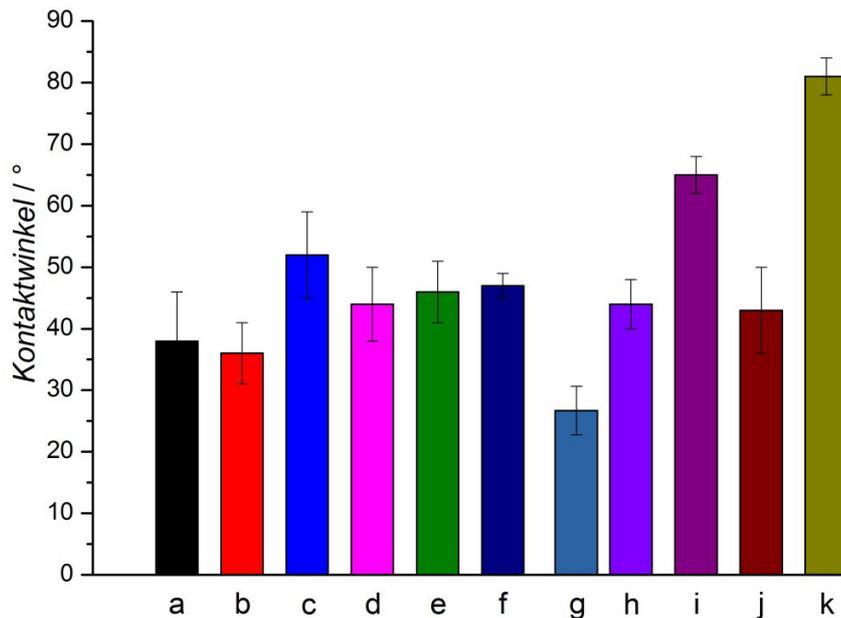


Abbildung 5-4: Wasserkontaktwinkel verschiedener Proben. Die Proben wurden als SAMs auf Glas mit Hilfe des Reaktors abgeschieden. a) Glas, b) Glas + BPTMS, c) Glas + BPTMS + PVP, d) Glas + BPTMS + PVP + C₁, e) Glas + BPTMS + PVP + C₆, f) Glas + BPTMS + PVP + C₁₂, g) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂, h) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin, i) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁, j) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁₂, k) ODMA-Cl. (C₁: Methyl-Gruppe, C₆: Hexyl-Gruppe, C₁₂: Dodecyl-Gruppe)

Die Kontaktwinkelmessungen zeigen, dass die Funktionalisierung mit dem Anker (BPTMS) keine Veränderung des Kontaktwinkels hervorruft. Die Anbindung des Poly(4-vinylpyridins) (PVP) verursacht hingegen eine deutliche Erhöhung des Kontaktwinkels von $36^\circ \pm 5^\circ$ auf $52^\circ \pm 7^\circ$. Die Alkylierungen des PVP mit C₁, C₆ und C₁₂ zeigen jedoch keine Auswirkung auf den Kontaktwinkel. Dass die Alkylierung erfolgreich war, konnte anhand von Iodomethan als C₁-Alkylierungsmittel beobachtet werden. Die Funktionalisierung des PVP mit dem Linker Dibrombutan (C₄H₈Br₂) führt zu einer hydrophileren Beschichtung, was durch einen signifikanten Abfall des Kontaktwinkels von $52^\circ \pm 7^\circ$ auf $27^\circ \pm 4^\circ$ angezeigt wird. Die Anbindung von Bipyridin an den Linker Dibrombutan senkt die Hydrophilie signifikant; der Kontaktwinkel steigt nach der Funktionalisierung von $27^\circ \pm 4^\circ$ auf $44^\circ \pm 4^\circ$. Bei der Alkylierung des Bipyridins kann jedoch nur bei der Anbindung von C₁ ein signifikanter Unterschied beobachtet werden. Hier steigt der Kontaktwinkel von $44^\circ \pm 4^\circ$ auf $65^\circ \pm 3^\circ$. Bei der Alkylierung mit C₁₂ kann kein Unterschied im Kontaktwinkel gemessen werden. Im Fall der Beschichtung mit [3-(Trimethoxy-silyl)propyl]octadecyldimethyl-ammoniumchlorid (ODMA-Cl) zeigt die

Glasoberfläche einen stark hydrophoben Charakter, was sich im Kontaktwinkel widerspiegelt. Der Kontaktwinkel steigt von $38^\circ \pm 8^\circ$ auf $81^\circ \pm 3^\circ$.

Eine eindeutige Anbindungskontrolle ist mittels Kontaktwinkelmessung nicht möglich, jedoch lassen sich Tendenzen erkennen. Für die Verifizierung der einzelnen Anbindungsschritte muss der Fluoresceintest, der im Folgenden erläutert wird, mit einbezogen werden.

5.1.2 Quantifizierung der quartären Ammoniumgruppen mit dem Fluoresceinfarbstofftest

Für die Quantifizierung der quartären Ammoniumgruppen wurde der von TILLER *et al.* beschriebene Fluoresceinfarbstofftest verwendet.^[10] Das Fluorescein soll dabei selektiv an positiv geladene Gruppen, wie quartäre Ammoniumgruppen (QA-Gruppen), binden. In der Abbildung 5-5 sind die Konzentrationen der QA-Gruppen der im Reaktor hergestellten Beschichtungen gegenübergestellt.

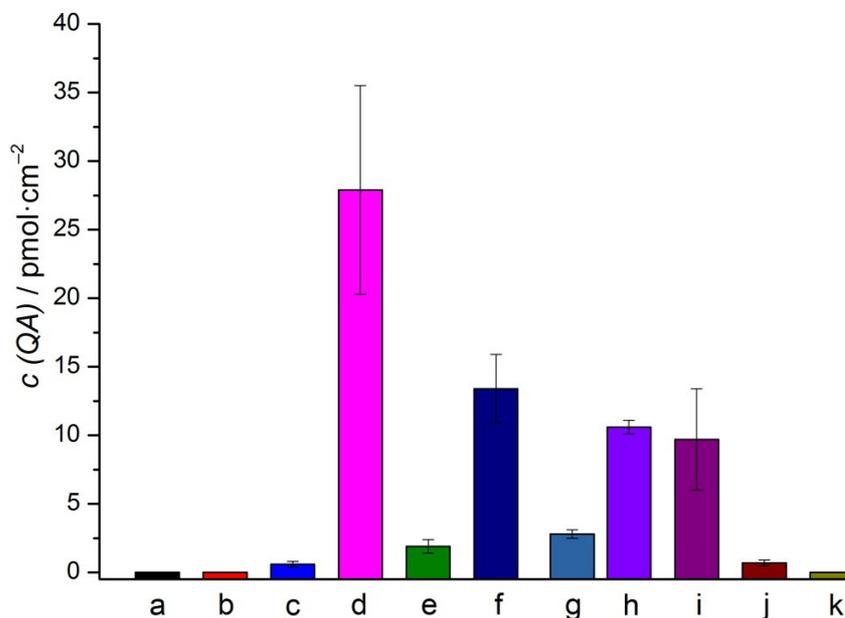


Abbildung 5-5: Übersicht über die Ergebnisse des Fluoresceinfarbstofftests. Die Proben wurden als SAMs auf Glas mit Hilfe des Reaktors abgeschieden. a) Glas, b) Glas + BPTMS, c) Glas + BPTMS + PVP, d) Glas + BPTMS + PVP + C₁, e) Glas + BPTMS + PVP + C₆, f) Glas + BPTMS + PVP + C₁₂, g) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂, h) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin, i) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁, j) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁₂, k) ODMA-Cl. (C₁: Methyl-Gruppe, C₆: Hexyl-Gruppe, C₁₂: Dodecyl-Gruppe)

Die Anfärbarkeit der beschichteten Substrate mit Fluorescein weisen sehr starke Schwankungen auf. Zwar kann nach der Funktionalisierung des PVP eine gesteigerte Anfärbarkeit der Proben beobachtet werden, jedoch zeigen sich deutliche Anfärbarkeitsunterschiede. Im Fall der C₆-Alkylierung (e) und der C₄H₈Br₂-Funktionalisierung (g) ist die Anfärbarkeit zwar höher als beim unalkylierten PVP (c), weist jedoch eine im Vergleich zu PVP + C₁ (d), PVP + C₁₂ (f) und PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin (h) erheblich geringere Fluoresceinkonzentrationen auf. Ebenfalls zeigt die Beschichtung mit PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁₂ (j) eine, im Vergleich zum unalkylierten PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin (h), deutlich geringere Anfärbarkeit. Im Fall des ODMA-Cl ist die Anfärbung der Beschichtung mit Fluorescein nicht möglich. Die Kontaktwinkelmessungen (Abbildung 5-4) zeigen hingegen deutlich, dass die Anbindung des ODMA-Cl erfolgreich war. Die reduzierte Anfärbarkeit der mit ODMA-Cl beschichteten Substrate lässt sich wohl auf sterische Hinderungen zurückführen. Die langen Alkylketten schirmen die positiven quartären Ammoniumgruppen ab, sodass die Fluoresceinmoleküle nicht mit den positiven Ladungen wechselwirken können.

Diese Resultate zeigen, dass die Quantifizierung der quartären Ammoniumgruppen mittels Fluoresceintest nicht möglich ist. Der Test lässt höchstens einen Trend erkennen.

5.1.3 Testung der antibakteriellen Aktivität

Die Testung der bakteriziden Wirkung der hergestellten Filme wurde von Dr. MUHAMMAD BADAR am HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR INFEKTIONSFORSCHUNG in Braunschweig durchgeführt. Hierzu wurde ein lumineszenter *Pseudomonas aeruginosa*-Stamm (PAO1 CTX::Lux, OD₆₀₀ = 0.2) verwendet. Jedoch erwies sich das mit C₁, C₆ oder C₁₂ alkylierte PVP als nicht wirksam. Ebenfalls zeigte das PVP, dass mit alkyliertem Bipyridin (C₁ und C₁₂) funktionalisiert wurde, keine bakterizide Wirkung. Ebenso konnte beim kommerziell erhältlichen bakteriziden Agens ODMA-Cl keine Reduktion der Bakterienanzahl detektiert werden. Die Ergebnisse einiger ausgewählter Proben sind in der Abbildung 5-6 dargestellt.

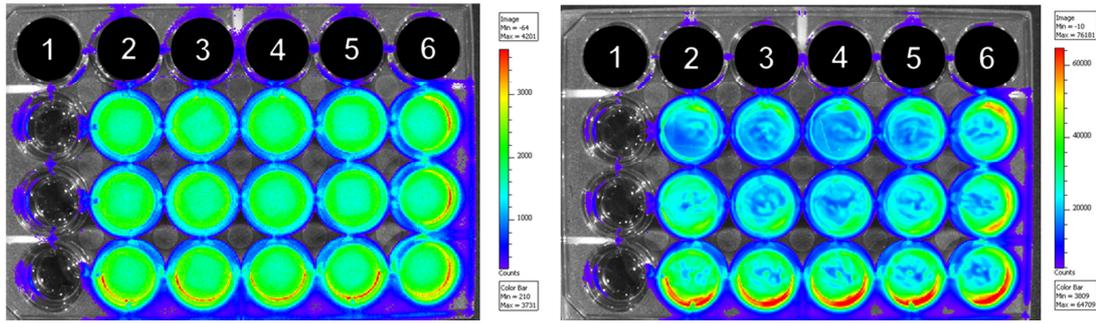


Abbildung 5-6: Testung der antibakteriellen Aktivität einiger Beschichtungen auf Basis quartärer Ammoniumgruppen mit *Pseudomonas aeruginosa* mit einer optischen Dichte von 0.2.

Links: Bakterienaktivität nach 0 Stunden. Rechts: Bakterienaktivität nach 6 Stunden.

1) Nährmedium ohne Bakterien, 2) unbeschichtetes Glassubstrat, 3) Glas + BPTMS + PVP + C₁, 4) Glas + BPTMS + PVP + C₁₂, 5) Glas + BPTMS + PVP + C₄H₈Br₂ + Bipyridin + C₁, 6) ODMA-Cl. (C₁: Methyl-Gruppe, C₁₂: Dodecyl-Gruppe)

Die Ursache für die fehlende antibakterielle Wirkung ist wohl auf Maskierungseffekte zurückzuführen. Durch das proteinhaltige Nährmedium wird wahrscheinlich die für Bakterien potenziell unattraktive Oberfläche umgehend maskiert, sodass Bakterien nur mit den Mediumbestandteilen wechselwirken und nicht mit der eigentlichen Oberfläche. Ebenfalls wurden nicht immobilisierte, alkylierte Polymere (PVP + C₁, PVP + C₆ und PVP + C₁₂) auf ihre antibakterielle Wirkung getestet. Es zeigte sich, dass alle getesteten Polymere in nicht angebundener Form eine bakterizide Wirkung aufweisen. Zusammenfassung

Für die Entwicklung einer persistenten bakteriziden Beschichtung auf Basis quartärer Ammoniumgruppen wurde unterschiedlich alkyliertes PVP hergestellt und untersucht. Die Beschichtung erfolgte in einem speziell entwickelten Reaktor bei erhöhten Temperaturen, in dem nacheinander die einzelnen Bausteine auf die Substrate aufgebracht wurden. Dieses Vorgehen garantiert, dass sich nur kovalent angebundenes Polymer auf dem Substrat befindet. Nicht kovalent gebundene Polymereinheiten einer Beschichtung können im Laufe der Zeit freigesetzt werden, was zu falschen, positiven Resultaten in den Bakterientests führt. Bei der Herstellung der Beschichtungen stellte sich die kovalente Anbindung des Ankers (BPTMS) an das Substrat als kritischer Schritt heraus. Nur unter strengem Feuchtigkeitsausschluss war es möglich, den Anker auf das Substrat aufzubringen.

Die Charakterisierung der Beschichtungen erfolgte mittels Kontaktwinkelmessungen und Fluoresceinfarbstofftests. Die Kontaktwinkelmessungen waren nur wenig aussagekräftig und lassen lediglich Trends erkennen. Die Alkylierung des PVP mit Iodomethan (C_1), Bromohexan (C_6) und Bromododekan (C_{12}) zeigt keine signifikante Veränderung des Kontaktwinkels. Der Fluoresceintest zeigt einen signifikanten Unterschied in der Anfärbarkeit zwischen PVP und PVP + C_1 . Im Fall der C_{12} -Alkylierung war die Anfärbarkeit zwar höher als beim unalkylierten PVP, wies jedoch eine erheblich geringere Fluoresceinkonzentrationen als beim PVP + C_1 auf. Eine mögliche Ursache dafür könnte in der größeren Kettenlänge der Alkylgruppen liegen, was zu einer sterischen Abschirmung der positiv geladenen quartären Ammoniumgruppen (QA-Gruppen) führt. Im Fall von C_1 sind die an der Oberfläche befindlichen QA-Gruppen gut zugänglich für die Fluoresceinmoleküle, sodass diese gut elektrostatisch gebunden werden können und somit eine gesteigerte Anfärbarkeit resultiert. Die Funktionalisierung des PVP mit Dibromobutan und C_1 -alkyliertem Bipyridin zeigt im Vergleich zum PVP einen deutlichen Anstieg des Kontaktwinkels. Die Alkylierung des Bipyridins mit C_{12} weist hingegen keine eindeutige Veränderung des Kontaktwinkels auf. Auch hier zeigt der Fluoresceintest einen signifikanten Abfall der Anfärbarkeit im Fall des mit C_{12} -alkylierten Bipyridins. Aus der Anbindung von ODMA-Cl resultiert, wie zu erwarten, ein Anstieg des Kontaktwinkels, was durch eine hydrophobere Oberfläche hervorgerufen wird. Jedoch zeigte sich im Fluoresceintest keine Anfärbarkeit. Diese Resultate verdeutlichen die Diskrepanz zwischen den Kontaktwinkelmessungen und des eigentlich quantitativen Fluoresceintests. Beide Messmethoden sind nur geeignet, um Tendenzen zu beschreiben.

Die Testung der hergestellten Beschichtungen auf ihre bakterizide Wirkung zeigt, dass keine Beschichtung einen reduzierenden oder abtötenden Effekt auf die getesteten Bakterien hat. Selbst das kommerziell vertriebene antimikrobielle Agens ODMA-Cl weist keinerlei bakterizide Wirkung auf. Die Ursache dafür ist wohl auf Maskierungseffekte durch das Nährmedium zurückzuführen.

Die Adhäsion von Proteinen und weiteren potenziell maskierenden Bestandteilen lassen sich ebenfalls nach der Implantation einer Mittelohrprothese ausmachen. In der Abbildung 5-7 ist eine Bioverit® II-Prothese vier Tage nach der Implantation in einem Kanin-

chenohr zu sehen. Die Prothese zeigt Blutanhaftungen und ist vollständig mit Schleim bedeckt. Die vermehrte Schleimproduktion wird durch ein sogenanntes Mukotympanon verursacht. Dabei handelt es sich um eine durch den operativen Eingriff bei der Implantation der Prothese hervorgerufene Schleimhautschwellung, die durch eine verminderte Belüftung des Mittelohrs verursacht wird.



Abbildung 5-7: Bioverit® II Prothese vier Tage nach der Implantation. Die Fotos wurden von FRANZISKA DUDA an der MEDIZINISCHEN HOCHSCHULE HANNOVER angefertigt.

Die Abbildung macht deutlich, dass eine persistente antibakterielle oder antiadhärente Beschichtung für eine Nutzung im Mittelohr nicht geeignet ist. Binnen kürzester Zeit legt sich eine massive Schleimschicht um die Prothese, was dazu führt, dass eine Beschichtung vollständig und nachhaltig maskiert wird. Die Tatsache, dass die nicht immobilisierten Polymere eine bakterizide Wirkung aufweisen, lässt die Vermutung aufkommen, dass die antibakteriellen Effekte, die in der Literatur für persistente antibakterielle Oberflächenbeschichtungen beschrieben werden, tatsächlich auf der Wirkung von freien Polymerketten beruhen.

5.2 Silber-Silicafilme

Für die Herstellung der Silber-Silicafilme wurden zwei unterschiedliche Strategien verfolgt. Zum einen konnten nicht poröse Silber-Silicabeschichtungen, zum anderen mesoporöse Silber-Silicafilme hergestellt und untersucht werden. Für die Herstellung der nicht porösen Silber-Silicabeschichtungen wurden Silber-Nanopartikel, die mit dem

nicht toxischen und gut biokompatiblen Polymer Polyvinylpyrrolidon (PVPo) stabilisiert wurden, in ein ethanolisches Kieselsäuresol eingebracht. Zum anderen war auch die direkte Zugabe von Silberionen mit Hilfe eines Kronenethers in die ethanolische Phase eines Kieselsäuresols erfolgreich.^[202] Das Einbringen von Silbernitrat in das Kieselsäuresol durch das Hinzumischen von Wasser war hingegen nur bedingt möglich, da das Extravolumen an Wasser zu sehr inhomogenen Beschichtungen führte. Für die Herstellung der mesoporösen Silber-Silicabeschichtungen wurden die calcinierten mesoporösen Silicafilme mit Silbernitrat imprägniert und die Silberionen durch einen Pyrolyseschritt zu Silber reduziert.

5.2.1 Polyvinylpyrrolidonstabilisierte Silber-Nanopartikel

Die Herstellung der polyvinylpyrrolidonstabilisierten Silber-Nanopartikel erfolgte wie im Abschnitt 4.2.2 beschrieben. Der braune Feststoff lässt sich in Wasser sowie in Ethanol leicht redispergieren und bildet eine gelbe, kolloidale Dispersion, die mehrere Monate stabil ist. Die mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung ermittelten Partikelgrößen ergeben eine Größenverteilung von 2-11 nm, wobei der größte Anteil eine Partikelgröße zwischen 2-4 nm aufweist. In der Abbildung 5-8 ist die relative Anzahl der Partikel in Abhängigkeit des hydrodynamischen Durchmessers der Silber-Nanopartikel gezeigt. Die Silber-Nanopartikel wurden in Wasser dispergiert.

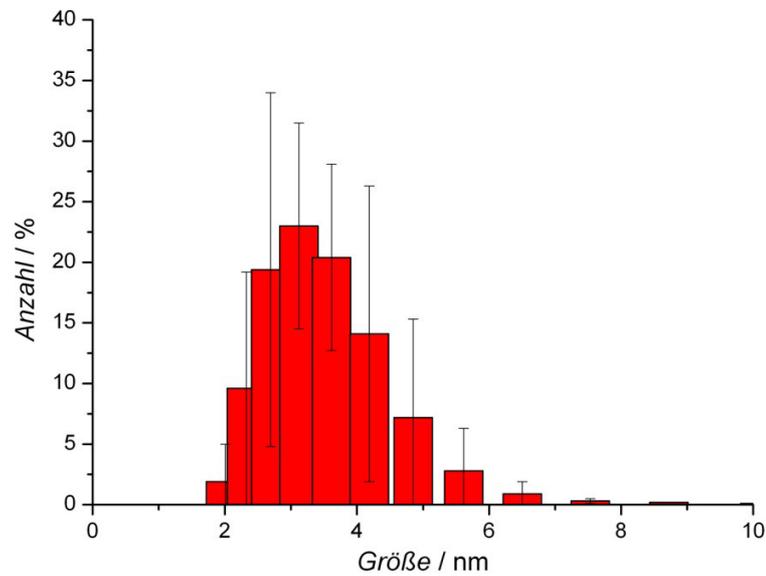


Abbildung 5-8: Größenbestimmung der PVPo-stabilisierten Silber-Nanopartikel mittels dynamischer Lichtstreuung.

Die PVPo-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurden thermogravimetrisch untersucht um den Silbergehalt in den Nanopartikeln zu bestimmen (Abbildung 5-9). Der Masseverlust ist ein Maß für den stabilisierenden PVPo-Anteil; die Restmasse zeigt die Silbermasse an.

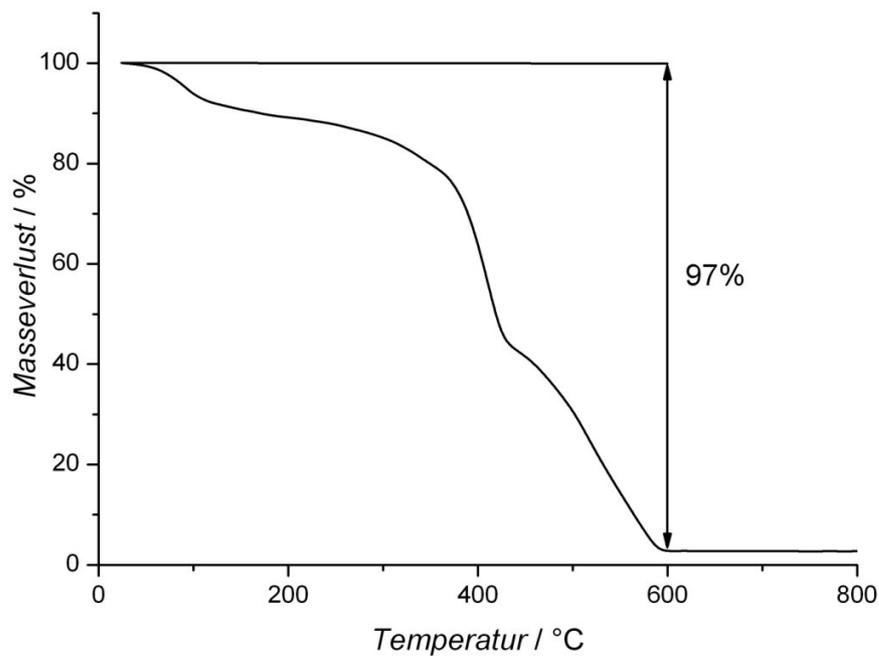


Abbildung 5-9: Thermogravimetrische Untersuchung von PVPo-stabilisierten Silber-Nanopartikeln.

Der Masseverlust beträgt 97%. Das bedeutet, dass die Silber-Nanopartikel nur zu 3% aus Silber bestehen und 97% aus dem Stabilisator PVPO und Wasser. Durch den geringen Silberanteil in den Silber-Nanopartikeln muss die Silber-Nanopartikelkonzentration für die Einbringung in das Kieselsäuresol demnach höher gewählt werden, was die Verwendung als antibakteriellen Zusatz in Silicabeschichtungen erheblich einschränkt.

5.2.2 Charakterisierung der Silber-Silicabeschichtungen

Die Filmdicke der hergestellten Silber-Silicabeschichtungen wurde mittels Ellipsometrie bestimmt. Beim calcinierten mesoporösen Silicafilm konnte eine Schichtdicke von 120 nm ermittelt werden. Nach der Generierung der Silbernanopartikel in den Poren reduzierte sich die Schichtdicke beim mesoporösen Silber-Silicafilm auf 104 nm. Beim nicht porösen Silber-Silicafilm konnte eine Schichtdicke von 100 nm gemessen werden.

Des Weiteren konnten die Silber-Silicafilme mittels Röntgendiffraktometrie charakterisiert werden. Hierzu wurden Silicium-Wafer als Substrat verwendet. Da der Silberanteil in den hergestellten Beschichtungen sehr gering ist und nach einmaligem Dippen keine typischen Reflexe für elementares Silber im Röntgendiffraktogramm zu erkennen war, wurden die Substrate 10-mal gedippt.

In der Abbildung 5-10 ist das Röntgendiffraktogramm eines calcinierten, mesoporösen Silicafilms dargestellt. Durch den geringen Ordnungsgrad von mesoporösen Silicamaterialien ist nur ein typischer, verbreiteter Reflex bei $1.45^\circ 2\theta$ zu erkennen, der die Mesostrukturierung des Materials widerspiegelt.

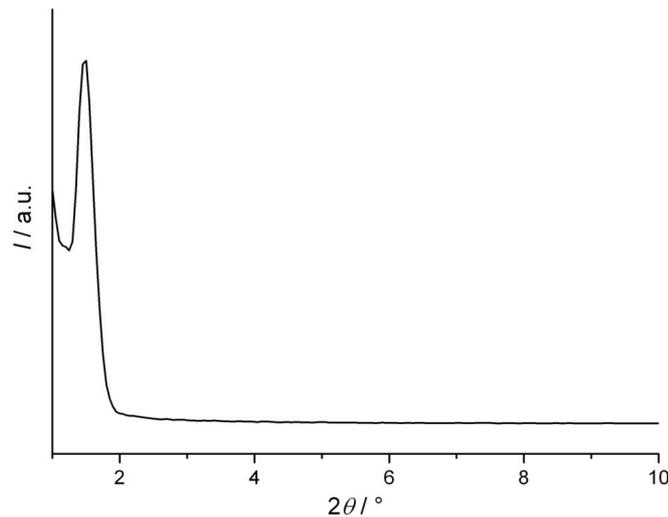


Abbildung 5-10: Röntgendiffraktogramm eines calcinierten mesoporösen Silicafilms auf einem Siliciumsubstrat. Der Träger wurde einmal gedippt.

Das Diffraktogramm des mesoporösen Silicafilms nach der Imprägnierung mit Silbernitrat und anschließender pyrolytischer Reduktion zeigt ebenso den typischen Reflex bei $1.50^\circ 2\theta$ (Abbildung 5-11).

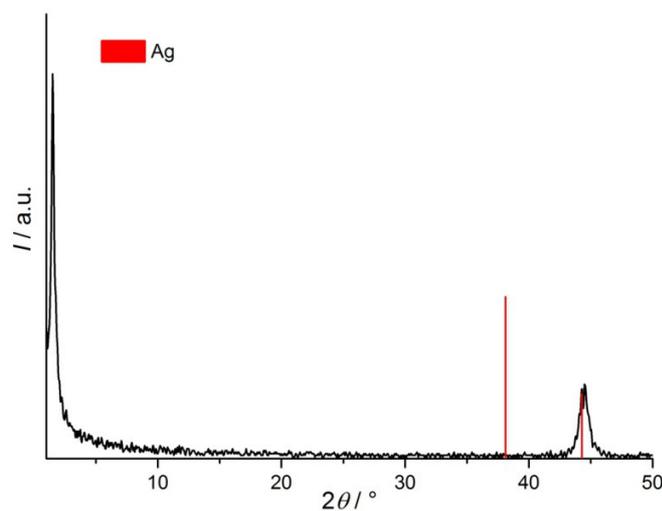


Abbildung 5-11: Röntgendiffraktogramm des mesoporösen Silber-Silicafilms auf einem Siliciumträger. Der Träger wurde 10-mal gedippt. Die Reflexlagen des Silbers sind rot markiert.

Zusätzlich ist ein verbreiteter Reflex bei $44.4^\circ 2\theta$ zu sehen, der dem Silber zugeordnet werden kann. Durch ein wahrscheinlich gerichtetes und somit anisotropes Wachstum der Silberpartikel werden zu wenig Netzebenen der 111-Schar erfasst, sodass der Silberre-

flex bei $38.1^\circ 2\theta$ nicht aufgelöst werden kann. Das Röntgendiffraktogramm zeigt durch das Auftreten des 200-Reflexes bei $44.4^\circ 2\theta$, dass elementares Silber im mesoporösen Silicafilm generiert wurde. Die mit Hilfe der SCHERRER-Gleichung berechnete Größe der Silber-Nanopartikel beträgt 12 nm.

Das Röntgendiffraktogramm des nicht porösen Silber-Silicafilms, der mit Hilfe des Kronenethers 18-Krone-6 (18-C6) erhalten wurde, ist in der Abbildung 5-12 gezeigt. Da der standardmäßig verwendete nicht poröse Silber-Silicafilm keine typischen Reflexe für Silber aufwies, wurden für die röntgenographische Untersuchung spezielle Proben, mit einer fünffach höheren Silberkonzentration angefertigt. Diese Proben wurden ebenfalls 10-mal gedippt.

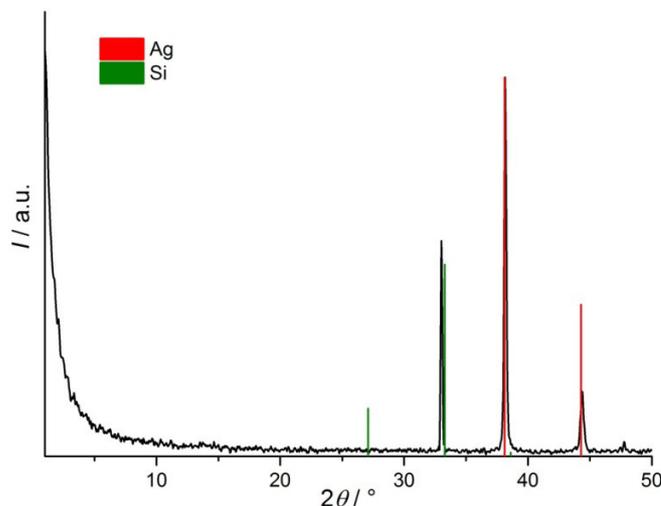


Abbildung 5-12: Röntgendiffraktogramm des nicht porösen Silber-Silicafilms, der mit dem Kronenether 18C6 hergestellt wurde, auf einem Siliciumträger. Der Träger wurde 10-mal gedippt. Die Reflexlagen des Silbers (rot) und des Siliciums (grün) sind farbig markiert.

Das Diffraktogramm zeigt drei Reflexe auf. Der Reflex bei $33.0^\circ 2\theta$ kann dem Siliciumsubstrat zugeordnet werden. Die beiden weiteren Reflexe bei $38.1^\circ 2\theta$ und $44.4^\circ 2\theta$ werden durch das elementare Silber in dem Silicafilm hervorgerufen. Das Diffraktogramm belegt, dass die Reduktion der Silberionen zu elementarem Silber erfolgreich war. Die Größe der Silber-Nanopartikel wurde mittels SCHERRER-Gleichung berechnet und beträgt ca. 45 nm. Die im Vergleich zum mesoporösen Silber-Silicafilm ist die Halbwertsbreite des 200-Reflexes geringer, was auf größere Silber-Nanopartikel zurück-

zuführen ist. Möglicherweise sind die größeren Silber-Nanopartikel durch das spezielle Herstellungsverfahren begründet.

5.2.3 Silberfreisetzung aus den Silber-Silicafilmen

Die Silberfreisetzung wurde in einer 0.154 M Natriumnitratlösung durchgeführt, um ähnliche osmotische Bedingungen wie in einer physiologischen Natriumchloridlösung (NaCl-Lösung) zu realisieren. Die Verwendung von NaCl-Lösung, PBS (*phosphate buffered saline*) oder SBF (*simulated body fluid*) würde zu schwerlöslichen Silbersalzen führen, was die Silberstandards für die Kalibration stark verfälscht und zu falschen Freisetzungsraten führt.^[119] Die Bestimmung der Silberkonzentration erfolgte mittels Atomabsorptionsspektroskopie (AAS). Das Silberfreisetzungsverhalten der präparierten Filme ist in der Abbildung 5-13 gezeigt. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt.

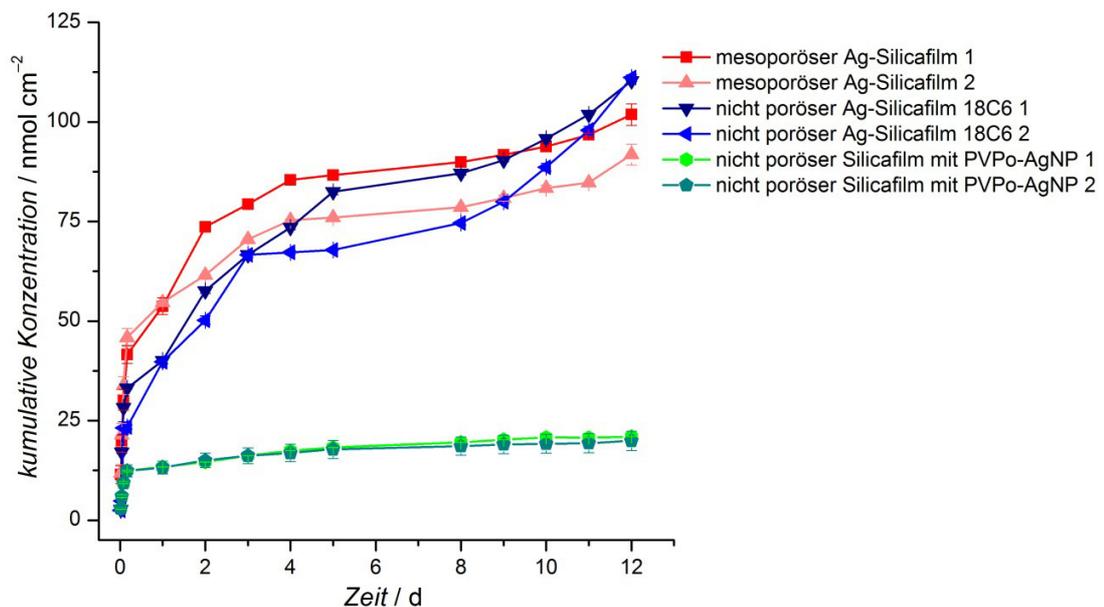


Abbildung 5-13: Silberfreisetzung aus mesoporösen und nicht porösen Silber-Silicafilmen. Als Freisetzungsmedium wurde 0.154 M NaNO₃-Lösung verwendet.

Alle Silberfilme weisen am ersten Tag eine schnelle Silberfreisetzung auf. Hierbei zeigen die nicht porösen Silicafilme mit PVPO-stabilisierten Silber-Nanopartikeln (PVPO-AgNP) die geringste Silberfreisetzung und weisen einen sogenannten *burst-release* auf. Auch steigt die Silberfreisetzung nach dem ersten Tag nur noch geringfügig an. Die Ge-

samtmenge an freigesetztem Silber aus den nicht porösen Silicafilmen mit PVPO-AgNP beträgt im Durchschnitt $21 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$. Das Freisetzungverhalten der mesoporösen Silber-Silicafilme und der nicht porösen Silber-Silicafilme, die mit 18C6 hergestellt wurden, zeigen ähnliche Charakteristika. Nach dem ersten Tag steigen alle Silberkonzentrationen kontinuierlich bis zum Ende der Freisetzungsversuche nach 12 Tagen an. Der Anstieg der Silberkonzentration nach 9 Tagen beim nicht porösen Silber-Silicafilm und nach 11 Tagen beim mesoporösen Silber-Silicafilm ist wahrscheinlich auf einen Abbau der Silicabeschichtung zurückzuführen, was eine erhöhte Silberfreisetzung zur Folge hat. Dieser Effekt wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter untersucht.

Die gemessenen Gesamtkonzentrationen nach 12 Tagen sind im Mittel mit $97 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$ (mesoporöse Silber-Silicafilme) und $110 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$ (nicht poröse Silber-Silicafilme 18C6) ähnlich hoch. Im Vergleich zu den nicht porösen Silicafilmen mit PVPO-AgNP zeigen die mesoporösen Silber-Silicafilme und die nicht porösen Silber-Silicafilme, die mit 18C6 hergestellt wurden, eine fünffach höhere Silberionenfreisetzung, was eine stärker antibakterielle Wirkung hervorrufen sollte.

5.2.4 Testung der antibakteriellen Aktivität der Silber-Silicafilme

Die Testung der antibakteriellen Aktivität der hergestellten Silber-Silicafilme wurde im HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR INFEKTIONSFORSCHUNG in Braunschweig von MUHAMMAD IMRAN RAHIM durchgeführt. Hierzu wurde zum einen der mesoporöse Silber-Silicafilm und zum anderen der nicht poröse Silber-Silicafilm, hergestellt mit dem Kronenether 18C6, für vier Stunden mit einem lumineszenten *Pseudomonas aeruginosa*-Stamm inkubiert. Als Positivkontrolle diente der mesoporöse Silicafilm, der mit dem Antibiotikum Ciprofloxacin ($250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) versetzt wurde; für die Negativkontrolle wurde der mesoporöse Silicafilm ohne Wirkstoff verwendet. Jede Stunde wurde die Lumineszenz gemessen und ein Bild erstellt. Die Ergebnisse der Bakterienaktivitätsmessung sind in der Abbildung 5-14 gezeigt.

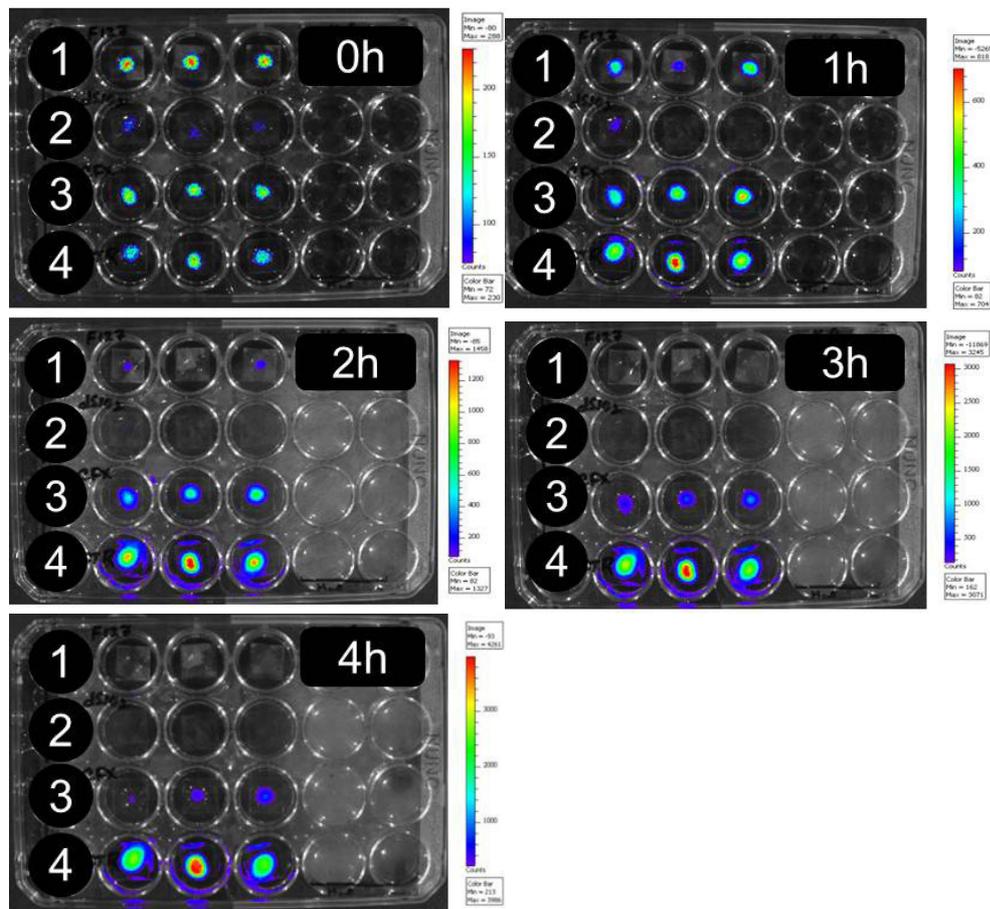


Abbildung 5-14: Testung der antibakteriellen Aktivität der Silber-Silicafilme gegen *Pseudomonas aeruginosa* mit einer optischen Dichte von 0.1 nach unterschiedlichen Zeitpunkten. 1) mesoporöser Silber-Silicafilm, 2) nicht poröser Silber-Silicafilm mit 18C6 hergestellt, 3) Positivkontrolle: mesoporöser Silicafilm mit Ciprofloxacin ($250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 4) Negativkontrolle: mesoporöser Silicafilm.

Bereits beim Start des Versuchs (0 Stunden) zeigt sich eine verminderte Aktivität der Pseudomonaden auf dem nicht porösen Silber-Silicafilm. Da die Bakterien aus derselben Kultur stammen und bei jeder Probe etwa die gleiche Menge an Bakterien zugegeben wurde, könnte diese verminderte Aktivität auf eine antibakterielle Wirkung des nicht porösen Silber-Silicafilms bereits nach kürzester Zeit hindeuten. Nach 1 Stunde ist bei zwei von drei Proben des nicht porösen Silber-Silicafilms keine Bakterienaktivität mehr zu beobachten. Eine vollständige Eliminierung der Lumineszenz ist bei dem nicht porösen Silber-Silicafilm nach 2 Stunden gegeben. Hier zeigt auch der mesoporöse Silber-Silicafilm die erste antibakterielle Aktivität. Nach 3 Stunden ist ebenfalls beim mesoporösen Silber-Silicafilm ein vollständiger Rückgang der Lumineszenz zu beobachten. Die positive Kontrollgruppe, bestehend aus dem mesoporösen Silicafilm und Ciprofloxacin, zeigt hingegen erst nach 4 Stunden eine Minderung der Bakterienaktivität. Dieser Be-

fund war zu erwarten, da Ciprofloxacin einige Stunden für Schädigung der Bakterien benötigt.

Die Quantifizierung der Lumineszenz von *Pseudomonas aeruginosa* bestätigt die qualitativen Ergebnisse der antibakteriellen Aktivität (Abbildung 5-14). Die Quantifizierung der Lumineszenz ist in der Abbildung 5-15 dargestellt.

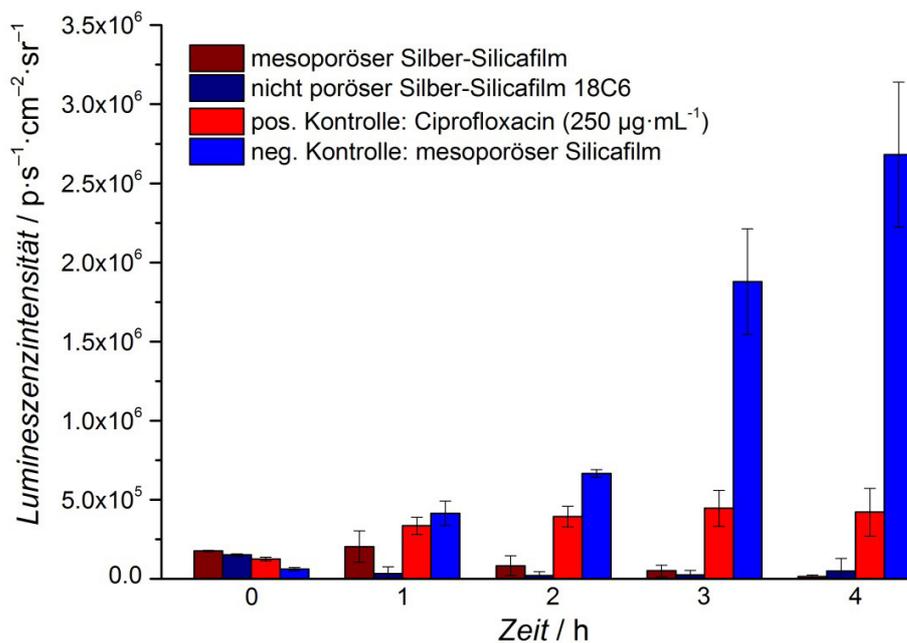


Abbildung 5-15: Übersicht der Lumineszenz von *Pseudomonas aeruginosa* auf den hergestellten Silber-Silicafilmen.

Bei der Negativkontrolle zeigt sich in dem getesteten Zeitraum eine kontinuierliche Steigerung der Lumineszenz und somit eine Proliferation der Bakterien. Im Fall der Positivkontrolle steigt die Lumineszenz in der ersten Stunde und bleibt danach nahezu konstant. Auf dem mesoporösen Silber-Silicafilm zeigen die Bakterien hingegen kaum eine Steigerung der Lumineszenz und nach 2 Stunden sinkt die Lumineszenzintensität signifikant. Auch hier weist der nicht poröse Silber-Silicafilm bereits bei Versuchsbeginn die geringste Lumineszenz auf, die kontinuierlich über den gemessenen Zeitraum sinkt.

Die Resultate der antibakteriellen Testung verdeutlichen, dass sowohl der mesoporöse Silber-Silicafilm als auch der nicht poröse Silber-Silicafilm eine gute Reduktion von *Pseudomonas aeruginosa in vitro* hervorrufen. Der nicht poröse Silber-Silicafilm weist jedoch im Vergleich zum mesoporösen Silber-Silicafilm eine deutlich gesteigerte antibakterielle Wirkung auf.

5.2.5 Testung der Zellkompatibilität der präparierten Silber-Silicafilme

Die Testung der Zellkompatibilität der hergestellten Silber-Silicafilme erfolgte ebenfalls im HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR INFEKTIONSFORSCHUNG in Braunschweig von MUHAMMAD IMRAN RAHIM. Hierzu wurde das Verhalten der Silber-Silicafilme auf Fibroblasten (NIH 3T3) und Osteosarkomzellen (MG-63) getestet. Für die Testung der Zellkompatibilität wurden Dreifachbestimmungen durchgeführt. Die Charakterisierung erfolgte durch die Fluoreszenz- und die Rasterelektronenmikroskopie (REM).

In der Abbildung 5-16 sind die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen vom Wachstum der Fibroblasten auf den hergestellten Beschichtungen gezeigt. Als Kontrollgruppen dienten zum einen die Well-Platte aus Polystyrol, zum anderen wurde das Fibroblastenverhalten auf dem mesoporösen Silicafilm ohne Silber getestet. Auf Polystyrol zeigen die Fibroblasten eine gute und dichte Konnektivität und weisen eine gute Spreitung auf. Auf dem mesoporösen Silicafilm sind deutliche Veränderungen im Wachstumsverhalten auszumachen. Die Fibroblasten neigen zu einer geringeren Spreitung und die Anzahl der kugelförmigen Zellen ist signifikant erhöht, was auf gestresste oder tote Zellen hindeutet. Der mesoporöse Silicafilm weist also eine etwas schlechtere Fibroblastenkompatibilität auf.

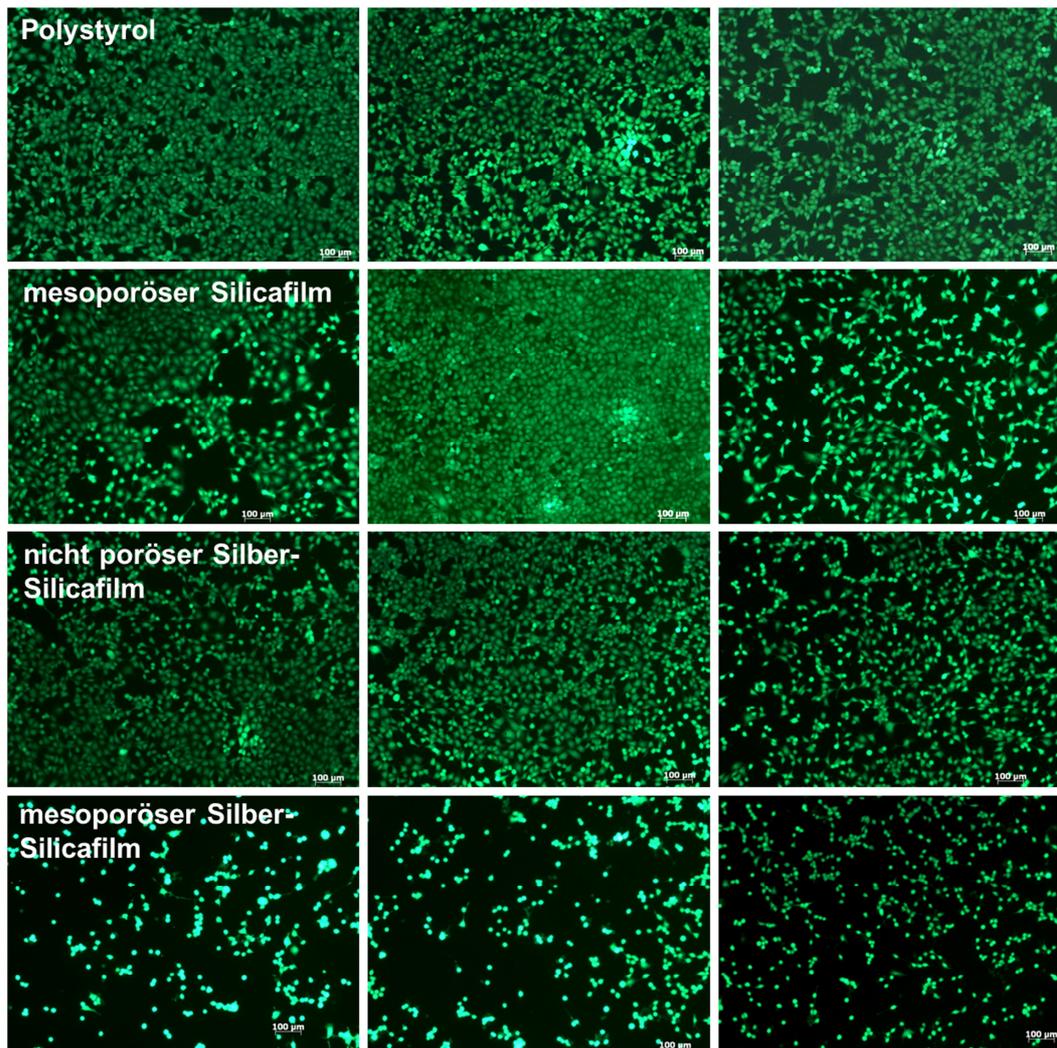


Abbildung 5-16: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Zellkompatibilität als Dreifachbestimmung (links, mitte, rechts) an Fibroblasten (NIH 3T3). Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde; mesoporöser Silber-Silicafilm.

Im Fall des nicht porösen Silber-Silicafilms weisen die Fibroblasten eine gute Konnektivität auf. Auch zeigen die Fibroblasten eine gute Aufspreitung auf diesem Material. Nur wenige Zellen weisen eine runde Gestalt auf, sodass hier von einer guten Fibroblastenkompatibilität gesprochen werden kann.

Bei dem mesoporösen Silber-Silicafilm zeigen sich hingegen deutliche Zellveränderungen. Die Fibroblasten weisen hier keinen dichten Zellverband und somit keine Konnektivität auf. Nahezu alle Zellen sind kugelförmig, was auf gestresste oder sogar auf tote

Zellen hindeutet. Die Fibroblastenkompatibilität ist im Fall des mesoporösen Silber-Silicafilms als schlecht einzustufen.

Die quantitative Betrachtung der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen untermauert die Resultate der qualitativen Bildgebung (Abbildung 5-17).

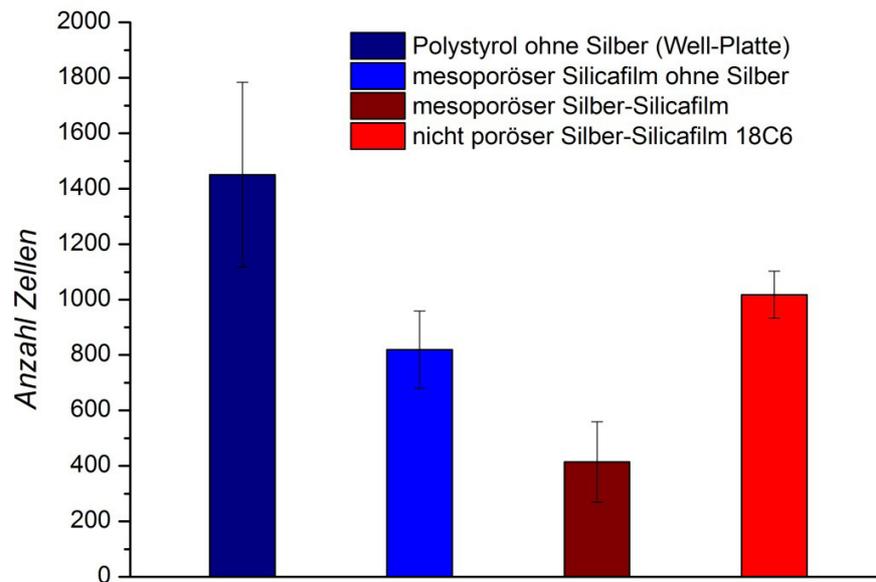


Abbildung 5-17: Übersicht und Gegenüberstellung der Anzahl der Fibroblasten auf den unterschiedlichen Silicafilmen.

Die Abbildung 5-17 zeigt, dass der mesoporöse Silicafilm ohne Silber bereits eine verminderte Fibroblastenattraktivität aufweist. Dieses Ergebnis steht jedoch im Widerspruch zu vorherigen Studien, in denen mesoporöse Silicafilme eine ausgesprochen gute Fibroblastenkompatibilität aufwiesen.^[8,25,55,203] Ebenso zeigt der mesoporöse Silber-Silicafilm einen deutlich negativen Effekt auf Fibroblasten. Dieses Ergebnis beruht wahrscheinlich zum einen auf der bereits verminderten Fibroblastenattraktivität durch die mesoporöse Silicabeschichtung und zum anderen auf den freiwerdenden Silberionen, die den Zellstoffwechsel stören. Im Fall des nicht porösen Silber-Silicafilms zeigen die Fibroblasten ein gutes Wachstum, das etwas schlechter als beim Polystyrol ist.

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung des Fibroblastenwachstums auf den Proben ist in der Abbildung 5-18 gezeigt.

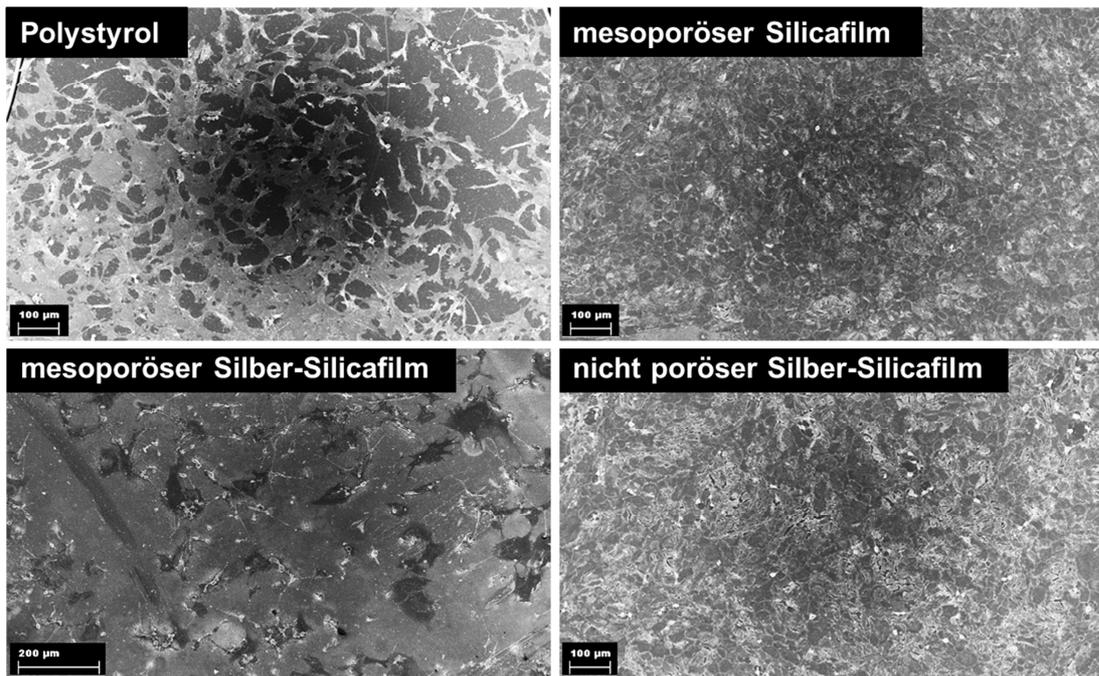


Abbildung 5-18: REM-Aufnahmen des Fibroblastenwachstums. Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: mesoporöser Silber-Silicafilm; nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde.

Auch hier zeigen sich die Morphologieunterschiede der Zellen auf Polystyrol und dem mesoporösen Silicafilm deutlich. Auf Polystyrol weisen die Fibroblasten eine gute Konnektivität auf und bilden einen dichten Zellverband. Es sind nur sehr wenige kugelförmige Zellen zu erkennen. Hingegen zeigen die Fibroblasten auf dem mesoporösen Silicafilm eine starke Morphologieänderung. Die Zellen zeigen keine Spreitung und weisen eine kompaktere, eher kugelförmige Gestalt auf. Die REM-Aufnahmen bestätigen die Resultate aus den fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen. Die Fibroblastenkompatibilität des mesoporösen Silicafilms ist signifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe auf Polystyrol.

Auf dem mesoporösen Silber-Silicafilm sind nur wenige Fibroblasten in den REM-Aufnahmen zu erkennen. Die Zellen zeigen eine ähnliche Morphologie wie die Kontrollgruppe des mesoporösen Silica. Die Zellen weisen ebenso eine eher kompakte Gestalt auf und zeigen keine Spreitung. Auch im Fall des nicht porösen Silber-Silicafilms ist eine Veränderung der Morphologie zu erkennen. Die Fibroblasten spreiten weitaus weniger und wirken auch kompakter als im Fall der Polystyrolkontrolle. Die Zellen wei-

sen jedoch eine deutliche Konnektivität auf. Die REM-Aufnahmen bestätigen noch einmal die schlechtere Zellkompatibilität der mesoporösen Silicafilme auf Fibroblasten.

Zudem wurde die Zellkompatibilität der Silber-Silicafilme an Osteosarkomzellen (MG 63) getestet. In der Abbildung 5-19 sind die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen der Proben gezeigt.

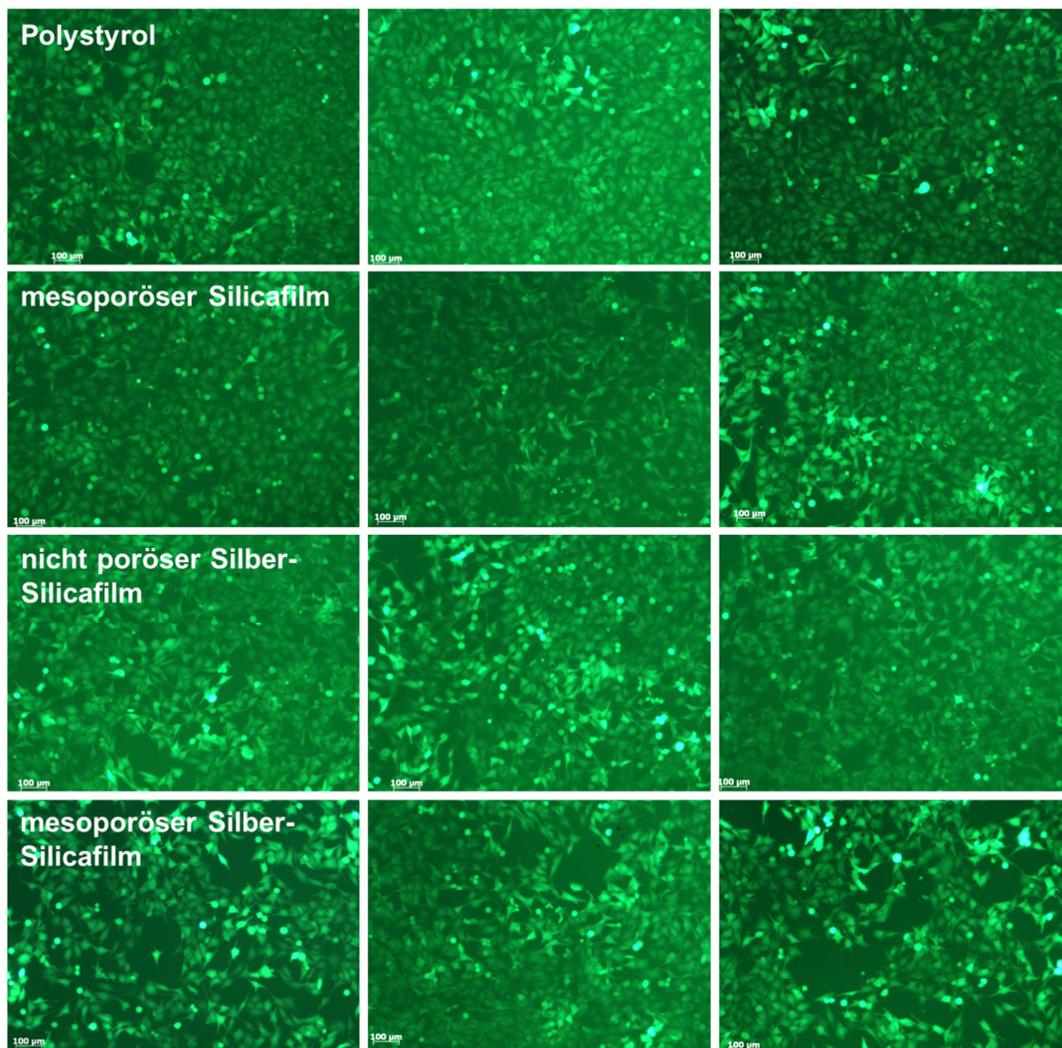


Abbildung 5-19: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Zellkompatibilität als Dreifachbestimmung (links, mitte, rechts) an Osteosarkomzellen (MG 63). Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde; mesoporöser Silber-Silicafilm.

Auf beiden Kontrollen (Polystyrol, mesoporöser Silicafilm) ist das Wachstum der Osteosarkomzellen sehr gut. Sie weisen in beiden Fällen einen dichten Zellverband auf und

zeigen eine gute Konnektivität. Ebenso spreiten die Osteosarkomzellen auf beiden Kontrollen auf. Bei dieser Zelllinie zeigt sich auch der mesoporöse Silicafilm als gut zytokompatibel.

Die Zellen bilden sowohl auf dem nicht porösen Silber-Silicafilm, als auch auf dem mesoporösen Silber-Silicafilm einen dichten Zellverband und eine gute Konnektivität. Des Weiteren spreiten die Osteosarkomzellen auf. Vereinzelt sind kugelförmige Zellen zu erkennen, was auf gestresste bzw. tote Zellen hinweist. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die hergestellten Silber-Silicafilme eine gute Zellkompatibilität gegenüber Osteosarkomzellen haben.

Außerdem zeigt die Quantifizierung der Osteosarkomzellen (Abbildung 5-20), dass es kaum Unterschiede in der Zellzahl zwischen der Polystyrolkontrolle und der Silber-Silicafilme gibt. Einzig die Kontrollprobe des mesoporösen Silicas zeigt auch hier eine etwas schlechtere Kompatibilität.

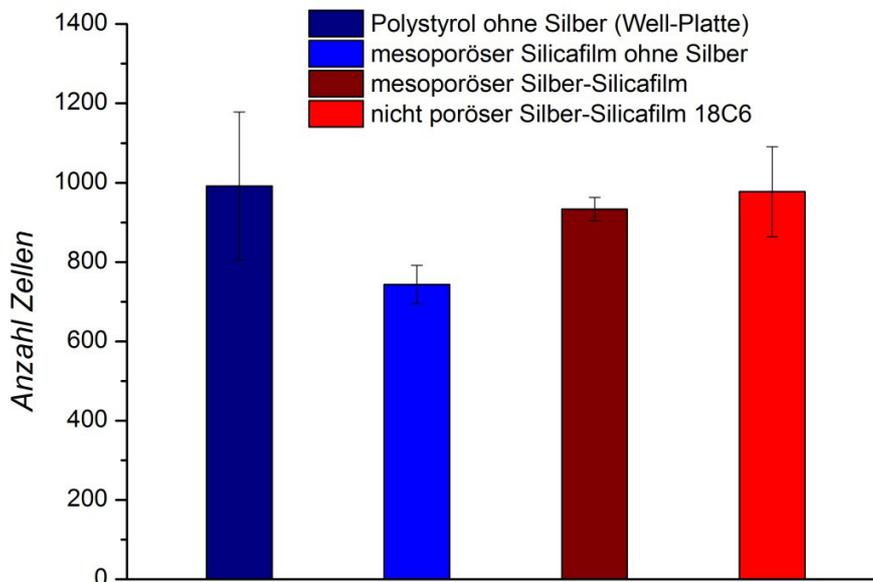


Abbildung 5-20: Anzahl der Osteosarkomzellen auf den untersuchten Proben.

Die Morphologie der Osteosarkomzellen wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht. In der Abbildung 5-21 ist das Osteosarkomwachstum auf den Proben gezeigt. Die Osteosarkomzellen bilden auf den Kontrollen (Polystyrol, mesoporöser Sili-

cafilm) einen dichten Zellverband aus und zeigen dabei eine gute Aufspreitung. Nur vereinzelt sind kugelförmige Zellen zu erkennen.

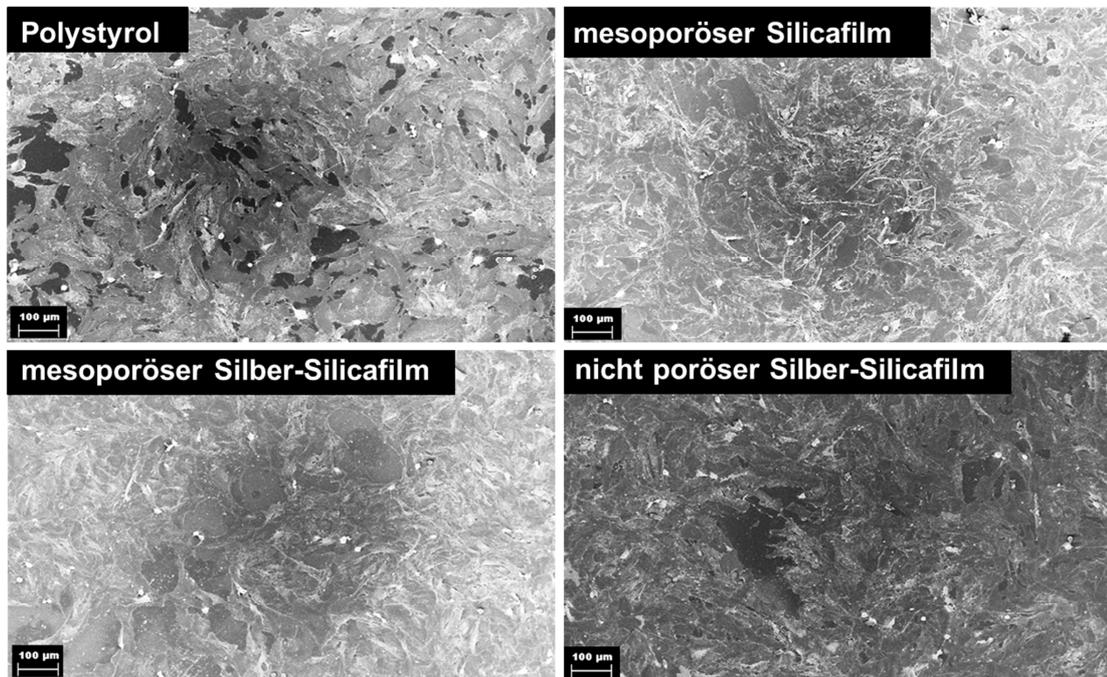


Abbildung 5-21: REM-Aufnahmen des Osteosarkomwachstums. Kontrollen: Polystyrol (Well-Platte); mesoporöser Silicafilm. Silber-Silicabeschichtungen: mesoporöser Silber-Silicafilm; nicht poröser Silber-Silicafilm, der mit 18C6 hergestellt wurde.

Beim mesoporösen Silber-Silicafilm zeigen die REM-Aufnahmen auch hier eine Veränderung des Wachstumsverhaltens der Osteosarkomzellen. Die Zelldichte ist in diesem Fall etwas herabgesetzt. Die Zellmorphologie zeigt keine pathologischen Veränderungen. Im Fall des nicht porösen Silber-Silicafilms sind keine signifikanten Veränderungen in der Zellgestalt und dem Zellwachstum zu erkennen. Die rasterelektronischen Untersuchungen bestätigen die gute Zellkompatibilität der Silber-Silicafilme für Osteosarkomzellen.

5.2.6 Zusammenfassung

Die Generierung von Silberpartikeln in mesoporösen Silicafilmen ist durch die Imprägnierung mit Silbernitrat und anschließender pyrolytischer Reduktion möglich. Ebenso lassen sich nicht poröse Silber-Silicafilme durch das Einbringen von Silberionen mit Hilfe eines Kronenethers erzeugen. Hierbei fungiert der Kronenether als Phasentrans-

feragens, um das in Ethanol schwerlösliche Silbernitrat in die ethanolische Phase zu bringen. Durch die pyrolytische Reduktion ist es auch bei dieser Vorgehensweise möglich, Silberpartikel in der Silicabeschichtung zu erzeugen.

Die Freisetzungseigenschaft der hergestellten Silber-Silicafilme in 0.154 M Natriumnitratlösung zeigt, dass aus allen präparierten Silber-Silicafilmen Silberionen freigesetzt werden. Im Fall des mesoporösen Silber-Silicafilms findet nach dem ersten Tag eine über 12 Tage kontinuierliche Silberfreisetzung statt.

Die Nutzung von PVPO-stabilisierten Silber-Nanopartikeln hat sich hingegen als nicht praktikabel erwiesen. Die in den Film eingebrachte Silbermenge ist zu gering, da die Nanopartikel nur zu ungefähr 3% aus Silber bestehen und einen PVPO-Anteil von 97% aufweisen. Die geringe Silberkonzentration in diesem Film wird auch in der geringen Freisetzungsrate widerspiegelt.

Eine deutliche Steigerung der Silberkonzentration in dem nicht porösen Silicafilm kann mit Hilfe des Kronenethers 18C6 erzielt werden. Die Silberkonzentration kann hierbei individuell und sehr leicht durch die Menge an Silbernitrat und Kronenether eingestellt werden. Die Freisetzungseigenschaft ähnelt der des mesoporösen Silber-Silicafilms und bleibt über 12 Tage nahezu konstant.

Die Testungen der antibakteriellen Aktivität zeigen sowohl beim mesoporösem Silber-Silicafilm als auch beim nicht porösen Silber-Silicafilm, der mit 18-Krone-6 hergestellt wurde, bereits nach kurzer Zeit eine signifikante Reduktion von *Pseudomonas aeruginosa*. Während der nicht poröse Silber-Silicafilm bereits nach einer Stunde eine Abtötung des *Pseudomonas* zeigt, war beim mesoporösem Silber-Silicafilm erst nach drei Stunden eine signifikante Reduktion festzustellen.

Die Zellkompatibilität ist abhängig vom Zelltyp. Somit lässt sich keine allgemeine Aussage über die Zellkompatibilität treffen. Im Fall des nicht porösen Silber-Silicafilms, der mit Hilfe des Kronenethers hergestellt wurde, zeigen sowohl Fibroblasten als auch Osteosarkomzellen eine gute Kompatibilität. Der mesoporöse Silber-Silicafilm hingegen zeigt eine schlechte Fibroblastenkompatibilität, jedoch eine gute Osteosarkomkompati-

bilität. Da, wie bereits im Abschnitt 2.5.3 erläutert, die Zellkompatibilitätsbestimmungen nur bedingt Rückschlüsse auf das Verhalten *in vivo* zulassen, sind *in vivo*-Studien der beschriebenen Materialien unerlässlich und in weiterführenden Studien geplant.

5.3 Silicon-Elastomere

Für die Entwicklung eines potenziellen Trommelfellkissens aus Silicon wurden verschiedene Silicone hergestellt. Durch die Verwendung von verschiedenen Siloxanen war es möglich, unterschiedlich feste Silicone mit variierenden viskoelastischen Eigenschaften zu erzeugen, so dass hier eine breite Materialauswahl zur Gestaltung eines Trommelfellkissens geschaffen werden konnte. Hierzu wurde zum einen das kommerziell erhältliche technische Silicon Sylgard® 184 von DOW CORNING durch die Addition von unterschiedlichen Siloxanen modifiziert. Zum anderen konnten Silicone aus der Kombination von verschiedenen Vinyl-PDMS- und H-PDMS-Spezies erhalten werden. Auch das Hinzumischen von mesoporösen Silica-Nanopartikeln zu den Siliconen wurde untersucht.

Um eine einheitliche Probengeometrie zu gewährleisten, wurde eine speziell angefertigte Form aus Polytetrafluorethylen, wie im Abschnitt 4.3 beschrieben, verwendet. Die Charakterisierung der Proben erfolgte vorwiegend mittels Rheologie. Hierzu wurden Oszillationsversuche an den Proben durchgeführt und die Speichermoduln (G') sowie die Verlustmoduln (G'') und die Verlustfaktoren ($\tan \delta$) bestimmt. Für die Charakterisierung und den Vergleich der Siliconproben wurden die Moduln bei 1% Deformation gewählt, da alle Speichermoduln in diesem Bereich noch ein linearviskoelastisches Verhalten aufweisen. Für die Untersuchung des Hystereseverhaltens wurden von einigen ausgewählten Proben Zugversuche durchgeführt.

Alle Proben wurden auch infrarotspektroskopisch untersucht. Die Spektren zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit der Zusammensetzung. In der Abbildung 5-22 sind einige IR-Spektren exemplarisch dargestellt.

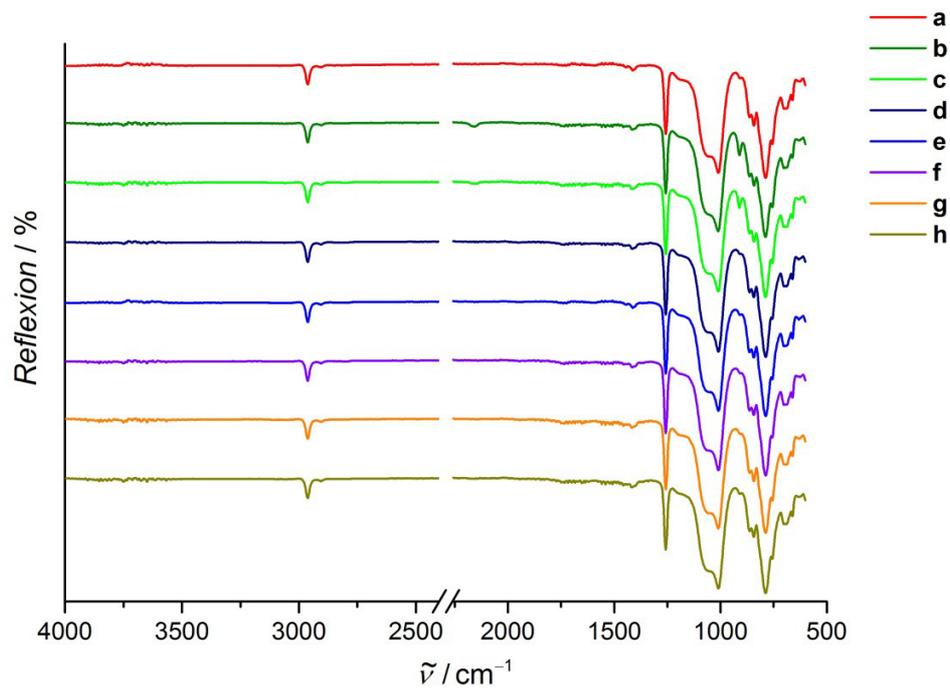


Abbildung 5-22: Infrarotspektren von unterschiedlich modifiziertem Sylgard® 184. a) Sylgard® 184, b) Sylgard® + 20% H-PDMS (12 mPa·s), c) Sylgard® + 20% H-PDMS (29 mPa·s), d) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS (490 mPa·s), e) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS (970 mPa·s), f) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS (4700 mPa·s), g) Sylgard® + 5% Cyclo-Vinyl, f) Sylgard® + 10% Cyclo-H.

Die Bio- und Langzeitstabilität ist eine Voraussetzung, damit ein Biomaterial als Dauerimplantat genutzt werden kann. Wie bereits im Kapitel 2.6 erwähnt, ist PDMS als Biomaterial in der Implantologie seit vielen Jahren etabliert.^[34] Um die Biostabilität des Sylgard® 184 rheologisch zu untersuchen, wurden Siliconproben für 14 Tage in fetalem Kälberserum (FCS) bei 37 °C inkubiert. In der Abbildung 5-23 sind die Speicher- und Verlustmoduln von Sylgard® 184 vor und nach der Inkubation dargestellt.

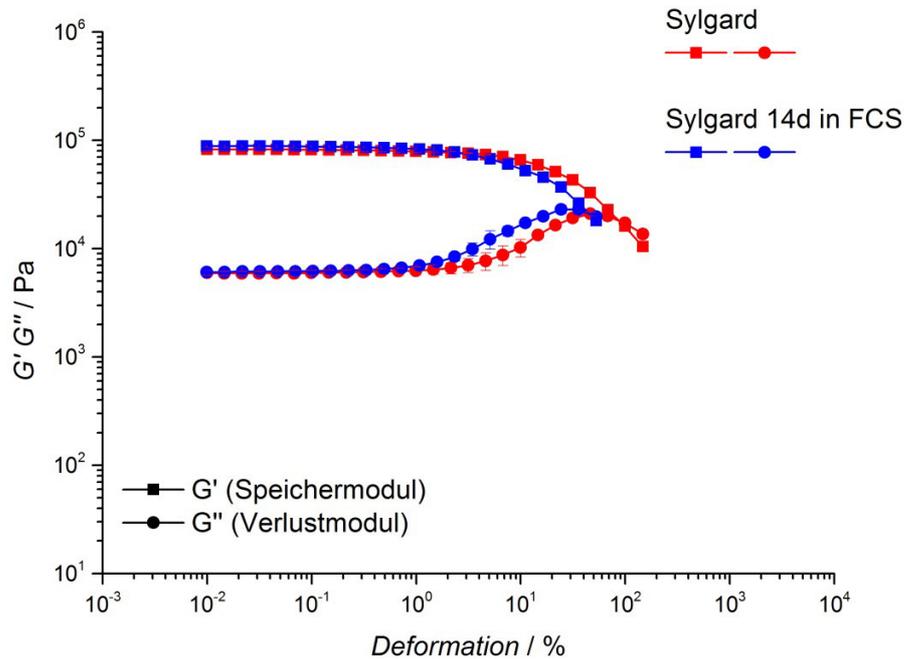


Abbildung 5-23: Rheologische Moduln des Sylgard® 184 nach 14-tägiger Inkubation in FCS.

Die rheologischen Messungen zeigen, dass sich die Speicher- und die Verlustmoduln von Sylgard® 184 nach der Inkubation in FCS nicht signifikant verändern. Die rheologischen Messungen lassen zwar keine Aussage über *Leaching*-Effekte des Silicons zu, jedoch zeigen sie, dass die viskoelastischen Eigenschaften des Sylgard® 184 nach 14 Tagen der Inkubation nahezu identisch sind. In der Tabelle 5-1 ist eine genaue Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) gezeigt.

Tabelle 5-1: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard®184 nach 14d Inkubation in FCS bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
Sylgard® 14d FCS	84000	6900	0.08

5.3.1 Modifizierung des Sylgard® 184 mit Siloxanen

Das Sylgard® 184 wurde durch das Hinzumischen von verschiedenen Siloxanen in unterschiedlichen Konzentrationen gezielt verändert. Eine Übersicht, über die verschiedenen Mischungen und Modifizierungen ist in der Abbildung 5-24 dargestellt.

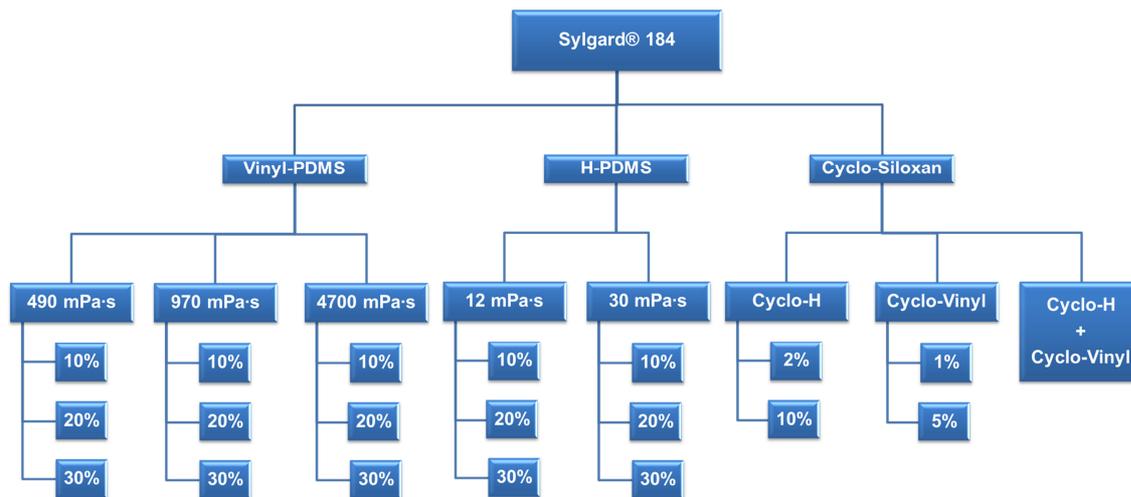


Abbildung 5-24: Schema zur Modifizierung des Sylgard® 184 mit verschiedenen Siloxanen in unterschiedlichen Konzentrationen.

Addition von H-PDMS (12 mPa·s)

Die Moduln G' und G'' von mit H-PDMS (12 mPa·s) modifizierten Sylgard® sind in der Abbildung 5-25 gezeigt. Eine vergleichende Übersicht über die Moduln und deren Verlustfaktoren ($\tan \delta$) der H-PDMS-modifizierten Sylgard®-Proben ist in der Tabelle 5-2 dargestellt.

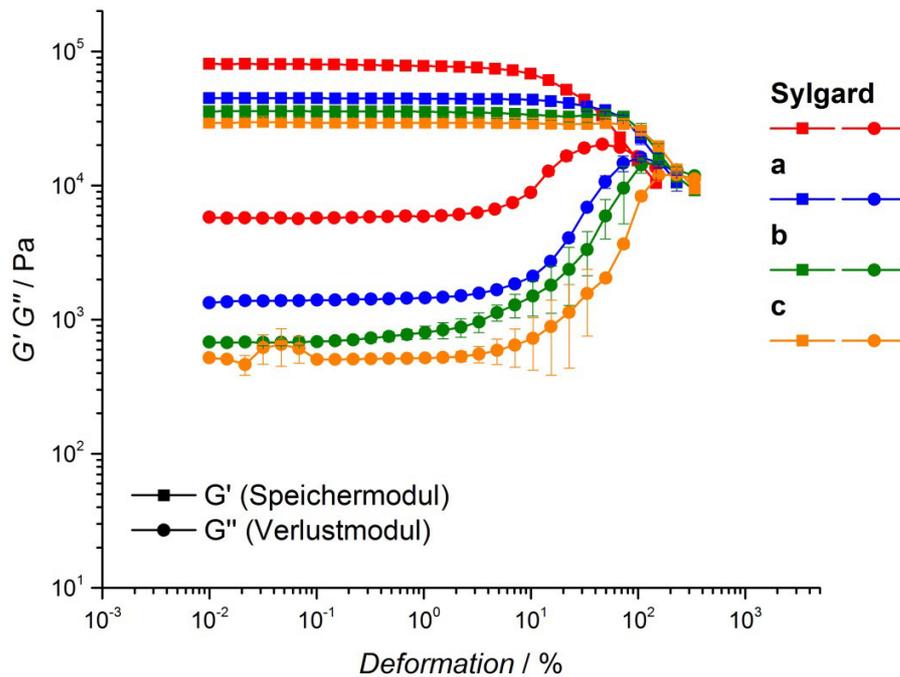


Abbildung 5-25: Addition von H-PDMS (12 mPa·s). a) Sylgard® + 10% H-PDMS, b) Sylgard® + 20% H-PDMS, c) Sylgard® + 30% H-PDMS.

Das Hinzumischen von H-PDMS (12 mPa·s) führt im Vergleich zum reinem Sylgard® 184 bei allen Konzentrationen zu etwas weicheren Siliconen, was sich in einem leichten Abfall der Speichermoduln G' bemerkbar macht. Die Verlustmoduln G'' weisen ebenso einen deutlichen Abfall auf. Daraus resultiert, dass auch die Verlustfaktoren ($\tan \delta$) kleiner werden (Tabelle 5-2), was auf einen erhöhten elastischen Anteil in den Proben schließen lässt ($\tan \delta \rightarrow 0$). Hierbei nimmt der elastische Anteil mit zunehmender H-PDMS-Konzentration zu.

Addition von H-PDMS (29 mPa·s)

Auch das Hinzugeben von H-PDMS (29 mPa·s) mit unterschiedlichen Konzentrationen (Abbildung 5-26) führt zu einem leichten Abfall der Speichermoduln G' , was etwas weichere Silicone zur Folge hat. Die Verlustmoduln G'' weisen ähnlich wie bei dem H-PDMS mit 12 mPa·s einen deutlichen Abfall und somit kleinere Verlustfaktoren ($\tan \delta$) auf. Auch bei diesen Siliconen wird mit steigender H-PDMS-Konzentration der elastische Anteil erhöht.

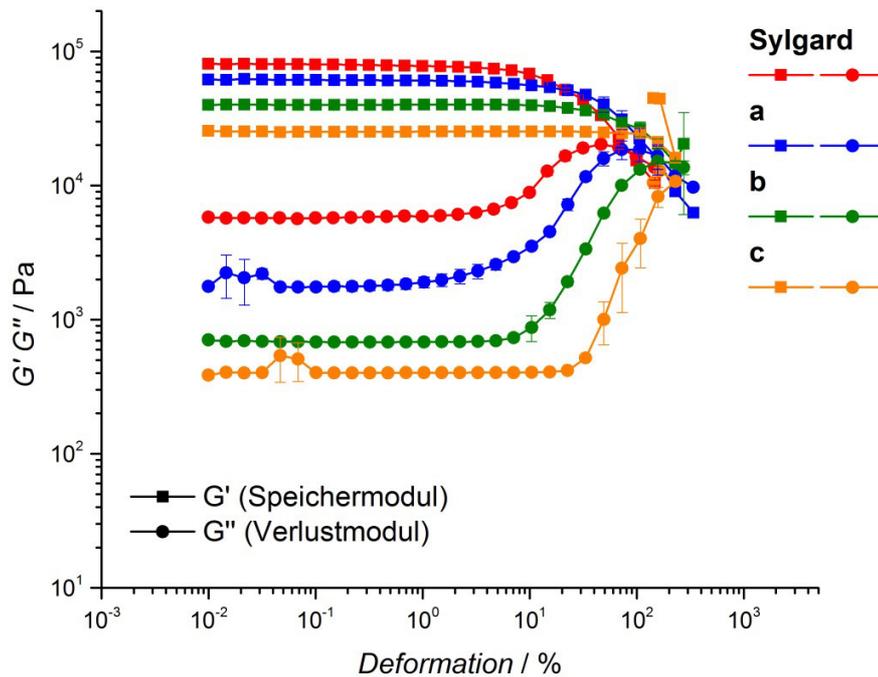


Abbildung 5-26: Addition von H-PDMS (29 mPa·s). a) Sylgard® + 10% H-PDMS, b) Sylgard® + 20% H-PDMS, c) Sylgard® + 30% H-PDMS.

Der Vergleich der unterschiedlichen H-PDMS-Silicone bei einer Deformation von 1% ist in der Tabelle 5-2 dargestellt. Es zeigt, dass mit steigender H-PDMS-Konzentration die Moduln (G' , G'') abnehmen. Auch sinken die Verlustfaktoren ($\tan \delta$) mit steigendem H-PDMS-Anteil, was auf eine Erhöhung des elastischen Anteils schließen lässt.

Die Viskosität und somit die Kettenlänge des hinzugemischten H-PDMS hat auf das viskoelastische Verhalten der Siliconproben kaum einen Einfluss, was sich an Hand der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) zeigen lässt. Die Verlustfaktoren sinken bei den Siliconen mit 12 mPa·s H-PDMS im gleichen Maße, wie bei den Siliconen mit 29 mPa·s H-PDMS. Auch die Festigkeit (G') der hergestellten Silicone sinkt bei beiden Viskositäten im gleichen Maße. Einzig die Proben, die mit 10% H-PDMS hergestellt wurden, zeigen deutliche Unterschiede in den Moduln. Im Vergleich zum H-PDMS mit 29 mPa·s führt das Hinzumischen von 10% H-PDMS mit 12 mPa·s zu etwas weicheren Siliconen. Das viskoelastische Verhalten ist bei beiden Proben mit $\tan \delta=0.03$ jedoch identisch.

Tabelle 5-2: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischem H-PDMS bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
12 mPa·s			
Sylgard®+10% H-PDMS	44000	1500	0.03
Sylgard®+20% H-PDMS	36000	800	0.02
Sylgard®+30% H-PDMS	29000	500	0.02
29 mPa·s			
Sylgard®+10% H-PDMS	61000	1900	0.03
Sylgard®+20% H-PDMS	40000	700	0.02
Sylgard®+30% H-PDMS	26000	400	0.02

Addition von Vinyl-PDMS (490 mPa·s)

Das Hinzugeben von Vinyl-PDMS hat ebenso eine Veränderung der viskoelastischen Eigenschaften des Sylgard® 184 zur Folge (Abbildung 5-27). Das Hinzufügen von 490 mPa·s Vinyl-PDMS führt je nach Konzentration zu geringfügig festeren oder weicheren Siliconen. Ein zusätzlicher Anteil von 10% Vinyl-PDMS (490 mPa·s) führt zu etwas festeren Siliconen, was sich in einem leicht erhöhten Speichermodul (G') manifestiert. Der Verlustmodul (G'') ist hingegen geringer, was aus einem gesteigerten elastischen Anteil herrührt. Die Addition von 20% Vinyl-PDMS (490 mPa·s) hat nahezu keinen Einfluss auf die Festigkeit des Siliconen. Der Speichermodul vom reinem Sylgard® 184 und des mit 20% Vinyl-PDMS modifizierten sind mit 78000 Pa (Sylgard® 184) und 73000 Pa nahezu identisch. Der Verlustmodul zeigt hingegen einen merklichen Abfall, der aus einem gesteigerten elastischen Anteil resultiert. Das Addieren von 30% Vinyl-PDMS (490 mPa·s) führt zu geringfügig weicheren Siliconen, was durch einen etwas geringeren Speichermodul gekennzeichnet ist. Im Vergleich zum Silicon mit 20% Vinyl-PDMS werden die elastischen Eigenschaften durch das Hinzumischen von 30% Vinyl-PDMS noch einmal erhöht, was sich durch einen geringeren Verlustmodul bemerkbar macht.

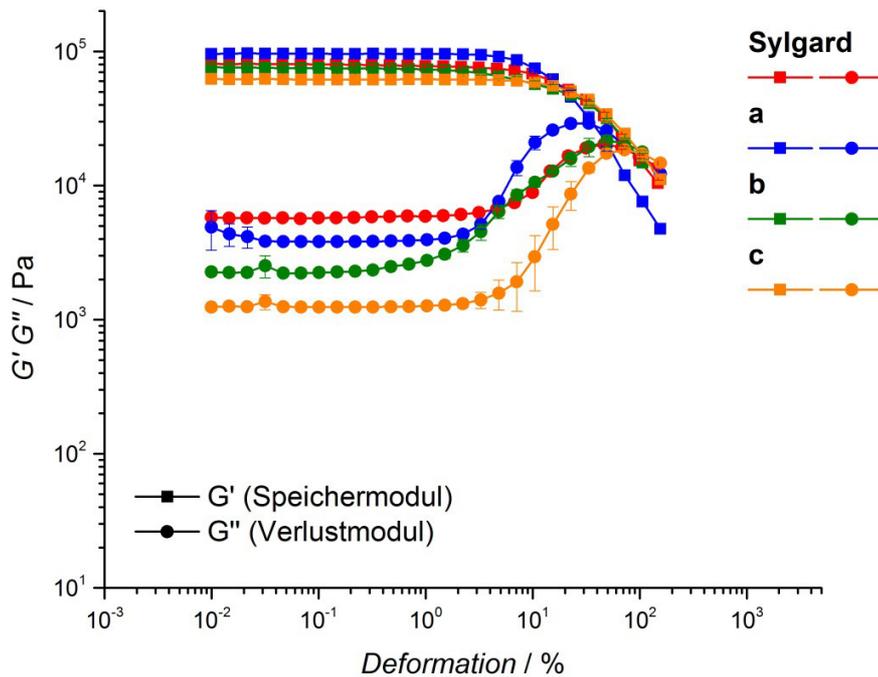


Abbildung 5-27: Addition von Vinyl-PDMS (490 mPa·s). a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS.

Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s)

Das Hinzumischen von 10% Vinyl-PDMS mit einer Viskosität von 970 mPa·s (Abbildung 5-28) führt ebenso zu leicht festeren Siliconen, was durch eine Anhebung des Speichermoduls von 78000 Pa (Sylgard® 184) auf 97000 Pa (10% Vinyl-PDMS mit 970 mPa·s) gekennzeichnet ist. Der elastische Anteil nimmt im Vergleich zum reinen Sylgard® 184 leicht zu, was sich in einem verringerten Verlustmodul und einem kleineren Verlustfaktor zeigt (Tabelle 5-3). Dahingegen nimmt die Festigkeit des Silicons bei einem zusätzlichen Anteil von 20% Vinyl-PDMS (970 mPa·s) ab, was ein geringeres Speichermodul hervorruft. Der elastische Anteil nimmt bei 20% Vinyl-PDMS und einer Viskosität von 970 mPa·s ebenfalls zu, was zu einem Sinken des Verlustfaktors von $\tan \delta=0.08$ vom reinen Sylgard® auf $\tan \delta=0.05$ führt. Das Hinzufügen von 30% Vinyl-PDMS (970 mPa·s) führt, im Vergleich zum reinen Sylgard® 184, zu marginal weicheeren Siliconen, jedoch im Vergleich zum Silicon mit 20% Vinyl-PDMS zu festeren Material. Auch bei diesem Silicon nimmt der elastische Anteil der Probe zu.

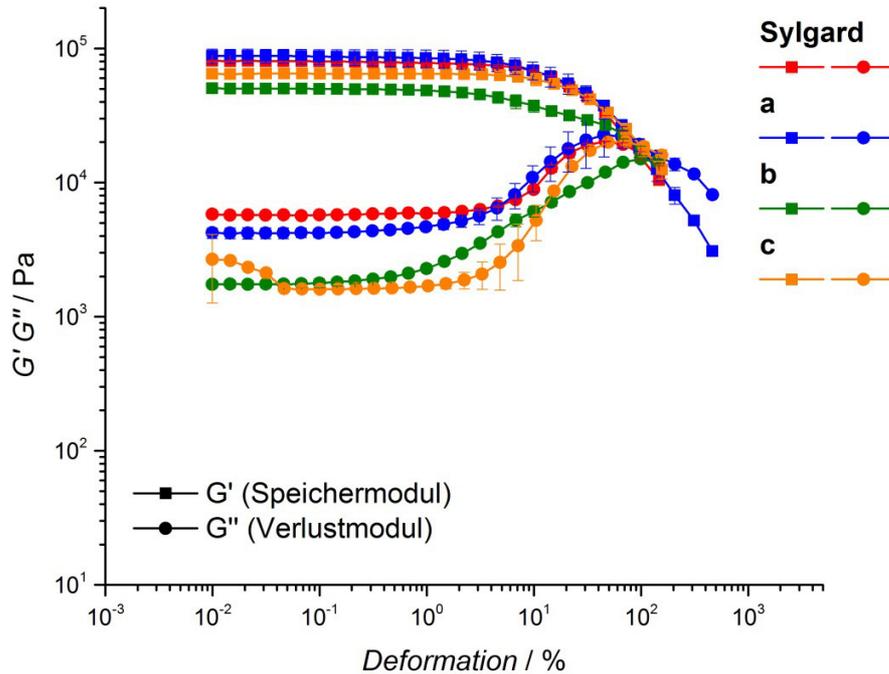


Abbildung 5-28: Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s). a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS.

Addition von Vinyl-PDMS (4700 mPa·s)

Wie in der Abbildung 5-29 zu sehen ist, wird die Festigkeit des Silicons durch das Hinzumischen von Vinyl-PDMS mit einer Viskosität von 4700 mPa·s je nach Additivkonzentration entweder erhöht oder gesenkt. Die elastischen Anteile nehmen hingegen mit steigender Vinyl-PDMS-Konzentration zu. Bei einem Anteil von 10% Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) wird die Festigkeit des Silicons erhöht. Der Speichermodul (G') steigt von 78000 Pa (Sylgard® 184) auf 100000 Pa. Der Verlustfaktor ($\tan \delta$) fällt hingegen von $\tan \delta=0.08$ (Sylgard® 184) auf $\tan \delta=0.05$, was auf einen gesteigerten elastischen Anteil zurückzuführen ist. Das Hinzumischen von 20% Vinyl-PDMS hat hingegen kaum einen Einfluss auf die Festigkeit, die Speichermoduln vom reinen Sylgard® 184 und vom Silicon mit 20% Vinyl-PDMS sind nahezu identisch. Jedoch wird durch die Hinzugabe von 20% Vinyl-PDMS der elastische Anteil erhöht was durch einen Verlustfaktor von $\tan \delta=0.03$ gekennzeichnet ist. Das Beimengen von 30% Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) führt zu weicheren Siliconen und somit zu einem Abfall des Speichermoduls (G'). Auch wird der elastische Anteil im Vergleich zu den anderen Vinyl-PDMS-Konzentrationen mit der Viskosität von 4700 mPa·s nochmals erhöht.

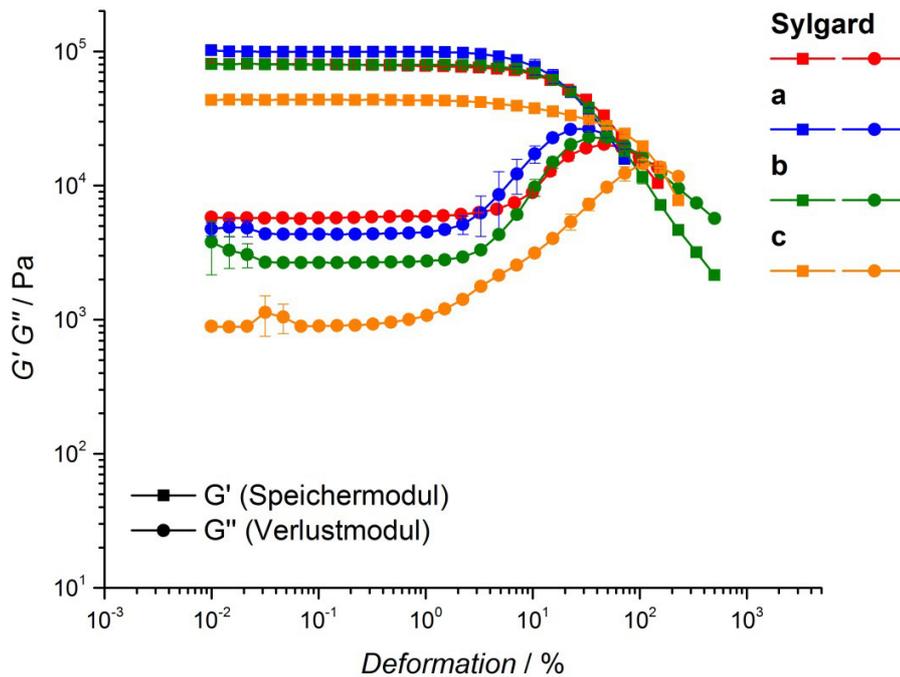


Abbildung 5-29: Addition von H-PDMS (4700 mPa·s). a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS.

Der Vergleich der mit Vinyl-PDMS modifizierten Siliconen bei einer Deformation von 1% ist in der Tabelle 5-3 gezeigt. Das Hinzumischen von Vinyl-PDMS führt in allen Fällen mit steigender Vinyl-PDMS-Konzentration zu einer Erhöhung des elastischen Anteils was durch einen Abfall der Verlustfaktoren gekennzeichnet ist. Es zeigt sich, dass ein zusätzlicher Anteil von 10% Vinyl-PDMS bei allen Viskositäten zu leicht festern Siliconen führt. Das ist durch einen gesteigerten Speichermodul (G') gekennzeichnet. Ein Mischungsverhältnis von 20% Vinyl-PDMS führt zu uneinheitlichen Resultaten. Im Fall der Silicone mit einer Viskosität von 490 mPa·s (73000 Pa) und 4700 mPa·s (80000 Pa) führt die Hinzugabe von 20% Vinyl-PDMS zu ähnlich Festen Siliconen, wie das reine Sylgard® 184 (78000 Pa). Eine Konzentration von 30% Vinyl-PDMS führt in allen Fällen zu weicheren Siliconen, was durch kleinere Speichermoduln (G') gekennzeichnet ist.

Tabelle 5-3: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem Vinyl-PDMS bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
490 mPa·s			
Sylgard®+10% Vinyl-PDMS	97000	3900	0.04
Sylgard®+20% Vinyl -PDMS	73000	2700	0.04
Sylgard®+30% Vinyl -PDMS	62000	1300	0.02
970 mPa·s			
Sylgard®+10% Vinyl -PDMS	84000	4700	0.06
Sylgard®+20% Vinyl -PDMS	49000	2300	0.05
Sylgard®+30% Vinyl -PDMS	65000	1700	0.03
4700 mPa·s			
Sylgard®+10% Vinyl -PDMS	10000	4600	0.05
Sylgard®+20% Vinyl -PDMS	80000	2700	0.03
Sylgard®+30% Vinyl -PDMS	43000	1000	0.03

Addition von Cyclo-Siloxanen

Eine weitere Modifikation des Sylgard® 184 erfolge durch das Hinzumischen von zyklischen Siloxanen (Abbildung 5-30). Dazu wurden 2% und 10% Cyclo-H, 1% und 5% Cyclo-Vinyl und eine Mischung aus 2% Cyclo-Vinyl plus 1% Cyclo-H zum Sylgard® 184 hinzugefügt. Die Zugabe der zyklischen Siloxanen führt bei allen Siliconen zu einer Steigerung des viskosen Anteils, was eine Erhöhung des Verlustmoduls (G'') zur Folge hat (Tabelle 5-4). Durch das Hinzumischen von 10% Cyclo-H werden die Silicone signifikant fester, was auch im Speichermodul (G') deutlich wird. Dieses steigt von 78000 Pa im Fall des reinen Sylgard® auf 100000 Pa. Auch die Mischung aus 2% Cyclo-Vinyl plus 1% Cyclo-H führt zu einem festeren Silicon. Hier steigt der Speichermodul auf 111000 Pa. Hingegen hat das Hinzumischen von 2% Cyclo-H bzw. 1% Cyclo-Vinyl kaum einen Einfluss auf die Festigkeit des Siliconen. Ein etwas weiches Silicon wird dagegen bei der Zumischung von 5% Cyclo-Vinyl erhalten.

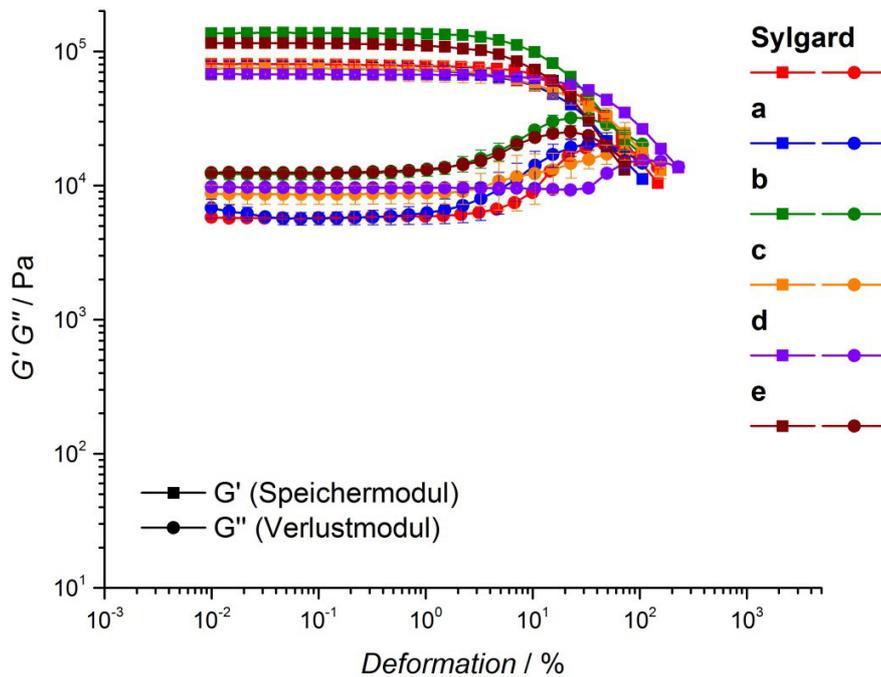


Abbildung 5-30: Addition von Cyclo-Siloxanen. a) Sylgard® + 2% Cyclo-H, b) Sylgard® + 10% Cyclo-H, c) Sylgard® + 1% Cyclo-Vinyl, d) Sylgard® + 5% Cyclo-Vinyl, e) Sylgard® + 2% Cyclo-Vinyl + 1% Cyclo-H.

Wie aus der Gegenüberstellung ersichtlich ist (Tabelle 5-4) steigt der Verlustfaktor $\tan \delta$ mit dem Zusatz von zyklischen Siloxanen. Das bedeutet, dass der viskose Anteil im Silicon ansteigt. Die Ursache für diesen Anstieg ist eine Substitution der H-PDMS- bzw. Vinyl-PDMS-Komponente aus dem Sylgard® 184 durch das jeweilige Cyclo-Siloxan. Daraus resultiert ein geringerer Grad von verknüpften PDMS-Komponenten. Diese langkettigen und unverknüpften PDMS-Einheiten erhöhen somit den viskosen Anteil. Im Fall der Zumischung von 10% Cyclo-H bzw. 2% Cyclo-Vinyl + 1% Cyclo-H erhöht sich der Speichermodul signifikant, was durch festere Silicone hervorgerufen wird. Hier zeigt sich, dass die kleinen zyklischen Siloxane die Silicon-Matrix stärker fixieren können. Durch die Substitution von den PDMS-Einheiten wird jedoch ebenso der viskose Anteil erhöht.

Tabelle 5-4: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem Cyclo-H und Cyclo-Vinyl bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
Sylgard® + 2% Cyclo-H	73000	6300	0.09
Sylgard® + 10% Cyclo-H	140000	13100	0.10
Sylgard® + 1% Cyclo-Vinyl	73000	8800	0.12
Sylgard® + 5% Cyclo-Vinyl	67000	9700	0.14
Sylgard® + 2% Cyclo-Vinyl + 1 % Cyclo-H	111000	13100	0.10

Addition von H-PDMS (12 mPa·s) und 5% Cyclo-Vinyl-Siloxan

In weiteren Versuchen wurden Kombinationen aus H-PDMS und 5% Cyclo-Vinyl-Siloxan zum Sylgard® 184 hinzugegeben (Abbildung 5-31). Der zusätzliche Anteil von H-PDMS mit einer Viskosität von 12 mPa·s führt im Fall von 10% und 30% H-PDMS zu einer leicht erhöhten Festigkeit der Silicone, was eine Steigerung des Speichermoduls (G') zur Folge hat. Beim Hinzumischen von 20% H-PDMS und 5% Cyclo-Vinyl bleibt die Festigkeit des Sylgard® unverändert. Im Fall von 10% H-PDMS und 5% Cyclo-Vinyl wird der viskose Anteil leicht erhöht. Der Verlustmodul steigt von $\tan \delta=0.08$ vom reinen Sylgard® 184 auf $\tan \delta=0.09$. Ein Mischungsanteil von 20% H-PDMS und 5% Cyclo-Vinyl führt hingegen zu keiner nennenswerten Veränderung des viskoelastischen Verhaltens. Das Hinzufügen von 30% H-PDMS und 5% Cyclo-Vinyl erhöht hingegen den elastischen Anteil des Silicons, was einen kleineren Verlustfaktor zur Folge hat. Das viskoelastische Verhalten ändert sich beim Hinzumischen von 5% Cyclo-Vinyl und H-PDMS (12 mPa·s) nur geringfügig, was durch die Verlustfaktoren gekennzeichnet ist.

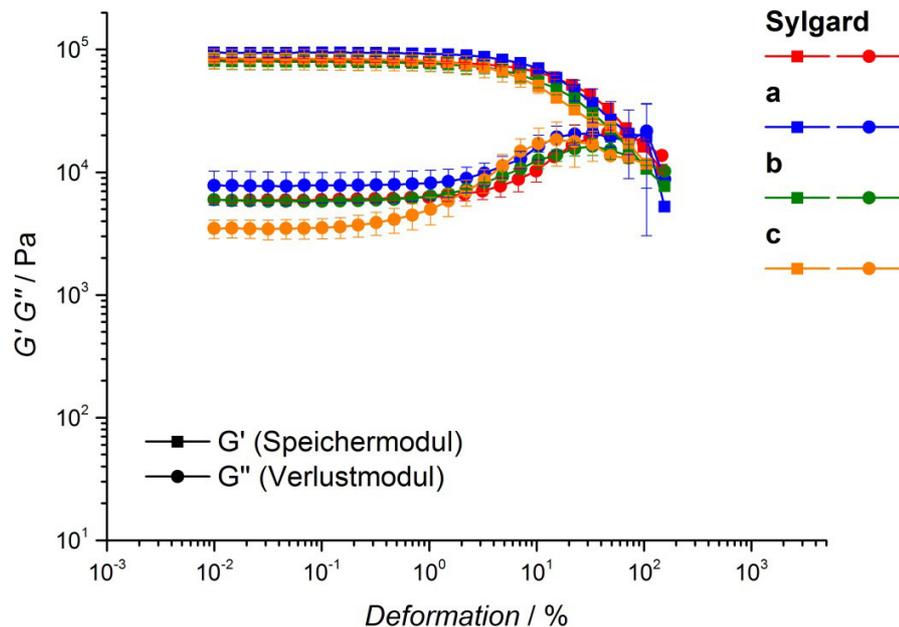


Abbildung 5-31: Addition von H-PDMS (12 mPa·s) und 5% Cyclo-Vinyl. a) Sylgard® + 10% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, b) Sylgard® + 20% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, c) Sylgard® + 30% H-PDMS + Cyclo-Vinyl.

Addition von H-PDMS (29 mPa·s) und 5% Cyclo-Vinyl-Siloxan

Das Hinzumischen von H-PDMS mit einer Viskosität von 29 mPa·s und 5% Cyclo-Vinyl zum Sylgard® 184 führt zu sehr unterschiedlichen Siliconen (Abbildung 5-32). Ein Anteil von 10% und 20% H-PDMS (29 mPa·s) führt zu merklich weicheren Siliconen mit einer erhöhten viskosen Komponente. Die Speichermoduln (G') sinken von 78000 Pa auf 40000 Pa im Fall des 10% H-PDMS und auf 12100 Pa im Fall des 20% H-PDMS. Die Verlustfaktoren, die das viskoelastische Verhalten einer Probe beschreiben, steigen von $\tan \delta=0.08$ (Sylgard® 184) auf $\tan \delta=0.15$ (10% H-PDMS) und auf $\tan \delta=0.27$ (20% H-PDMS), was auf einen erhöhten viskosen Anteil schließen lässt. Eine Konzentration von 30% H-PDMS führt hingegen zu einem festeren Silicon ($G'=97000$ Pa) mit einem leicht erhöhten elastischen Anteil ($\tan \delta=0.06$).

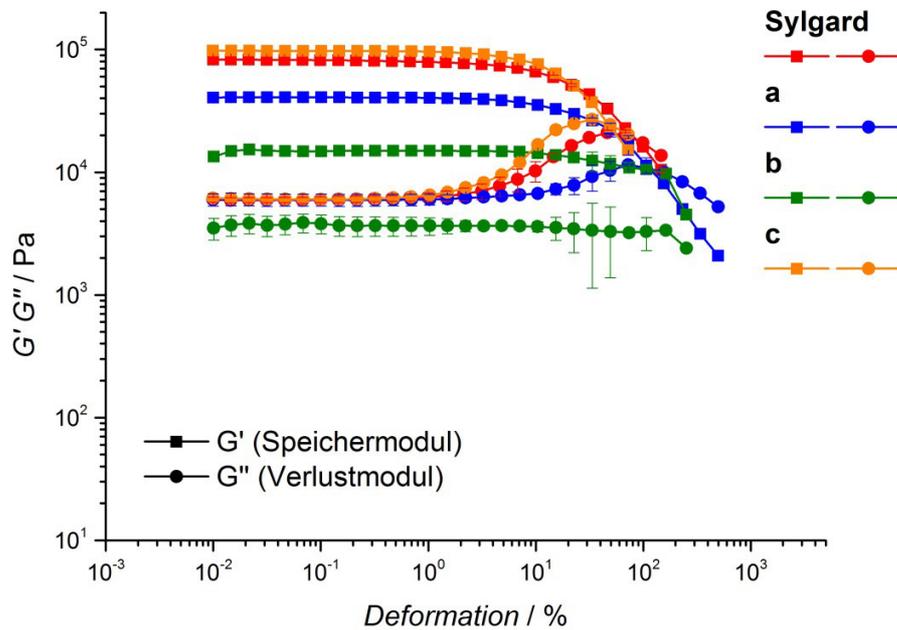


Abbildung 5-32: Addition von H-PDMS (29 mPa·s) und 5% Cyclo-Vinyl. a) Sylgard® + 10% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, b) Sylgard® + 20% H-PDMS + Cyclo-Vinyl, c) Sylgard® + 30% H-PDMS + Cyclo-Vinyl.

Eine Gegenüberstellung der mit H-PDMS plus 5% Cyclo-Vinyl-Siloxan modifizierten Siliconen ist in der Tabelle 5-5 gezeigt. Die Resultate aus den rheologischen Messungen zeigen, dass der Einbau und die Verknüpfung des hinzugegebenen H-PDMS und Cyclo-Vinyl-Siloxan abhängig von den eingesetzten Konzentrationen sind. Das wird aus den Eigenschaftsveränderungen innerhalb einer H-PDMS-Gruppe ersichtlich. Im Fall des H-PDMS (12 mPa·s) steigen die Speichermoduln des Siliconen bei einer Mischungskonzentration von 10% und 30%; bei 20% H-PDMS hingegen bleibt der Speichermodul auf reinem Sylgard®-Niveau. Bei den Siliconen, die mit 29 mPa·s H-PDMS hergestellt wurden, fällt der Speichermodul hingegen bei einer H-PDMS-Konzentration von 10% und 20%. Auch zeigen die Verlustfaktoren, dass ein höherer viskoser Anteil vorliegt. Daraus folgt, dass mehr unverknüpfte Einheiten im Silicon vorliegen. Eine Konzentration von 30% H-PDMS hat hingegen zur Folge, dass der Speichermodul steigt und der Verlustfaktor sinkt. Diese rheologischen Daten resultieren aus einem erhöhten Verknüpfungsgrad.

Tabelle 5-5: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem H-PDMS und 5 % Cyclo-Vinyl bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
12 mPa·s			
Sylgard® + 10% H-PDMS + 5% Cyclo-Vinyl	92000	8200	0.09
Sylgard® + 20 H-PDMS + 5% Cyclo-Vinyl	77000	6200	0.08
Sylgard® + 30% H-PDMS + 5% Cyclo-Vinyl	80000	5000	0.06
29 mPa·s			
Sylgard® + 10% H-PDMS + 5% Cyclo-Vinyl	40000	6000	0.15
Sylgard® + 20% H-PDMS + 5% Cyclo-Vinyl	12000	3200	0.27
Sylgard® + 30% H-PDMS + 5% Cyclo-Vinyl	97000	5600	0.06

Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und 5% Cyclo-H-Siloxan

Das Hinzumischen von 970 mPa·s Vinyl-PDMS und 5% Cyclo-H führt unabhängig von der Vinyl-PDMS-Konzentration zu weicheren Siliconen, was sich durch einen Abfall der Speichermoduln kennzeichnet (Abbildung 5-33). Der viskoelastische Anteil verändert sich hingegen in Abhängigkeit der eingesetzten Vinyl-PDMS-Konzentration; hierbei nimmt der elastische Anteil mit steigender Vinyl-PDMS-Konzentration zu. Im Fall des mit 10% Vinyl-PDMS modifizierten Silicons verändert sich der Verlustfaktor im Vergleich zum reinen Sylgard® 184 nicht. Erst ab einer Vinyl-PDMS-Konzentration von 20% sinkt der Verlustfaktor auf $\tan \delta=0.06$ bzw. auf $\tan \delta=0.04$ im Fall von einer Zumischung von 30% Vinyl-PDMS.

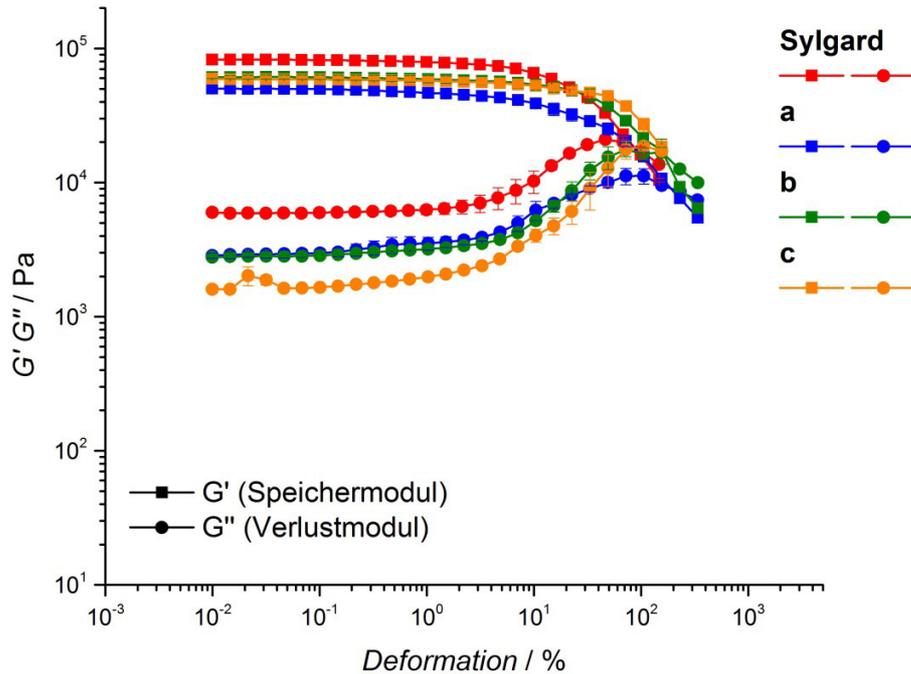


Abbildung 5-33: Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und 5% Cyclo-H. a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS + Cyclo-H.

Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und 10% Cyclo-H-Siloxan

Die Modifikation von Sylgard® mit 970 mPa·s Vinyl-PDMS und 10% Cyclo-H zeigt ein uneinheitliches rheologisches Verhalten und folgt keinem Trend (Abbildung 5-34). Bei einer Konzentration von 10% Vinyl-PDMS fällt der Speichermodul von 78000 Pa (Sylgard® 184) auf 38000 Pa, was durch ein weiches Silicon hervorgerufen wird. Ebenso nimmt der elastische Anteil zu, was durch einen Abfall des Verlustfaktors gekennzeichnet ist. Das Hinzumischen von 20% Vinyl-PDMS hat hingegen zur Folge, dass das Silicon geringfügig weicher wird als das reine Sylgard®, jedoch fester als bei einer Konzentration von 10% Vinyl-PDMS. Der viskoelastische Anteil zeigt hingegen kaum einen Unterschied im Vergleich zum reinen Sylgard®. Eine Konzentration von 30% Vinyl-PDMS führt ebenso zu weicherem Siliconen. Der Speichermodul liegt mit 51000 Pa zwischen dem des reinen Sylgard® 184 (78000 Pa) und dem des mit 10% Vinyl-PDMS modifizierten Silicons (38000 Pa). Im Vergleich zum 10% Vinyl-PDMS besitzt das mit 30% Vinyl-PDMS hergestellten Siliconen einen kleineren Verlustfaktor mit $\tan \delta = 0.05$ und zeigt somit einen größeren elastischen Anteil.

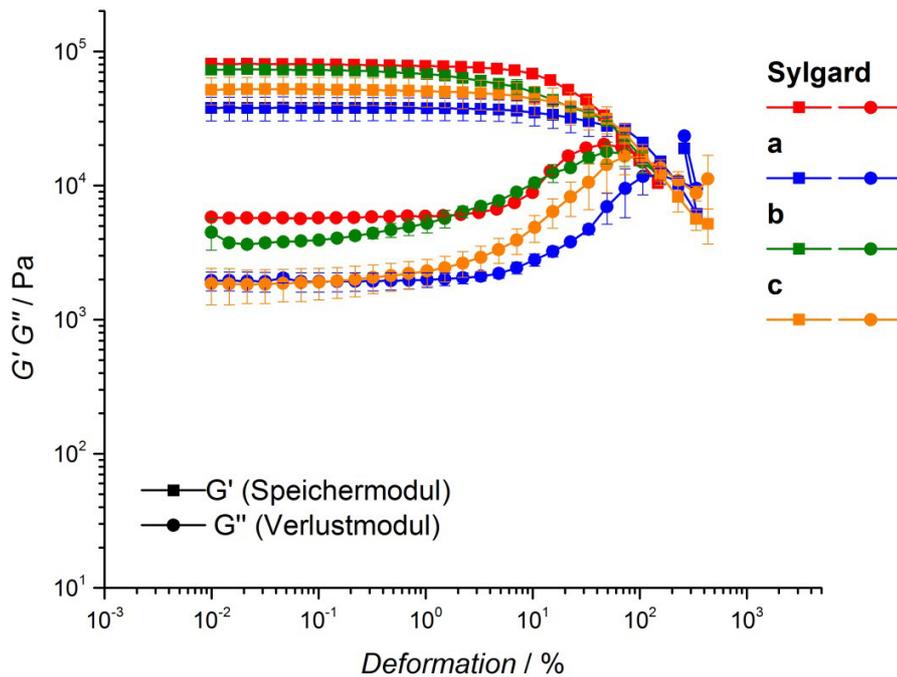


Abbildung 5-34: Addition von Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und 10% Cyclo-H. a) Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, b) Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS + Cyclo-H, c) Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS + Cyclo-H.

Wie die Gegenüberstellung in der Tabelle 5-6 zeigt, führt das Hinzumischen von Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und von Cyclo-H-Siloxan zu weicheren Siliconen mit zum Teil erhöhtem elastischen Anteil. Ein konzentrationsabhängiger Trend lässt sich jedoch nicht erkennen.

Tabelle 5-6: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® mit hinzugemischtem Vinyl-PDMS (970 mPa·s) und Cyclo-H bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS + 5% Cyclo-H	47000	3538	0.08
Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS + 5% Cyclo-H	59000	3204	0.06
Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS + 5% Cyclo-H	57000	1984	0.04
Sylgard® + 10% Vinyl-PDMS + 10% Cyclo-H	38000	2000	0.05
Sylgard® + 20% Vinyl-PDMS + 10% Cyclo-H	69000	5300	0.08
Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS + 10% Cyclo-H	51000	2300	0.05

Addition von H-PDMS (12 mPa·s) und 10% Pt-Katalysator zur Komponente-A des Sylgard®

Eine weitere Modifikationsstrategie ist die Substitution der unbekanntenen H-PDMS- und Katalysatorkomponente des Sylgard® 184 durch ein bekanntes H-PDMS und durch einen Platinkatalysator (Kapitel 4.3.2). Hierzu wurde das H-PDMS in unterschiedlichen Konzentrationen und in unterschiedlichen Viskositäten zu der Komponente A des Sylgard® 184 hinzugemischt.

In der Abbildung 5-35 sind die Moduln bei einer Beimischung von H-PDMS mit einer Viskosität von 12 mPa·s gezeigt. Das Hinzumischen von 5% H-PDMS bewirkt im Vergleich zum reinen Sylgard® 184 einen leichten Anstieg der Festigkeit, was sich in dem geringfügig erhöhten Speichermodul zeigt. Des Weiteren steigt der Verlustfaktor von $\tan \delta=0.08$ (Sylgard® 184) auf $\tan \delta=0.09$ was durch einen leicht erhöhten viskosen Anteil hervorgerufen wird. Höhere H-PDMS-Konzentrationen führen mit steigender Konzentration zu weicherer Siliconen und zu einer Erhöhung des elastischen Anteils.

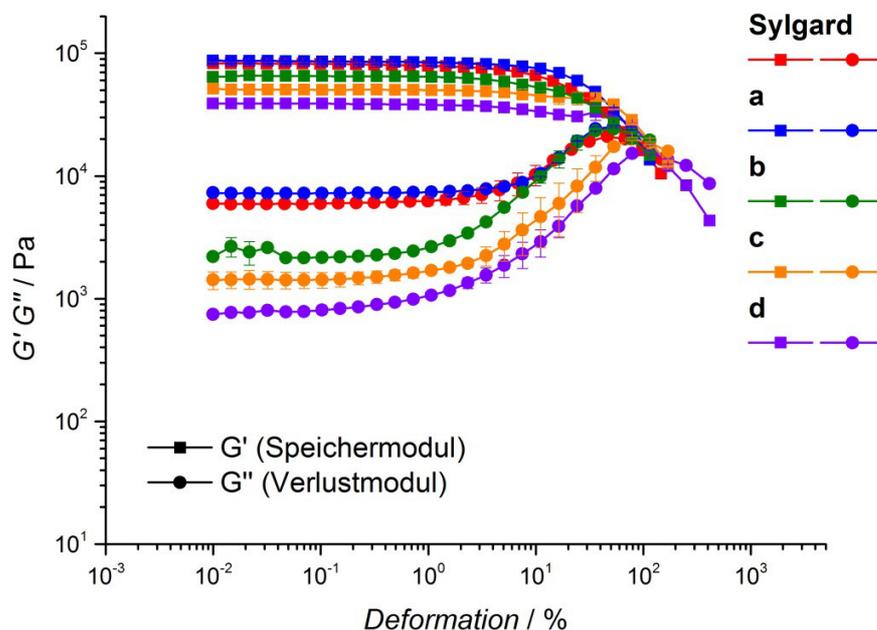


Abbildung 5-35: Addition von H-PDMS (12 mPa·s) und 10% Pt-Katalysator zur A-Komponente des Sylgard®. a) Sylgard® (A) + 5% H-PDMS, b) Sylgard® (A) + 10% H-PDMS, c) Sylgard® (A) + 15% H-PDMS, d) Sylgard® (A) + 20% H-PDMS.

Addition von H-PDMS (29 mPa·s) und 10% Pt-Katalysator zur Komponente-A des Sylgard®

Die Vernetzung des Sylgard® durch H-PDMS mit der Viskosität von 29 mPa·s (Abbildung 5-36) führt bei einer Konzentration von 5%, zu signifikant weicheren Siliconen und einem stark erhöhten viskosen Anteils. Das wird durch den geringen Speichermodul von 6500 Pa und durch den Verlustfaktor von $\tan \delta=0.18$ deutlich. Die Ursache dafür ist eine unzureichende Verknüpfung der Vinyl-Komponente. Die Steigerung der H-PDMS-Konzentration bewirkt eine Erhöhung des elastischen Anteils, was auf einen höheren Verknüpfungsgrad hindeutet. Dabei steigt der elastische Anteil mit steigender H-PDMS-Konzentration. Die Festigkeit der mit H-PDMS (29 mPa·s) hergestellten Silicone ist geringer als beim reinen Sylgard® und nahezu unabhängig von der Konzentration.

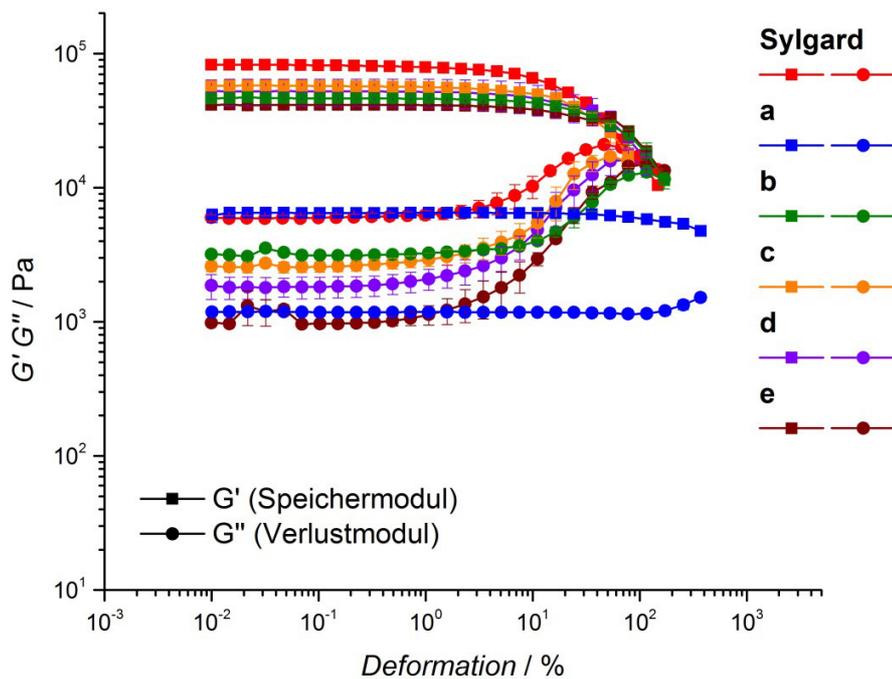


Abbildung 5-36: Addition von H-PDMS (29 mPa·s) und 10% Pt-Katalysator zur A-Komponente des Sylgard®. a) Sylgard® (A) + 5% H-PDMS, b) Sylgard® (A) + 10% H-PDMS, c) Sylgard® (A) + 15% H-PDMS, d) Sylgard® (A) + 17% H-PDMS, e) Sylgard® (A) + 20% H-PDMS.

Durch das Hinzumischen von H-PDMS mit unterschiedlichen Viskositäten und durch den Einsatz eines geeigneten Platinkatalysators ist es möglich die Vinyl-Komponenten des Sylgard® zu vernetzen. Hierbei hat die Viskosität und die Konzentration des H-PDMS Einfluss auf die Eigenschaften des Siliconen. Die Tabelle 5-7 zeigt, dass eine Konzentration von 5% H-PDMS mit einer Viskosität 12 mPa·s fast an die viskoelastischen Eigenschaften des reinen Sylgard® 184 herankommt. Höhere Anteile führen hingegen zu weicherem und elastischerem Siliconen. Das Hinzumischen von 29 mPa·s H-PDMS führt hingegen unabhängig von der Konzentration zu weicherem Siliconen.

Tabelle 5-7: Übersicht der Speichermoduln (G'), der Verlustmoduln (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Sylgard® (Komponente A) mit hinzugemischtem H-PDMS (29 mPa·s) und Platinkatalysator in Toluol bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
12 mPa·s			
Sylgard® (A) + 5% H-PDMS	85000	7400	0.09
Sylgard® (A) + 10% H-PDMS	65000	2600	0.04
Sylgard® (A) + 15% H-PDMS	50000	1700	0.03
Sylgard® (A) + 20% H-PDMS	38000	1100	0.03
29 mPa·s			
Sylgard® (A) + 5% H-PDMS	6500	1200	0.18
Sylgard® (A) + 10% H-PDMS	46000	3300	0.07
Sylgard® (A) + 15% H-PDMS	57000	2900	0.05
Sylgard® (A) + 17% H-PDMS	52000	2100	0.04
Sylgard® (A) + 20% H-PDMS	41000	1100	0.03

Herstellung von PDMS-Siliconen aus den Vinyl-PDMS- und H-PDMS-Komponenten

Des Weiteren wurden Silicone direkt aus unterschiedlichen Vinyl-PDMS- und H-PDMS-Komponenten generiert (Abbildung 5-37). Hierzu wurden unterschiedliche PDMS-Viskositäten miteinander kombiniert und mit Hilfe eines Platinkatalysators (Kapitel 4.3.2) vernetzt. Die so hergestellten Silicone weisen alle, im Vergleich zum Sylgard® 184, einen sehr weichen Charakter auf, was durch die niedrigeren Speichermoduln gekennzeichnet ist. Auch ist bei allen Proben der viskose Anteil erhöht, was stei-

gende Verlustfaktoren zur Folge hat. Das deutet auf einen, im Vergleich zum Sylgard® 184, geringeren Vernetzungsgrad der Silicone hin.

Im Fall des Vinyl-PDMS mit 970 mPa·s führt nur die Hinzumischung von 30% H-PDMS mit der Viskosität von 12 mPa·s zu festen Siliconen. Hierbei wird ein sehr weiches Silicon erhalten, was sich in einem Speichermodul von 2900 Pa darstellt. Der Verlustfaktor ist auch mit $\tan \delta = 0.12$ im Vergleich zum Sylgard® 184 deutlich erhöht, was durch einen höheren viskosen Anteil hervorgerufen wird. Bei dem Vinyl-PDMS mit 4900 mPa·s führen die Kombinationen von 20% und 30% H-PDMS (12 mPa·s) und 30% H-PDMS (29 mPa·s) zu festen Siliconen.

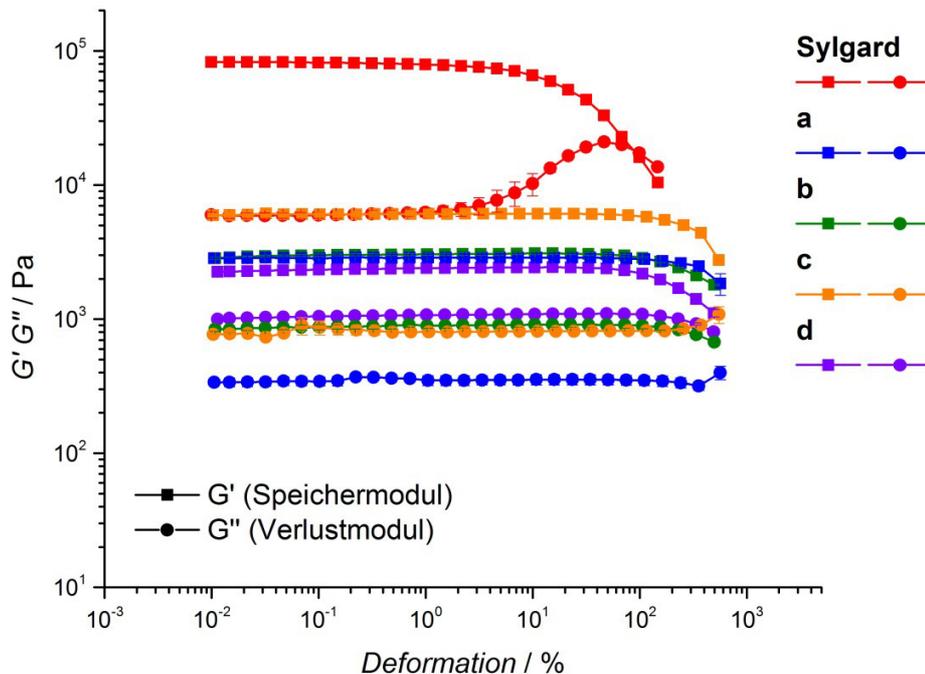


Abbildung 5-37: a) Vinyl-PDMS (970 mPa·s) + 30% H-PDMS (12 mPa·s), b) Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 20% H-PDMS (12 mPa·s), c) Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 30% H-PDMS (12 mPa·s), d) Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 30% H-PDMS (29 mPa·s).

Die Gegenüberstellung (Tabelle 5-8), der aus Vinyl-PDMS und H-PDMS hergestellten Silicone zeigt, dass der viskose Anteil bei dem höherviskosen Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) im Vergleich zum 970 mPa·s Vinyl-PDMS gesteigert ist. Der Speichermodul und somit auch die Festigkeit sinken mit steigender H-PDMS-Konzentration und mit

höherer Viskosität. Deutlich wird dieser Trend bei der Steigerung der Vinyl-PDMS-Konzentration (4700 mPa·s) von 20% auf 30% und der Vernetzung mit H-PDMS (12 mPa·s), hier fällt der Speichermodul von 6200 Pa auf 3100 Pa. Ebenso nimmt der viskose Anteil zu, was eine Steigerung des Verlustfaktors von $\tan \delta = 0.13$ auf $\tan \delta = 0.29$ zur Folge hat.

Die Verknüpfung des Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) mit dem höherviskosen H-PDMS (29 mPa·s) führt zu einer weiteren Reduzierung der Festigkeit. Der Speichermodul sinkt dabei auf 2400 Pa. Ebenso ist der Verlustfaktor noch einmal auf $\tan \delta = 0.45$ erhöht. Die Ursachen für den verringerten Vernetzungsgrad mit steigender Vinyl-PDMS-Konzentration liegen einerseits an einem Überschuss an Vinyl-Gruppen, sodass nicht mehr genügend Wasserstoffatome vom H-PDMS für eine Vernetzung zur Verfügung stehen, andererseits in dem Fehlen von Füllstoffen wie z. B. Silica, was zur Ausbildung eines Füllstoffnetzwerkes führt wie es im Sylgard® 184 vorhanden ist.

Tabelle 5-8: Übersicht der Speichermodul (G'), der Verlustmodul (G'') und der Verlustfaktoren ($\tan \delta$) von Vinyl-PDMS und H-PDMS bei einer Deformation von 1%.

	G' / Pa	G'' / Pa	$\tan \delta$
Sylgard®	78000	5900	0.08
Vinyl-PDMS (970 mPa·s) + 30% H-PDMS (12 mPa·s)	2900	350	0.12
Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 20% H-PDMS (12 mPa·s)	6200	800	0.13
Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 30% H-PDMS (12 mPa·s)	3100	900	0.29
Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) + 30% H-PDMS (29 mPa·s)	2400	1100	0.45

Rheologische Charakterisierung eines Knorpels

Für die rheologische Untersuchung (Abbildung 5-38) eines Knorpels wurde aus dem Tragus eines Schweines der Knorpel von DR. NILS PRENZLER von der MEDIZINISCHEN HOCHSCHULE HANNOVER herauspräpariert und in 0.5 mm dicke Scheiben geschnitten. Ebenso wurde die Dicke des Sylgard® 184 auf 0.5 mm mit Hilfe eines speziellen Schneidegerätes angepasst.

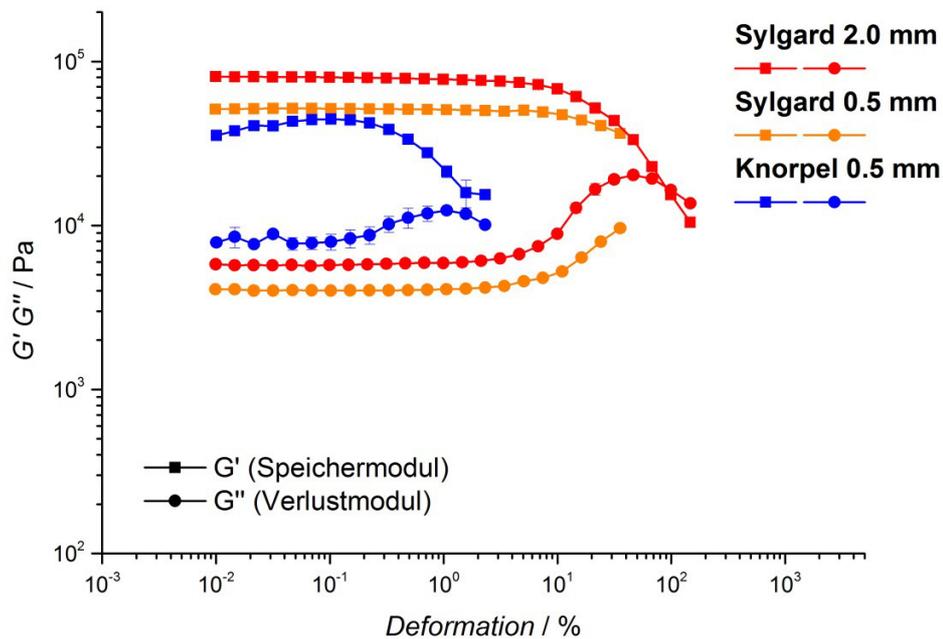


Abbildung 5-38: Moduln von einem Knorpel aus dem Tragus im Vergleich zum Sylgard® 184.

Es zeigt sich, dass die Festigkeit des Silicons stark von der Dicke der Probe abhängig ist. Das Sylgard® 184 weist bei einer Dicke von 2.0 mm eine, im Vergleich zu 0.5 mm, gesteigerte Festigkeit auf; die viskoelastischen Eigenschaften sind hingegen nicht von der Dicke der Probe abhängig. Der Speichermodul des Knorpels zeigt im Gegensatz zu allen Siliconproben kein lineares Verhalten, sondern steigt leicht bis zu einer Deformation von 0.1% an und fällt danach wieder ab. Dieses Verhalten deutet, wie zu erwarten, auf eine komplexe innere Struktur des Knorpels hin. Das schnelle Zusammenlaufen der Speicher- und Verlustmoduln ist auf das frühe Durchrutschen des sehr glatten Knorpels zwischen Rheometerplatte und Stempel zurückzuführen. Daher ist eine exakte Charakterisierung des Knorpels mit den in dieser Arbeit verwendeten Parametern nicht möglich. Der Verlustfaktor schwankt beim Knorpel zwischen 0.17 und 0.30 und deutet auf ein eher elastisches Material hin, zeigt jedoch im Vergleich zum Sylgard® einen etwas höheren viskosen Anteil. Der Verlustfaktor beim Sylgard® 184 ist hingegen im linearen Bereich mit 0.08 nahezu konstant.

5.3.2 Einbettung von Silica-Nanopartikel in die Siliconmatrix

Ein wichtiger Modulator für die Festigkeit und die viskoelastischen Eigenschaften von Siliconen sind Füllstoffe. Hierzu werden in der Regel Vinyl-funktionalisierte nichtporöse Silicapartikel verwendet.^[188] Durch die Vinyl-Funktionalisierung ist es möglich, den Füllstoff kovalent in die Siliconmatrix einzubauen, was in der richtigen Konzentration zur Ausbildung eines Füllstoffnetzwerkes führt. Unterhalb der Perkolationsschwelle wird kein zusammenhängendes Füllstoffnetzwerk ausgebildet und somit bleibt der verstärkende Effekt aus.^[35,36] Um die Eigenschaften der produzierten Silicone weitergehend einzustellen wurde versucht Vinyl-funktionalisierte mesoporöse Silica-Nanopartikel (MPSNP) in die Siliconmatrix einzubetten. Die Porosität der Nanopartikel lässt sich potenziell als Freisetzungssystem für Wirkstoffe nutzen.

Für die Einbettung der MPSNP wurden zwei unterschiedliche Strategien verfolgt, die sich jedoch als ausgesprochen anspruchsvoll erwiesen. Eine Möglichkeit der homogenen Einbettung von MPSNP ist das lösungsmittelassoziierte Einbringen. Hierzu wurden die MPSNP in Toluol dispergiert und die PDMS-Komponenten in dieser Dispersion gelöst. Nach dem Entfernen des Toluols mittels reduziertem Druck lassen sich die einzelnen Bestandteile mit Hilfe des Platinkatalysators verknüpfen. Die Ansatzgröße zeigte sich bei diesem Vorgehen als ein kritischer Faktor. Das Einbringen von bis zu 5% MPSNP in 2 g Silicon sind beim lösungsmittelassoziierten Einbetten in das Sylgard® 184 und in den aus den Einzelkomponenten hergestellten Siliconen möglich.

Eine Erhöhung der Ansatzgröße zeigt sich als schwer kontrollierbar, da das Entfernen des Toluols eine sukzessive Steigerung der Viskosität zur Folge hat und dadurch Siedeverzüge begünstigt werden. Daher war es nicht möglich ausreichend große Probekörper für die rheologische Charakterisierung zu erstellen. Auch die Einmischung von mehr als 5% mesoporöser Silica-Nanopartikel in das Silicon führt in keiner der ausgetesteten Siliconmischungen zu festen und homogenen Siliconen.

Die Nutzung von apolaren organischen Lösungsmitteln wie Toluol oder Hexan für das Einbringen der mesoporösen Silica-Nanopartikel ist für die Verwendung als Biomaterialien bedenklich. Wegen der Toxizität muss das Lösungsmittel vollständig aus dem Si-

liron entfernt werden. Da das Lösungsmittel in dem Polymernetzwerk durch VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen fixiert wird, ist das Entfernen ausgesprochen schwierig. Aus diesem Grund wurde eine weitere Strategie für das Einbringen der MPSNP untersucht. Hierzu werden die MPSNP direkt in die unvernetzte Siliconmatrix, wie in Abschnitt 4.3.6 beschrieben, eingearbeitet. Durch diese mechanische Einbettung wird die Verwendung von Lösungsmitteln umgangen. Die Einbringung von 5% MPSNP ist auch mit dieser Variante im kleinen Maßstab möglich, jedoch weisen die so hergestellten Silicone häufig Inhomogenitäten auf. Das Hinzumischen von mehr als 5% MPSNP erweist sich auch hier als schwierig, da durch das relativ große Füllstoffvolumen die Siliconmasse verklumpt und einen pastösen Charakter einnimmt. Auch durch das mechanische Einbringen war es nicht möglich größere Ansätze zu erzeugen. Bei Ansatzgrößen von mehr als 2 g Silicon, führten auch die im kleinen Maßstab erfolgreichen Mischungen nur zu gelartigen Siliconen. Der Grund für dieses *Scale-up*-Problem konnte nicht identifiziert werden.

5.3.3 Multihysteresezugversuche

Eine weitere Möglichkeit der Charakterisierung der Siliconproben sind Zugversuche. Dabei werden die Prüfkörper konstant in die Länge gezogen und der Traversenweg und die benötigte Kraft aufgezeichnet. Eine spezielle Form der Zugversuche sind Multihysteresezugversuche. Hierbei wird die Probe zyklisch gedehnt und wieder entlastet.

In der Abbildung 5-39 ist das Spannungs-Dehnungs-Diagramm des Multihystereseversuchs von Sylgard® 184 und von Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS (490 mPa·s) gezeigt. Es wurden pro Probe insgesamt 10 Stufen gefahren, die jeweils 5-mal wiederholt wurden. Das Diagramm zeigt, dass das reine Sylgard® 184 einen leichten Hystereseeffekt aufweist; dieses Hystereseverhalten ist jedoch weit aus geringer ausgeprägt als bei den bekannten Hysterese-materialen wie z. B. gefüllter Gummi. Das deutet darauf hin, dass die Füllstoffdichte im Sylgard® 184 gering ist. Das Hinzumischen von 30% Vinyl-PDMS führt zu einem weicherem Silicon mit einem erhöhten elastischen Anteil (Tabelle 5-3), jedoch verliert das Silicon durch die Modifizierung das Hystereseverhalten. Die Ursache für diesen Verlust ist die Tatsache, dass die Füllstoffkonzentration durch das Hinzumischen weiter gesenkt wird und somit die Füllstoffperkolationschwelle unter-

schritten wird.^[36] Unterhalb der Füllstoffperkolationschwelle kann kein Füllstoffnetzwerk ausgebildet werden.^[35,36] Gefüllte Elastomere zeigen im Gegensatz zu ungefüllten ein deformationsabhängiges, nichtlineares Verhalten, was auch als PAYNE-Effekt bezeichnet wird.^[184]

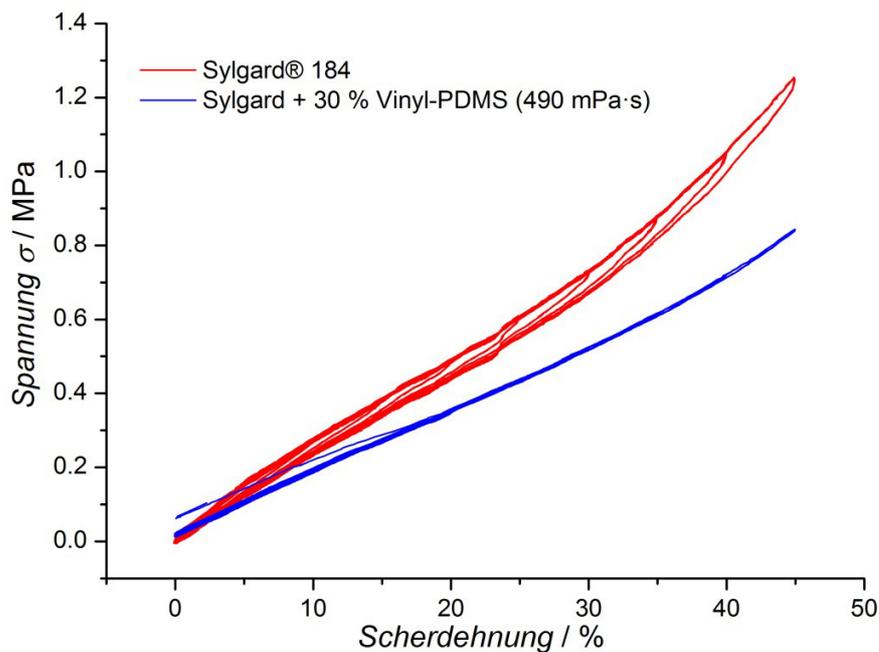


Abbildung 5-39: Spannungs-Dehnungs-Diagramm des Multihystereseversuchs von Sylgard® 184 und von Sylgard® + 30% Vinyl-PDMS (490 mPa·s).

5.3.4 Zusammenfassung

Die aufgeführten Versuche zeigen, dass das Sylgard® 184 durch das Hinzufügen von unterschiedlichen Siloxanen in seinen Eigenschaften signifikant manipuliert werden kann. Dabei sind die Moduln abhängig von der Probendicke. Der Verlustfaktor wird als Materialkonstante hingegen nicht von der Dicke der Probe beeinflusst. Bei allen Proben dominiert das elastische über das viskose Verhalten ($G' > G''$). Das Sylgard® 184 erweist sich in fetalem Kälberserum über einen Zeitraum von 14 Tagen als stabil und zeigt kaum Veränderungen in der Festigkeit und dem viskoelastischen Verhalten. Durch das Hinzumischen von H-PDMS lassen sich weichere Silicone mit einem deutlich erhöhten elastischen Anteil erzeugen. Die Eigenschaftsveränderungen des Sylgard® 184 durch die Addition von unterschiedlichen Vinyl-PDMS-Komponenten sind abhängig von der eingesetzten Vinyl-PDMS-Konzentration. Ein Anteil von 10% Vinyl-PDMS führt bei

allen getesteten Viskositäten zu festeren Siliconen. Höhere Vinyl-PDMS-Konzentrationen verursachen tendenziell weichere Silicone. Auch hat sich gezeigt, dass das höherviskose Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) eher zu festeren Siliconen führt. Die Erhöhung der Vinyl-PDMS-Komponente hat des Weiteren einen Anstieg des elastischen Anteils zur Folge. Da das Hinzugeben von H-PDMS weichere Silicone, 10% Vinyl-PDMS hingegen festere Silicone verursacht, deutet dies auf einen Überschuss an H-PDMS im reinen Sylgard® 184 hin. Mit dem Beimischen von zyklischen Siloxanen zum Sylgard® 184, lassen sich festere Silicone mit deutlich erhöhtem viskosen Anteil erzeugen. Keine eindeutige Tendenz lässt sich hingegen bei der Zumischung von 5% Cyclo-Vinyl und unterschiedlichen H-PDMS-Konzentrationen erkennen. Hier variieren die Festigkeiten stark und folgen keinem Trend. Die Kombination aus 5% Cyclo-H und unterschiedlichen Vinyl-PDMS-Konzentrationen führt zu weicheren Siliconen mit einem leicht erhöhten elastischen Anteil.

Ebenso wurden die H-PDMS-Komponente und der Katalysator des reinen Sylgard® 184 durch unterschiedliche H-PDMS-Sorten substituiert. Hier hatte die Beimischung von H-PDMS unterschiedlichste Eigenschaftsveränderungen zur Folge. Die Verwendung von 5% H-PDMS mit einer Viskosität von 12 mPa·s führte zu einer ähnlichen Festigkeit und vergleichbaren viskoelastischen Eigenschaften wie beim reinen Sylgard® 184.

Die Herstellung von Siliconen aus den einzelnen PDMS-Bestandteilen erwies sich als nicht trivial. Hier zeigte sich, dass ein exaktes Mischungsverhältnis von H-PDMS und Vinyl-PDMS und die richtige Kombination der Viskositäten entscheidend für die Festigkeit ist. Nur in einem engen Mischungsfenster ließen sich feste Silicone erzeugen. Schon kleinste Veränderungen führten zu gelartigen Siliconen. Auch zeigte sich, dass der Speichermodul G' durch das Fehlen von Füllstoffen und somit das nicht Vorhandensein eines Füllstoffnetzwerkes stark reduziert wird. Die Eigenschaftsveränderungen durch das Einbringen von mesoporösen Silica-Nanopartikeln war nicht erfolgreich. Hier ließen sich nur Füllstoffkonzentrationen von 5% in das Silicon einmischen. Ein *Scale-up* war nicht möglich.

Ein direkter rheologischer Vergleich zwischen Knorpel und Silicon ist nur bedingt möglich. Der Speichermodul zeigt beim Knorpel ein nicht lineares Verhalten, was auf die komplexe innere Struktur des Knorpels zurückzuführen ist, die Silicone weisen hingegen ein nahezu lineares Verhalten auf.

6 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurden im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 599 Strategien zur chemischen Modifizierung einer Mittelohrprothese untersucht. Eine Anforderung war es die Prothese antimikrobiell auszustatten um postoperative Infektionen lokal zu bekämpfen. Dazu wurden zwei unterschiedliche Systeme entwickelt und untersucht, einerseits eine persistente, aus positiv geladenen quartären Ammoniumgruppen bestehende Polymerbeschichtung, andererseits ein Freisetzungssystem für Silberionen auf Silicabasis. Des Weiteren wurden PDMS-Silicone für eine potenzielle Nutzung als Trommelfellkissen hergestellt und untersucht.

Für die Ausrüstung der Mittelohrprothese mit einer persistenten, antibakteriell wirkenden Polymerbeschichtung wurde das kommerziell erhältliche Polymer Poly(4-vinylpyridin) an das Substrat kovalent mit Hilfe eines speziell entwickelten Reaktors angebunden und mit unterschiedlichen Halogenalkanen alkyliert. Außerdem wurde versucht, die positive Ladungsdichte durch die Anbindung von quartärnisierten Bipyridin-Gruppen zu erhöhen. Die Charakterisierung mittels Kontaktwinkelmessungen und dem Fluoresceinfarbstofftest war nur bedingt möglich ist. Die Ergebnisse aus den Kontaktwinkelbestimmungen und den Fluoresceintests zeigten zum Teil unterschiedliche Tendenzen. Vor allem erwiesen sich sterische Abschirmeffekte bei größeren Alkylkettenlängen im Fluoresceintest als problematisch. Je länger die Alkylkette, desto besser werden die quartären Ammoniumgruppen von dieser abgeschirmt, sodass die Fluoresceinmoleküle nicht oder nur schwer mit der positiven Ladung wechselwirken können. Eine Quantifizierung der Ladungsdichte war somit nicht möglich. Ebenso zeigten keine der hergestellten und untersuchten Beschichtungen *in vitro* eine bakterizide Wirkung. Das als positive Referenz genutzte, kommerziell erhältliche, antimikrobielle Agens ODMA-Cl erwies sich als ebenfalls nicht wirksam. Die freien und ungebundenen, mit Alkylgruppen funktionalisierten Polymere zeigten in den Bakterientests hingegen eine bakterizide Wirkung. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die quartären Ammoniumgruppen zwar eine starke bakterizide Wirkung haben, jedoch durch Bestandteile in dem Nährmedium maskiert werden. Im Fall der freien Polymerketten können dagegen keine Maskierungseffekte auftreten.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die persistente antibakterielle Ausstattung von Implantaten auf herkömmlichem Weg nicht möglich ist. Die Maskierung der Implantatoberfläche mit Blut- und Gewebebestandteilen wie Fibronectin, Fibrinogen, Vitronectin, Laminin, Lektin, Kollagen und anderen Proteinen erfolgt *in vivo* sehr schnell, sodass eine bakterizide Wechselwirkung zwischen Bakterien und der beschichteten Implantatoberfläche verhindert wird.^[59] Eine effektive persistente antibakterielle Beschichtung muss die Adhäsion von maskierenden Substanzen verhindern, um wirksam sein zu können. Das bedeutet jedoch auch, dass die Besiedlung mit Zellen und Schleimhaut nachhaltig verhindert werden muss.

Eine erfolgversprechendere Methode bietet die Freisetzung antibakterieller Wirkstoffe. Am geeignetsten sind dafür Silberionen, da sie eine hohe antimikrobielle Aktivität haben und im Gegensatz zu Antibiotika gegen alle bekannten Bakterien und Viren eine abtötende Wirkung haben. Die Nebenwirkungen sind, wie im Abschnitt 2.5.3 erläutert, sehr gering und nur bei sehr hohen Silberkonzentrationen zu erwarten. Auf Basis von Silberionen konnten zwei verschiedene Silicabeschichtungen entwickelt werden, eine mesoporöse Silber-Silicabeschichtung und eine nicht poröse Silber-Silicabeschichtung. Die Beschichtung der Substrate erfolgte dabei mittels Dip-Coating. Beim mesoporösen Silicafilm konnten Silberionen durch eine Imprägnierung mit Silbernitrat eingebracht werden. Die Reduktion der Silberionen zu elementarem Silber-Nanopartikel erfolgte durch einen anschließenden Pyrolyseschritt.^[23]

Im Fall der nicht porösen Silicabeschichtung wurden zwei Varianten getestet, um Silber in die Silicamatrix einzubetten. Zum einen konnten mit Polyvinylpyrrolidon stabilisierte Silber-Nanopartikel (PVPO-Ag) in ein Silicasol eingebracht werden, zum anderen wurde Silbernitrat mit Hilfe des Kronenethers 18-Krone-6 direkt im Ethanol des Silicasols gelöst. Beide Filme wurden nach dem Beschichten calciniert, um einerseits die organischen Bestandteile zu entfernen und andererseits die Silberionen des Silbernitrats zu elementarem Silber zu reduzieren. Die Freisetzungseigenschaft der hergestellten Filme wurde in einer 0.154 M Natriumnitratlösung untersucht. Es zeigte sich, dass der nicht poröse Silber-Silicafilm, der PVPO-stabilisierte Silber-Nanopartikel enthielt, die geringste Konzentration an Silberionen freisetzte und der größte Anteil bereits am ersten Tag in einem *burst-release* freigesetzt wurde. Die Nutzung von PVPO-stabilisierten Silber-Nanopartikeln hat sich als nicht praktikabel erwiesen. Die in den Film eingebrachte Silbermenge ist zu gering, da die Nanoparti-

kel nur zu ungefähr 3% aus Silber bestehen und einen PVPO- und Wasser Anteil von 97% aufweisen. Die geringe Silberkonzentration in diesem Film spiegelt sich auch in der geringen Freisetzungsraterate wider. Eine fünffach höhere Steigerung der Silberkonzentration in dem nicht porösen Silicafilm konnte mit Hilfe des Kronenethers 18-Krone-6 erzielt werden. Die Freisetzungseigenschaft des mesoporösen Silber-Silicafilms ähnelt der des nicht porösen Silicafilm, der mittels 18-Krone-6 hergestellt wurde und bleibt über 12 Tage nahezu konstant. Am ersten Tag zeigten auch diese Filme eine erhöhte Silberfreisetzung, jedoch wiesen diese, im Gegensatz zum nicht porösen Silber-Silicafilm mit PVPO-Ag, über 12 Tage eine nahezu kontinuierliche Silberfreisetzung auf. Verglichen zum mesoporösen Silber-Silicafilm lässt sich die Silberkonzentration im nicht porösen Silber-Silicafilm sehr einfach und individuell über die Menge an Silbernitrat und Kronenether einstellen. Die erfolgreiche Generierung von elementaren Silber-Nanopartikeln konnte mittels Röntgendiffraktometrie nachgewiesen werden.

Die antibakterielle Aktivität wurde an Hand eines lumineszenten *Pseudomonas aeruginosa*-Stamms getestet. Sowohl der mesoporöse Silber-Silicafilm als auch der nicht poröse Silber-Silicafilm mit 18-Krone-6 wiesen bereits nach kurzer Zeit eine signifikante Reduktion von *Pseudomonas aeruginosa* auf. Dabei zeigte der nicht poröse Silber-Silicafilm, der mittels 18-Krone-6 hergestellt wurde, eine etwas schnellere Abtötung des *Pseudomonas*. Bereits nach einer Stunde war eine deutliche Bakterienreduktion zu erkennen. Im Fall des mesoporösen Silber-Silicafilms erfolgte hingegen erst nach drei Stunden eine signifikante Reduktion.

Die Testung der Zellkompatibilität wurde an Fibroblasten (NIH 3T3) und Osteosarkomzellen (MG-63) untersucht. Der nicht poröse Silber-Silicafilm, der mittels 18-Krone-6 hergestellt wurde, zeigte sowohl an Fibroblasten als auch Osteosarkomzellen eine gute Kompatibilität. Der mesoporöse Silber-Silicafilm wies hingegen eine relativ schlechte Fibroblastenkompatibilität auf, die Osteosarkomzellenkompatibilität war hingegen sehr gut.

Dieses Resultat zeigt, dass die Zellkompatibilität stark vom Zelltyp abhängig ist. Eine allgemeine Aussage über die Zellkompatibilität lässt sich daher nicht treffen. Da, wie bereits im Abschnitt 2.5.3 erläutert, die Zellkompatibilitätsbestimmungen

nur bedingt Rückschlüsse auf das Verhalten *in vivo* zulassen, sind *in vivo*-Studien der beschriebenen Materialien unerlässlich und in weiterführenden Studien geplant.

Des Weiteren wurden verschiedene Silicone für eine Verstärkung des Trommelfells entwickelt und untersucht. Hierzu konnten die viskoelastischen Eigenschaften des kommerziell erhältlichen Silicons Sylgard® 184 durch das Hinzufügen von unterschiedlichen Siloxanen verändert und mit Oszillationsversuchen rheologisch untersucht werden. Es zeigte sich dabei, dass die rheologischen Moduln abhängig von der Probendicke sind. Die Verlustfaktoren, als Materialkonstante, werden hingegen nicht von der Dicke der Probe beeinflusst. Die Biostabilität des Sylgard® 184 wurde in fetalem Kälberserum über einen Zeitraum von 14 Tagen untersucht. Dabei zeigten sich keine signifikanten Veränderungen in den mechanischen Eigenschaften der Proben, die Moduln waren nahezu konstant. Durch das Hinzumischen von H-PDMS war es möglich, weichere Silicone mit einem deutlich erhöhten elastischen Anteil zu erzeugen. Die Addition von unterschiedlichen Vinyl-PDMS-Komponenten ergaben konzentrationsabhängige Eigenschaftsveränderungen des Sylgard® 184. Bei allen getesteten Viskositäten führte ein Anteil von 10% Vinyl-PDMS zu festeren Siliconen. Mit steigenden Vinyl-PDMS-Konzentrationen wurden die Silicone hingegen tendenziell weicher. Ebenso führte das höherviskose Vinyl-PDMS (4700 mPa·s) zu etwas festeren Siliconen. Die Erhöhung des Vinyl-PDMS-Anteils hat außerdem eine Erhöhung des elastischen Anteils zur Folge. Die Erzeugung von festeren Siliconen war auch mit dem Hinzumischen von zyklischen Siloxanen zum Sylgard® 184 möglich. Im Gegensatz zu den Vinyl-PDMS-modifizierten Siliconen, ergab das Beimischen von zyklischen Siloxanen jedoch einen deutlich erhöhten viskosen Anteil.

Die Herstellung von Siliconen aus den einzelnen PDMS-Bestandteilen erwies sich als schwierig. Es zeigte sich, dass nur bestimmte Kombinationen von H-PDMS und Vinyl-PDMS, unter Einhaltung eines exakten Mischungsverhältnisses, zu festen Siliconen führten. Durch das Fehlen von Füllstoffen ist der Speichermodul G' stark reduziert, was sich durch weichere Silicone bemerkbar macht. Das Einbringen von Silica-Nanopartikeln als Füllstoff war nicht erfolgreich. Nur im kleinen Maßstab ließen sich Füllstoffkonzentrationen von 5% in das Silicon einmischen; ein *Scale-up* war nicht möglich.

Die rheologische Untersuchung des Knorpels zeigte, dass ein direkter Vergleich zum Silicon nur bedingt möglich ist. Der Speichermodul verlief beim Knorpel nicht linear, was durch die komplexe innere Struktur des Knorpels hervorgerufen wird. Um die Dämpfungscharakteristik der Silicone und somit die Eignung als Trommelfellkissen festzustellen, sind daher frequenzabhängige, akustische Messungen nötig. Außerdem wären Simulationsuntersuchungen hilfreich, die ein frequenz- und amplitudenabhängiges Dämpfungsverhalten der Silicone beschreiben. Somit könnten im Vorfeld Aussagen zu mechanischen Parametern wie Festigkeit, Viskoelastizität und zum Hystereseverlauf getroffen werden, um die Silicone danach anzupassen und zu optimieren.

7 Literatur

- [1] M. Engel, “Allianz gegen Implantat-Infektionen,” can be found under <http://www.dradio.de/dlf/sendungen/sprechstunde/1714998/>, **2012**.
- [2] V. Gärtner, H.-P. Scharf, *Orthopädie und Unfallchirurgie up2date* **2008**, 3, 233–246.
- [3] T. Lenarz, F.-W. Bach, I. Nolte, *Zukunftsfähige Bioresorbierbare Und Permanente Implantate Aus Metallischen Und Keramischen Werkstoffen*, Hannover Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, **2010**.
- [4] J. M. Schierholz, J. Beuth, *The Journal of Hospital Infection* **2001**, 49, 87–93.
- [5] G. Walter, *Hessisches Ärzteblatt* **2008**, 9, 565–570.
- [6] G. Walter, R. Hoffmann, *Krankenhaus-Hygiene+ Infektionsverhütung* **2009**, 9, 565–570.
- [7] N. Ehlert, A. Hoffmann, T. Luessenhop, G. Gross, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *Acta Biomaterialia* **2011**, 7, 1772–9.
- [8] N. Ehlert, M. Badar, A. Christel, S. J. Lohmeier, T. Luessenhop, M. Stieve, T. Lenarz, P. P. Mueller, P. Behrens, *Journal of Materials Chemistry* **2011**, 21, 752.
- [9] M. Stieve, T. Lenarz, *Medizintechnik Life Science Engineering* **2008**, 2, 1957–1971.
- [10] J. C. Tiller, C. J. Liao, K. Lewis, a M. Klibanov, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2001**, 98, 5981–5.
- [11] K. Chaloupka, Y. Malam, A. M. Seifalian, *Trends in Biotechnology* **2010**, 28, 580–8.
- [12] B. S. Atiyeh, M. Costagliola, S. N. Hayek, S. a Dibo, *Burns : Journal of the International Society for Burn Injuries* **2007**, 33, 139–48.
- [13] J. W. Alexander, *Surgical infections* **2009**, 10, 289–92.
- [14] H. S. Carr, T. J. Wlodkowski, H. S. Rosenkranz, *Antimicrob. Agents Chemother* **1973**, 4, 585–587.
- [15] C. L. Fox, *Archives of Surgery* **1968**, 96, 184.

- [16] B. De Gusseme, L. Sintubin, L. Baert, E. Thibo, T. Hennebel, G. Vermeulen, M. Uyttendaele, W. Verstraete, N. Boon, *Applied and Environmental Microbiology* **2010**, *76*, 1082–7.
- [17] A. Panáček, M. Kolár, R. Vecerová, R. Pucek, J. Soukupová, V. Krystof, P. Hamal, R. Zboril, L. Kvítek, *Biomaterials* **2009**, *30*, 6333–40.
- [18] H. H. Lara, N. V Ayala-Nuñez, L. Ixtepan-Turrent, C. Rodriguez-Padilla, *Journal of Nanobiotechnology* **2010**, *8*, 1.
- [19] A. Gupta, K. Matsui, J. F. Lo, S. Silver, *Nature Medicine* **1999**, *5*, 183–8.
- [20] S. Silver, *FEMS Microbiology Reviews* **2003**, *27*, 341–353.
- [21] S. L. Percival, P. G. Bowler, D. Russell, *The Journal of Hospital Infection* **2005**, *60*, 1–7.
- [22] “Citation Report: Topic=(silver antimicrobial),” can be found under http://apps.webofknowledge.com/CitationReport.do?product=UA&search_mode=CitationReport&SID=Y1C9jEpEbMon1PD08fo&page=1&cr_pqid=1&viewType=summary, **2013**.
- [23] C. Weiping, Z. Lide, *Journal of Physics: Condensed Matter* **1997**, *9*, 7257–7267.
- [24] I. Krueger, Dissertation: Auf Dem Weg Zu Neuartigen Biomaterialien: Nanoporöse Beschichtungen Und Organisch-anorganische Kompositwerkstoffe, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2006**.
- [25] N. Ehlert, T. Lüßenhop, I. Krueger, A. Feldhoff, M. Badar, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *BioNanoMaterials* **2013**, 1–13.
- [26] J. C. Vogt, G. Brandes, N. Ehlert, P. Behrens, I. Nolte, P. P. Mueller, T. Lenarz, M. Stieve, *Journal of Biomaterials Applications* **2009**, *24*, 175–91.
- [27] R. Lensing, A. Bleich, A. Smoczek, S. Glage, N. Ehlert, T. Luessenhop, P. Behrens, P. P. Müller, M. Kietzmann, M. Stieve, *Acta Biomaterialia* **2013**, *9*, 4815–25.
- [28] E. Steinbach, B. Karger, H. Hildmann, *Laryngo- Rhino- Otologie* **1992**, *71*, 11–4.
- [29] K.-B. Hüttenbrink, T. Zahnert, D. Beutner, G. Hofmann, *Laryngo- Rhino- Otologie* **2004**, *83*, 450–6.
- [30] E. Wintermantel, S.-W. Ha, *Medizintechnik Life Science Engineering*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2008**.
- [31] M. F. Harmand, F. Briquet, *Biomaterials* **1999**, *20*, 1561–71.

- [32] S.-J. Kim, J. K. Lee, J. W. Kim, J.-W. Jung, K. Seo, S.-B. Park, K.-H. Roh, S.-R. Lee, Y. H. Hong, S. J. Kim, et al., *Journal of Materials Science. Materials in Medicine* **2008**, *19*, 2953–62.
- [33] R. De Jaeger, M. Gleria, *Inorganic Polymers*, Nova Science Publishers, Hauppauge, New York, **2007**.
- [34] V. Sokolova, M. Epple, *Chemie in unserer Zeit* **2012**, *46*, 76–79.
- [35] R. Lv, W. Xu, B. Na, B. Chen, *Journal of Macromolecular Science, Part B* **2008**, *47*, 774–782.
- [36] G. Heinrich, M. Klüppel, *Advances in Polymer Science* **2002**, *160*, 1–44.
- [37] M.-J. Wang, *Rubber Chemistry and Technology* **1999**, *72*, 430–448.
- [38] M.-J. Wang, *Rubber Chemistry and Technology* **1998**, *71*, 520–589.
- [39] A. Faller, *Der Körper Des Menschen*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1995**.
- [40] H.-G. Boenninghaus, T. Lenarz, *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde*, Springer Verlag, Heidelberg, **2007**.
- [41] S. Schmid, Dissertation: Hörverbesserung Nach Tympanoplastik Typ III: Eine Medizinische Und Medizinisch-ökonomische Betrachtung, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, **2006**.
- [42] M. C. Killion, P. Dallos, *Journal of the Acoustical Society of America* **1979**, *66*, 599–602.
- [43] H.-P. Zenner, A. H. Gitter, *Physik in unserer Zeit* **1987**, *18*, 97–105.
- [44] L. Hall-Stoodley, F. Z. Hu, A. Gieseke, L. Nistico, D. Nguyen, J. Hayes, M. Forbes, D. P. Greenberg, B. Dice, A. Burrows, et al., *JAMA*, **2006**, *296*, 202–11.
- [45] F. Witte, *Laryngo-Rhino-Otologie* **2007**, *86*, 88–89.
- [46] P. A. Federspil, *AWMF online* **2010**.
- [47] F. H. Kayser, K. A. Bienz, J. Eckert, J. Lindemann, *Medizinische Mikrobiologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1989**.
- [48] *Psyhyrembel Klinisches Wörterbuch*, De Gruyter, Berlin, Boston, **2013**.
- [49] J. Strutz, W. Mann, *Praxis Der HNO-Heilkunde, Kopf- Und Halschirurgie*, Georg Thieme Verlag, **2010**.

- [50] H.-G. Kempf, T. Lenarz, K.-L. Eckert, in *Medizintechnik Life Science Engineering* (Eds.: E. Wintermantel, S.-W. Ha), Springer Berlin Heidelberg, **2009**, pp. 1951–1956.
- [51] H. Hildmann, B. Karger, E. Steinbach, *Laryngo-Rhino-Otologie* **2008**, *71*, 05–10.
- [52] W. Kollenberg, *Technische Keramik: Grundlagen, Werkstoffe Und Verfahrenstechnik*, Vulkan Verla, Essen, **2004**.
- [53] C. Turck, G. Brandes, I. Krueger, P. Behrens, H. Mojallal, T. Lenarz, M. Stieve, *Acta Oto-Laryngologica* **2007**, *127*, 801–8.
- [54] M. Neudert, M. Ney, T. Beleites, M. Bornitz, A. Kluge, T. Zahnert, *Abschlussbericht: Entwicklung Eines Neuartigen Prothesenkonzeptes Für Die Mittelohrchirurgie*, Dresden, **2006**.
- [55] J. C. Vogt, G. Brandes, I. Krüger, P. Behrens, I. Nolte, T. Lenarz, M. Stieve, *Journal of Materials Science. Materials in Medicine* **2008**, *19*, 2629–36.
- [56] T. J. Webster, C. Ergun, R. H. Doremus, R. W. Siegel, R. Bizios, *Journal of Biomedical Materials Research* **2000**, *51*, 475–83.
- [57] N. Poulalhon, D. Farge, N. Roos, C. Tacheau, C. Neuzillet, L. Michel, A. Mauviel, F. Verrecchia, *The Journal of biological chemistry* **2006**, *281*, 33045–52.
- [58] N. Ehlert, P. P. Müller, M. Stieve, P. Behrens, *Microporous and Mesoporous Materials* **2010**, *131*, 51–57.
- [59] J. M. Schierholz, C. Morszeck, N. Brenner, D. P. König, N. Yücel, M. Korenkov, E. Neugebauer, A. F. E. Rump, G. Waalenkamp, J. Beuth, et al., *Orthopäde* **2004**, *33*, 397–404.
- [60] W. E. STAMM, *Annals of Internal Medicine* **1978**, *89*, 764–769.
- [61] W. J. Martone, R. L. Nichols, *Clinical Infectious Diseases* **2001**, *33 Suppl 2*, S67–8.
- [62] A. Gristina, J. Costerton, *The Journal of Bone and Joint Surgery* **1985**, *67*, 264–273.
- [63] J. W. Costerton, *Science* **1999**, *284*, 1318–1322.
- [64] J. W. Costerton, Z. Lewandowski, D. E. Caldwell, D. R. Korber, H. M. Lappin-Scott, *Annual Review of Microbiology* **1995**, *49*, 711–45.
- [65] G. O’Toole, R. Kolter, *Molecular Microbiology* **1998**, *30*, 295–304.

- [66] C. Fuqua, S. C. Winans, E. P. Greenberg, *Annual Review of Microbiology* **1996**, *50*, 727–51.
- [67] K. M. Gray, *Trends in Microbiology* **1997**, *5*, 184–8.
- [68] J. W. Costerton, B. Ellis, K. Lam, F. Johnson, a E. Khoury, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1994**, *38*, 2803–9.
- [69] W. Teughels, N. Van Assche, I. Sliepen, M. Quirynen, *Clinical Oral Implants Research* **2006**, *17 Suppl 2*, 68–81.
- [70] F. Widmer, *Clinical Infectious Diseases* **2001**, *33 Suppl 2*, S94–106.
- [71] D. Campoccia, L. Montanaro, C. R. Arciola, *Biomaterials* **2006**, *27*, 2331–9.
- [72] C. L. Nelson, *Archives of Surgery* **1979**, *114*, 778.
- [73] J. Horn, U. Schlegel, C. Krettek, K. Ito, *Journal of Orthopaedic Research* **2005**, *23*, 810–5.
- [74] W. Zimmerli, P. D. Lew, F. A. Waldvogel, *The Journal of Clinical Investigation* **1984**, *73*, 1191–200.
- [75] C. Pfaffenroth, A. Winkel, W. Dempwolf, L. J. Gamble, D. G. Castner, M. Stiesch, H. Menzel, *Macromolecular Bioscience* **2011**, *11*, 1515–25.
- [76] W. Heuer, A. Winkel, P. Kohorst, A. Lutzke, C. Pfaffenroth, H. Menzel, F.-W. Bach, J. Volk, G. Leyhausen, M. Stiesch, *Advanced Engineering Materials* **2010**, *12*, B609–B617.
- [77] G. Gao, D. Lange, K. Hilpert, J. Kindrachuk, Y. Zou, J. T. J. Cheng, M. Kazemzadeh-Narbat, K. Yu, R. Wang, S. K. Straus, *Biomaterials* **2011**, *32*, 3899–909.
- [78] N. Papo, Y. Shai, *Cellular and Molecular Life Sciences* **2005**, *62*, 784–90.
- [79] O. Bouloussa, F. Rondelez, V. Semetey, *Chemical Communications (Cambridge, England)* **2008**, 951–3.
- [80] E. Kenawy, Y. A.-G. Mahmoud, *Macromolecular Bioscience* **2003**, *3*, 107–116.
- [81] M. Zasloff, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1987**, *84*, 5449–53.
- [82] M. Zasloff, B. Martin, H. C. Chen, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1988**, *85*, 910–3.

- [83] T. Nakamura, H. Furunaka, T. Miyata, F. Tokunaga, T. Muta, S. Iwanaga, M. Niwa, T. Takao, Y. Shimonishi, *The Journal of biological chemistry* **1988**, *263*, 16709–13.
- [84] A. Kugel, S. Stafslie, B. J. Chisholm, *Progress in Organic Coatings* **2011**, *72*, 222–252.
- [85] P. R. Murray, a C. Niles, R. L. Heeren, *Journal of Clinical Microbiology* **1988**, *26*, 1884–6.
- [86] B. Gottenbos, H. C. van der Mei, F. Klatter, P. Nieuwenhuis, H. J. Busscher, *Biomaterials* **2002**, *23*, 1417–23.
- [87] R. H. Baney, *Textile Research Journal* **2010**, *81*, 504–511.
- [88] V. Sambhy, B. R. Peterson, A. Sen, *Langmuir* **2008**, *24*, 7549–58.
- [89] J. L. Speier, J. R. Malek, *Journal of Colloid and Interface Science* **1982**, *89*, 68–76.
- [90] F. Bauer, H.-J. Gläsel, U. Decker, H. Ernst, A. Freyer, E. Hartmann, V. Sauerland, R. Mehnert, *Progress in Organic Coatings* **2003**, *47*, 147–153.
- [91] D. Gidalevitz, Y. Ishitsuka, A. S. Muresan, O. Konovalov, A. J. Waring, R. I. Lehrer, K. Y. C. Lee, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2003**, *100*, 6302–7.
- [92] K. Matsuzaki, *Biochimica et Biophysica Acta* **1999**, *1462*, 1–10.
- [93] K. Matsuzaki, K. Sugishita, N. Fujii, K. Miyajima, *Biochemistry* **1995**, *34*, 3423–9.
- [94] S. Krishnan, R. J. Ward, A. Hexemer, K. E. Sohn, K. L. Lee, E. R. Angert, D. A. Fischer, E. J. Kramer, C. K. Ober, *Langmuir* **2006**, *22*, 11255–66.
- [95] R. Kügler, O. Bouloussa, F. Rondelez, *Microbiology (Reading, England)* **2005**, *151*, 1341–8.
- [96] I. Yudovin-Farber, N. Beyth, E. I. Weiss, A. J. Domb, *Journal of Nanoparticle Research* **2009**, *12*, 591–603.
- [97] R. G. Flemming, C. C. Capelli, S. L. Cooper, R. a Proctor, *Biomaterials* **2000**, *21*, 273–81.
- [98] C. Zhisheng Chen, S. L. Cooper, N. C. Beck Tan, *Chemical Communications* **1999**, 1585–1586.

- [99] R. D. Glover, J. M. Miller, J. E. Hutchison, *ACS nano* **2011**, *5*, 8950–7.
- [100] K. N. J. Stevens, S. Croes, R. S. Boersma, E. E. Stobberingh, C. van der Marel, F. H. van der Veen, M. L. W. Knetsch, L. H. Koole, *Biomaterials* **2011**, *32*, 1264–9.
- [101] “HyProtect - Bio-Gate,” can be found under <http://www.bio-gate.de/page.asp?lang=d&did=514&main=1&sec=1&third=1>, **2013**.
- [102] Q. Wang, Z. Dong, Y. Du, J. F. Kennedy, *Carbohydrate Polymers* **2007**, *69*, 336–343.
- [103] M. Ramchandani, D. Robinson, *Journal of Controlled Release* **1998**, *54*, 167–75.
- [104] T. Ung, L. M. Liz-Marza, *Langmuir* **1998**, *7463*, 3740–3748.
- [105] T. Lebold, C. Jung, J. Michaelis, C. Bräuchle, *Nano Letters* **2009**, *9*, 2877–83.
- [106] 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, *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114*, 10834–10843.
- [107] C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, J. S. Beck, *Nature* **1992**, *359*, 710–712.
- [108] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Fröba, *Angewandte Chemie* **2006**, *118*, 3290–3328.
- [109] C. J. Brinker, Y. Lu, A. Sellinger, H. Fan, *Advanced Materials* **1999**, *11*, 579–585.
- [110] N. Ehlert, P. P. Müller, M. Stieve, P. Behrens, *Microporous and Mesoporous Materials* **2010**, *131*, 51–57.
- [111] J. a. Calderón-Guillén, L. M. Avilés-Arellano, J. F. Pérez-Robles, J. González-Hernández, E. Ramos-Ramírez, *Surface and Coatings Technology* **2005**, *190*, 110–114.
- [112] A. Babapour, B. Yang, S. Bahang, W. Cao, *American Institute of Physics* **2012**, 681–684.
- [113] H.-J. Jeon, S.-C. Yi, S.-G. Oh, *Biomaterials* **2003**, *24*, 4921–4928.
- [114] G. De, A. Licciulli, C. Massaro, L. Tapfer, M. Catalano, G. Battaglin, C. Meneghini, P. Mazzoldi, *Journal of Non-Crystalline Solids* **1996**, *194*, 225–234.
- [115] A. Thaler, B. . Cox, H. Schneider, *Inorganica Chimica Acta* **2003**, *351*, 123–132.

- [116] G. Zhao, S. E. Stevens, *Biometals* **1998**, *11*, 27–32.
- [117] “Micropur -Katadyn,” can be found under <http://www.katadyn.com/dede/katadyn-produkte/produkte/katadynshopconnect/katadyn-micropur-micropur-classic/micropur-classic-mc-1t/>, **2013**.
- [118] S. Chernousova, M. Epple, *Angewandte Chemie* **2013**, *125*, 1678–1696.
- [119] Tammo Lübenhop, Diplomarbeit: Präparation und Charakterisierung von Silberverbindungen im Hinblick auf ihre Antibakterielle Wirksamkeit, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2009**.
- [120] J. Liu, D. A. Sonshine, S. Shervani, R. H. Hurt, *ACS nano* **2010**, *4*, 6903–13.
- [121] W. Zhang, Y. Yao, N. Sullivan, Y. Chen, *Environmental Science & Technology* **2011**, *45*, 4422–8.
- [122] J. M. Schierholz, J. Beuth, G. Pulverer, D.-P. König, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1999**, *43*, 2819–2821.
- [123] A. B. G. Lansdown, *Advances in Pharmacological Sciences* **2010**, *2010*, 910686.
- [124] M. Rai, A. Yadav, A. Gade, *Biotechnology Advances* **2009**, *27*, 76–83.
- [125] W. Li, X. Xie, Q. Shi, *Applied Microbiology and Biotechnology* **2010**, 1115–1122.
- [126] Q. L. Feng, J. Wu, G. Q. Chen, F. Z. Cui, T. N. Kim, J. O. Kim, *Journal of Biomedical Materials Research* **2000**, *52*, 662–8.
- [127] I. Sondi, B. Salopek-Sondi, *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, *275*, 177–82.
- [128] P. Dibrov, J. Dzioba, K. K. Gosink, C. C. Hase, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2002**, *46*, 2668–2670.
- [129] O. Gordon, T. V. Slenters, P. S. Brunetto, A. E. Villaruz, D. E. Sturdevant, M. Otto, K. M. Fromm, V. Slenters, R. Landmann, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2010**, 4208–4218.
- [130] J. W. Alexander, *Surgical Infections* **2009**, *10*, 289–92.
- [131] M. Pollini, F. Paladini, M. Catalano, A. Taurino, A. Licciulli, A. Maffezzoli, A. Sannino, *Journal of Materials Science. Materials in Medicine* **2011**, *22*, 2005–12.
- [132] M. Beattie, J. Taylor, *Journal of Clinical Nursing* **2011**, *20*, 2098–108.

- [133] P. Lackner, R. Beer, G. Broessner, R. Helbok, K. Galiano, C. Pleifer, B. Pfausler, C. Brenneis, C. Huck, K. Engelhardt, *Neurocritical Care* **2008**, *8*, 360–5.
- [134] J. Tian, K. K. Y. Wong, C.-M. Ho, C.-N. Lok, W.-Y. Yu, C.-M. Che, J.-F. Chiu, P. K. H. Tam, *ChemMedChem* **2007**, *2*, 129–36.
- [135] V. Alt, T. Bechert, P. Steinrücke, M. Wagener, P. Seidel, E. Dingeldein, D. Scheddin, E. Domann, R. Schnettler, *Der Orthopäde* **2004**, *33*, 885–92.
- [136] M. Ip, S. L. Lui, V. K. M. Poon, I. Lung, A. Burd, *Journal of Medical microbiology* **2006**, *55*, 59–63.
- [137] A. Schmidt, *Pediatric Infectious Diseases Revisited*, Birkhäuser Basel, Basel, **2007**.
- [138] C. Jassoy, A. Schwarzkopf, *Mikrobiologie, Hygiene Und Infektiologie Für Pflegeberufe*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2013**.
- [139] D. Roe, B. Karandikar, N. Bonn-Savage, B. Gibbins, J.-B. Roullet, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2008**, *61*, 869–76.
- [140] “Comparison of Central Venous Catheters With Silver Nanoparticles Versus Conventional Catheters (NanoAgCVC),” can be found under <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT00337714>, **2011**.
- [141] I. Lazareth, S. Meaume, P. Combemale, T. Le Guyadec, A. Zagnoli, A. Sauvadet, S. Bohbot, *Wundmanagement* **2012**, *1*, 6–15.
- [142] U. Wunderlich, C. E. Orfanos, *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und Verwandte Gebiete* **1991**, *42*, 446–50.
- [143] W. Boucher, J. M. Stern, V. Kotsinyan, D. Kempuraj, D. Papaliadis, M. S. Cohen, T. C. Theoharides, *The Journal of Urology* **2008**, *179*, 1598–602.
- [144] K. C. Bhol, P. J. Schechter, *The British Journal of Dermatology* **2005**, *152*, 1235–42.
- [145] K. C. Bhol, P. J. Schechter, *Digestive Diseases and Sciences* **2007**, *52*, 2732–42.
- [146] J. B. Wright, K. Lam, A. G. Buret, M. E. Olson, R. E. Burrell, *Wound Repair and Regeneration* **2002**, *10*, 141–51.
- [147] D. M. Eby, H. R. Luckarift, G. R. Johnson, *ACS Applied Materials & Interfaces* **2009**, *1*, 1553–60.
- [148] V. Alt, T. Bechert, P. Steinrücke, M. Wagener, P. Seidel, E. Dingeldein, E. Domann, R. Schnettler, *Biomaterials* **2004**, *25*, 4383–91.

- [149] S. Pal, Y. K. Tak, J. M. Song, *Applied and Environmental Microbiology* **2007**, 1712–1720.
- [150] C. Greulich, D. Braun, A. Peetsch, J. Diendorf, B. Siebers, M. Epple, M. Köller, *RSC Advances* **2012**, 2, 6981.
- [151] M. Bosetti, A. Massè, E. Tobin, M. Cannas, *Biomaterials* **2002**, 23, 887–92.
- [152] C. D. Klaassen, *Toxicology and Applied Pharmacology* **1979**, 50, 49–55.
- [153] P. L. Drake, K. J. Hazelwood, *The Annals of Occupational Hygiene* **2005**, 49, 575–85.
- [154] J. P. Marshall, *Archives of Dermatology* **1977**, 113, 1077–1079.
- [155] S. H. Gulbranson, J. A. Hud, R. C. Hansen, *Cutis; Cutaneous Medicine for the Practitioner* **2000**, 66, 373–4.
- [156] Z. A. Karcioğlu, D. R. Caldwell, *Canadian Journal of Ophthalmology* **1985**, 20, 257–60.
- [157] A. Wadhera, M. Fung, *Dermatology Online Journal* **2005**, 11, 12.
- [158] H. Steininger, E. Langer, P. Stömmer, *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* **1990**, 115, 657–62.
- [159] A. B. G. Lansdown, *Critical Reviews in Toxicology* **2007**, 37, 237–50.
- [160] C. J. Coombs, A. T. Wan, J. P. Masterton, R. A. Conyers, J. Pedersen, Y. T. Chia, *Burns* **1992**, 18, 179–84.
- [161] M. C. Fung, D. L. Bowen, *Journal of Toxicology* **1996**, 34, 119–26.
- [162] World Health Organisation, *Silver in Drinking-water*, World Health Organisation, Geneva, **1996**.
- [163] S. S. Bleehen, D. J. Gould, C. I. Harrington, T. E. Durrant, D. N. Slater, J. C. Underwood, *The British Journal of Dermatology* **1981**, 104, 19–26.
- [164] Y. Tanita, T. Kato, K. Hanada, H. Tagami, *Archives of Dermatology* **1985**, 121, 1550–2.
- [165] S. Sato, H. Sueki, A. Nishijima, *The British Journal of Dermatology* **1999**, 140, 158–63.
- [166] J. W. Pifer, B. R. Friedlander, R. T. Kintz, D. K. Stockdale, *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* **1989**, 15, 210–21.

- [167] R. J. Pariser, *Archives of Dermatology* **1978**, *114*, 373–7.
- [168] T. Matsumura, M. Kumakiri, A. Ohkawara, H. Himeno, T. Numata, R. Adachi, *The Journal of Dermatology* **1992**, *19*, 87–93.
- [169] H. Blumberg, *JAMA* **1934**, *103*, 1521.
- [170] D. C. Sharma, P. Sharma, S. Sharma, *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* **1997**, *41*, 285–8.
- [171] Y. S. Kim, J. S. Kim, H. S. Cho, D. S. Rha, J. M. Kim, J. D. Park, B. S. Choi, R. Lim, H. K. Chang, Y. H. Chung, *Inhalation Toxicology* **2008**, *20*, 575–83.
- [172] J. H. Sung, J. H. Ji, J. U. Yoon, D. S. Kim, M. Y. Song, J. Jeong, B. S. Han, J. H. Han, Y. H. Chung, J. Kim, *Inhalation Toxicology* **2008**, *20*, 567–74.
- [173] B. W. East, K. Boddy, E. D. Williams, D. Macintyre, a L. Mclay, *Clinical and Experimental Dermatology* **1980**, *5*, 305–11.
- [174] M. Trop, M. Novak, S. Rodl, B. Hellbom, W. Kroell, W. Goessler, *The Journal of Trauma* **2006**, *60*, 648–52.
- [175] U.S. Department of Health and Human Resources, *12th Report on Carcinogens*, North Carolina, **2010**.
- [176] A. B. G. Lansdown, *Current Problems in Dermatology* **2006**, *33*, 17–34.
- [177] K. D. Rosenman, A. Moss, S. Kon, *Journal of Occupational Medicine* **1979**, *21*, 430–5.
- [178] T. S. Elliott, *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **1999**, *43*, 441–6.
- [179] S. A. Armitage, M. A. White, H. K. Wilson, *The Annals of Occupational Hygiene* **1996**, *40*, 331–8.
- [180] J. P. Berry, P. Galle, *Pathologie-Biologie* **1982**, *30*, 136–40.
- [181] J. Aaseth, A. Olsen, J. Halse, T. Hovig, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* **1981**, *41*, 247–51.
- [182] J. Ackermann, V. Damrath, *Chemie in unserer Zeit* **1989**, *23*, 86–99.
- [183] C. W. M. Mirta, I. Arangurent, Elsi Mora, *Rubber Chemistry and Technology* **1994**, *67*, 820–833.
- [184] A. R. Payne, *Journal of Applied Polymer Science* **1963**, *7*, 873–885.

- [185] K. J. Quinn, J. M. Courtney, *British Polymer Journal* **1988**, *20*, 25–32.
- [186] DOW CORNING CORPORATION, *Material Safety Data Sheet - Sylgard® 184*, **2011**.
- [187] Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, “Silicongel-gefüllte Brustimplantate der Hersteller Poly Implant Prothese (PIP) und Rofil Medical Nederland B.V.,” can be found under <http://www.bfarm.de/DE/Medizinprodukte/riskinfo/empfehlungen/PIP/pip-node.html>, **2013**.
- [188] DOW CORNING CORPORATION, “SYLGARD® 184 SILICONE ELASTOMER KIT,” can be found under <http://www.dowcorning.de/applications/search/default.aspx?R=131DE>, **2013**.
- [189] H. Hildmann, H. Sudhoff, *Middle Ear Surgery*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2006**.
- [190] C. Zöllner, J. Strutz, *Laryngo-Rhino-Otologie* **2008**, *66*, 517–521.
- [191] T. Kobayashi, K. Gyo, T. Shinohara, N. Yanagihara, *American Journal of Otolaryngology* **2002**, *23*, 222–227.
- [192] M. Tos, *Cartilage Tympanoplasty: Classifications of Methods - Techniques - Results*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2009**.
- [193] H. G. Chüden, *Archives of Oto-Rhino-Laryngology* **1981**, *231*, 584–588.
- [194] P. Tolsdorff, *Laryngo-Rhino-Otologie* **1983**, *62*, 97–102.
- [195] T. Young, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1805**, *95*, 65–87.
- [196] R. Tadmor, *Langmuir* **2004**, *20*, 7659–64.
- [197] Thomas G. Mezger, *Das Rheologie Handbuch*, Vincentz Network, Hannover, **2010**.
- [198] M. Suh, H.-J. Lee, J.-Y. Park, U.-H. Lee, Y.-U. Kwon, D. J. Kim, *Chemphyschem* **2008**, *9*, 1402–8.
- [199] A. Slistan-Grijalva, *Materials Research Bulletin* **2008**, *43*, 90–96.
- [200] Z.-A. Qiao, L. Zhang, M. Guo, Y. Liu, Q. Huo, *Chemistry of Materials* **2009**, *21*, 3823–3829.

-
- [201] O. Kufelt, Dissertation: Polymer-Silica-Materialien: ihre Bedeutung bei der Biomineralisation und in der Biomaterialforschung, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, **2010**.
- [202] O. Higa, S. Rogero, L. D. Machado, M. Mathor, A. Lugão, *Radiation Physics and Chemistry* **1999**, *55*, 705–707.
- [203] N. Ehlert, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *Chemical Society Reviews* **2013**, *42*, 3847–61.

Anhang

I Chemikalienverzeichnis

Chemikalienname	Chemikalien- abkürzung	CAS- Nummer	Lieferant
[3-(Trimethoxysilyl)propyl]octadecyl- dimethylammoniumchlorid (72%)	ODMA-Cl	27668-52-6	Sigma- Aldrich
1,8-Diaza-bicyclo[5.4.0]undec-7-en	DBU	6674-22-2	Sigma- Aldrich
1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecan, 18-Krone-6 (99%)	18C6	17455-13-9	ABCR
2,4,6,8-Tetramethyl-2,4,6,8- tetravinylcyclo-tetrasiloxan (97%)	Cyclo-Vinyl	2554-06-5	ABCR
2,4,6,8-Tetramethylcyclotetrasiloxan (95%)	Cyclo-H	2370-88-9	ABCR
3-Bromopropyltrimethoxysilan (97%)	BPTMS	51826-90-5	ABCR
4,4'-Bipyridin (98%)	Bipyridin	553-26-4	Sigma- Aldrich
Aceton (99.5%)		67-64-1	Sigma- Aldrich
Bromododekan	C ₁₂	143-15-7	Sigma- Aldrich
Bromohexan	C ₆	111-25-11	Sigma- Aldrich
Diethanolamin (98%)	DEA	111-42-2	Sigma- Aldrich
Ethanol absolut	EtOH	64-17-5	Merck
Hexadecyltrimethylammoniumbromid	CTAB	57-09-0	Sigma- Aldrich

Hydro-Poly(dimethylsiloxan) 12 mPa·s (Methylhydrosiloxan 50 mol %)	H-PDMS 12 mPa·s	68037-59-2	ABCR
Hydro-Poly(dimethylsiloxan) 29 mPa·s (Methylhydrosiloxan 17 mol %)	H-PDMS 29 mPa·s	68037-59-2	ABCR
Iodomethan (99.5%)	C ₁	74-88-4	Sigma- Aldrich

Chemikaliename	Chemikalien- abkürzung	CAS- Nummer	Lieferant
Platinum(0)-1,3-divinyl-1,1,3,3- tetramethyl-disiloxan (2.1 – 2.4%Pt)	Pt-Kat.	68478-92-2	ABCR
Pluronic® F127	F-127	9003-11-6	Sigma- Aldrich
Poly(4-vinylpyridin) (M _n = 160000 g mol ⁻¹)	PVP	25232-41-1	Sigma- Aldrich
Polyvinylpyrrolidon (M _n = 10000 g·mol ⁻¹)	PVPo	9003-39-8	Sigma- Aldrich
Salpetersäure puriss. p.a (65%)	HNO ₃	7697-37-2	Sigma- Aldrich
Salzsäure puriss. p.a (32%)	HCl	7647-01-0	Sigma- Aldrich
Silbernitrat (99%)	AgNO ₃	7761-88-8	Sigma- Aldrich
Sylgard® 184			VWR
Tetraethylorthosilicat (99%)	TEOS	78-10-4	Sigma- Aldrich
Toluol (99.5%)	Tol	108-88-3	Sigma- Aldrich
Vinyl-terminiertes Poly(dimethylsiloxane) (4700 mPa·s)	Vinyl-PDMS 4700 mPa·s	68083-19-2	ABCR

Vinyl-terminiertes Poly(dimethylsiloxane) (490 mPa·s)	Vinyl-PDMS 490 mPa·s	68083-19-2	ABCR
Vinyl-terminiertes Poly(dimethylsiloxane) (970 mPa·s)	Vinyl-PDMS 970 mPa·s	68083-19-2	Sigma- Aldrich
Vinyltrimethoxysilan (98%)	VTMS	2768-02-7	Sigma- Aldrich

II Rohdaten der Ellipsometermessungen

Tabelle: II-1: Ellipsometerparameter des calcinierten mesoporösen Silicafilms.

Parameter	Value
[1] Sample rotation [°]	0.00
[1] Angle offset [°]	-0.01
[1] Wavelength Offset (nm)	0.00
[1] Wavelength Linear	1.00000
NoName1: Inclusion:Refr. index	1.000
NoName1: Inclusion:Absorption	0.000
[1.1] NoName1: Thickness [nm]	0.00
NoName1: Fraction of inclusion	0.500
[1.2] NoName0: Thickness [nm]	120.93
NoName0: e1(inf)	1.00000
NoName0: Eg(0)	2.1360
NoName0: A(0)	0.039
NoName0: E0(0)	3.3878
NoName0: C(0)	0.6965
NoName0: Eg(1)	3.7956
NoName0: A(1)	8.856
NoName0: E0(1)	20.5471
NoName0: C(1)	4.5546
NoName0: Eg(2)	36.5776
NoName0: A(2)	126.328
NoName0: E0(2)	1.2035
NoName0: C(2)	3.8520
NoName0: Eg(3)	4.6620
NoName0: A(3)	24.479
NoName0: E0(3)	9.2056
NoName0: C(3)	8.0061
NoName0: Eg(6)	16.4860
NoName0: A(6)	10.340
NoName0: E0(6)	16.4629
NoName0: C(6)	36.7990
[1.3] Cau-SiO2 (therm.): Thickness [nm]	0.00
Cau-SiO2 (therm.): N0	1.492
Cau-SiO2 (therm.): N1	121.8

Cau-SiO2 (therm.): N2	0.0
Cau-SiO2 (therm.): K0	0.000
Cau-SiO2 (therm.): K1	0.000
Cau-SiO2 (therm.): K2	0.000
Pola.Pos.	45.00
Pola.Offs.	0.00
Ret.Axis	0.00
Ret.Phase	90.00
Eta	1.00000
Ana.Offs.	0.00
Ana.Offs.Lin.	0.00
Ana.Offs.Quadr.	0.00
Psi Offs.	0.00
Psi Lin.	0.00
Psi Quadr.	0.00
Delta Offs.	0.00
Delta Lin.	0.00
Delta Quadr.	0.00
MSE	0.63157582

Tabelle: II-2: Ellipsometerparameter des mesoporösen Silber-Silicafilms.

Parameter	Value
[1] Sample rotation [°]	0.00
[1] Angle offset [°]	-0.01
[1] Wavelength Offset (nm)	0.00
[1] Wavelength Linear	1.00000
NoName1: Inclusion:Refr. index	1.000
NoName1: Inclusion:Absorption	0.000
[1.1] NoName1: Thickness [nm]	0.00
NoName1: Fraction of inclusion	0.500
[1.2] NoName0: Thickness [nm]	104.40
NoName0: e1(inf)	1.00000
NoName0: Eg(0)	646.3750
NoName0: A(0)	1.871.218
NoName0: E0(0)	24.1085
NoName0: C(0)	40.7825
NoName0: Eg(1)	1.4848

NoName0: A(1)	11.002
NoName0: E0(1)	9.8839
NoName0: C(1)	1.3730
NoName0: Eg(2)	1.2793
NoName0: A(2)	0.319
NoName0: E0(2)	2.3789
NoName0: C(2)	0.7746
NoName0: Eg(3)	6.5748
NoName0: A(3)	591.109
NoName0: E0(3)	0.0001
NoName0: C(3)	81.5771
NoName0: Eg(6)	427.0393
NoName0: A(6)	68.322
NoName0: E0(6)	228.5308
NoName0: C(6)	91.8643
[1.3] Cau-SiO2 (therm.): Thickness [nm]	0.00
Cau-SiO2 (therm.): N0	1.492
Cau-SiO2 (therm.): N1	121.8
Cau-SiO2 (therm.): N2	0.0
Cau-SiO2 (therm.): K0	0.000
Cau-SiO2 (therm.): K1	0.000
Cau-SiO2 (therm.): K2	0.000
Pola.Pos.	45.00
Pola.Offs.	0.00
Ret.Axis	0.00
Ret.Phase	90.00
Eta	1.00000
Ana.Offs.	0.00
Ana.Offs.Lin.	0.00
Ana.Offs.Quadr.	0.00
Psi Offs.	0.00
Psi Lin.	0.00
Psi Quadr.	0.00
Delta Offs.	0.00
Delta Lin.	0.00
Delta Quadr.	0.00
MSE	2.01982472

Tabelle: II-3: Ellipsometerparameter des nicht porösen Silber-Silicafilms mit Silbernitrat und Wasser .

Parameter	Value
[1] Sample rotation [°]	0.00
[1] Angle offset [°]	-0.01
[1] Wavelength Offset (nm)	0.00
[1] Wavelength Linear	1.00000
NoName1: Inclusion:Refr. index	1.000
NoName1: Inclusion:Absorption	0.000
[1.1] NoName1: Thickness [nm]	0.00
NoName1: Fraction of inclusion	0.500
[1.2] NoName0: Thickness [nm]	99.65
NoName0: e1(inf)	1.00000
NoName0: Eg(0)	396.9554
NoName0: A(0)	0.757
NoName0: E0(0)	34.5480
NoName0: C(0)	20.3242
NoName0: Eg(1)	1.5945
NoName0: A(1)	0.340
NoName0: E0(1)	4.7475
NoName0: C(1)	1.6396
NoName0: Eg(2)	1.6534
NoName0: A(2)	16.239
NoName0: E0(2)	0.0789
NoName0: C(2)	1.6948
NoName0: Eg(3)	168.2597
NoName0: A(3)	1.001.616
NoName0: E0(3)	30.4644
NoName0: C(3)	0.0133
NoName0: Eg(6)	193.8704
NoName0: A(6)	0.035
NoName0: E0(6)	442.1317
NoName0: C(6)	120.1772
[1.3] Cau-SiO2 (therm.): Thickness [nm]	0.00
Cau-SiO2 (therm.): N0	1.492
Cau-SiO2 (therm.): N1	121.8
Cau-SiO2 (therm.): N2	0.0
Cau-SiO2 (therm.): K0	0.000

Cau-SiO2 (therm.): K1	0.000
Cau-SiO2 (therm.): K2	0.000
Pola.Pos.	45.00
Pola.Offs.	0.00
Ret.Axis	0.00
Ret.Phase	90.00
Eta	1.00000
Ana.Offs.	0.00
Ana.Offs.Lin.	0.00
Ana.Offs.Quadr.	0.00
Psi Offs.	0.00
Psi Lin.	0.00
Psi Quadr.	0.00
Delta Offs.	0.00
Delta Lin.	0.00
Delta Quadr.	0.00
MSE	0.57648330

III Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge

Begutachtete Veröffentlichungen

D. Hesse, N. Ehlert, A. Smoczek, S. Glage, T. Luessenhop, P. Behrens, P.P. Müller, K.-H. Esser, T. Lenarz, M. Stieve, A. Bleich, N. K. Prenzler, *Otology Neurotology*, 2013, angenommen.

N. Ehlert, T. Lüßenhop, I. Krueger, A. Feldhoff, M. Badar, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *BioNanoMaterials* **2013**, 1–13.

R. Lensing, A. Bleich, A. Smoczek, S. Glage, N. Ehlert, T. Luessenhop, P. Behrens, P. P. Müller, M. Kietzmann, M. Stieve, *Acta biomaterialia* **2013**, *9*, 4815–25.

N. Ehlert, M. Badar, A. Christel, S. J. Lohmeier, T. Luessenhop, M. Stieve, T. Lenarz, P. P. Mueller, P. Behrens, *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21*, 752.

Nicht begutachtete Veröffentlichungen

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

T. Lüßenhop, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Wriggers, P.P. Müller, Muhammad Badar, Imran Rahim, P. Behrens, *Bionanomaterials* **2012**, *13*, 81.

T. Lüßenhop, N. Wendt, M. Badar, P. P. Mueller, P. Behrens, *Biomaterialien* **2011**, *12*, 81.

N. Ehlert, A. Hoffmann, T. Luessenhop, G. Gross, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarz, P. Behrens, *Acta biomaterialia* **2011**, *7*, 1772–9.

T. Lüßenhop, N. Ehlert, O. Kufelt, C. Vogt, S. Kittel, M. Badar, P.P. Müller, P. Behrens, *Biomaterialien* **2010**, *11*, 101.

O. Kufelt, T. Lüßenhop, N. Wendt, W. Heuer, A. Winkel, M. Badar, L. Ringenberg, M. Stiesch, P. P. Müller, P. Behrens, *Biomaterialien* **2009**, *10*, 123.

Posterbeiträge

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

T. Lüßenhop, H. Fullriede, S. Kittel, S. Grade, I. Rahim, P.P. Müller, M. Stiesch, C. Vogt, P. Behrens

European Nanoporous Materials Institute of Excellence (ENMIX) **2013**, Hannover

Adjustment of the Mechanical Properties of Silicone for Application in the Middle Ear

T. Lüßenhop, L. Doniga-Crivat, S. Besdo, P. Wriggers, P. P. Müller, M. Badar, I. Rahim, P. Behrens

Jahrestagung **2012** der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), Hamburg

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

T. Lüßenhop, H. Fullriede, S. Kittel, S. Grade, I. Rahim, P.P. Müller, M. Stiesch, C. Vogt, P. Behrens

Jahrestagung **2012** der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), Hamburg

Antibacterial Coatings Based on Quaternary Ammonium Salts*T. Lüßenhop, N. Wendt, M. Badar, P.P. Mueller, P. Behrens*Jahrestagung **2011** der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), Gießen**Polymer based antibacterial coatings for biomedical applications***T. Lüßenhop, O. Kufelt, M. Badar, P.P. Mueller, P. Behrens*Hybrid Materials **2011**, Straßburg**Silver release and antimicrobial properties of silver sodalites and silver zeolite A***T. Lüßenhop, N. Ehlert, O. Kufelt, C. Vogt, S. Kittel, M. Badar, P.P. Müller, P. Behrens*, Jah-restagung **2010** der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), Heilbad Heiligenstadt**Comparison of in vitro and in vivo test systems for controlled release antibacterial implant coatings***M. Badar, T. Lüßenhop, N. Ehlert, O. Kufelt, P. Behrens, M. Stieve, M. Stiesch, T. Lenarz, H. Hauser, U. Möllmann, S. Vogt, M. Schnabelrauch, P. P. Mueller*Jahrestagung **2010** der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), Heilbad Heiligenstadt**Polymer-based antibacterial coatings for biomedical applications***O. Kufelt, T. Lüßenhop, N. Wendt, W. Heuer, A. Winkel, M. Badar, L. Ringenberg, M. Stiesch, P. P. Müller, P. Behrens*Jahrestagung **2009** der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), Tübingen

IV Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Tammo Lüßenhop
Geburtsdatum und -ort 07. September 1978 in Hannover

Promotion

12/2009 – 09/2013 Promotion am Institut für Anorganische Chemie der Leibniz Universität Hannover im Arbeitskreis Prof. Dr. Behrens
Dissertationsthema: „Beiträge zur Optimierung von Mittelohrprothesen: Strategien zur antibakteriellen Modifizierung und zur Entwicklung eines Trommelfellpolsters“
Mitglied im Sonderforschungsbereich 599 „Zukunftsfähige bioresorbierbare und permanente Implantate aus metallischen und keramischen Werkstoffen“
Tätig im Teilprojekt D1 „funktionalisierte Mittelohrprothesen“

Berufliche Erfahrung

12/2009 – 05/2013 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Anorganische Chemie der Leibniz Universität Hannover
09/2005 – 06/2008 Studentische Hilfskraft am Institut für Anorganische Chemie der Leibniz Universität Hannover
Kooperationspartner Evonik Industries
01/2001 – 07/2001 Biologielaborant im Niedersächsischen Landesgesundheitsamt

Studium

05/2009 – 11/2009 Diplomarbeit am Institut für Anorganische Chemie der Leibniz Universität Hannover im Arbeitskreis Prof. Dr. Behrens
Thema: „Präparation und Charakterisierung von Silberverbindungen im Hinblick auf ihre antibakterielle Wirksamkeit“
Abschluss: Diplom-Chemiker
10/2004 – 11/2009 Studium der Chemie, Leibniz Universität Hannover
Schwerpunkt: Anorganische Chemie

Berufsausbildung

- 08/1997 – 01/2000 Ausbildung zum Biologielaboranten im Niedersächsischen Landesgesundheitsamt
Schwerpunkt Mikrobiologie
Abschluss: Biologielaborant
- 08/1996 – 07/1997 Berufsgrundbildungsjahr Chemie, Physik und Biologie an der BBS 22 Höfestr.

Schule

- 08/2001 – 06/2004 Abitur am Hannover Kolleg
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife (Note: 2,5)
- 08/1992 – 05/1996 Realschule Lehrte
Abschluss: Sekundarabschluss I

Zivildienst

- 02/2000 – 12/2000 Laborant für medizinische Laborroutine im Kreiskrankenhaus Lehrte