

**„Synthese und Charakterisierung neuartiger antimikrobieller  
Polymere“**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

**Dr. rer. nat.**

von der Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen

der Technischen Universität Dortmund

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

**M. Sc. Arne Straßburg**

aus

Hoya / Weser

Tag der mündlichen Prüfung: 15.12.2017

1. Gutachter: Prof. Dr. Jörg C. Tiller

2. Gutachter: Prof. Dr. Markus Nett

**Dortmund 2017**

---

---

*Die Dinge verändern sich nicht, wir verändern uns.*

Henry David Thoreau

---

Die Anfertigung dieser Arbeit erfolgte im Zeitraum von März 2013 bis September 2017 am Lehrstuhl für Biomaterialien und Polymerwissenschaften der Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen an der Technischen Universität Dortmund.



---

## Danksagung

Mein Dank gilt an dieser Stelle besonders meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Jörg C. Tiller für die Bereitstellung des interessanten Themas und das Vertrauen in meine Arbeit. Insbesondere danke ich ihm für die hervorragende fachliche Betreuung und persönliche Unterstützung während meiner Promotion.

Zudem danke ich Herrn Prof. Dr. Markus Nett für die Übernahme des Zweitgutachtens sowie Prof. Dr. Stephan Lütz und Prof. Dr. David W. Agar als Mitgliedern der Prüfungskommission.

Herrn Dr. Frank Katzenberg danke ich für seine hervorragende fachliche und persönliche Unterstützung. Ergänzend danke ich ihm und Thomas Raidt insbesondere für ihre technische und fachliche Hilfe im Rahmen mechanischer Analysen und Röntgenstreuung. Frau Monika Meuris danke ich besonders für die exzellente technische und fachliche Unterstützung sowie für ihre Hilfs- und Diskussionsbereitschaft bei allen Arten der Mikroskopie und darüber hinaus. Thorsten Moll danke ich für seine Unterstützung bei technischen und weiterführenden Belangen. Bei Dr. Christian Krumm bedanke ich mich für die Durchführung von AFM-Aufnahmen und seine stetige Hilfsbereitschaft. Frau Kristine Katzmarczyk danke ich für ihre Hilfe bei bürokratischen und verwaltungstechnischen Angelegenheiten. Bei Herrn Dr. Wolf Hiller und seinem Team bedanke ich mich für die stetigen NMR-Messungen. Dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Ralf Weberskirch danke ich für die Durchführung von GPC-Messungen. Zudem danke ich dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Manfred Köller für Untersuchung von Netzwerken hinsichtlich ihrer antimikrobiellen Aktivität und Zellkompatibilität. Zudem bedanke ich mich bei Ivoclar Vivadent für die finanzielle Unterstützung und bei Thorsten Bock für die gute Zusammenarbeit.

Meinen Bürokollegen Martin Schmidt und Ramona Plothe danke ich für die hervorragende Atmosphäre sowie die fachliche und persönliche Unterstützung in allen Lebenslagen. Herrn Montasser Hijazi und Dr. Nicolas Rauner danke ich ebenfalls für ihre Unterstützung in fachlichen und außerfachlichen Belangen. Melanie Leurs, Lena Richter, Dominik Segiet sowie allen bereits genannten Mitgliedern des Lehrstuhls BMP möchte ich zudem für das hervorragende Arbeitsklima danken. Meine ehemaligen Kollegen/-innen Herrn Dr. Robin Höher, Dr. Dominik Quitmann, Dr. Ina Sittko, Dr. Stefan Konieczny und Felix Siedenbiedel danke ich für ihre fachliche Unterstützung und interessante Gespräche.

Mein besonderer Dank gilt auch meinen Masterarbeiterinnen Nina Rösler, Johanna Petranowitsch und Anna Jemeljanova sowie den Praktikanten/-innen Florian Pätzold, Normann Herrmann, Tim Giele, Manuel Nowotny, Roman Pallach, Katharina Müller, Indre Versinskaite und Hanne Petersen.

Andreas Straßburg, Karin Straßburg und Holger Grigoleit möchte ich an dieser Stelle ganz besonders für ihre moralische, finanzielle und persönliche Unterstützung auch während meines Studiums und dieser Arbeit danken. Ohne sie wäre mir dieser erfolgreiche Lebensweg mit vielen zu bewältigen Hindernissen nicht möglich gewesen. Ich danke Ihnen, dass sie an mich geglaubt haben und mir stets zur Seite standen.

---

---

## Publikationen

1. Strassburg, A.; Luetzen, H.; Hartwig, A., Crystallinity as New Toughening Concept for Epoxy Resins: Influence of Branching of Integrated Polyester. *Journal of The Adhesion Society of Japan* **2015**, 51 (s1), 286-292.
2. Strassburg, A.; Kracke, F.; Wenners, J.; Jemeljanova, A.; Kuepper, J.; Petersen, H.; Tiller, J. C., Nontoxic, Hydrophilic Cationic Polymers—Identified as Class of Antimicrobial Polymers. *Macromolecular Bioscience* **2015**, 15 (12), 1710-1723.
3. Strassburg, A.; Kracke, F.; Wenners, J.; Jemeljanova, A.; Kuepper, J.; Petersen, H.; Tiller, J. C., Non-Cytotoxic Hydrophilic Polymers: Hydrophilic Polyionenes. *Scientific Highlights TU Dortmund* **2015**, 17.
4. Strassburg, A.; Petranowitsch, J; Paetzold, F.; Krumm, C.; Peter, E.; Meuris, M.; Köller, M.; Tiller, J. C., Cross-linking of a Hydrophilic, Antimicrobial Polycation toward a Fast-Swelling, Antimicrobial Superabsorber and Interpenetrating Hydrogel Networks with Long Lasting Antimicrobial Properties. *ACS Applied Material & Interfaces* **2017**, 9 (42), 36573-35682.

## Vorträge

1. Strassburg, J. C. Tiller; „Polyquaternium-I als Additiv“, Projekttreffen Ivoclar Vivadent AG, Freiburg/Br., August **2013**
2. Strassburg. A.; Tiller, J. C; „Polyquaternium-I als Additiv“, Projekttreffen Ivoclar Vivadent AG, Freiburg/Br., Dezember **2013**
3. Strassburg. A.; Tiller, J. C; „Polyquaternium-I als Additiv“, Projekttreffen Ivoclar Vivadent AG, Freiburg/Br., März **2014**
4. Strassburg. A.; Tiller, J. C; Nontoxic, Hydrophilic Cationic Polymers – Identified as new Class of Antimicrobial Polymers, IV International Conference on Antimicrobial Research, Torremolinos – Malaga, Spanien, Juni **2016**

## Poster

1. M. Hijazi, H.; Schmidt, M.; Strassburg, A.; Rauner, N.; Krumm, C.; Tiller, J. C.; Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces, IV International Conference on Antimicrobial Research, Torremolinos – Malaga, Spanien, Juni **2016**

---

---

## Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	XII
1 KURZZUSAMMENFASSUNG / ABSTRACT .....	1
2 EINLEITUNG UND MOTIVATION.....	3
<b>2.1 Antimikrobielle Polymere in Lösung.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Antimikrobielle Oberflächen und Materialien.....</b>	<b>17</b>
3 AUFGABENSTELLUNG .....	25
4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....	27
<b>4.1 Synthese und Charakterisierung von Ionen in Lösung.....</b>	<b>27</b>
4.1.1 <i>Herstellung von 3,4en-Ionen durch sequentielle Synthese und deren Charakterisierung .....</i>	<i>27</i>
4.1.1.1 Sequentielle Synthese von 3,4en-Ionen mit verschiedenen, definierten Endgruppen .....	28
4.1.1.2 Antimikrobielle und hämolytische Charakterisierung sequentiell synthetisierter 3,4en-Ionene mit verschiedenen Endgruppen .....	38
4.1.2 <i>Synthese, Modifizierung und Charakterisierung von 3,4en-Ionen aus Polyaddition</i>	<i>48</i>
4.1.2.1 Synthese von 3,4en-Ionene in Aceton.....	48
4.1.2.2 Modifizierung der Endgruppen von 3,4en-Ionen .....	51
4.1.2.3 Charakterisierung Endgruppen-modifizierter 3,4en-Ionene für die Verwendung in Netzwerken.....	55
<b>4.2 Antimikrobielle Netzwerke.....</b>	<b>59</b>
4.2.1 <i>Acrylat-Netzwerke mit 3,4en-Ionen .....</i>	<i>60</i>
4.2.1.1 Herstellung und Charakterisierung von Acrylat-Netzwerken mit 3,4en-Ionen....	60
4.2.1.2 Charakterisierung der antimikrobiellen Eigenschaften der Acrylat-Netzwerke mit 3,4en-Ionen.....	65
4.2.2 <i>Interpenetrierende Hydrogele .....</i>	<i>69</i>
4.2.2.1 3,4en-Ionen-Netzwerke (PBIN) .....	70
4.2.2.2 Herstellung und Charakterisierung von interpenetrierenden Hydrogelen.....	82
4.2.2.3 Bestimmung der Quellgrade und der mechanischen Eigenschaften der Hydrogele .	85
4.2.2.4 Strukturelle Charakterisierung der interpenetrierenden Hydrogele.....	89
4.2.2.5 Biologische Untersuchung der interpenetrierenden Hydrogele .....	93
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	111
<b>5.1 Antimikrobielle Polymere in Lösung.....</b>	<b>111</b>
<b>5.2 Antimikrobielle Netzwerke.....</b>	<b>113</b>

6	EXPERIMENTELLES.....	117
6.1	<b>Chemikalien.....</b>	<b>117</b>
6.2	<b>Geräte.....</b>	<b>118</b>
6.2.1	<i>Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC).....</i>	<i>118</i>
6.2.2	<i>Dynamisch-mechanische-Analyse (DMA).....</i>	<i>118</i>
6.2.3	<i>Fluoreszenz-Mikroskop.....</i>	<i>118</i>
6.2.4	<i>Gefrier Trocknung.....</i>	<i>119</i>
6.2.5	<i>Gelpermeationschromatographie (GPC).....</i>	<i>119</i>
6.2.6	<i>Infrarot Spektroskopie.....</i>	<i>119</i>
6.2.7	<i>Laser-Scanning-Mikroskop (LSM).....</i>	<i>119</i>
6.2.8	<i>Lichtstreuung (LS).....</i>	<i>119</i>
6.2.9	<i>Mikroskop.....</i>	<i>119</i>
6.2.10	<i>Polarisationskammer.....</i>	<i>120</i>
6.2.11	<i>Rasterelektronenmikroskopie (REM) und energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX).....</i>	<i>120</i>
6.2.12	<i>Rasterkraftmikroskopie (AFM).....</i>	<i>120</i>
6.2.13	<i>Röntgen.....</i>	<i>120</i>
6.2.14	<i>Protonen-Kernresonanzspektroskopie (<sup>1</sup>H-NMR).....</i>	<i>121</i>
6.2.15	<i>Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).....</i>	<i>121</i>
6.2.16	<i>Thermogravimetrische Analyse (TGA).....</i>	<i>121</i>
6.2.17	<i>UV/Vis Spektroskopie.....</i>	<i>121</i>
6.2.18	<i>Zugprüfung.....</i>	<i>121</i>
6.3	<b>Methoden.....</b>	<b>121</b>
6.3.1	<i>Analyse des Waschwassers verschiedener IPH.....</i>	<i>121</i>
6.3.2	<i>Bestimmung des Quellgrades und des Gelgehaltes von Netzwerken.....</i>	<i>122</i>
6.3.3	<i>Löslichkeitsversuche mit 3,4en-Ionene.....</i>	<i>123</i>
6.3.4	<i>Oberflächenmodifizierung von Glasobjektträgern.....</i>	<i>123</i>
6.3.5	<i>Waschprozedur für Acrylatnetzwerke auf Glasobjektträgern.....</i>	<i>123</i>
6.3.6	<i>Waschprozedur von PBIN und IPH Netzwerken.....</i>	<i>123</i>
6.4	<b>Biologische Untersuchungen.....</b>	<b>124</b>
6.4.1	<i>Herstellung von Medien und Puffern.....</i>	<i>124</i>
6.4.1.1	<i>Herstellung von Nährbouillon.....</i>	<i>124</i>
6.4.1.2	<i>Isotonische Natriumchlorid-Lösung.....</i>	<i>124</i>
6.4.1.3	<i>Herstellung von Nähragar.....</i>	<i>124</i>
6.4.1.4	<i>Herstellung von PBS-Puffer.....</i>	<i>124</i>

6.4.1.5	CPD-Puffer.....	124
6.4.2	<i>Antimikrobielle Untersuchungen</i> .....	125
6.4.2.1	Herstellung von Bakterienstammkulturen.....	125
6.4.2.2	Untersuchung der bakteriellen Suszeptibilität durch Bestimmung der minimalen inhibierenden Konzentration (MIC).....	125
6.4.2.3	Bakteriensprühtest.....	126
6.4.2.4	Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität von PBIN.....	127
6.4.2.5	Direkte Applikation von verschiedenen hohen Bakterienbeladungen auf Netzwerke	127
6.4.2.6	Untersuchung des Desorptionsverhaltens von Bakterien auf Netzwerken mit einer hohen Bakterienbeladung.....	128
6.4.2.7	Evaluierung einer hohen Bakterien Beladung auf den Netzwerken mittels REM ..	129
6.4.2.8	Evaluierung einer hohen Bakterienbeladung auf Netzwerken mittels LSM .....	129
6.4.2.9	Adhärenz von Bakterien auf Netzwerken.....	129
6.4.3	<i>Untersuchungen der Biokompatibilität</i> .....	130
6.4.3.1	Herstellung von Erythrozytenkonzentrat.....	130
6.4.3.2	Bestimmung der Hämokompatibilität von löslichen Proben.....	130
6.4.3.3	Bestimmung der Hämokompatibilität von Netzwerken .....	131
6.4.3.4	Untersuchung der Kompatibilität von der hMSC gegenüber IPHs .....	131
6.4.3.5	Untersuchung der Kompatibilität von MSC gegenüber PBI.....	132
<b>6.5</b>	<b>Synthesen</b> .....	<b>132</b>
6.5.1	<i>Synthesen von Ionen durch Polyaddition</i> .....	132
6.5.1.1	4en,4en-Ionene .....	132
6.5.1.2	6,6-Ionene.....	132
6.5.1.3	Synthese von 3,4en-Ionen.....	133
6.5.1.4	Modifizierung der Endgruppen synthetisierter PBI mit DBB .....	135
6.5.1.5	Modifizierung der Endgruppen von Br-PBI-Br mit DMAP-MAA .....	137
6.5.2	<i>Sequentielle Synthesen verschiedener PBI-Spezies</i> .....	138
6.5.2.1	Sequentielle Synthese von beidseitig mit Brom- oder Amin-terminierten 3,4en-Ionen .....	138
6.5.2.2	Sequentielle Synthese von einseitig mit Dodecyl- und entgegengesetzt mit Brom-/Amin-terminierten 3,4en-Ionen.....	139
6.5.2.3	Modifizierung von Br-(PBI) <sub>6</sub> -Br mit <i>N,N</i> -Dimethylalkylaminen .....	141
6.5.2.4	Modifizierung von DBB mit <i>N,N</i> -Dimethylalkylaminen.....	142
<b>6.6</b>	<b>Herstellung von Netzwerken</b> .....	<b>143</b>
6.6.1	<i>Herstellung von Acrylat-Netzwerken auf Glasobjektträgern</i> .....	143
6.6.2	<i>Herstellung von PBI-Netzwerken (PBIN)</i> .....	144
6.6.3	<i>Herstellung von interpenetrierenden Hydrogelen (IPH)</i> .....	145

---

7	LITERATURVERZEICHNIS .....	147
8	LEBENS LAUF .....	165
9	ANHANG .....	167
<b>9.1</b>	<b>Daten-Tabellen .....</b>	<b>167</b>
9.1.1	<i>Daten Tabellen der PBI aus Polyaddition .....</i>	<i>167</i>
9.1.2	<i>Tabellen der PBIN.....</i>	<i>168</i>
9.1.3	<i>Abbildungen und Tabellen der IPH.....</i>	<i>169</i>
<b>9.2</b>	<b><sup>1</sup>H-NMR-Spektren.....</b>	<b>179</b>
9.2.1	<i><sup>1</sup>H-NMR-Spektren von PBI-Spezies durch sequentielle Monomierzugabe.....</i>	<i>179</i>
9.2.2	<i><sup>1</sup>H-NMR-Spektren von 3,4en-Iononen durch Polyaddition .....</i>	<i>195</i>
9.2.3	<i><sup>1</sup>H-NMR-Spektren von PBI<sub>n</sub> mit DBB-Endgruppen-Modifizierung.....</i>	<i>199</i>
9.2.4	<i><sup>1</sup>H-NMR-Spektren von PBI-Spezies mit DMAP-MAA-Modifizierung.....</i>	<i>203</i>
9.2.5	<i><sup>1</sup>H-NMR-Spektren Alkyl-terminierter DBB-Spezies .....</i>	<i>204</i>



---

## Abkürzungsverzeichnis

$\mu$	Micro
$^1\text{H-NMR}$	Protonen Kernspinresonanzspektroskopie
AFM	Rasterkraftmikroskopie
Am-(PBI) <sub>n</sub> -Am	3,4en-Ionene aus sequentieller Synthese mit beidseitigen Amin-Endgruppen (n = Anzahl der Wiederholungseinheiten)
BHT	3,5-Di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxytoluol (Butylhydroxytoluol)
Br-(PBI) <sub>n</sub> -Br	3,4en-Ionene aus sequentieller Synthese mit beidseitigen Brom-Endgruppen (n = Anzahl der Wiederholungseinheiten)
Br-PBI <sub>x</sub> -Br	3,4en-Ionene aus Polyaddition mit beidseitigen Brom-Endgruppen (x = M <sub>n</sub> aus dem $^1\text{H-NMR}$ )
C <sub>12</sub> -(PBI) <sub>n</sub> -Am	3,4en-Ionene aus sequentieller Synthese mit einseitiger Dodecyl-Endgruppe und auf der entgegengesetzten Seite mit einer Amin-Endgruppe (n = Anzahl der Wiederholungseinheiten)
C <sub>12</sub> -(PBI) <sub>n</sub> -Br	3,4en-Ionene aus sequentieller Synthese mit einseitiger Dodecyl-Endgruppe und auf der entgegengesetzten Seite mit einer Brom-Endgruppe (n = Anzahl der Wiederholungseinheiten)
C <sub>12</sub> -(PBI) <sub>n</sub> -Br/Am	3,4en-Ionene aus sequentieller Synthese mit einseitiger Dodecyl-Endgruppe und auf der entgegengesetzten Seite mit einer Brom- bzw. Amin-Endgruppe (n = Anzahl der Wiederholungseinheiten)
CFU	Kolonie bildenden Einheiten ( <i>engl. colonie forming units</i> )
C <sub>x</sub> -(PBI) <sub>6</sub> -C <sub>x</sub>	3,4en-Ionene aus sequentieller Synthese mit beidseitigen Alkyl-Endgruppe (x = Anzahl der der C-Atome in der Alkylkette)
CPD	Citrat-Puffer ( <i>engl. citrate phosphate dextrose</i> )
CTAC	Cetyltrimethylammoniumchlorid
d	Tag ( <i>engl.: day</i> )
D <sub>2</sub> O	Deuteriumoxid
DBB	<i>Trans</i> -1,4-Dibromo-2-buten
DMA	Dynamisch-mechanische-Analyse
DMAP-MAA	N-[3-(Dimethylamino)propyl]methacrylamid
DP	Polymerisationsgrad
DTAC	Dodecyltrimethylammoniumchlorid
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
Et <sub>2</sub> O	Diethylether
EtOH	Ethanol, absolut
FCS	Fetales Kälberserum

---

GDMA	Glyceroldimethacrylat
GPC	Größenausschlusschromatographie (Gelpermeationschromatographie)
h	Stunde (engl.: hour)
HC <sub>50</sub>	Konzentration der untersuchten Substanz, bei der 50% der Erythrozyten zerstört werden
HCl	Salzsäure
HEA	2-Hydroxyethylacrylat
hMSC	Menschliche, mesenchymale Stammzellen ( <i>engl. human mesenchymal stem cells</i> )
IPH	Interpenetrierendes Hydrogel
IPH <sub>X(Y)</sub>	IPH <sub>X(Y)</sub> benannt, wobei der Index X das molare NH <sub>2</sub> /Br-Endgruppenverhältnis des eingesetzten PBI <sub>n</sub> und (Y) den GDMA-Gehalt in wt% bezogen auf HEA in der Acrylatlösung angibt.
IPN	Interpenetrierendes Netzwerk
IR	Infrarot Spektroskopie, mittels einer ATR-Einheit (abgeschwächte Totalreflexion) gemessen
L	Liter
LS	Lichtstreuung
m	Milli
MAA-PBI <sub>x</sub> -MAA	3,4en-Ionene aus Polyaddition mit beidseitigen Methacrylamid-Endgruppen (x = M <sub>n</sub> aus dem <sup>1</sup> H-NMR)
MBC	Minimale bakterizide Konzentration ( <i>engl. minimal bactericidal concentration</i> )
MeOH	Methanol
MIC	Minimal inhibierende Konzentration ( <i>engl. minimal inhibitory concentration</i> )
min	Minute
M <sub>n</sub>	Zahlenmittel des Molekulargewichts
M <sub>w</sub>	Gewichtsmittel des Molekulargewichts
NaCl	Natriumchlorid
NaNO <sub>3</sub>	Natriumnitrat
NaOH	Natriumhydroxid
nm	Nanometer
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBI	3,4en-Ionene
PBI <sub>n</sub>	3,4en-Ionene aus Polyaddition
PBIN	3,4en-Ionene-Netzwerk

---

PBIN <sub>x</sub>	3,4en-Ionene-Netzwerk (x = M <sub>n</sub> des eingesetzten Br-PBI <sub>x</sub> -Br)
PDI	Polydispersität
PHEA	Poly(2-Hydroxyethylacrylat)
PHEA <sub>(Y)</sub>	Vernetztes Poly(2-Hydroxyethylacrylat); Der Index Y gibt dabei den GDMA-Gehalt in wt% bezogen auf HEA in der Acrylatlösung an. wobei Y den GDMA-Vernetzergehalt in wt% angibt
PI	Propidiumiodid
Q <sub>m</sub>	Massebezogener Quellgrad
RBC	Rote Blutzellen (Erythrozyten, engl. red blood cell)
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RPMI	RPMI 1640 Medium
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung ( <i>engl. phosphate buffered saline</i> )
s	Sekunden
S	Selektivität (Verhältnis von HC <sub>50</sub> / MIC)
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
SYTO	SYTO 9 (Anfärbereagenz für Fluoreszenzmikroskopie)
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyldiamin
TFA	Trifluoressigsäure
TMPDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl-1,3-propandiamin
TREN	Tris(2-aminoethyl)amin
Triton-X	Triton X-100
TTC	2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid
wt%	Gewichtsprozent

---

## 1 Kurzzusammenfassung / Abstract

Ziel dieser Arbeit war die Synthese und Charakterisierung definierter Ionene und die Untersuchung ihrer Struktur-Eigenschafts-Beziehungen in Bezug auf ihre antimikrobielle Aktivität und Hämokompatibilität. Des Weiteren sollten auf Basis von Ionen antimikrobielle Polymernetzwerke hergestellt und charakterisiert werden.

Durch einen sequentiellen Aufbau mit *trans*-1,4-Dibrom-2-buten und *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,3-propandiamin, konnten 3,4en-Ionene (PBI) mit definierten Molekulargewichten und Endgruppen unter kontrollierten Synthesebedingungen generiert werden. Die antimikrobiellen Untersuchungen zeigen eine Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität vom Molekulargewicht und der Art der Endgruppen. Viele der Makromoleküle weisen eine exzellente Hämokompatibilität (Lyse ~1%), bei einer Konzentration von 40 000 µg/mL, auf. Die identifizierten Einflüsse ermöglichen die Herstellung verschiedener, hämokompatibler Biozide mit einer breiten oder einer spezifischen antimikrobiellen Aktivität. Zudem kann PBI zur Entgiftung von antimikrobiell wirksamen Monomeren, wie Dodecyltrimethylammoniumchlorid, genutzt werden, ohne dass diese an antimikrobieller Aktivität verlieren. Insgesamt unterscheidet sich das Verhalten der PBI, als typische Vertreter der hydrophilen, kationischen Polymere, aufgrund der hohen Selektivität gegenüber Säugetierzellen, maßgeblich von dem amphiphiler, antimikrobieller Polymere. Dies macht diese Verbindungen zu einer neuen Klasse von antimikrobiellen Polymeren.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden beidseitig Brom-terminierte  $PBI_n$  über ihre Endgruppen mit Tris(2-aminoethyl)amin zu schnell quellbaren, antimikrobiellen Superabsorbern (PBIN) vernetzt. Diese Superabsorber nehmen innerhalb einer Minute das Vielfache ihres Eigengewichts an Wasser auf. PBIN wurde in 2-Hydroxyethylacrylat und Glyceroldimethacrylat gequollen und zu transparenten, stabilen interpenetrierenden Hydrogelen (IPH) photovernetzt. Der PBI-Gehalt im IPH variiert im Bereich von 1.4 - 7.8 wt%. Antimikrobielle Untersuchungen zeigen, dass die Zellen der klinisch relevanten Keime *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa* bei der geringsten PBI-Konzentration auf den IPH, selbst nach 4 Wochen waschen in Wasser, abgetötet werden. Mittels eines neuen quantitativen Nachweises für PBI in Lösung, konnte jedoch selbst weit unterhalb der minimal inhibierenden Konzentration eine Freisetzung für die IPH nachgewiesen werden. Die IPH stellen ein vielversprechendes Material für Wundauflagen, beispielsweise für Brandwunden und infizierte Wunden, dar.

The aim of this work was the synthesis and characterization of well-defined ionenes and the investigation of structure-property relationships with respect to their antimicrobial activity and hemocompatibility. Furthermore, antimicrobial networks, based on ionenes, should be produced and characterized.

Sequential addition of *trans*-1,4-dibromo-2-butene and *N,N,N',N'*-tetramethyl-1,3-propanediamine led to 3,4-en-ionenes (PBI) with defined molecular weights and end groups. Antimicrobial investigations show a dependency of the antimicrobial activity from the molecular weight and the nature of the end groups. Many macromolecules show an excellent hemocompatibility (lysis ~1%) at a concentration of 40 000 µg/mL. The identified influences can be used to prepare hemocompatible biocides with a broad spectrum or a strain specific antimicrobial activity. The high selectivity to mammalian cells of the PBI, as typically representative of the hydrophilic cationic polymers, is significantly different from the amphiphilic, antimicrobial polymers. This makes these macromolecules a new class of antimicrobial polymers.

In the second part of the thesis, telechelic bromine terminated  $PBI_n$  were crosslinked via their end groups using tris(2-aminoethyl)amine to form a fast-swelling, antimicrobial superabsorber (PBIN). This superabsorber takes up water to a multifold of its own weight within 1 minute forming a hydrogel. PBIN were swollen with 2-hydroxyethylacrylate and glycerol dimethacrylate followed by photopolymerization to form clear and stable interpenetrating hydrogels (IPH). The PBI content in the IPH varies in a range of 1.4 - 7.8 wt%. Antimicrobial investigations show, that the bacterial cells of the clinically relevant strains *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* are killed on the IPH with the lowest PBI concentration, even after 4 weeks of washing. A minor leaching of the PBI far below the minimal inhibitory concentration was detected for the IPH with a new quantitative test for PBI detection in solution. IPH is a promising material as wound dressing, e.g. for infected wounds or burns.

## 2 Einleitung und Motivation

In unserer heutigen hochtechnisierten Welt, deren Bevölkerung kontinuierlich wächst, ist die Prävention und Behandlung von Krankheiten in allen Teilen der Welt eine der wichtigsten Aufgaben. So stellen bakterielle Infektionen die weltweit häufigste Todesursache dar.<sup>1</sup> Die fortschreitende Globalisierung und die damit verbundene weltumgreifende Mobilität führt zu einer immer schnelleren Ausbreitung von Krankheiten. Dies macht resistente Mikroorganismen<sup>2</sup>, wie z.B. den methicillinresistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA), zu einem besonders bedrohlichen Problem.<sup>3-5</sup> Dabei führt der übermäßige und fehlerhafte Gebrauch von Antibiotika und Desinfektionsmitteln, besonders im industrialisierten Teil der Welt, zur Ausbildung resistenter Keime. Resistente Keime machen Antibiotika zu stumpfen Waffen. Aus diesem Grund ist die Entwicklung neuer antimikrobieller Substanzen und Materialien von entscheidender Bedeutung. Dabei gilt es stets die Biokompatibilität, insbesondere für den Menschen, zu berücksichtigen, um negative Effekte zu vermeiden.

Antimikrobielle Polymere stellen seit längerem, eine Alternative zu herkömmlichen niedermolekularen Bioziden dar.<sup>6-8</sup> DeGrado und Tew zeigten, dass die meisten dieser Polymere in ihrer Struktur antimikrobiellen Peptiden, wie z.B. Magainin, ähneln.<sup>9</sup> Durch genaue Nachahmungen von Magainin konnte eine Reihe hochaktiver und selektiver (in Bezug auf Säugetierzellen) Makromoleküle entwickelt werden. Jedoch weisen alle eine Toxizität gegenüber Säugetierzellen auf. Eine Alternative zu den antimikrobiellen Peptiden, stellen hydrophile, kationische Polymere dar.<sup>10-11</sup> Speziell für die linearen, polyquartären Ammoniumverbindungen, auch als Ionene bezeichnet, konnte in umfangreichen Arbeiten das antimikrobielle Potential dieser Makromoleküle nachgewiesen werden.<sup>10, 12-15</sup> Über die Toxizität von Ionen gegenüber Säugetierzellen ist jedoch nur wenig bekannt. Kracke präsentierte 2011 exzellente Hämokompatibilitäten ( $HC_{50} = 40000 \mu\text{g/mL}$ ) gegenüber roten Schweineblutzellen und Selektivitäten ( $HC_{50}/MIC$ ) von bis zu 20000, welches den höchsten publizierten Wert für antimikrobielle Polymere darstellt.<sup>16-17</sup> Die extrem hohe Selektivität, stellt zudem den von Ikeda<sup>18-19</sup> postulierten Mechanismus in Frage. Weitere Arbeiten am Lehrstuhl für Biomaterialien und Polymerwissenschaften von Prof. Tiller an der TU Dortmund, zeigten Einflüsse der Endgruppen auf die biologische Aktivität der Ionene.<sup>20</sup> Der erste Teil dieser Arbeit soll daher einen weiteren Beitrag für das Verständnis der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, mit Hilfe der gezielten Synthese definierter Ionene (Endgruppen, Molekulargewicht) und deren biologischen Charakterisierung, leisten. Zudem sollten hydrophile Ionene gezielt hinsichtlich ihrer Hämokompatibilität untersucht werden, um so Erkenntnisse zu gewinnen, die einen Membran zerstörenden Mechanismus widerlegen könnten.

Des Weiteren sollten Ionene für die Herstellung antimikrobieller Materialien genutzt werden. Der Kontakt mit kontaminierten Oberflächen, auf denen Keime anhaften und sich vermehren, stellt heutzutage ein ständiges Infektionsrisiko dar. Besonders hoch ist das Risiko im medizinischen Bereich, da weltweit etwa 10% der Patienten in Folge einer Infektion während eines

Krankenhausaufenthaltes sterben.<sup>21-23</sup> Viele antimikrobielle Materialien entfalten ihre Wirkung durch die Freisetzung von Bioziden, weshalb sie keinen dauerhaften antimikrobiellen Schutz bieten.<sup>24-27</sup> Zudem fördern die freigesetzten Biozide, die Ausbildung von Resistenzen. Eine Alternative dazu sind antimikrobiell, kontaktaktive Materialien mit ihrem dauerhaften Schutz. Neben der Vielzahl an oberflächenmodifizierten, antimikrobiellen Materialien<sup>27-29</sup>, ist nur eine weitaus geringere Zahl intrinsisch antimikrobieller Materialien bekannt.<sup>25</sup> Insbesondere wenn es sich dabei um Hydrogele handelt. Eine große Herausforderung besteht jeweils darin, den kontaktaktiven Mechanismus für die antimikrobielle Aktivität des Materials zu beweisen.<sup>27-28</sup>

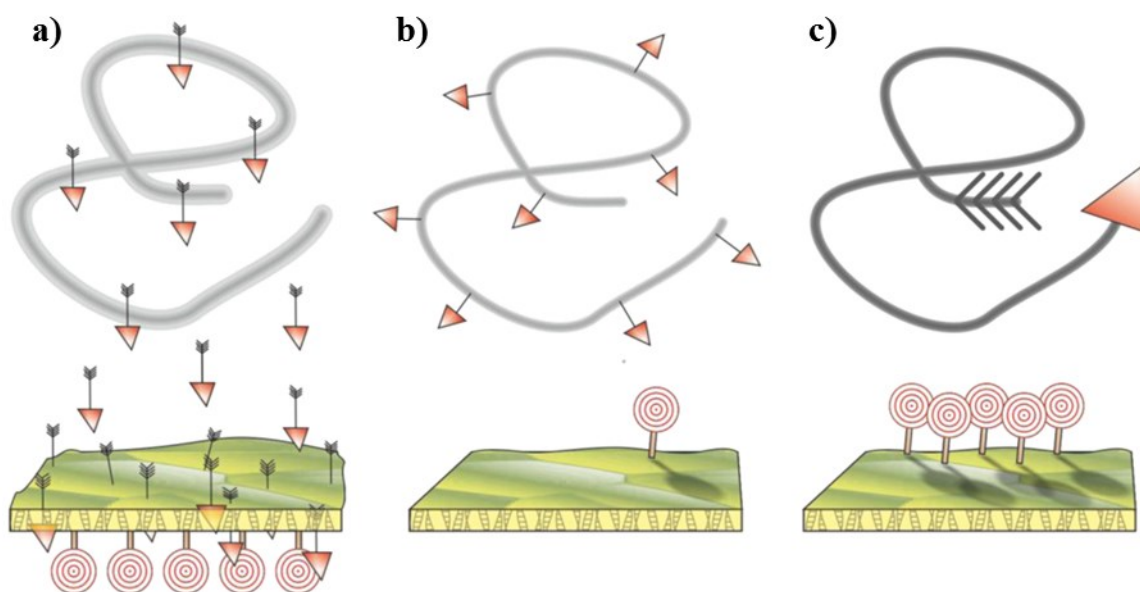
Im zweiten Teil dieser Arbeit soll daher durch die Herstellung und Charakterisierung von intrinsisch, antimikrobieller Polymernetzwerken mit Ionen, ein Beitrag zu dem Feld der antimikrobiellen Hydrogele als Biomaterialien, geleistet werden. Ein Fokus liegt dabei auf der Aufklärung des Mechanismus der antimikrobiellen Wirkung des Materials.



## 2.1 Antimikrobielle Polymere in Lösung

Antimikrobielle Polymere stellen eine Alternative zu niedermolekularen Bioziden und Antibiotika für die Bekämpfung von Keimen dar.<sup>30</sup> Ein Vorteil von Polymeren ist das verringerte Potential zur Ausbildung von resistenten Keimen.<sup>31</sup> Zudem führen besonders Biozide durch die Aufkonzentration in der Umwelt und in Lebewesen zu unvorhersehbaren Langzeitproblemen.<sup>32-33</sup> Die steigende Zahl der von der FDA zugelassenen desinfizierenden Polymere bestätigt diese Entwicklung, fort von kritischen Desinfektionsmitteln, niedermolekularen Bioziden und Antibiotika, hin zu Polymerverbindungen.<sup>29, 34</sup> Gegenüber niedermolekularen Verbindungen, besitzen antimikrobielle Polymere oft eine geringere Toxizität sowie eine höhere Selektivität und Haltbarkeit, als die entsprechenden niedermolekularen Verbindungen.<sup>7-8, 27, 35-37</sup> Die ersten antimikrobiellen Polymere wurden 1965 von Cornell und Donaruma am Beispiel von 2-Methacryloxytroponon basierten Polymeren beschrieben.<sup>38</sup> Daraufhin wurde in den Folgejahren eine Vielzahl von Polymeren synthetisiert und deren antimikrobielle Wirkung beschrieben, was das deutlich steigende Interesse an diesen Verbindungen zeigt.<sup>6-8, 29-30, 37, 39-48</sup> Dies wird auch an der enormen Zahl von Publikationen zum Thema „antimikrobielle Polymere“ deutlich, welche seit 1980 gerade mal bei 10 und 2016 über 700 lag.<sup>42</sup> Die genaue Wirkungsweise ist jedoch bis jetzt nicht immer komplett geklärt.

Antimikrobielle Polymere finden aufgrund ihres hohen antimikrobiellen und selektiven Potentials, z.B. Anwendung im Bereich von Hygieneanwendungen, im Gesundheitswesen, in Fasern für sterile Bandagen, für biomedizinische Anwendungen, für Kleidung, als antibakterielle Beschichtungen, zur Wasserfiltration, für Lebensmittelverpackungen und vielem mehr.<sup>6-8, 43, 45, 49</sup> Bei der Vielzahl mittlerweile bekannter antimikrobieller Polymerverbindungen, lassen sich diese in drei Hauptgruppen unterteilen. Die Biozid-freisetzenden Polymere, polymerisierte Biozide und biozide Polymere (siehe *Abbildung 1*).



**Abbildung 1:** Schema allgemeiner Wirkmechanismen von antimikrobiellen Polymeren: a) Biozid-freisetzende Polymere; b) polymerisierte Biozide; c) Biozide Polymere, nach Siedenbiedel et al.<sup>29</sup>.

Die Biozid-freisetzenden Polymere besitzen selbst keine intrinsische antimikrobielle Aktivität, sondern entfalten diese durch die Freisetzung von Bioziden oder Antibiotika.<sup>29, 47</sup> Der dazugehörige Mechanismus folgt dabei dem der niedermolekularen Analoga.<sup>50-51</sup> Die polymerisierten Biozide besitzen biozide Gruppen als Wiederholungseinheiten, dabei folgt das Makromolekül in der Regel dem gleichen Wirkmechanismus wie das niedermolekulare Biozid.<sup>50-51</sup> Die Aktivität ist, bedingt durch die sterische Hinderung des Polymerrückgrats, oft geringer.<sup>47</sup> Die dritte Klasse, die bioziden Polymere, werden aus nicht bioziden Monomeren aufgebaut und erst das eigentliche Makromolekül verfügt in seiner Gesamtheit dann über biozide Eigenschaften.

Die Bedeutung dieser Gruppe von antimikrobiellen Polymeren wird besonders durch die Vielzahl an Reviews ersichtlich. Darin wurden unzählige Beispiele für biozide Polymere, die dazugehörigen Synthesewege, strukturspezifische Anforderungen, die Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität bezüglich verschiedener Faktoren (amphiphile Natur, Gegenion, Molekulargewicht, pH-Wert, Alkylkettenlänge, Ladungsdichte, Hydrophobizität, usw.), Wirkmechanismen und die Interaktion mit Zellen, Toxizität sowie die Biokompatibilität analysiert, beschrieben, diskutiert und eingeteilt.<sup>7-8, 29, 37, 43, 47, 52-53</sup> Eine Einteilung der bioziden Polymere wurde erstmalig 2016 von Krumm und Tiller vorgenommen, welche diese in die folgenden drei Unterklassen eingeteilt: amphiphile Polykationen, telechele biozide Polymere und hydrophile Polykationen (siehe *Abbildung 2*).<sup>47</sup>

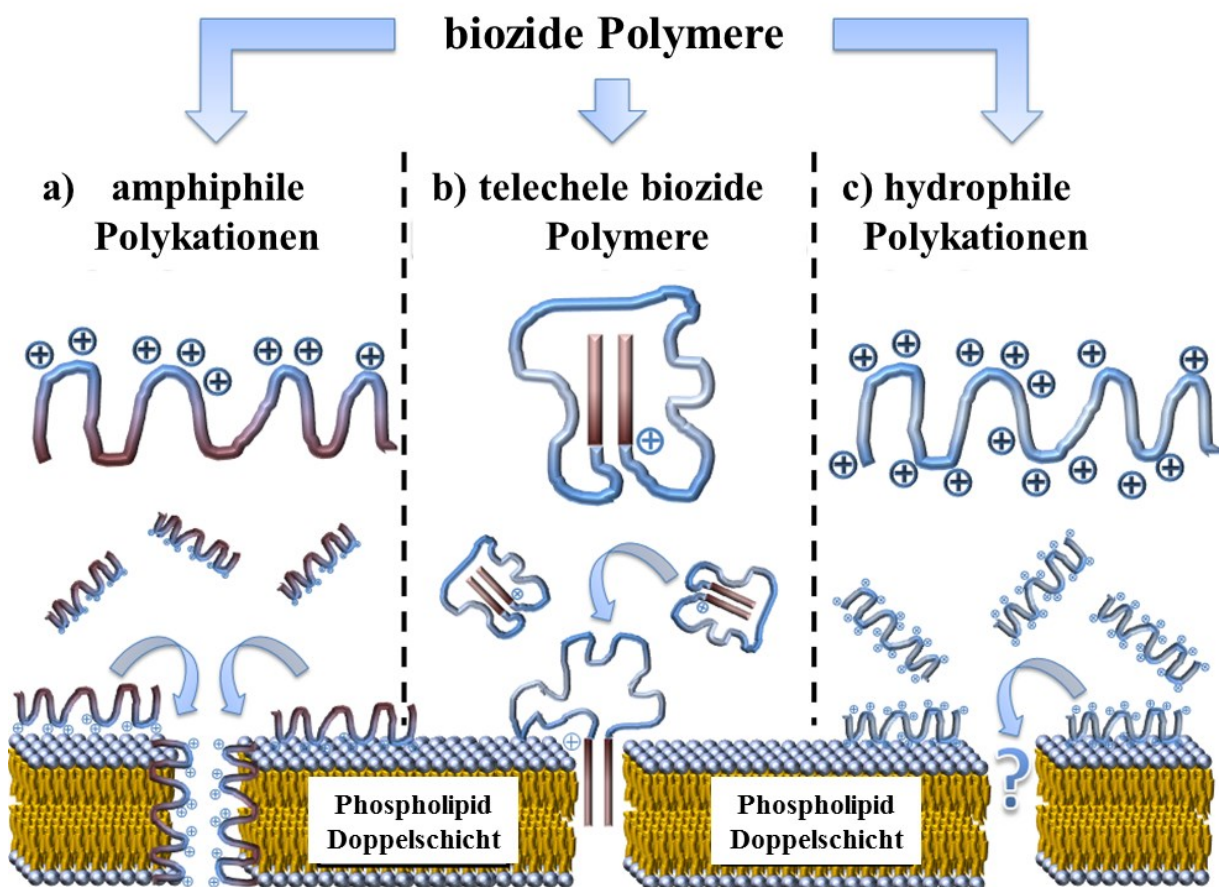
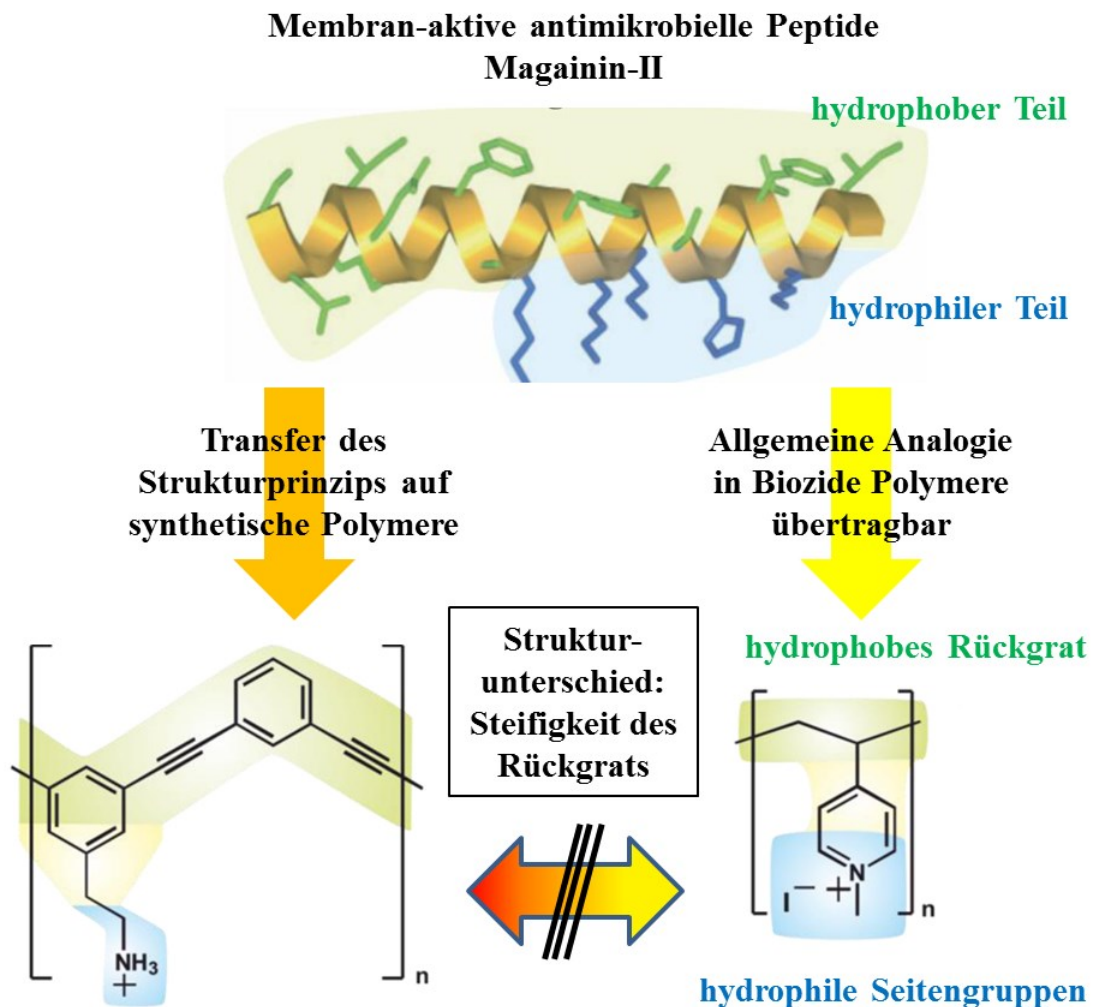


Abbildung 2: Schema der verschiedenen Unterklassen von bioziden Polymeren: a) amphiphile Polykationen; b) telechele biozide Polymere; c) hydrophile Polykationen, nach Krumm et. al.<sup>47</sup>

Bei telechelen bioziden Polymeren (siehe *Abbildung 2b*) besitzt das Polymerrückgrat selbst keine biozide Wirkung, diese wird durch die antimikrobiell wirkenden Gruppen am Ende der Polymere entfaltet. Besonders intensiv sind diese Polymere anhand von Poly(2-oxazolin), mit *N,N*-Dimethyldodecylamin als biozide Endgruppe, von der Gruppe um Tiller untersucht.<sup>54-66</sup> Die Einführung einer nicht bioziden am entgegengesetzten Ende des Polymerrückgrats befindlichen funktionellen Gruppe, ermöglicht die Kontrolle der antimikrobiellen Aktivität über mehrere Größenordnungen hinweg.<sup>65, 67</sup> Die Anbindung abspaltbarer Endgruppen erlaubt es, schaltbare Verbindungen, bezüglich der antimikrobiellen Aktivität, zu generieren.<sup>58</sup>



**Abbildung 3:** Schema der Struktur biozider Polymere nach dem Vorbild antimikrobieller Peptide, nach Siedenbiedel et. al.<sup>29</sup>.

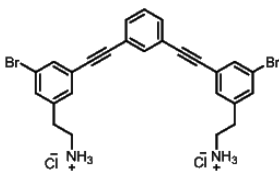
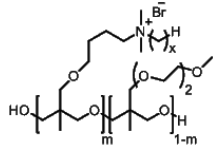
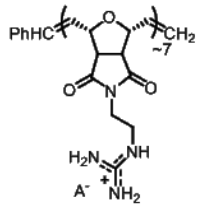
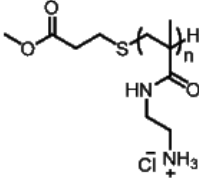
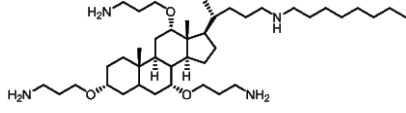
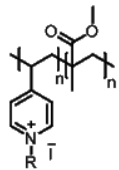
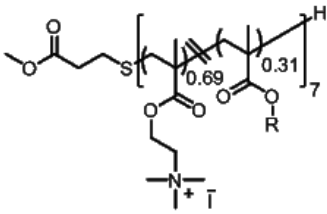
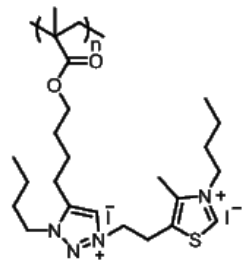
Die zweite und größte Gruppe der bioziden Polymere, stellen die amphiphilen Polymere (AMP, siehe *Abbildung 2a*) dar. Dabei wirken die meisten davon ähnlich wie natürliche, antimikrobielle Peptide (z.B. Magainin) und besitzen analoge Struktur motive. Das Magainin besitzt einen hydrophilen, kationischen und einen hydrophoben Teil, welche idealerweise durch eine steifes Rückgrat voneinander getrennt sind (siehe *Abbildung 3*). Kationische, amphiphile Polymere lagern sich

zunächst an die negativ-geladenen Oberfläche der Zellen an und perforieren diese dann durch die Insertion des hydrophoben Molekülteils. Die nach diesem Mechanismus wirkenden amphiphilen Polymere erreichen exzellente antimikrobielle Aktivitäten, da sie die Zellmembran besonders effektiv zerstören.<sup>52, 68</sup> Die Effektivität hängt dabei im Wesentlichen vom Molekulargewicht, der Ladungsdichte und dem Verhältnis der hydrophilen zu den hydrophoben Komponenten des Makromoleküls ab.<sup>7, 47, 52</sup> Jedoch wirken amphiphile Polymere nicht nur gegen eine Vielzahl von Bakterienstämmen, sondern auch gegen Säugetierzellen und sind daher als toxisch einzustufen. Dies schränkt ihr Einsatzgebiet daher stark ein. Eine Auswahl (siehe **Tabelle 1**) dementsprechender repräsentativer Polymere bieten beispielsweise die Reviews von King et. al.<sup>68</sup>, Timofeeva et. al.<sup>7</sup> und Ganewatta et. al.<sup>42</sup>. Dabei liegen die minimal inhibierenden Konzentrationen (MIC; Konzentration bei der 99% der bakteriellen Zellen am Wachstum gehindert werden) bei 0.21 bis zu 118 µg/mL und die Hämokompatibilitäten für rote Blutzellen (RBC) betragen bestenfalls ~6400 µg/mL, woraus sich Selektivitäten von bis zu >640 ergeben.<sup>68</sup> Je größer der Wert für die Selektivität ist, desto geeigneter ist die Verbindung im Allgemeinen für den Einsatz mit Säugetierzellen. Allgemein wurde nachgewiesen, dass mit steigendem hydrophobem Charakter der Polymere auch die Hämolyse steigt.<sup>69-70</sup>

Eine Alternative zu den meist toxischen amphiphilen Polymeren, stellt die dritte Gruppe der bioziden Polymere dar, die hydrophilen Polykationen (siehe **Abbildung 2c**). Diese hydrophilen Makromoleküle mit einer hohen Ladungsdichte, haben sich ebenfalls als antimikrobiell wirksam erwiesen.<sup>10-11, 71</sup> Im Gegensatz zu den amphiphilen Polykationen<sup>54, 72-73</sup>, sollten die hydrophilen Polykationen jedoch nicht verzweigt sein.<sup>74-76</sup> Dabei können verschiedenste Gruppen wie tertiäre Sulfonium-<sup>77</sup>, tertiäre Pyridinium-<sup>78-81</sup>, Guanidinium<sup>82-85</sup>, Biguanidinium-<sup>86-87</sup>, quartäre Phosphonium-<sup>88-90</sup> und quartäre Ammonium- Funktionen<sup>18</sup> für antimikrobielle Polykationen verwendet werden.

Einen besonderen starken Anteil zur Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften von hydrophilen Polykationen sowie ihres Wirkmechanismus leistete Ikeda et. al. in den 1980er und 1990er Jahren.<sup>10, 12, 18-19, 77, 79, 86-92</sup> Ikeda et. al. und Gilbert et. al. stellten fest, dass sich die Makromoleküle immer in der Umgebung von Phosphationen der Zytoplasmamembran, Lipopolysaccharide oder der Peptidoglykankomponenten befinden und stark mit diesen wechselwirken.<sup>12, 93</sup> Der postulierte Mechanismus besteht aus mehreren Phasen. Zuerst erfolgt die Adsorption des Polymers an die Zelloberfläche, gefolgt von der Diffusion durch die Zellwand, Binden an die Zytoplasmamembran, Störung der Zytoplasmamembran, Freisetzung der Zytoplasmabestandteile (z.B. K<sup>+</sup>, DNA, RNA) und letztendlich dem Zelltod.<sup>19</sup> Diese membranaktive Wirkungsweise wird ebenfalls für amphiphile, kationische Polymere beobachtet.<sup>18</sup> Grundsätzlich wurden die Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität vom Molekulargewicht<sup>10</sup>, Größe der Aggregate<sup>94</sup>, der Alkylspacerlänge<sup>91</sup> und dem Gegenion<sup>88</sup> nachgewiesen. Die Aktivität für quartäre Ammoniumsalze steigt dabei interessanterweise vom Monomer / Dimer < Trimer < Polymer, d.h. zu höheren Molekulargewichten, an.<sup>10</sup>

**Tabelle 1: Gegenüberstellung der Zelltoxizität und Selektivität polymerer und molekularer Verbindungen nach King et. al.<sup>68</sup> und Timofeeva et. al.<sup>7</sup>.**

Struktur	Beschreibung	MIC [ $\mu\text{g/mL}$ ]	HC <sub>50</sub> für RBC [ $\mu\text{g/mL}$ ]	S <sup>a)</sup>	Literatur
	Phenylethynylen-diammoniumchlorid	0.21 ( <i>S. aureus</i> )	88	440	Tew et. al. 12 <sup>95</sup>
	C6-50-Copolyoxetan M <sub>n</sub> = 5.7 kDa x = 6	6.7 ( <i>E. coli</i> ) 2.7 ( <i>S. aureus</i> ) 31 ( <i>P. aeruginosa</i> )	762	114 283 25	King et. al. <sup>68</sup>
	Polyguanidinium-oxanorbornen (PGON) 2.5 kDa	6 ( <i>E. coli</i> ) 12 ( <i>S. aureus</i> )	~1500	250 125	Gabriel et. al. <sup>85</sup>
	Methacrylamid-homopolymer mit primären Amin-Gruppen n = 17	118 ( <i>E. coli</i> ) 10 ( <i>S. aureus</i> )	~6400	>54 >640	Palermo et. al. <sup>96</sup>
	CSA-13 Ceragenin	1 ( <i>S. aureus</i> , <i>Vancomycin</i> <i>resistent</i> ) 4 ( <i>P. aeruginosa</i> )	120	120 30	Chin et. al. <sup>97</sup>
	Pyridinium-methacrylat-copolymer n = 50 R = Butyl-Gruppe	50 ( <i>E. coli</i> ) 30 ( <i>B. subtilis</i> )	1709	34 57	Sambhy et. al. <sup>98</sup>
	Methacrylat-copolymer mit einer quartären Ammonium-Seitengruppe	46 ( <i>E. coli</i> )	1200	26	Palermo et. al. <sup>99</sup>
	Methacrylat-polymere mit quartären Thiazol-/Triazol-Seitenketten (PMTA1-BuI)	32 ( <i>E. coli</i> ) 4 ( <i>S. aureus</i> ) 4 ( <i>P. aeruginosa</i> ) 4 ( <i>S. epidermidis</i> )	>5000	>156 >1250 >1250 >1250	Tejero et. al. <sup>100</sup>

a) Die Selektivität S wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet.

Eine besonders stark untersuchte Gruppe der antimikrobiellen, hydrophilen Polykationen sind Ionene, welche zu den polyquartären Ammoniumverbindungen<sup>71, 74</sup> zählen. Bei den Ionen befinden sich die quartären Ammoniumgruppen in der Hauptkette der Polymere.<sup>101</sup> Das erste Ionen wurde 1933 von Gibbs et. al. aus halogenierten Alkyldimethylaminen hergestellt.<sup>102</sup> Die Nomenklatur der linearen, nicht-segmentierten Ionene ergibt sich typischerweise aus den Methylen-Einheiten der eingesetzten Monomere, d.h. des tertiären Amins und des Dihalogenids. Das bedeutet bei x,y-Ionen steht x für die Zahl an CH<sub>2</sub> Einheiten im Diamin und y für Anzahl an CH<sub>2</sub> Einheiten im Dihalogenid (siehe **Abbildung 2a**).<sup>103</sup>

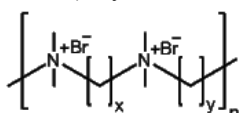
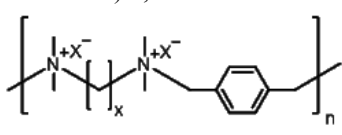
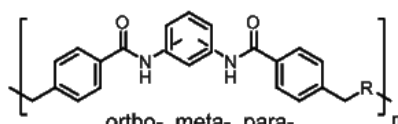
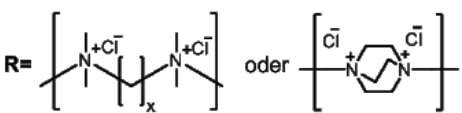
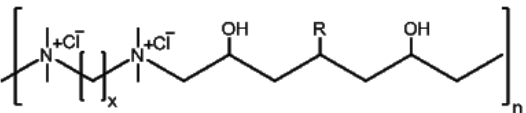
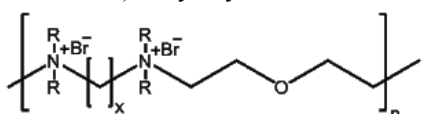
Neben Ikeda untersuchten weitere Gruppen verschiedene Faktoren und deren Bezug auf die biologische Aktivität der Ionene. Deren Ergebnisse sind im Folgenden zusammenfassend dargestellt. Zelikin et. al. untersuchte für verschiedene aliphatische Ionene (2,4-, 2,8-, 2,10-Ionen, siehe **Tabelle 2a**) den Einfluss von Ladungsdichte und Polymerisationsgrades (DP = 10-30) im Zusammenhang als Gen-Transfer-Wirkstoff.<sup>104</sup> Dabei konnte kein signifikanter Einfluss der Ladungsdichte oder des Polymerisationsgrades auf die in vitro Zytotoxizität für P388DS Makrophagen festgestellt werden. Jedoch wurde eine Abhängigkeit vom Typ des Polykations (primäre, sekundäre, tertiäre oder quartäre Aminogruppe) gezeigt. Die minimale Viabilität von 80% im Vergleich zur Referenz, wies auf eine geringe Zytoxizität im Vergleich zu Polyethylenimin und Polylysin hin.

Liu et. al. beschäftigten sich mit der Synthese und Charakterisierung von verschiedenen Ionen mit einem breiten antimikrobiellen Spektrum, aus kommerziell erhältlichen Monomeren (siehe **Tabelle 2b**). Die strukturelle Variation erfolgte durch die Polyaddition von 1,4-Dichlor-p-xylol mit aliphatischen und aromatischen  $\alpha,\omega$ -Tetramethyldiaminen.<sup>13</sup> Dabei weist besonderes das 2,p-Xylol-Ionen ( $M_n = 3506$  g/mol) sehr gute antimikrobielle Aktivitäten gegen klinisch isolierte Keime (z.B. MRSA) mit Werten von MIC = 1.95 - 31.3  $\mu\text{g/mL}$  auf. Die Bakterienreduktion beträgt für *E. coli* nach 2 min bereits 99.9999% ( $\log_{10} 4$ ; am 2·MIC), für *S. aureus* nach 2 min 99.99% ( $\log_{10} 2$ ; am 4·MIC) und für *P. aeruginosa* nach 10 min 99.99% ( $\log_{10} 2$ ; am 13·MIC), was eine effiziente und schnelle Tötung der Keime beweist. Im Hinblick auf klinische Anwendungen zeigt das 2,p-Xylol-Ionen >80% Zellviabilität nach 2 min ( $c = 500$   $\mu\text{g/mL}$ ) und eine Freisetzung von <10% Lactatdehydrogenase nach 1 Stunde für menschliche, dermale Fibroblasten (HDF). Dies stellt eine exzellente Biokompatibilität gegenüber HDFs dar. Ausgehend von noch eher hydrophilen 2,p-Xylol-Ionen ( $\text{MIC}_{E. coli} = 7.8$ ,  $\text{MIC}_{S. aureus} = 3.9$ ,  $\text{MIC}_{P. aeruginosa} = 7.8$ ,  $\text{HC}_{50} = >5000$   $\mu\text{g/mL}$ ) hin zu hydrophoberen p-Xylol,p-Xylol-Ionen ( $\text{MIC}_{E. coli} = 31.3$ ,  $\text{MIC}_{S. aureus} = 7.8$ ,  $\text{MIC}_{P. aeruginosa} = 250$ ,  $\text{HC}_{50} = 188$   $\mu\text{g/mL}$ ), sinkt sowohl die Hämokompatibilität als auch die antimikrobielle Aktivität.

Die Untersuchungen der Ladungsdichte und Hydrophobie von Ionen (siehe **Tabelle 2b**) auf Hefe-Protoplasten von Narita et. al. ergab, dass die Ionene mit längeren hydrophoben Segmenten, aber niedrigeren Ladungsdichten, gegenüber den Ionen mit höheren Ladungsdichten, eine höhere biozide Aktivität aufweisen.<sup>105-106</sup> Daraus wurde geschlossen, dass die Hydrophobie der dominanter Faktor ist. Ebenso konnte Zheng et. al. durch die Synthese Kamm-ähnlicher Ionene (siehe **Tabelle 2d**), durch

Variation verschiedener Alkylketten ( $C_2$  bis  $C_{18}$ ) als Seitengruppen zeigen, dass die antimikrobielle Aktivität von der hydrophoben-hydrophilen Balance im Ionen abhängig ist.<sup>107</sup> Die antimikrobielle Aktivität gegen *E. coli* reichte von MIC = 7.8 bis 250  $\mu\text{g/mL}$ , wobei die Spezies mit der  $C_4$ -Alkylseitenkette die höchste Aktivität aufweist.

**Tabelle 2: Allgemeine Übersicht verschiedener literaturbekannter Ionene und deren antimikrobieller Aktivität (ggf. auch Hämokompatibilität). Verbindungstyp: a) x,y-Ionene<sup>10</sup>; b) x,X-Ionene<sup>10, 18, 106, 108</sup>; c) Ionene mit verschiedenen Orientierungen der aromatischen Einheit<sup>109</sup>; d) Kamm-ähnliche Ionene<sup>107</sup>; e) Alkyloxy-Ionene<sup>110</sup>.**

Verbindungstyp	Spezies	MIC [ $\mu\text{g/mL}$ ]	Literatur
a) x,y-Ionene  $x = 2, 3, 6 \text{ oder } 12$ $y = 3, 4, 6, 8, 10 \text{ oder } 12$	6,6-Ionen	66-100 ( <i>E. coli</i> ) 10-33 ( <i>S. aureus</i> ) 66-100 ( <i>P. aeruginosa</i> )	Ikeda et. al. <sup>10</sup>
b) x,X-Ionene  $x = 2, 3, 6, 12 \text{ oder Aromat}$	Xylol,Xylol-Ionen  2,p-Xylol-Ionen	66-100 ( <i>E. coli</i> ) 10-33 ( <i>S. aureus</i> ) 100-330 ( <i>P. aeruginosa</i> )  7.8 ( <i>E. coli</i> ) 3.9 ( <i>S. aureus</i> ) 7.8 ( <i>P. aeruginosa</i> ) >5000 (HC <sub>50</sub> für RBC)	Ikeda et. al. <sup>10</sup>  Liu et. al. <sup>13</sup>
c) Ionene mit verschiedenen Orientierungen der aromatischen Einheit  ortho-, meta-, para-  $x = 2, 3, 4, 6$	R = $x = 2, 3, 4, 6$  DABCO	~820-16000 ( <i>E. coli</i> ) (RBC-Lyse 0.25-13% bei ~4000-16000 $\mu\text{g/mL}$ )  ~5700-16000 ( <i>E. coli</i> ) (RBC-Lyse 8-31% bei ~4000-16000 $\mu\text{g/mL}$ )	Mayr et. al. <sup>109</sup>
d) Kamm-ähnliche Ionene  $x = 6$ $R = C_2H_5, C_4H_9, C_6H_{13}, C_{12}H_{25}, C_{18}H_{37}$	$x = 6$ R = $C_2H_5$ R = $C_4H_9$ R = $C_6H_{13}$ R = $C_{12}H_{25}$ R = $C_{18}H_{37}$	62.5 ( <i>E. coli</i> ) 7.8 ( <i>E. coli</i> ) 31.2 ( <i>E. coli</i> ) 62.5 ( <i>E. coli</i> ) 250 ( <i>E. coli</i> )	Zheng et. al. <sup>107</sup>
e) Alkyloxy-Ionene  $x = 2, 4, 5, 6, 10, 12$ $R = CH_3, C_4H_9, C_6H_{13}, C_8H_{17}$	$x = 2, 4, 5, 6, 10, 12$ R = $CH_3$ R = $C_4H_9$ R = $C_6H_{13}$ R = $C_8H_{17}$	~6.25-8.75 ( <i>E. coli</i> ) ~800-1000 ( <i>E. coli</i> ) ~250 ( <i>E. coli</i> ) 10-15 ( <i>E. coli</i> )	Mattheis et. al. <sup>110</sup>

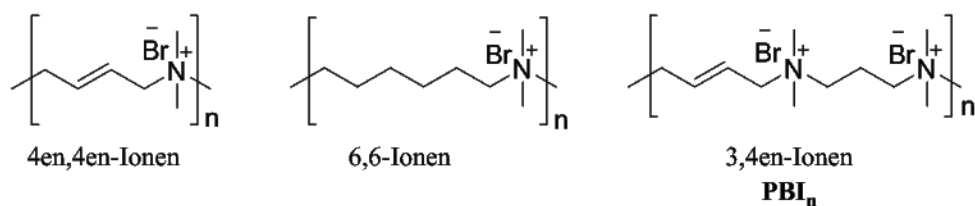


Mayr et. al. untersuchten durch den Einsatz verschiedener *N,N'*-(*p*-phenylene)dibenzamide (ortho, meta, para) und verschiedener Diamine ( $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ ,  $C_6$  und 1,4-Diazabicyclo-[2.2.2]-octan (DABCO)) als zweites Hauptkettenelement im Ionen (siehe **Tabelle 2c**), den strukturellen und topologischen Einfluss auf die antimikrobielle Aktivität (MIC) gegen *E. coli* und die hämolytische Aktivität für RBC.<sup>109</sup> Die Verbindungen besitzen 7 - 14 Wiederholungseinheiten und eine Polydispersität von 2.1 - 5.7. Die Ionene welche DABCO (1.4-1.8  $\mu\text{mol/mL}$ ) oder ortho-Verbindungen (0.8 - 2.0  $\mu\text{mol/mL}$ ) enthalten, besitzen im Allgemeinen einen höheren MIC-Wert. Die besten MIC-Werte zeigen die Verbindungen mit  $C_3$ -Alkylspacer (0.2 - 0.9  $\mu\text{mol/mL}$   $\rightarrow$   $\sim$ 819-3600  $\mu\text{g/mL}$ ). Als am wenigstens hämotoxisch erweisen sich die Meta-Topologien mit  $C_2$  bis  $C_6$  Alkylspacern (Lyse < 2% bei  $\sim$ 16000  $\mu\text{g/mL}$ ), wohingegen die DABCO haltigen Polymere Lysen von bis 31% besitzen. Die Selektivitäten der Verbindungen liegen bei maximal 20.

Mattheis et. al. untersuchten anhand von Alkoxyethylammonium-Iononen (siehe **Tabelle 2e**) den Einfluss verschiedener Alkylspacer in der Hauptkette zwischen den quartären Ammonium-Funktionen, verschiedener Alkylseitengruppen am quartären Stickstoff sowie verschiedener Gegenionen.<sup>110</sup> Dabei wurde kein signifikanter Einfluss zwischen 4 bis 12 Methyleinheiten in der Hauptkette, bezüglich der antimikrobiellen Aktivität gegen *E. coli* festgestellt. Ferner zeigt die Variation der Seitengruppen am quartären Stickstoff, von Methyl- bis hin zu Oktyl-Gruppen, eine deutliche Verringerung der antimikrobiellen Aktivität. Bezüglich des Gegenions (Hydroxid, Phosphat, Bromid) wird meist nur einer kleiner Einfluss auf die antimikrobielle Aktivität nachgewiesen, wobei jedoch das Hydroxid zu einer Verschlechterung führt. Dagegen besitzen Verbindungen mit Hydroxid als Gegenion, eine um zwei Größenordnungen geringere Zytotoxizität für L929 Mausfibroblasten ( $\text{IC}_{50}(6,0\text{-PI-1}) = 466 \mu\text{g/mL}$ ), als die analogen Verbindungen mit Bromid oder Phosphat als Gegenion.

Vorarbeiten am Lehrstuhl für Biomaterialien und Polymerwissenschaften von J. Küpper (06-2011), Kracke (12-2011) und J. Wengers (2013), beschäftigen sich gezielt mit der Untersuchung des hydrophilen Poly[(((dimethylimino)-propan-1,3-)((dimethyliminio)-2-buten-1,4-))diyl dibromid] (3,4en-Ionen;  $\text{PBI}_n$ ) und kamen dabei zu einer Reihe sehr interessanter Ergebnisse. Diese präsentieren die hydrophilen Polykationen als eigenständige und wenig hämotoxische Gruppe von antimikrobiellen Polymeren. J. Küpper<sup>111</sup> synthetisierte und untersuchte in seiner Diplomarbeit 4en,4en-Ionen und  $\text{PBI}_n$  (siehe **Abbildung 4**). Auf Basis der antimikrobiellen und hämolytischen Charakterisierung, wurde an Hand der hohen erzielten Selektivitäten des  $\text{PBI}_n$  ( $S_{E. coli} = 320$ ,  $S_{S. aureus} = 320$ ,  $S_{S. mutans} = 640$ ) das hohe Potential des Polymers identifiziert.





**Abbildung 4: Chemische Strukturen und Benennung der Ionene (Poly[[dimethyliminio]-2-buten-1,4-diylbromid] (4en,4en-Ionen)); Poly[[dimethyliminio]-hexan-1,6-diylbromid] (6,6-Ionen); Poly[(((dimethylimino)-propan-1,3-)((dimethyliminio)-2-buten-1,4-))diyl dibromid] (3,4en-Ionen; PBI<sub>n</sub>).**

Die folgende Diplomarbeit von J. Kracke<sup>16</sup> fokussierte sich besonders auf die Untersuchung des antimikrobiellen Potential von PBI. Dabei wurden durch detaillierte MIC-Tests, die genauen antimikrobiellen Wirksamkeiten des Polymers für verschiedene Gram-positive und Gram-negative Bakterienstämme analysiert (siehe **Tabelle 3**). PBI<sub>n</sub> besitzt eine sehr breite Aktivität im Bereich von 2 µg/mL für *S. epidermidis* bis zu 55 µg/mL *P. aeruginosa*. Im Allgemeinen besitzt PBI<sub>n</sub> eine höhere antimikrobielle Aktivität für Gram-positive als für Gram-negative Bakterienstämme. Verfügt aber nach Fortuniak et. al.<sup>112</sup> gegenüber allen untersuchten Keimen, eine mindestens „sehr gute“ antimikrobielle Aktivität. Der HC<sub>50</sub>-Wert für rote Schweineblutzellen (RBC), als Maß für die Hämokompatibilität, liegt bei beachtlichen 40000 µg/mL, was exzellent ist. Die aus HC<sub>50</sub>- und MIC-Werten berechneten Selektivitäten (siehe **Tabelle 3**) von >700 für *S. epidermidis* bis zu >20000 für *P. aeruginosa*, machen dieses Polymer zu dem am selektivsten (in Bezug auf RBC) veröffentlichten Polyquaternium-Makromolekül. Die höchsten Selektivitäten Biozider Polymere in der Literatur, liegen bei  $S_{E. coli} = >54^{96}$ ,  $114^{68}$ ,  $250^{85}$ ,  $S_{S. aureus} = 283^{68}$ ,  $440^{95}$ ,  $>1250^{113}$   $S_{P. aeruginosa} = 25^{68}$ ,  $30^{97}$ ,  $>1250^{114}$  und  $S_{B. subtilis} = 57^{98}$ .

**Tabelle 3: MIC Werte und Selektivitäten ( $S = HC_{50}/MIC$ ) von PBI<sub>n</sub> gegen die verschiedenen Bakterienstämme *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Lactobacillus casei* (*L. casei*) und *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*).<sup>16</sup>**

Bakterienstamm	Gram Färbung	MIC <sup>a)</sup> [µg/mL]	S <sup>b)</sup>
<i>S. epidermidis</i>	+	2	>20000
<i>B. subtilis</i>	+	10	>4000
<i>L. casei</i>	+	10	>4000
<i>S. mutans</i>	+	18	>2000
<i>S. aureus</i>	+	35	>1000
<i>E. coli</i>	-	40	>1000
<i>P. aeruginosa</i>	-	55	>700

a) Die Werte wurden mindestens doppelt bestimmt und zeigten in allen Fällen eine vollständige Reproduzierbarkeit. Jedoch liegt der wahre MIC zwischen dem angegebenen Wert und der halben Konzentration. Der MIC wurde durch zusätzliche Tests durch Erniedrigung der PBI<sub>n</sub> Konzentration, in 5 µg/mL Schritten für *E. coli*, *P. aeruginosa*, und *S. aureus* und 8 µg/mL Schritten für *S. mutans*, ausgehend von 20 µg/mL, bestimmt. Für die Stämme *B. subtilis* und *L. casei* wurden 2 µg/mL Schritte ausgehend von 6 µg/mL gemacht. Für *S. epidermidis* wurden 1 µg/mL Schritte ausgehend von 1 µg/mL gemacht. b) Die Selektivität wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet.

Die Synthese und Charakterisierung der literaturbekannten 4en,4en- und 6,6-Ionene, zeigte zudem, dass die Variation der Alkylgruppen in der Hauptkette von Propyl zu Hexyl keinen signifikanten

Unterschied in der biologischen Aktivität bewirkt (siehe **Tabelle 4**).<sup>17</sup> Dass die Membran roter Blutzellen selbst bei einer Konzentration von 40000 µg/mL nicht beeinträchtigt wird und dennoch mindestens gute MIC-Werte vorliegen, beweist die hohe Selektivität dieser Polymere. Damit wird der vorgeschlagene Mechanismus der Membranaktivität<sup>18</sup> für hydrophile Polykationen in Frage gestellt. Die hohen Selektivitäten dieser hydrophilen Polykationen machen diese Polymere zu Kandidaten einer neuen Klasse von antimikrobiellen Polymeren.

**Tabelle 4: Antimikrobielle und hämolytische Aktivität verschiedener Ionen.**<sup>17</sup>

Polymer <sup>a)</sup>	MIC <sup>b)</sup> [µg/mL]		S <sup>c)</sup>		HC <sub>50</sub> <sup>d)</sup>
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	[µg/mL]
4en,4en-Ionen	80	40	>500	>1000	> 40000
6,6-Ionen	40	40	>1000	>1000	> 40000
6,6-Ionen <sup>18</sup>	100 - 330	33 - 66	-	-	-
3,4en-Ionen (PBI <sub>n</sub> )	40 <sup>e)</sup>	35 <sup>e)</sup>	>1000	>1142	> 40000

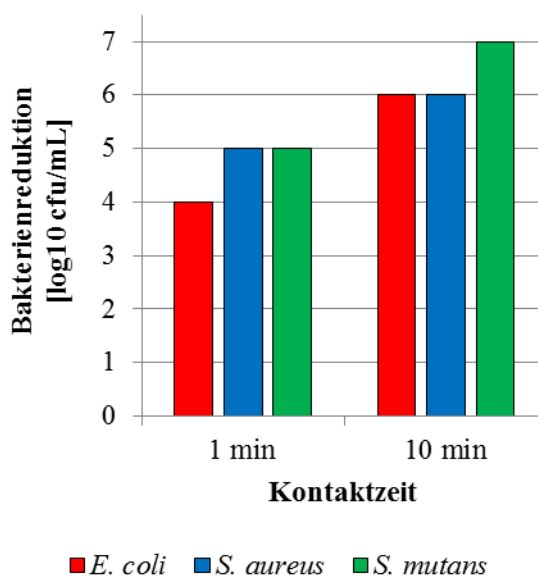
a) Mit Größenausschlusschromatographie (GPC) wurden Molekulargewichte von M<sub>n</sub> 8000-16000 und Polydispersitäten PDI = 1.6-2.0 ermittelt b) Die Werte wurden mindestens doppelt bestimmt und zeigten in allen Fällen eine vollständige Reproduzierbarkeit. Jedoch liegt der wahre MIC zwischen dem angegebenen Wert und der halben Konzentration. c) Die Selektivität S wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet. d) Die Lyse der roten Schweineblutzellen war bei allen angegebenen Polymerkonzentrationen <1%. e) Der MIC wurde durch zusätzliche Tests durch Erniedrigung der PBI<sub>n</sub> Konzentration, in 5 µg/mL Schritten, ausgehend von 20 µg/mL, bestimmt.

Außerdem untersuchte J. Kracke PBI<sub>n</sub> hinsichtlich seiner Tötungseffizienz und -rate. Die bestimmten log<sub>10</sub>-Reduktionen (siehe **Tabelle 5**) zeigen dabei, dass selbst beim MIC-Wert, mehr als 99.9% der Bakterien abgetötet wurden. Das bedeutet, dass der MIC-Wert der minimalen bakteriziden Konzentration (MBC, engl. minimal bactericidal concentration) entspricht.

**Tabelle 5: LOG-Reduktion der Kolonie bildenden Einheiten (CFUs, engl. colony forming units) von PBI<sub>n</sub> für verschiedene Konzentrationen. Der Test wurde mit einer Bakterienstartkonzentration von 10<sup>8</sup> CFU/mL in Nährmedium durchgeführt. Nach der Inkubation bei 37 °C für 24h, wurde das Medium 10-fach in Nährmedium verdünnt und die CFUs wurden mittels Plattenzählung ermittelt.**<sup>16</sup>

Bakterienstamm	c (PBI <sub>n</sub> ) [µg/mL]	Bakterien Reduktion [log <sub>10</sub> cfu/mL]	MBC [µg/mL]
<i>E. coli</i>	MIC	4	40
	2·MIC	4	
	4·MIC	>6	
<i>S. aureus</i>	MIC	4	35
	2·MIC	5	
	4·MIC	>6	
<i>S. mutans</i>	MIC	4	18
	2·MIC	4	
	4·MIC	6	

Bemerkenswert ist zudem, dass PBI innerhalb einer Minute die Zahl der Bakterien (*E. coli*, *S. aureus*, *S. mutans*) um mehr als 99.99% reduziert (siehe **Abbildung 5**). Nach nur 10 min liegt die  $\log_{10}$ -Reduktion beim MIC, für alle Bakterienstämme, bei 6 oder höher. Dagegen weisen vergleichbare antimikrobielle Verbindungen in der Literatur, mit MIC-Werten von  $< 100 \mu\text{g/mL}$ , nur selten Tötungsgeschwindigkeiten von weniger als 30 min auf.<sup>7-8, 115-117</sup>



**Abbildung 5:**  $\log_{10}$ -Reduktion verschiedener Bakterienstämme in PBS nach 1 min und 10 min Kontaktzeit für den jeweiligen MIC von PBI<sub>n</sub>.<sup>16-17</sup>

Neben der ausführlichen antimikrobiellen Charakterisierung von PBI<sub>n</sub>, untersuchte F. Kracke zudem die Terminierung von PBI<sub>n</sub> mit verschiedenen primären und tertiären Aminverbindungen, um Alkyl-, Amin-, Hydroxy- oder Methacrylat-Endgruppen zu erzeugen. Besonders auffällig war dabei der Abbau des PBI<sub>n</sub>, welcher vor allem bei der Umsetzung mit primären Aminverbindungen stattfand. F. Kracke stellte zudem die Hypothese einer Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität von dem Molekulargewicht und den Endgruppen von PBI<sub>n</sub> auf.

J. Wenners untersuchte systematisch in ihrer Diplomarbeit den Einfluss des Molekulargewichts und der Endgruppen von PBI auf die antimikrobielle und hämolytische Aktivität.<sup>20</sup> Durch beidseitige Monomeraddition wurden PBI-Oligomere mit beidseitigen Amin- oder Brom-Endgruppen synthetisiert. Zudem wurden durch einseitige Monomeraddition PBI-Oligomere synthetisiert, die auf der einen Seite eine Alkyl-Modifizierung (Butyl bzw. Dodecyl) und auf der entgegengesetzten Seite eine Brom- oder Amin-Endgruppe besaßen. Dabei konnte eine Zunahme der antimikrobiellen Aktivität mit dem Molekulargewicht, ein Einfluss der Endgruppen auf die Aktivität und eine bakterienspezifische Wirkung identifiziert werden. Aufgrund des hohen Anteils (~30%) an dimeren Verbindungen und Ringstrukturen innerhalb der Synthese, ergaben sich schon frühzeitig hohe Molekulargewichte. Durch den hohen Nebenproduktanteil war eine enge Molmassenverteilung,

welche für die Evaluation der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wichtig ist, nicht gegeben. Aus diesem Grund war eine weitere Optimierung der Synthesebedingungen von essentieller Bedeutung.

Die untersuchten Ionene zeichnen sich durch ihr breites antimikrobielles Anwendungsspektrum gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterienstämme aus, welche sie zudem besonders schnell töten. Zudem besitzen sie exzellente Hämokompatibilitäten gegenüber RBC, welche bislang jedoch kaum erforscht sind. Gleiches gilt für die Untersuchung des Einflusses des Molekulargewichts und definierter Endgruppen hinsichtlich der Wirkung auf die biologischen Eigenschaften. Ein umfassendes Verständnis der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen ist für die gezielte Entwicklung der antimikrobiellen, hydrophilen Polykationen für neue Anwendungsgebiete entscheidend, um so eine Alternative zu den allgemein hämotoxischen amphiphilen Polymeren zu etablieren.

## 2.2 Antimikrobielle Oberflächen und Materialien

Weltweit stellen bakterielle Infektionen die am weitesten verbreitete Todesursache dar.<sup>1</sup> In der Europäischen Union (EU) erleiden ~4 Millionen Patienten jährlich eine medizinisch-assoziierte Infektion (HAI), von denen rund 37000 Patienten in unmittelbarer Folge sterben.<sup>22-23</sup> In den USA sterben 11.5% der Patienten während ihres Krankenhausaufenthalts an den Auswirkungen von Infektionen.<sup>21</sup> Neben der Übertragung der Keime über die Luft oder Flüssigkeiten, stellt der Kontakt mit Oberflächen einen weiteren potentiellen Übertragungsweg dar. Die Einführung von Implantaten während einer Operation ist permanent mit einem Infektionsrisiko verbunden. Das Implantat selbst oder medizinische Geräte, auf deren Oberflächen Bakterien anhaften oder sich vermehren, können diese verursachen. Von insgesamt 15000 gemeldeten HAIs waren 19.6% chirurgische Infektionen.<sup>118</sup> Die Zahl der durch Katheter verursachte Infektionen betrug in den USA 80000 jährlich.<sup>119</sup> Die Reizung des Auges, beim Tragen von Kontaktlinsen, stellt ebenso ein erstes Anzeichen einer bakteriellen Infektion dar.<sup>120</sup> Haben sich Mikroorganismen erst einmal auf einer Oberfläche angelagert, so können sich diese meist ungehindert verbreiten und bilden in der nächsten Stufe eine extrazelluläre Polysaccharid-Matrix, den sogenannten Biofilm, welcher die Zellen in sich einbettet.<sup>121</sup> Diese Matrix ist um ein Vielfaches resistenter gegen Antibiotika und Desinfektionsmittel, als der Keim selbst, und kann nur schwer wieder entfernt werden.<sup>122-123</sup> Aus diesem Grund ist es besonders wichtig, die erste Anlagerung von Mikroorganismen zu unterbinden oder diese an der Ausbreitung zu hindern.<sup>28</sup> Um die Anlagerung und Ausbreitung von Mikroorganismen zu hemmen, gibt es zwei grundsätzliche Strategien, dazu stößt die Oberfläche entweder die Mikroorganismen ab oder sie tötet die Bakterien.

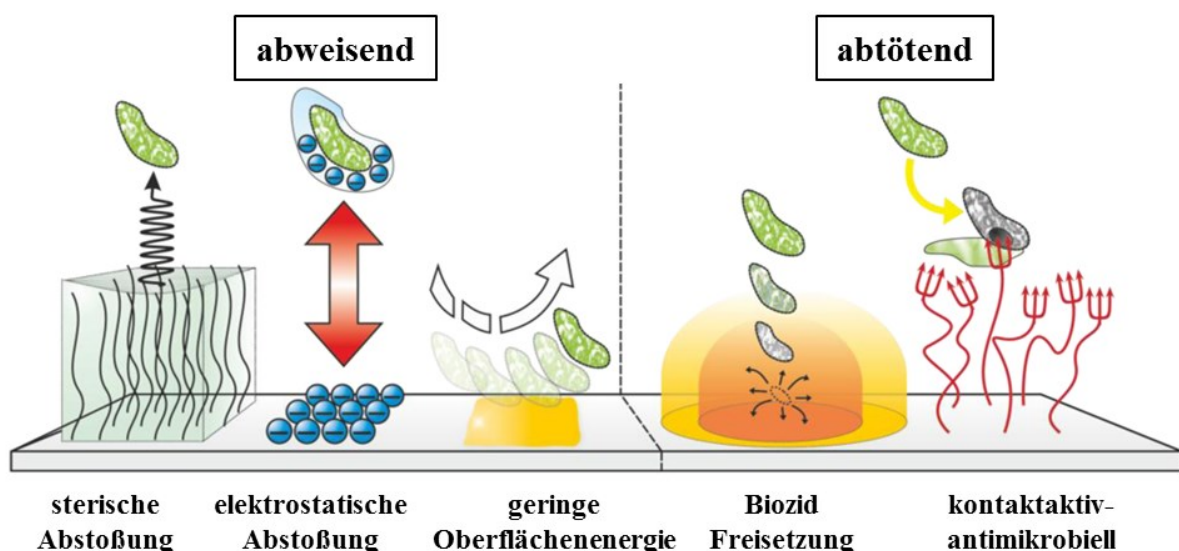


Abbildung 6: Allgemeine Strategien für antimikrobielle Oberflächen, nach Siedenbiedel et. al.<sup>29</sup>.

Das Abstoßen von Mikroorganismen, d.h. die Vermeidung der Proteinadhäsion, kann auf unterschiedliche Arten erfolgen (siehe **Abbildung 6**). Eine sehr verbreitete Variante besteht in der Modifizierung der Oberfläche mit Polyethylenglycol (PEG), welche durch geringe Wechselwirkungen

mit den Mikroorganismen deren Adhäsion hemmt.<sup>28, 124-125</sup> Des Weiteren kann durch Modifizierung der Oberfläche mit Polymeren, welche negative Ladungen tragen, eine Abstoßung von Bakterien mit ihrer negativen Zelloberfläche bewirkt werden.<sup>126</sup> Dafür eignen sich eine Vielzahl von natürlichen (z.B. Alginat, Albumin) und synthetischen Polymeren, sowie Polymerblends.<sup>25, 28, 127</sup> Zudem werden Mikroorganismen von ultrahydrophoben Oberflächen mit besonders geringen Oberflächenenergien abgewiesen.<sup>28, 128</sup> Solche Oberflächen können durch die Beschichtung oder Modifizierung mit ultrahydrophoben Polymeren, wie z.B. Poly(methylpropenoxyfluoralkylsiloxan), Poly(perfluoracrylat)<sup>129</sup> und Poly(fluortrimethoxysilan)<sup>130</sup>, hergestellt werden.<sup>28</sup> Park et. al. zeigte, dass eine Kombination mehrerer Strategien, z.B. aus einer PEG-Alkylierung und negativen Ladungen, eine höhere Effektivität als eine der Strategien allein bewirkt.<sup>131</sup> Eine entsprechende Kombination der beiden Modifikationen auf Kollagen kann sogar dazu genutzt werden, die Bakterien-Adhäsion von *S. aureus* um das Fünffache zu reduzieren, aber Säugetierzellen die Adhäsion zu ermöglichen.<sup>132</sup>

Die Adhäsion von Zellen an Oberflächen hängt zum einen von der Oberfläche (z.B. Porosität, Rauigkeit, Hydrophobizität, Hydrophilität, Ladungen) selbst und dem Organismus (z.B. Säugetierzellen, Bakterien, Gram-Spezies, Form, Stamm, Oberflächenenergie), d.h. ob dieser ein hydrophileres oder hydrophoberes Äußeres besitzt, ab.<sup>133</sup> Zum anderen spielen die Umgebungsfaktoren (z.B. Medium, Elektrolyte, pH, Temperatur, Bewegung) eine wichtige Rolle bei der Adhäsion, so dass es sich um sehr komplexe Vorgänge handelt.<sup>25, 134-136</sup> Eine gute Übersicht von Methoden zur Untersuchung der Adhäsion von Bakterien zeigt An et. al.<sup>137</sup>.

Als zweite Strategie zur Generierung von antimikrobiellen Oberflächen kann die Abtötung von Mikroorganismen genutzt werden. Dabei wird die Ausbreitung von Keimen aktiv verhindert. Die Abtötung kann durch Freisetzung von Bioziden oder durch Kontakt (Kontaktaktivität) mit einer Biozid wirkenden Oberfläche erfolgen.<sup>27, 29</sup>

Mittlerweile gibt es unzählige Beispiele für freisetzende, antimikrobielle Oberflächen und Materialien in der Literatur.<sup>24-27</sup> Bei den freigesetzten Bioziden handelt es sich unter anderem um quartäre Ammoniumverbindungen<sup>71</sup>, Iod<sup>138</sup>, Silberionen und -nanopartikel<sup>27, 139-141</sup>, Hypochlorit<sup>142</sup>, Triclosan<sup>143-144</sup>, Stickstoffmonoxid<sup>145</sup>, antimikrobielle Peptide<sup>146</sup> oder Antibiotika<sup>147-149</sup>. Die Freisetzung kann kontrolliert, induziert oder katalysiert erfolgen.<sup>27</sup>

Einen großen Bereich stellen dabei Biomaterialien für den medizinischen Sektor dar. Zahlreiche Biozide und Antibiotika werden aus Implantatmaterialien freigesetzt.<sup>150</sup> Zudem liegen biologisch abbaubare antimikrobielle Implantatmaterialien derzeit im Schwerpunkt der Forschung.<sup>151-154</sup> Außerdem werden sie für die Behandlung von Hautinfektionen<sup>155</sup> und als Wundverbände<sup>154</sup> in Betracht gezogen. Dabei sind auch Freisetzungssysteme bekannt, die über einen längeren Zeitraum aktiv sind, wobei es sich oft um Silber-haltige Materialien handelt.<sup>139-140</sup> Zumbuehl et. al. publizierte ein antimykotisches Dextranhydrogel, beladen mit Amphotericin B, das Pilze (*Candida albicans*) innerhalb eines 2 stündigen Kontakts tötet und mindestens 53 Tage lang biologisch aktiv bleibt.<sup>156</sup>

Vor kurzem veröffentlichte Zhang et. al. ein antimikrobielles, kationisches Hydrogel, dies basierte auf einem Methacrylsäureanhydrid funktionalisierten Poly(hexamethylenguanidin)hydrochlorid, welches photochemisch mit Acrylamid, unter Verwendung von  $\alpha$ -Ketoglutar säure, polymerisiert wurde.<sup>157</sup> Dieses Freisetzungssystem ist nach einem Monat waschen, mit täglichen Wasserwechseln, noch aktiv gegen *E. coli* und *S. aureus*. Die Hydrogele zeigen dabei eine gute Biokompatibilität, mit <10% Lyse für hRBC und >75% Viabilität für HeLa-Zellen.

Für die Entfaltung der antimikrobiellen Wirkung ist die Konzentration des Biozids an der Oberfläche und mit zunehmenden Abstand vom Material von entscheidender Bedeutung (siehe **Abbildung 7**). Die Konzentration hängt dabei von der Diffusionsrate des Biozids aus dem Material ab. Der Bereich, in dem die Konzentration des Biozids oberhalb der minimalen, bioziden Konzentration (MBC, 99.9% aller Bakterien werden abgetötet) liegt, wird als „Killzone“ bezeichnet. Der Bereich in dem mindestens die minimale inhibierende Konzentration (MIC, 99% aller Bakterien werden am Wachstum gehindert) vorhanden ist, wird „Inhibierungszone“ genannt.<sup>27, 158</sup>



**Abbildung 7:** Schema der Oberflächenfreisetzung eines mit Biozid beladenen Materials, nach Krumm et. al.<sup>158</sup>.

Bei den meisten Freisetzungssystemen, handelt es um sich verarmende Systeme, welche früher oder später ihre antimikrobielle Wirkung verlieren. Alternativen dazu stellen Systeme dar, welche katalytisch erzeugte Biozide dauerhaft freisetzen. Dies kann z.B. durch photokatalytische Bildung von Hydroxylradikalen aus  $\text{TiO}_2$ -Beschichtungen<sup>159</sup>, Bildung von Singulett-Sauerstoff aus Luftsauerstoff unter Nutzen von Photosensibilisatoren und Licht<sup>160</sup>, Bildung von Superoxid aus mit Organoselenverbindungen katalysierter Oxidation von Thiolen<sup>161</sup> oder enzymkatalysierte Bildung von Wasserstoffperoxid durch Oxidation von Zuckern<sup>162</sup> erfolgen. Der Nachteil von antimikrobiellen Materialien mit reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) ist, dass der direkte Kontakt mit Gewebe kritisch ist, da ROS nicht zellselektiv sind. All diese Systeme benötigen zudem einen Energieeintrag, um ihre

antimikrobielle Aktivität zu entfalten. Ein weiterer großer Nachteil von Freisetzungssystemen ist, dass die freigesetzten Biozide die Bildung von Resistenzen fördern.

Kontaktaktive Oberflächen und Materialien haben den Vorteil, dass sie eine dauerhafte, antimikrobielle Aktivität besitzen, die Resistenzbildung<sup>31</sup> nicht fördern und die Umwelt nicht mit Bioziden kontaminieren.<sup>163</sup> Die Abtötung der Mikroorganismen erfolgt jedoch nicht so schnell wie bei freisetzenden Materialien. Bei den meisten Materialien werden die antimikrobiellen, kontaktaktiven Eigenschaften durch eine nachträgliche Oberflächenmodifizierung erhalten. Dies kann durch Aufpfropfen von zumeist kationischen Bioziden mittels „grafting-from“<sup>164-165</sup> oder antimikrobiellen Polymeren mittels „grafting to“<sup>166</sup>, Beschichtung durch Plasmapolymersation von z.B. Diallyldimethylammoniumchlorid<sup>167</sup>, der Beschichtung von wasserunlöslichen bioziden Polymeren aus Lösung<sup>168-171</sup> oder Suspension<sup>72, 172</sup> oder Aufbringen von Polyelektrolyt-Multilayern von Polyanionen und antimikrobiellen polykationischen Polymeren nach dem Layer by Layer Verfahren<sup>27, 173</sup> erfolgen. Eine große Übersicht für antimikrobielle Oberflächenmodifizierungen bieten beispielsweise die Veröffentlichungen von Kaur et. al.<sup>174</sup>, Ferreira et. al.<sup>175</sup>, Campoccia et. al.<sup>25</sup> und Tiller et. al.<sup>27-29</sup>

Die Wirkungsweise von antimikrobiellen, kontaktaktiven Oberflächen und Materialien ist bis heute nicht komplett geklärt, sodass verschiedene Mechanismen diskutiert werden. Eine Theorie vermutet, dass die asymmetrischen Zellmembranen der Bakterien durch elektrochemische Potentiale gestört werden.<sup>176</sup> Dagegen geht der polymere Spacereffekt von einer Perforation der zytoplasmatischen Membran bei der Adhäsion, durch lange Polymerketten mit bioziden Gruppen, aus.<sup>164</sup> Zudem wird das Herausziehen von negativ geladenen Phospholipiden, durch hydrophobe biozide Ammoniumverbindungen, aus der Zellmembran diskutiert.<sup>177</sup> Als weitere Theorie wird für Gram-positive Bakterienzellen der Austausch von essentiellen Calciumionen mit der kationischen Oberflächen oder der Entfernung von Liposacchariden ausgegangen.<sup>75</sup> Für Gram-positive Zellwände wird die Diffusion von negativ geladenen Teichonsäuren, ein damit verbundener Abbau der Zellwand, zur Oberfläche vermutet.<sup>178</sup> Des Weiteren wird postuliert, dass eine starke Deformation von Gram-positiven Bakterien, durch die Adhäsion am hydrophoben Teil der antimikrobiellen Verbindungen, ebenfalls zum Tod der Zellen führen kann.<sup>179</sup> Alle Mechanismen haben dabei die Wechselwirkung, der positiven Ladungen der antimikrobiellen Oberflächen mit der Bakterienzellwand gemeinsam.

Die Ausstattung von Materialien mit kontaktaktiven antimikrobiellen Eigenschaften wird in den meisten Fällen durch eine Modifikation der Oberfläche erreicht, nur wenige sind intrinsisch antimikrobiell.<sup>25</sup> Besitzt die Oberfläche Defekte (>1 µm, der Größe von *S. aureus*<sup>180</sup>) welche bei der Modifikation oder durch Beschädigung erzeugt werden, so ist diese nicht mehr komplett vor einem Bakterienbefall geschützt. Aus diesem Grund ist die Herstellung von langzeitaktiven, intrinsisch antimikrobiellen Materialien von großer Bedeutung.

Ein Weg dies zu erreichen, ist das Mischen des Grundmaterials mit antimikrobiellen Polymeren.<sup>75</sup> Eine weitere Möglichkeit ist die Verwendung von Polymernetzwerken als kontaktaktive



antimikrobielle Materialien für Dentalharze<sup>55, 181-182</sup>, Verbundharze für die klinische Anwendungen<sup>183</sup>, Fasern<sup>184</sup>, biokompatible Polymerbeschichtungen<sup>185-186</sup>, Katheter<sup>187</sup>, Membranen<sup>188</sup> und zur Wasserdesinfektion<sup>189</sup>. Neben einfachen Polymernetzwerken, in denen alle Komponenten Teil eines Netzwerks sind, stellen interpenetrierende Netzwerke (IPN) eine weitere Alternative dar. Unter IPN werden, sich gegenseitig durchdringende Netzwerke von Polymeren verstanden. Dabei kann es sich um chemisch identische oder verschiedene Strukturen handeln, wobei jede kovalent oder nicht kovalent verknüpft ist.<sup>190</sup> IPN-Hydrogele bieten gegenüber Einfachnetzwerken meist eine höhere Steifigkeit und Zähigkeit, sowie besser kontrollierbare physikalische Eigenschaften.<sup>191-193</sup> Durch ihre einzigartigen Eigenschaften werden IPN vermehrt für den medizinischen Bereich hergestellt.<sup>191-192, 194</sup>

Die meisten kontaktaktiven Materialien sind jedoch in Wasser kaum quellbar. Allerdings erfordern zahlreiche Anwendungen für Biomaterialien die Verwendung von Hydrogelen. Letztere haben einzigartige Eigenschaften wie Schockabsorption, geringe Gleitreibung, Reizempfindlichkeit und Quellung.<sup>195</sup> Dies macht sie für verschiedenste Gebiete der Medizin besonders interessant.<sup>196-198</sup> Zum Beispiel für Gewebezüchtung<sup>[186, 188]</sup>, künstlichen Knorpel<sup>199</sup>, Knorpelregeneration<sup>[188, 190]</sup>, Implantate für das Unterhautgewebe<sup>199</sup>, Material zur Hornhautreparatur<sup>199</sup>, Dichtstoffe für Wunden und chirurgische Zwecke<sup>200-202</sup>, Depots zur Arzneimittelabgabe<sup>200</sup>, Wundbehandlung<sup>200, 203</sup>, künstliche Muskeln<sup>200, 204</sup> und Gewebereparatur<sup>205</sup>. Die Bedeutung der antimikrobiellen aktiven Hydrogele wird in Übersichten von Cabral<sup>206</sup>, Rodriguez-Hernandez<sup>207</sup>, Ng et. al.<sup>208</sup> und Malmsten<sup>209</sup> diskutiert.

Ein kontaktaktives Material sollte auch nach einer intensiven Waschung von mindestens 1-2 Tagen noch eine antimikrobielle Aktivität aufweisen. Waschversuche oder systematische Untersuchungen sind nur in wenigen Veröffentlichungen zu finden, sodass eine kontaktaktive Wirkung nur selten wirklich bewiesen wird. Unter diesem Gesichtspunkt lassen sich nur wenige, im Folgenden genannte, Beispiele für kontaktaktive Hydrogele in der Literatur finden, die einer strengeren Betrachtung standhalten.

Liu et. al. veröffentlichte ein in situ gebildetes antimikrobielles, antifouling Hydrogel als Beschichtung für Implantate, wie z.B. Katheter.<sup>210</sup> Abgeleitet von Polycarbonat ist das Polymergerüst mit quaternären Ammoniumgruppen und Poly(ethylenglykol) modifiziert und über 14 Tagen aktiv, ohne dass eine Hemmzone im Agar-Platten-Assay sichtbar ist. Das Hydrogel besitzt gute antimikrobielle Aktivitäten, mit einer Keimreduktion von mehr als 99.9% nach 8 h Kontaktzeit, für die Bakterienstämme Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA), Vancomycin-resistenten *enterococcus* (VRE), *A. baumannii* sowie den Pilz *C. neoformans*. Nach 12 Tagen beträgt die Bakterienreduktion für *S. aureus* immer noch mehr als 99.4%. Die Lyse für rote Blutkörperchen von Raten, liegt für die untersuchten Gele zwischen ~2-14%.

Ein  $\beta$ -Hairpin-Peptid-Hydrogel, basierend auf einem selbstorganisierenden Gerüst aus dem Peptid MAX1, wurde von Salick et al. al. publiziert, um potentielle Infektionen auf sauberen Oberflächen zu hemmen oder infizierte Stellen zu versorgen, bei denen bakterielle Zellen durch Kontakt dann getötet werden können.<sup>211-212</sup> Es wurde eine breite antimikrobielle Aktivität, gegen *E. coli*, *K. pneumoniae*,

*S. aureus*, *S. epidermidis* und *S. pyogenes*, nachgewiesen. Die Lyse für menschliche Erythrozyten liegt bei ~5% im live/dead Assay und es ist keine Toxizität für mesenchymale Stammzellen vorhanden. Nach dem Auswaschen von nicht gebundenem Peptid ist keine Freisetzung mehr mittels HPLC detektierbar.

Giano et. al. berichteten über ein mittels Spritze injizierbares inhärentes, antibakterielles, bioadhäsives Hydrogel. Es wird durch Mischen von Polydextranaldehyd- und verzweigten Polyethylenimin-Lösungen hergestellt.<sup>213</sup> Dieses Klebstoffsystem für Wundfüll-Anwendungen, verhält sich schonend gegenüber menschlichen Erythrozyten (hRBC Lyse <5%), und tötet *S. aureus* sowie *E. coli*. Die antimikrobielle Aktivität sinkt mit steigendem PEI Gehalt (3.5-10.3 wt%) im Hydrogel. In den genannten Fällen sind die antimikrobiellen Gruppen Teil der funktionellen Struktur der Gele und definieren ihre Eigenschaften.

Nach der Idee und Herstellung solcher Materialien, besteht die größte Herausforderung darin, die wirkliche antimikrobielle Wirkungsweise (Freisetzung vs. Kontaktaktivität) des Materials nachzuweisen. So schlagen typische Versuche eine Kontaktaktivität für Silber- oder Silbernanopartikelbeschichtungen vor, obwohl sie auf der Freisetzung von Silberionen basieren. Studien zeigen, dass eine Beschichtung, welche eine ausreichende Menge an Silberionen freisetzt, eine antimikrobielle Aktivität von bis zu 6 Wochen besitzt.<sup>140</sup> Zur Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität von Materialien gibt es in der Literatur mittlerweile eine Vielzahl von Tests, von denen sich einige auch als Standardtests etablieren konnten.

Ein Beispiel als Industriestandard ist der DOW-Suspension-Test („shaking flask“-Test; ASTM E2149-01<sup>214</sup>), in dem die zu untersuchende, beschichtete Probe in einer bewegten Bakteriensuspension inkubiert wird und die Reduktion im Vergleich zu einer Kontrolle, ermittelt wird.<sup>28</sup> Der Test liefert dabei keine Informationen über die Freisetzung von Bioziden, das Adhärenzverhalten oder die Tötungsgeschwindigkeit, welche insbesondere bei Oberflächen oft sehr langsam verläuft.

Ein weiteres Beispiel ist der JIS (Japanese Industrial Standard) Test Z 2801<sup>215</sup> (bzw. ISO 22196), bei dem eine definierte Bakteriensuspension auf eine definierte Testfläche gegeben wird und mittels eines Glas- oder Kunststoffplättchens bedeckt wird. Nach dem Inkubieren für 1-48 h werden die Keime abgelöst, ausplattiert, nach dem Inkubieren die CFU bestimmt und im Vergleich zur Referenz die Keimreduktion ermittelt. Ein Nachteil ist, dass ausschließlich die abgelösten Keime untersucht und keine Informationen über freigesetzte Biozide erhalten werden.

Des Weiteren wird mittels von Agar-Diffusion-Tests die Freisetzung von antimikrobiellen Substanzen quantitativ aus der Größe des Hemmhofs, die bakterienfreien Zone um die Probe herum, ermittelt. Dazu werden Keime auf Agarplatten appliziert (ausstreichen oder sprühen), die Probe aufgelegt und alles zusammen inkubiert.<sup>216</sup>

Der Bakterien-Sprühtest, bei dem Bakterien direkt auf die Probe appliziert und dann unter Agar kultiviert werden, bietet eine gute Möglichkeit die antimikrobielle Aktivität qualitativ zu beurteilen.<sup>132,</sup>

<sup>164, 217-218</sup> Dabei können Informationen über das Wachstum der Keime direkt auf der Probe und eine Freisetzung von Bioziden um die Proben, gewonnen werden.

Keiner der genannten und kein literaturbekannter antimikrobieller Test ermöglicht bislang die eindeutige Identifizierung der Kontaktaktivität eines Materials. Die Ursache liegt darin, dass die Zone des MBC oder auch des MIC in einem nur sehr kleinen Bereich ( $\mu\text{m}$ ) liegen kann. Sobald die Konzentration außerhalb der „Killzone“ unterhalb des MIC liegt, weisen allgemein alle Tests auf eine Kontaktaktivität der Materialien hin. Der einzige Weg um Aufschluss über den Mechanismus zu erhalten, sind daher langfristige und damit aufwendige Waschversuche. Dabei gilt es, die Waschlösungen am besten aufzukonzentrieren und sie auf ihre antimikrobielle Aktivität, und damit Biozidkonzentration, hin zu untersuchen.<sup>27</sup> Durch den hohen Aufwand, ist die Prozedur des Waschens in der Literatur nur wenig verbreitet. Zudem sollten, wenn möglich, verschiedene antimikrobielle Untersuchungen erfolgen. Der Nachweis, ob es sich bei dem Mechanismus für ein antimikrobielles Material wirklich um eine Kontaktaktivität oder doch um ein Freisetzungssystem handelt, gestaltet sich somit schwierig.

Die übersichtliche Zahl an intrinsischen, antimikrobiellen Hydrogelen und das breite Anwendungsspektrum entsprechender Biomaterialien, weist auf das enorme Potential dieses Forschungsgebietes hin. Somit stellt die Entwicklung und biologische Charakterisierung neuer intrinsischer, antimikrobieller Materialien eine zu füllende Lücke zu den weit verbreiteten Freisetzungssystemen dar. Aufgrund der Limitierung vieler antimikrobieller Test, ist es zudem wichtig, möglichst sensitive Methoden für die Freisetzung von Bioziden aus antimikrobiellen Materialien, zu etablieren.



### 3 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit ist die Synthese und Charakterisierung definierter Ionene und die Untersuchung ihrer Struktur-Eigenschafts-Beziehungen. Des Weiteren sollen auf Basis von Ionenen intrinsisch, antimikrobielle Polymernetzwerke hergestellt und charakterisiert werden.

Ausgehend von einem sequentiellen Aufbau sollen Bedingungen für die Synthese definierter Ionene ermittelt werden. Es sollen damit Ionene mit definierten Molekulargewichten und verschiedenen Endgruppen generiert werden. Auf Basis der hergestellten Ionene sollen gezielt die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für die antimikrobielle Aktivität gegen verschiedene Bakterienstämme und für die Hämokompatibilität in Lösung untersucht werden. Die Ergebnisse sollen ein besseres Verständnis für die Wirkweise, d.h. ob sie ein ähnliches Verhalten wie amphiphile, antimikrobielle Polymere aufweisen, und gezieltere Einsatzgebiete für solch hydrophile, polykationische Polymere liefern.

Um nicht nur Keime in Lösungen bekämpfen zu können, sollen zudem auf Basis von Ionenen antimikrobielle Materialien für den medizinischen Sektor hergestellt werden. Dazu sollen zunächst auf möglichst einfache Weise auch größere Mengen von Ionenen mit definierten Endgruppen hergestellt werden. Diese Ionene sollen als antimikrobielle Komponente anschließend fest und homogen in Modellnetzwerke eingebunden werden, um so intrinsisch, antimikrobielle Materialien zu erhalten. Die Materialien sollen einen möglichst geringen wirksamen Gehalt der antimikrobiellen Komponente besitzen. Besonderes Augenmerk soll auf die Aufklärung des antimikrobiellen Wirkmechanismus des Materials, durch intensive Waschungen und verschiedene antimikrobielle Tests, gelegt werden. Zudem sollen die Biokompatibilität, die Eigenschaften und die Struktur des Materials untersucht werden, um dieses entsprechend zu charakterisieren und damit potentielle Einsatzgebiete zu erkennen.



## 4 Ergebnisse und Diskussion

Die vorliegende Arbeit unterteilt sich in die beiden großen Abschnitte Synthese und Charakterisierung von Ionen in Lösung (siehe **Abschnitt 4.1**) und antimikrobielle Netzwerke (siehe **Abschnitt 4.2**). Dabei steht das Poly[(((dimethylimino)-propan-1,3-)((dimethyliminio)-2-buten-1,4-))diyl]dibromid], kurz als 3,4en-Ionen (PBI) bezeichnet, im Fokus dieser Arbeit. Das Polymerrückgrat wurde jeweils in einer Menschutkin-Reaktion aus den Monomeren *trans*-1,4-Dibrom-2-buten (DBB) und *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,3-propandiamin (TMPDA) aufgebaut.

Der Abschnitt der Ionen in Lösung betrachtet separat Ionene, welche durch sequentielle Synthese (**Abschnitt 4.1.1**) oder durch Polyaddition (**Abschnitt 4.1.2**) hergestellt wurden. Dabei beschreibt **Abschnitt 4.1.1** anhand definierter Ionene, mit einer engen Molekulargewichtsverteilung und definierten Endgruppen, die Struktur-Eigenschafts-Beziehungen dieser Makromoleküle. Der Fokus liegt dabei auf ihrer antimikrobiellen Aktivität und Hämokompatibilität. Dagegen geht es in **Abschnitt 4.1.2** um die einfache Herstellung von Ionen als Ausgangsmaterial für die Herstellung von antimikrobiellen Netzwerken und die dazugehörige Charakterisierung der Polymere.

Der **Abschnitt 4.2** zu antimikrobiellen Netzwerken setzt sich anschließend zum einen mit direkt einpolymerisierten Ionen in Acrylat-Netzwerke und ihrer Charakterisierung (**Abschnitt 4.2.1**) auseinander. Zum anderen wird die Herstellung und Charakterisierung von interpenetrierenden Hydrogelen (IPH) mit antimikrobiellen Eigenschaften (**Abschnitt 4.2.2**) beschrieben.

### 4.1 Synthese und Charakterisierung von Ionen in Lösung

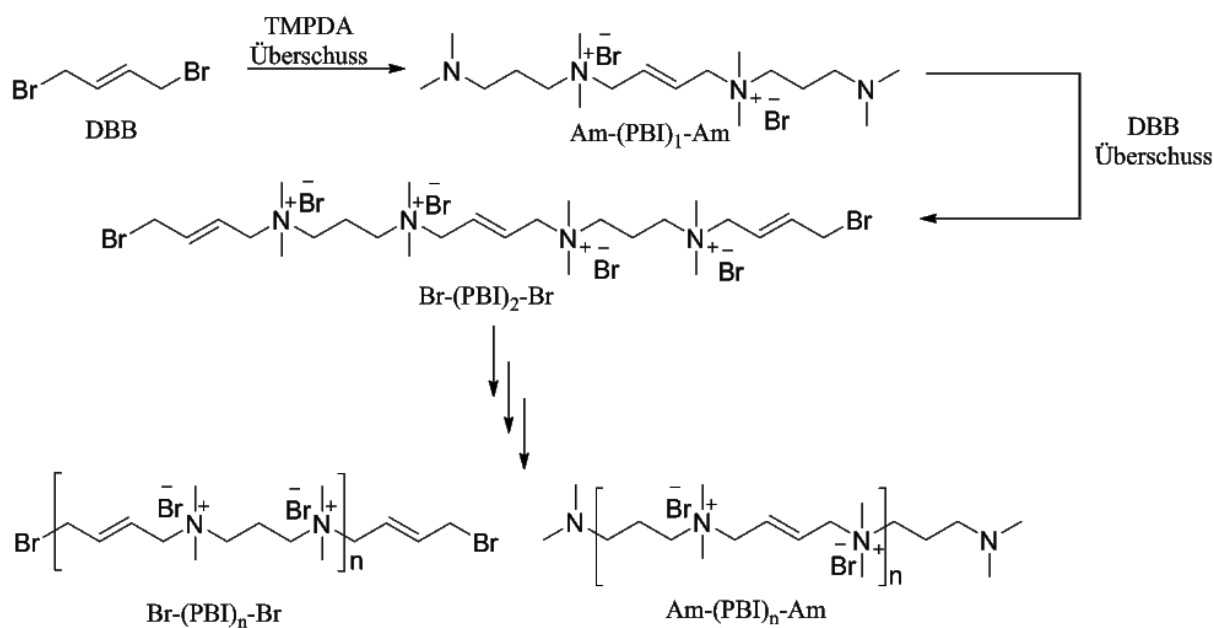
#### 4.1.1 Herstellung von 3,4en-Ionen durch sequentielle Synthese und deren Charakterisierung

Ziel der Untersuchung war die Betrachtung der antimikrobiellen Wirkung und der Hämokompatibilität eines hydrophilen, antimikrobiellen Polykations (am Beispiel von PBI) in Abhängigkeit vom Molekulargewicht und der Art der Endgruppen. Es galt herauszufinden, ob hydrophile Polykationen ein ähnliches Verhalten wie amphiphile, antimikrobielle Polykationen aufweisen oder ob sie eine einzigartige Klasse antimikrobieller Polymere darstellen. Dazu wurden zunächst definierte PBI-Spezies mit verschiedenen Molekulargewichten und Endgruppen (Brom, Amin, C4-C16-Alkyl) unter Verwendung einer sequentiellen Monomerzugabe als Synthesestrategie hergestellt (**Abschnitt 4.1.1.1**). Durch einen beidseitigen Aufbau wurden  $(\text{PBI})_n$  mit beidseitigen Brom- ( $\text{Br}-(\text{PBI})_n-\text{Br}$ ) oder Amin- ( $\text{Am}-(\text{PBI})_n-\text{Am}$ ) Endgruppen hergestellt. Zusätzlich wurden durch einen einseitigen Aufbau  $(\text{PBI})_n$  mit einer Dodecyl-Endgruppe auf der einen und auf der entgegengesetzten Seite mit einer Brom- ( $\text{C}_{12}-(\text{PBI})_n\text{Br}$ ) bzw. Amin- ( $\text{C}_{12}(\text{PBI})_n\text{Am}$ ) Endgruppe synthetisiert. Des Weiteren wurden durch Endgruppen-Modifizierung  $(\text{PBI})_6$  mit verschiedenen, beidseitigen Alkyl-Endgruppen ( $\text{C}_x(\text{PBI})_6\text{C}_x$ ; Butyl bis Hexadecyl) erzeugt. Die verschiedenen PBI-Spezies wurden anschließend auf ihre antimikrobielle Aktivität mittels MIC-Test gegen *E. coli*, *S. aureus* und *S. mutans* sowie ihre

Hämokompatibilität (HC<sub>50</sub>-Test) gegenüber roten Schweineblutzellen untersucht (**Abschnitt 4.1.1.2**). Dabei wurden Teile der Ergebnisse dieses Abschnittes in Zusammenarbeit mit Anna Jemeljanova im Rahmen ihrer Bachelorarbeit<sup>219</sup> und Hanne Petersen<sup>220</sup> im Rahmen ihres Wahlpflichtpraktikums erarbeitet.

#### 4.1.1.1 Sequentielle Synthese von 3,4en-Iononen mit verschiedenen, definierten Endgruppen

Das Ziel der sequentiellen Synthese war es, besonders definierte PBIs mit verschiedenen Molekulargewichten und kontrollierten Endgruppen herzustellen. Als Vorbild diente die Arbeit von J. Wenners.<sup>20</sup> Jedoch galt es, die Synthese der definierten PBIs, hinsichtlich einer Reduktion des Anteils von Nebenprodukten (Dimere, Ringe) weiter zu optimieren. Die Synthesen erfolgten jeweils durch abwechselnde, schrittweise Zugabe der Monomere DBB und TMPDA im Überschuss, um gezielt PBI mit beidseitiger Brom- (Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br) oder Amin- (Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am) Endgruppen-Terminierung herzustellen (siehe **Abbildung 8**). Der Index n gibt jeweils den Polymerisationsgrad an, welcher aus den Integralen der CH<sub>3</sub> Gruppen der quartären Ammoniumgruppe im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum, nach Normierung auf das Endgruppensignal, ermittelt wurde.

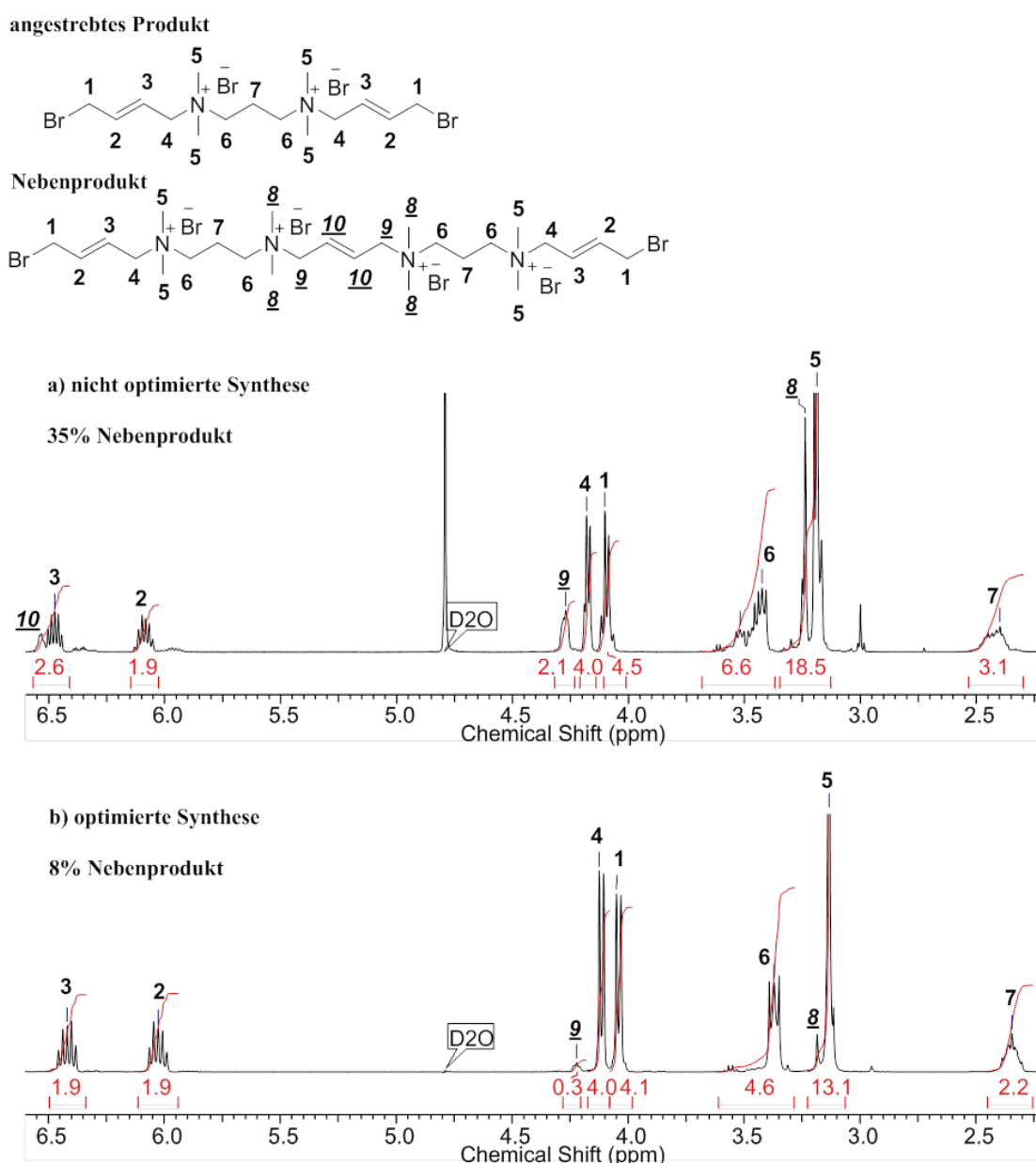


**Abbildung 8:** Schema der PBI-Synthese durch sequentielle, beidseitige Monomeraddition zur Herstellung von Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br und Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am Spezies.

Es wurde festgestellt, dass der entscheidende Schritt dieser Synthese die erste Monomerzugabe ist, da hierbei nicht nur das angestrebte Produkt Br-(PBI)<sub>1</sub>-Br gebildet wird. **Abbildung 9** zeigt, dass die für das angestrebte Produkt resultierenden <sup>1</sup>H-NMR Signale 1 ( $\delta = 4.04$  ppm), 2 ( $\delta = 6.03$  ppm), 3 ( $\delta = 6.42$  ppm), 4 ( $\delta = 4.11$  ppm) und 5 ( $\delta = 3.13$  ppm), welche bei einem 12-fachen molaren Überschuss an DBB zu erwarten waren, noch von weiteren Signalen begleitet werden. Die Signale 8 ( $\delta = 3.24$  ppm), 9 ( $\delta = 4.22$  ppm) und 10 ( $\delta = 6.53$  ppm), lassen sich den Nebenprodukten zuordnen. Zudem sind dies charakteristische Signale der PBI<sub>n</sub>-Hauptkette. Die Signale 6 ( $\delta = 3.37$  ppm) und

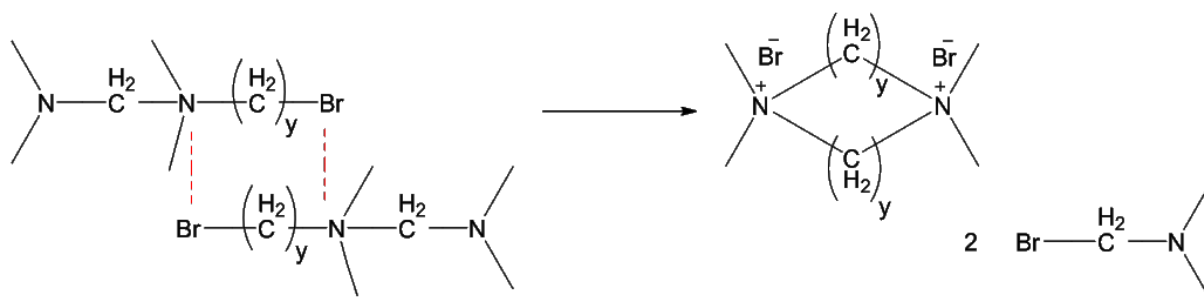


7 ( $\delta = 2.34$  ppm) stammen sowohl vom angestrebten Produkt, als auch vom Nebenprodukt. Aus dem Integral der  $N^+(CH_3)_2$  (Signale 5+8) wurde der Anteil an Nebenprodukt, von 35 mol%, berechnet. Das Integral des Signals 10 im  $^1H$ -NMR-Spektrum der nicht optimierten Synthese, deutet sogar auf einen Nebenproduktanteil von 53 mol% hin. Es kann sich bei den Nebenprodukten um Dimere oder auch Ringe handeln, welche jedoch nicht näher identifiziert werden konnten. Für die eine genaue Untersuchung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, mit einem Fokus der Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität vom Molekulargewicht, sind Makromoleküle mit einer engen Molmassenverteilung entscheidend. Daher ist die Minimierung von Nebenprodukten bei der Synthese ein wichtiger Faktor für die Herstellung engverteilter Makromoleküle.



**Abbildung 9:**  $^1H$ -NMR Spektren in  $D_2O$  der Produkte bei verschiedenen Synthesebedingungen. a) Synthese in Methanol bei  $25^\circ C$  mit langsamer Zugabe von DBB; b) Synthese in Methanol bei  $0^\circ C$  mit schneller Zugabe von DBB.<sup>17</sup>

Als erster Optimierungsschritt wurde das Reaktionsgemisch auf 0 °C abgekühlt, um durch eine Temperaturabsenkung die Reaktionsgeschwindigkeit und Bildung von Nebenprodukten bei der Zusammengabe der Monomerlösungen zu senken. Die Erniedrigung der Temperatur verändert die Bildung der Nebenprodukte nicht signifikant. Eine Abkühlung des Reaktionsgemisches, kombiniert mit einer schnellen Zugabe von DBB unter kräftigem Rühren, senkt jedoch den Gehalt an Nebenprodukten auf etwa 8 mol%. Ein Grund hierfür wäre, dass die Reaktion schneller als die homogene Verteilung von DBB in dem Reaktionsgemisch ist. Die Bildung von Nebenprodukten, durch lokale Konzentrationsmaxima einer der Monomere, lässt sich insbesondere durch das starke Rühren und die schnelle Zugabe unterbinden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch für die umgekehrte Reaktion gefunden, wobei DBB mit einem hohen Überschuss an Amin zur Reaktion gebracht wurde. Eine Bildung kleiner Ringstrukturen als Nebenprodukte, aus dem Dihalogenid und Alkyldiamin, welche Rembaum<sup>221-222</sup> postulierte, konnten nicht festgestellt werden (siehe **Abbildung 10**).<sup>74, 102, 223</sup> Dies bestätigt seine Aussage, dass die Zyklisierung zu Ringen, die größer als C<sub>6</sub> sind, in der Ionen-Synthese, aufgrund der geringen Wahrscheinlichkeit der Ringschlussreaktion, vernachlässigbar sind. Jedoch konnte Wang<sup>224</sup> eine Konzentration von 1.5 mol% von kleinen Ringstrukturen für 3,4-Ionene (4,3-Ionene = 2.8 mol%) im NMR nachweisen.<sup>221</sup> Der Grund dafür, dass bei der Synthese des 3,4en-Ionene keine kleinen Ringstrukturen nachgewiesen wurden, liegt vermutlich an der enthaltenen Doppelbindung, der damit erhöhten Ringspannung und der daraus resultierenden geringen Wahrscheinlichkeit zur Bildung dieser Strukturen.



**Abbildung 10: Schema der Bildung kleiner Ringstrukturen nach Rembaum.**<sup>221-222</sup>

Für den weiteren beidseitigen Aufbau der PBI-Ketten wurde das Verfahren nun unter den gleichen Bedingungen (0 °C und schnelle Zugabe) wiederholt, wobei das jeweilige Monomer immer im 12-fachen molaren Überschuss zugegeben wurde. Die erhaltenen Produkte wurden jeweils mit <sup>1</sup>H-NMR und GPC analysiert (siehe **Tabelle 22**; Seite 139). Die <sup>1</sup>H-NMR-Analysen zeigen, dass die Endgruppen bei Umsetzung mit DBB und auch mit TMPDA quantitativ modifiziert wurden, da jeweils die endgruppenspezifischen Signale von DBB (Signale 1 ( $\delta = 4.04$  ppm), 2 ( $\delta = 6.03$  ppm), 3 ( $\delta = 6.42$  ppm), 4 ( $\delta = 4.11$  ppm)) bzw. TMPDA (Signale 10 ( $\delta = 2.64$  ppm), 11 ( $\delta = 2.41-2.45$  ppm), 12 ( $\delta = 1.95-2.15$  ppm), 13 ( $\delta = 3.38$  ppm)) von einer zur nächsten Synthesestufe, komplett verschwinden bzw. neu gebildet werden (siehe **Abbildung 11**).

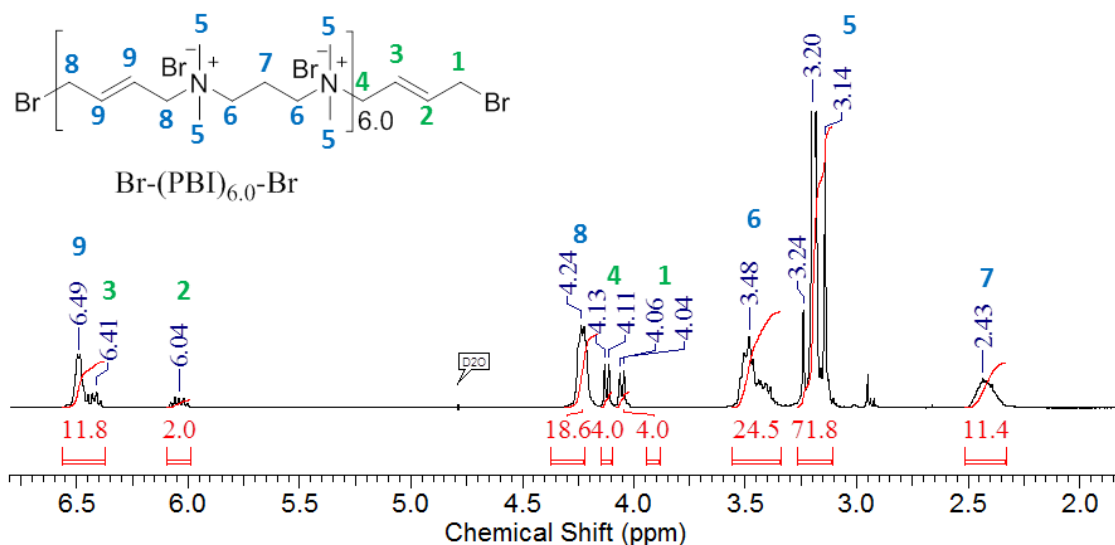
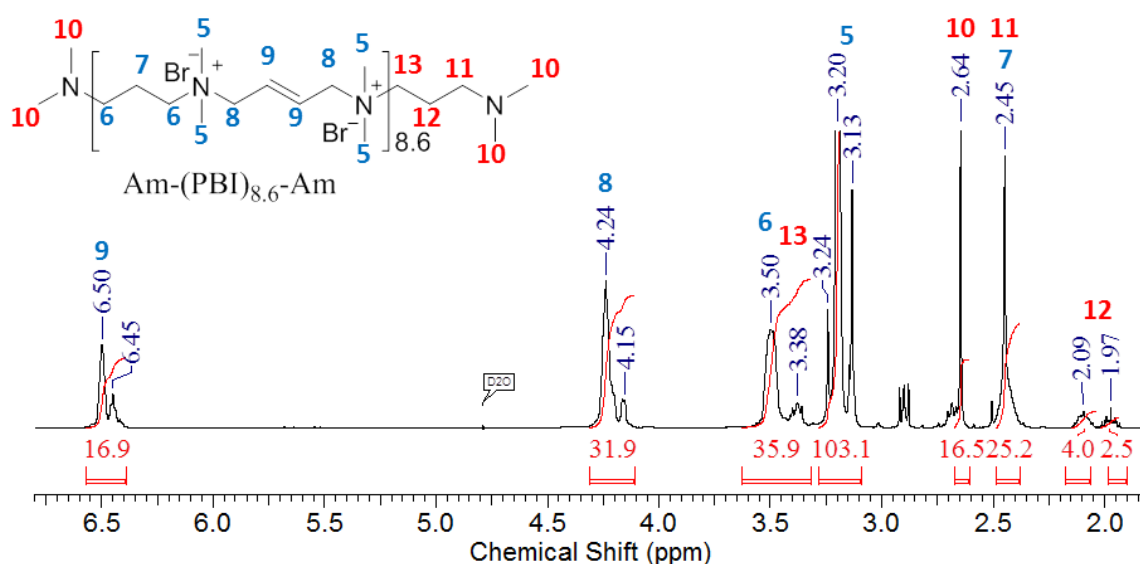
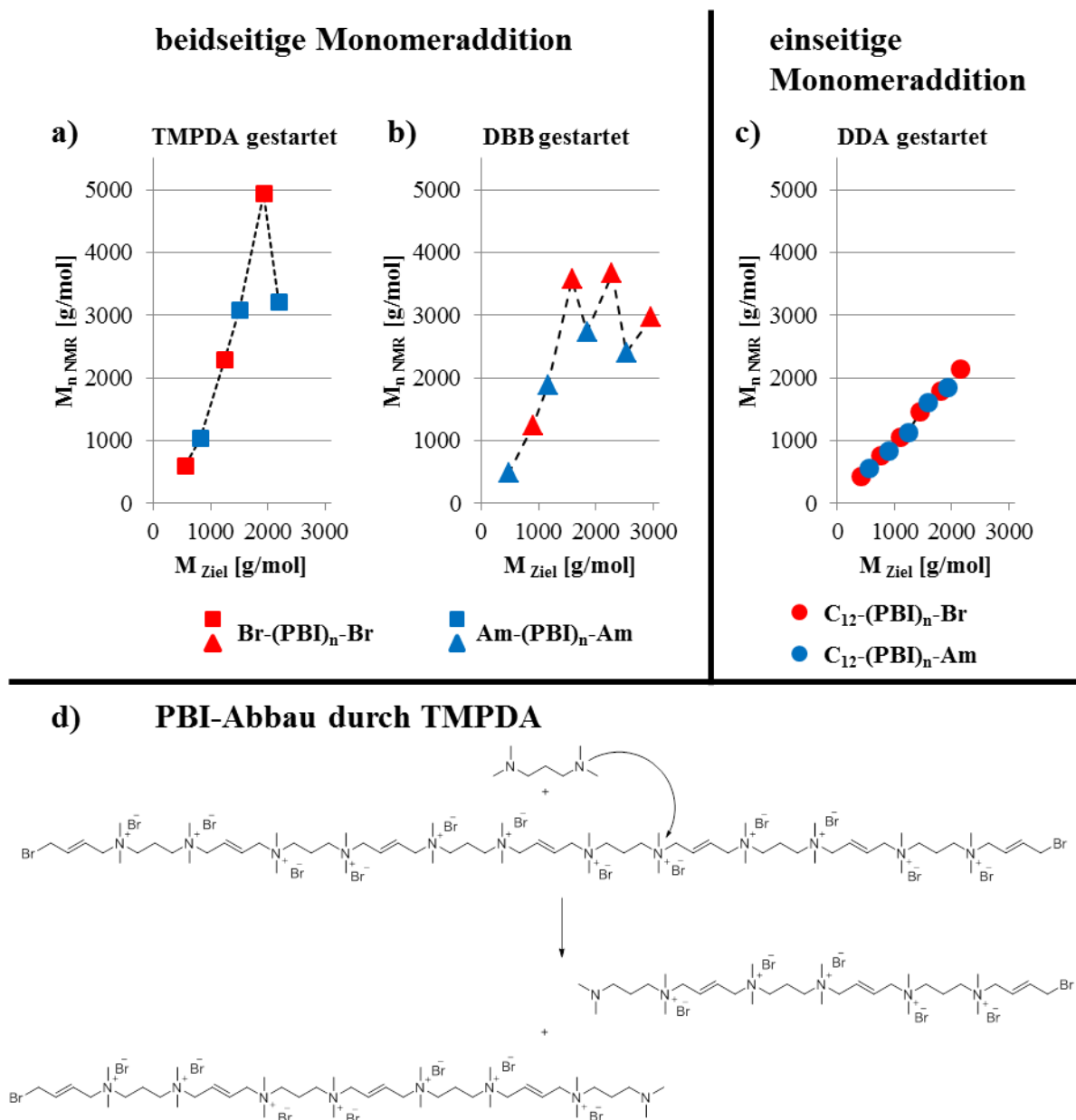
a) Br-(PBI)<sub>n</sub>-Brb) Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am

Abbildung 11: Exemplarische Zuordnung der <sup>1</sup>H-NMR-Signale Brom (a) und Amin (b) terminierte PBI am Beispiel von Br-(PBI)<sub>6.0</sub>-Br (a) und Am-(PBI)<sub>8.6</sub>-Am (b) in D<sub>2</sub>O.

Die Verwendung des Endgruppen/Hauptketten-Signalverhältnisses zur Bestimmung der Anzahl an Wiederholungseinheiten zeigt, dass der zweite Reaktionsschritt zu Oligomeren mit einem signifikant höheren Molekulargewicht führte, als es bei einer vollständigen Umsetzung gemäß des Reaktionsschemas zu erwarten war (siehe **Tabelle 22**; Seite 139). Anscheinend war eine Bildung von Dimeren, durch Kombination, von z.B. zwei Oligomeren über das im Überschuss vorliegende Monomer, und/oder großer Ringstrukturen aus mehreren Monomereinheiten bei dem zweiten Reaktionsschritt noch weiter bevorzugt.<sup>110, 224</sup> In Simulationen mittels des Monte-Carlo-Verfahrens wurde in der Literatur eine beträchtliche Wahrscheinlichkeit (bis zu 30%) zur Bildung von Ringen während Stufenwachstums-Reaktionen berechnet, welche allgemein mit dem Fortschreiten der

Polymerisation steigt.<sup>225</sup> Eine geschätzte Menge von 5% an Ringen, während der Synthese von Ionen durch Wang et. al.<sup>224</sup>, bestätigen die Simulationen mittels des Monte-Carlo-Verfahrens. Die Bildung von Ringen in den durchgeführten Synthesen, kann somit nicht ausgeschlossen werden. Bei der dritten Monomerzugabe kam es noch zu einem überproportionalen Kettenwachstum um  $n = 3.4$ , von  $\text{Am}(\text{PBI})_{2,6}\text{Am}$  auf  $\text{Br}(\text{PBI})_{6,0}\text{Br}$ , was ein weiterer Hinweis auf Nebenreaktionen ist.



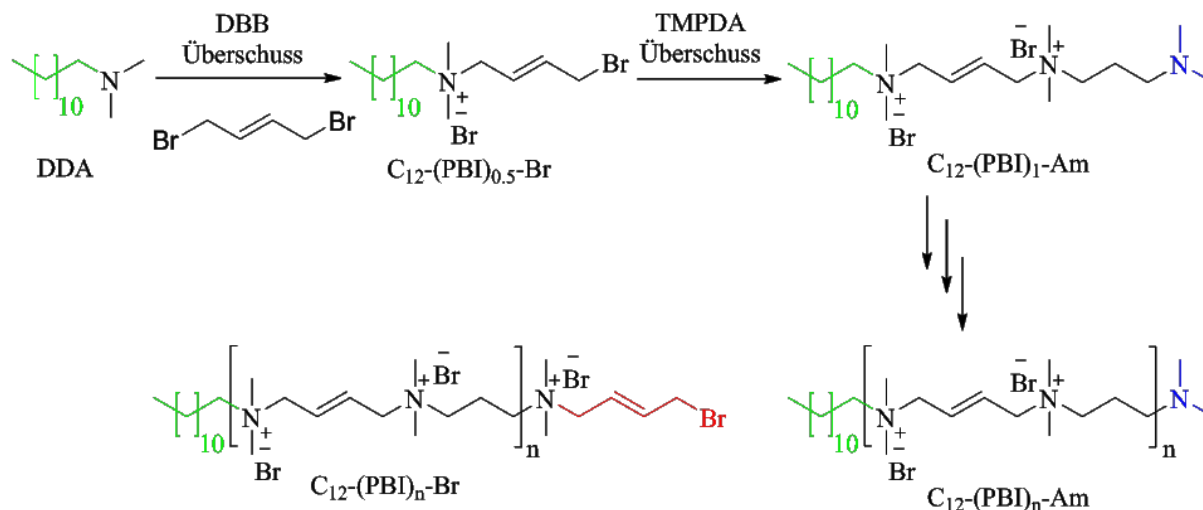
**Abbildung 12:** a + b) Darstellung des erwarteten ( $M_{\text{Ziel}}$ ) im Vergleich zum synthetisierten ( $M_{\text{n, NMR}}$ ) Molekulargewicht über den Syntheseverlauf der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von TMPA (a) und von DBB (b) sowie der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA (c). Ergänzend sind die PBI-Spezies mit Brom-Endgruppen (rot) und mit Amin-Endgruppen (blau) gekennzeichnet. d) Schema zum Abbau von PBI bei der Zugabe des Amins (TMPDA) im Überschuss.

Neben der beidseitigen Monomeraddition, ausgehend von TMPDA, erfolgte unter identischen Reaktionsbedingungen auch die beidseitige Monomeraddition ausgehend von DBB. Dabei zeigt sich ein sehr ähnliches, überproportionales Wachstum des Molekulargewichts über die ersten Synthesestufen hinweg (siehe **Abbildung 12a + b**).

Der Aufbau von  $(\text{PBI})_n$ -Spezies mittels sequentieller Synthese erfolgte bis zu einem maximal erreichten Molekulargewicht von 3571 g/mol bis 4933 g/mol. Es zeigte sich, dass die Zugabe desamins zu bromterminierten Polymeren mit einem Molekulargewicht  $>3000$  g/mol (siehe **Abbildung 12a + b** in rot) zu einer Abnahme des Molekulargewichts führte. Offensichtlich haben die gebildeten Oligomere oberhalb dieses Molekulargewichts, eine begrenzte Stabilität gegen Amine. Dagegen zeigt sich für Brom-terminierte PBI mit einem Molekulargewicht  $<3000$  g/mol, ein Zuwachs des Molekulargewichts, so dass diese anscheinend stabiler sind. Die Ursache der Molekulargewichtsabnahme könnte die Kettenspaltung des PBI-Rückgrats durch das tertiäre Amin (TMPDA) in Form einer Transaminierung sein (siehe **Abbildung 12d**). Dabei wird ein Alkylrest einer quaternären Ammoniumfunktion in der Hauptkette an das angreifende Amin übertragen.<sup>224, 226</sup> Die entstehenden Endgruppen sind dabei die Gleichen, wie bei der Terminierung der Endgruppen mit TMPDA. Weitere bekannte Beispiele für Abbaureaktionen sind die Hofmann-Eliminierung und die Chen-Reaktionen bei höheren Temperaturen.<sup>224, 226-228</sup> Die dabei entstehenden Abbauprodukte enthalten unter anderem oft endständige Doppelbindungen. Hinweise auf solche Doppelbindungen sind in den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren jedoch nicht identifizierbar. Da keine signifikanten Signale in den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren identifizierbar sind, ist die Transaminierung als Abbaureaktion, die bei der sequentiellen Monomerzugabe von TMPDA merklich abläuft, am wahrscheinlichsten. Gestützt wird die These des Abbaus durch das Amin dadurch, dass die Zugabe von DBB, was sich besonders gut in **Abbildung 12b** in den Synthesestufen 5 bis 8 zeigt, immer wieder zu einer Molekulargewichtszunahme führte. Das maximal erreichte Molekulargewicht für aminterminierte PBI ( $\text{Am}(\text{PBI})_n\text{Am}$ ) lag bei 2405 bis 3215 g/mol.

Insgesamt führte die sequentielle Monomeraddition zu definierten Oligomeren mit Molekulargewichten bis zu 4933 g/mol. Eine weitere Erhöhung war aufgrund der Kettenspaltungsreaktionen durch das Amin nicht erfolgreich. Durch GPC-Analyse der gebildeten Oligomere, wurden PDI-Werte von 1.02 bis 1.15 ermittelt, was die besonders enge Verteilung der synthetisierten  $\text{Br}-(\text{PBI})_n-\text{Br}$  und  $\text{Am}-(\text{PBI})_n-\text{Am}$  zeigt. Diese Werte liegen sogar im Bereich einer lebenden Polymerisation.

Des Weiteren wurde unter denselben Bedingungen der beidseitigen Monomeraddition eine schrittweise Monomeraddition für das einseitige Wachstum, ausgehend von *N,N*-Dimethylaminododecan (DDA) mit einem 6-fachen Überschuss an DBB, durchgeführt (siehe **Abbildung 13**). So konnten mit einer Dodecyl-Endgruppe auf der einen und auf der entgegengesetzten Seite mit einer Brom- ( $C_{12}$ -(PBI) $_n$ -Br) bzw. Amin- ( $C_{12}$ -(PBI) $_n$ -Am) Endgruppe terminierte PBI mit unterschiedlichen Molekulargewichten erhalten werden.

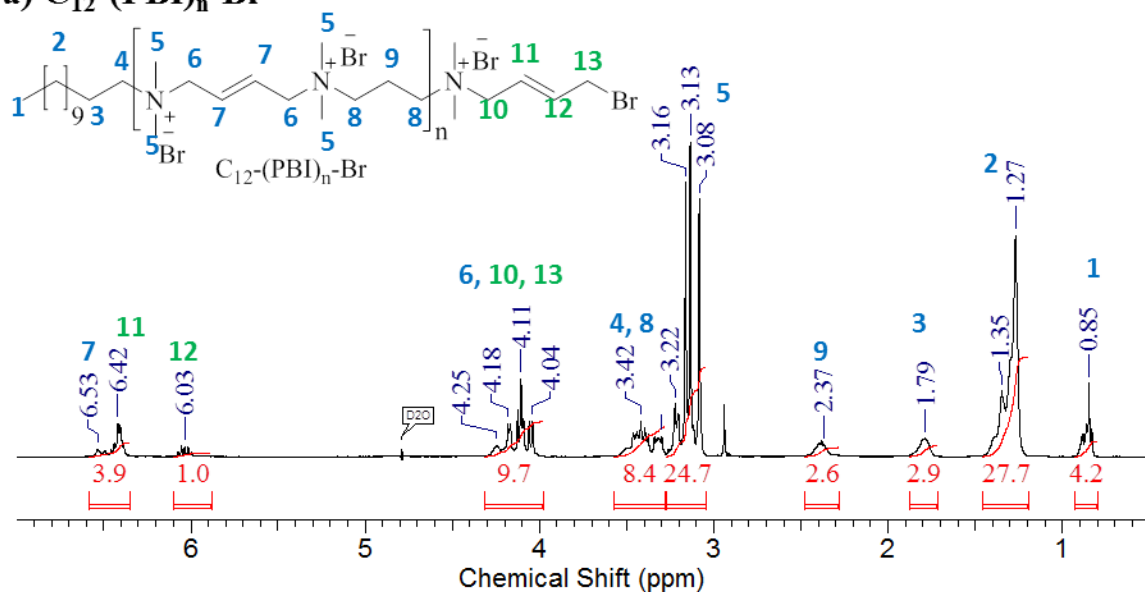


**Abbildung 13:** Schema der PBI-Synthese durch sequentielle, einseitige Monomeraddition zur Herstellung von  $C_{12}$ -PBI $_n$ -Br/Am Spezies ausgehend von DDA.

$^1$ H-NMR-Messungen und die daraus ermittelten Molekulargewichte zeigen einen linearen Zuwachs des Molekulargewichts (siehe **Abbildung 12c**) für die erhaltenen Produkte. Dabei liegen die angestrebte und die erzielte Wiederholungseinheit sehr nahe beieinander. Die Makromoleküle besitzen maximal eine Abweichung der Wiederholungseinheit von  $n = 0.3$  (Details siehe **Tabelle 23**; Seite 141). Es kann gezeigt werden, dass die Endgruppenkontrolle erfolgreich war und die PBI-Kette kontrolliert auf die jeweiligen Amin- bzw. Brom-Endgruppen aufgefropft wurde (siehe **Abbildung 14**).

Ein überproportionales Kettenwachstum, wie es bei der beidseitigen Monomeraddition der Fall war, oder eine Abnahme des Molekulargewichts bei der Zugabe des Amins, konnte nicht festgestellt werden, wie das gradlinige Wachstum des Molekulargewichts in **Abbildung 12c** zeigt. Es wurden durch 11 sequentielle Synthesen Makromoleküle bis zu einem Molekulargewicht von 2148 g/mol aufgebaut, welche mit Blick auf den hohen Aufwand nicht weitergeführt wurden. Dieses Molekulargewicht liegt klar unterhalb dessen, wo im Falle der beidseitigen Monomeraddition ( $M_n = 3571$ -4933 /mol) ein Abbau durch die Aminzugabe festzustellen war.

a)  $C_{12}$ -(PBI) $_n$ -Br



b)  $C_{12}$ -(PBI) $_n$ -Am

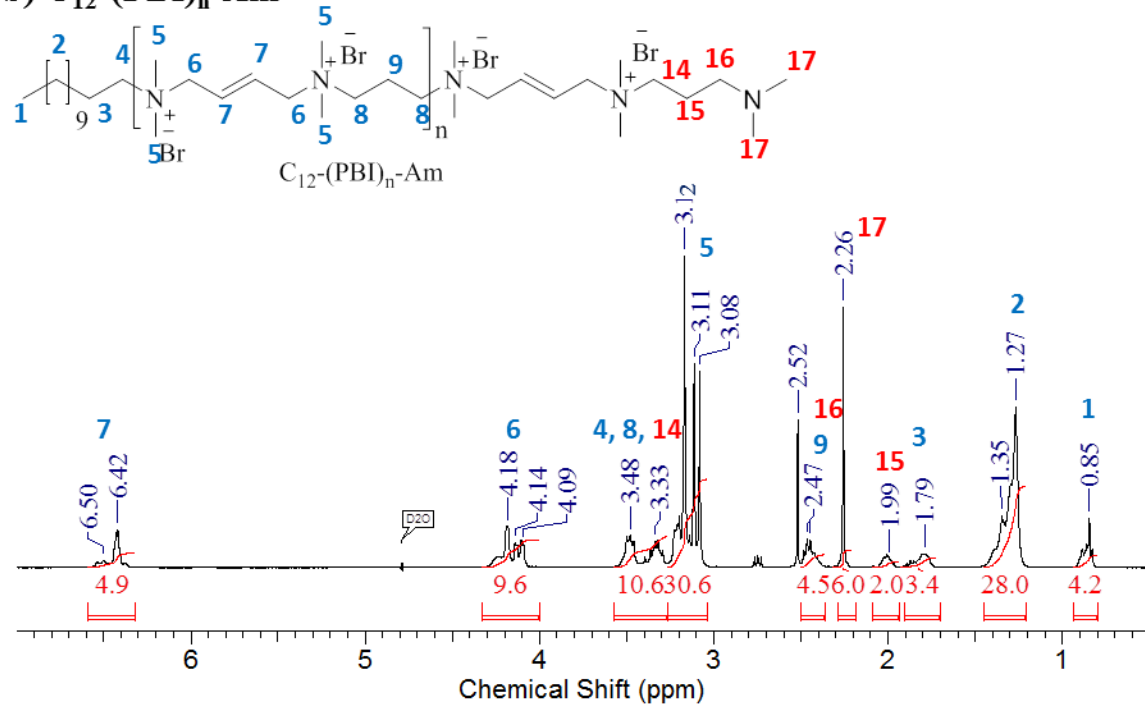
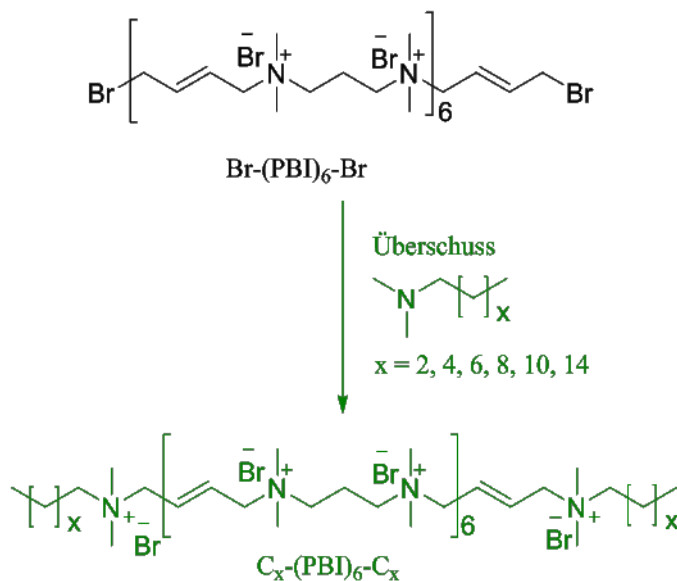


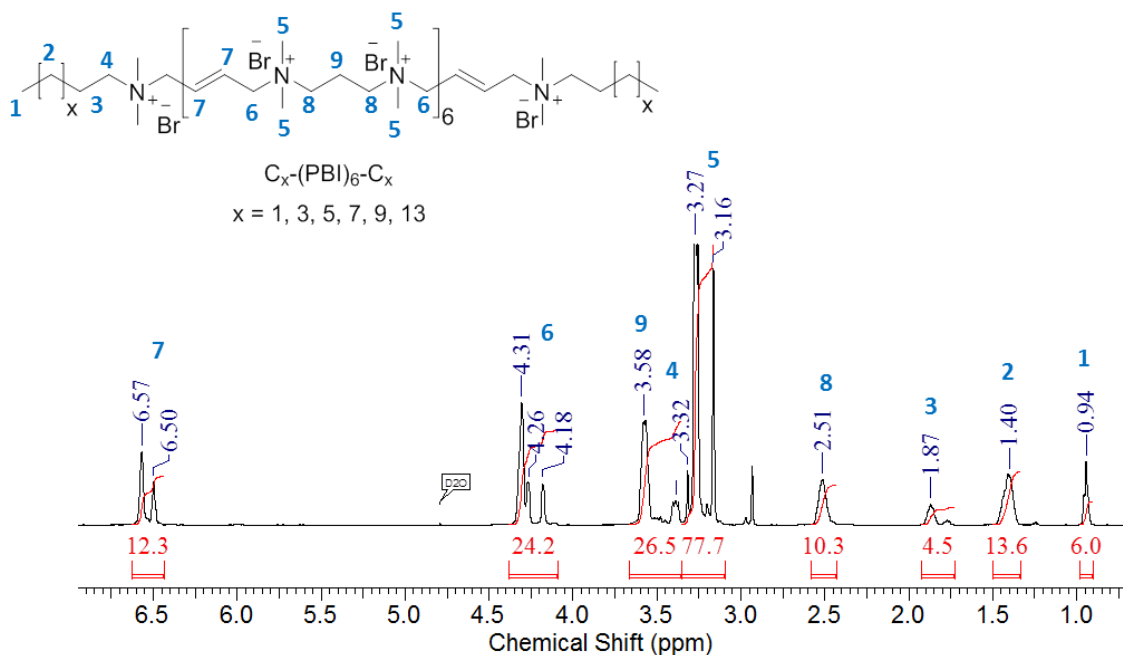
Abbildung 14: Exemplarische Zuordnung der  $^1\text{H}$ -NMR-Signale Brom (a) und Amin (b) terminierte  $C_{12}$ -PBI am Beispiel von  $C_{12}$ -(PBI) $_{1.5}$ -Br (a) und  $C_{12}$ -(PBI) $_{1.8}$ -Am (b) in  $\text{D}_2\text{O}$ .

Zudem wurde ein ausgewähltes PBI an beiden Enden durch die Umsetzung von telechelnen Br-(PBI)<sub>6</sub>-Br mit einer Reihe von *N,N*-Dimethylaminoalkanen mit linearen Alkylketten, welche von C<sub>4</sub> bis C<sub>16</sub> variierten, modifiziert (siehe **Abbildung 15**).



**Abbildung 15:** Schema Modifizierung von Br-(PBI)<sub>6</sub>-Br mit einer Reihe von *N,N*-Dimethylaminoalkanen mit linearen Alkylketten.

Die Modifikation ist laut <sup>1</sup>H-NMR quantitativ, da die Signale der zuvor bestandenen Bromterminierung komplett durch Signale der Alkyl-Terminierung ersetzt wird (siehe **Abbildung 16**). Des Weiteren werden keine signifikanten Spaltungen beobachtet (siehe **Tabelle 24**; Seite 142).



**Abbildung 16:** Exemplarische Zuordnung der <sup>1</sup>H-NMR-Signale für C<sub>x</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>x</sub> am Beispiel von C<sub>6</sub>-(PBI)<sub>6.5</sub>-C<sub>6</sub> in D<sub>2</sub>O.



Wie die Umsetzung von definierten, bromterminierten PBI unterhalb der zuvor festgestellten Stabilitätsgrenze zeigt, stellt die beidseitige Modifizierung mit tertiären Aminverbindungen eine gute Möglichkeit der gezielten, vollständigen Endgruppenmodifizierung dar, ohne dass es zu signifikanten Abbaureaktionen kommt. Die aus GPC Messungen erhaltenen PDI von  $< 1.1$  liegen, wie auch das  $\text{Br-(PBI)}_6\text{-Br}$ , im Bereich der lebenden Polymerisation. Zusammenfassend können durch die Modifizierung somit sehr definierte, beidseitig alkylmodifizierte PBI dargestellt werden.

Für die sequentielle Synthese von 3,4en-Iononen (PBI) lässt sich festhalten, dass diese sehr gut zur Darstellung von PBI mit engverteilten Molekulargewichten ( $\text{PDI} < 1.2$ ) und definierten Endgruppen geeignet ist. Dabei konnten PBI, beidseitig mit Brom ( $\text{Br-(PBI)}_n\text{-Br}$ ), Amin ( $\text{Am-(PBI)}_n\text{-Am}$ ), und diversen Alkylketten ( $\text{C}_x\text{-(PBI)}_6\text{-C}_x$ ,  $x = 4, 6, 8, 10, 12, 16$ ) als Endgruppe modifiziert, synthetisiert werden. Zudem wurden PBI mit einseitiger Dodecylkette und auf der entgegengesetzten Seite mit Brom ( $\text{C}_{12}\text{-(PBI)}_n\text{-Br}$ ) oder Amin ( $\text{C}_{12}\text{-(PBI)}_n\text{-Am}$ ) dargestellt. Die Limitierung der sequentiellen Synthese liegt jedoch primär in der zu größeren Molekulargewichten hin, limitierten Synthese. Für die Untersuchung der Struktur-Eigenschafts-Beziehungen von Iononen, hinsichtlich ihrer antimikrobiellen und hämolytischen Eigenschaften, wurde somit eine breite Auswahl an Verbindungen synthetisiert.

#### 4.1.1.2 Antimikrobielle und hämolytische Charakterisierung sequentiell synthetisierter 3,4en-Ionene mit verschiedenen Endgruppen

Zur Untersuchung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen wurden die sequentiell synthetisierten PBI-Spezies Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br, Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am, C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub>-Br/Am und C<sub>x</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>x</sub> mit definierten Molekulargewichten und Endgruppen bezüglich ihres MIC-Wertes (Konzentration bei der 99% der bakteriellen Zellen am Wachstum gehindert werden) gegen die Bakterienstämme *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) und *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), mit 5000 µg/mL als höchste Konzentration, untersucht. Ergänzend fand die Untersuchung der hämolytischen Aktivität gegen rote Schweineblutzellen statt.

##### 4.1.1.2.1 Biologische Charakterisierung beidseitig mit Brom- oder Amin-terminierter 3,4en-Ionene

Für die in **Abbildung 17** dargestellten MIC-Werte (siehe **Tabelle 22**; Seite 139) der Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br und Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am Spezies, zeigen alle untersuchten Oligomere und Polymere eine geringere antimikrobielle Aktivität für alle Stämme, im Vergleich zu dem Polymer mit hohem Molekulargewicht (PBI<sub>n</sub>) (siehe **Tabelle 3**; Seite 13). Der MIC-Wert des Letzteren ist in den jeweiligen Diagrammen als gestrichelte Linie gekennzeichnet.

Die Betrachtung der Empfindlichkeit von *E. coli* gegenüber PBI zeigt, dass die Bioaktivität der Polymere mit zunehmenden Molekulargewicht von MIC<sub>*E. coli*</sub> = >5000 µg/mL bis auf 630 µg/mL zunimmt (siehe **Abbildung 17b**). Darüber hinaus zeigt sich ein Einfluss der Endgruppe. Während die PBI mit Amin-Endgruppen (Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am) keine messbare antimikrobielle Aktivität, mit der Ausnahme des höchsten Molekulargewichts (MIC<sub>*E. coli*</sub> = 5000 µg/mL, M<sub>n</sub> = 3215 g/mol) aufweisen, sind die Makromoleküle mit Brom-Endgruppen (Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br) aktiver. Sie zeigen die erste messbare Aktivität bei 598 g/mol (MIC<sub>*E. coli*</sub> = 5000 µg/mL), welche mit steigendem Molekulargewicht bis auf MIC<sub>*E. coli*</sub> = 630 µg/mL zunimmt. Damit sind jedoch die besten antimikrobiellen Aktivitäten der sequentiellen PBI-Spezies mehr als 15-mal weniger aktiv gegenüber *E. coli* als PBI<sub>n</sub> (MIC<sub>*E. coli*</sub> = 40 µg/mL), welches mittels Polyaddition synthetisiert wurde.

Die MIC der PBI gegenüber *S. aureus* (siehe **Abbildung 17c**) zeigen, dass die minimale Länge für die signifikante antimikrobielle Aktivität 598 g/mol für die Brom-terminierten Spezies beträgt. Eine Erhöhung des Molekulargewichts auf 2279 g/mol führt zu einer Erhöhung der antimikrobiellen Aktivität auf MIC<sub>*S. aureus*</sub> = 78 µg/mL; dies ist der doppelte Wert von PBI<sub>n</sub> (MIC<sub>*S. aureus*</sub> = 35 µg/mL). Für den Bereich von 2279 g/mol bis 4933 g/mol bleibt der MIC<sub>*S. aureus*</sub> der Brom-terminierten Spezies konstant. Die Amin-terminierten PBI sind im Allgemeinen weniger aktiv als die jeweiligen Brom-terminierten. Erstere zeigen erst bei der Zunahme des Molekulargewichts von 1877 g/mol auf 2405 g/mol, eine signifikante Steigerung der antimikrobiellen Aktivität von einem MIC<sub>*S. aureus*</sub> = 2500 µg/mL auf 310 µg/mL.

Für die MIC-Werte gegen *S. mutans* (siehe **Abbildung 17d**) der Brom-terminierten Spezies zeigt sich bereits bei einem Molekulargewicht von 1234 g/mol ein MIC<sub>*S. mutans*</sub> = 78 µg/mL. Dieser bleibt bis 4933 g/mol konstant. Dieser MIC<sub>*S. mutans*</sub> ist das 4-fache von PBI<sub>n</sub> (MIC<sub>*S. mutans*</sub> = 18 µg/mL). Im

Gegensatz zu den beiden zuvor beschriebenen Bakterienstämmen, zeigen die Amin-terminierten PBI bereits bei 1027 g/mol einen  $MIC_{S. mutans} = 310 \mu\text{g/mL}$ , welcher bis auf  $78 \mu\text{g/mL}$  bei 3215 g/mol abfällt. Damit sind die Amin-terminierten Spezies gegenüber *S. mutans* nahezu gleich aktiv, im Vergleich zu den Brom-terminierten Spezies.

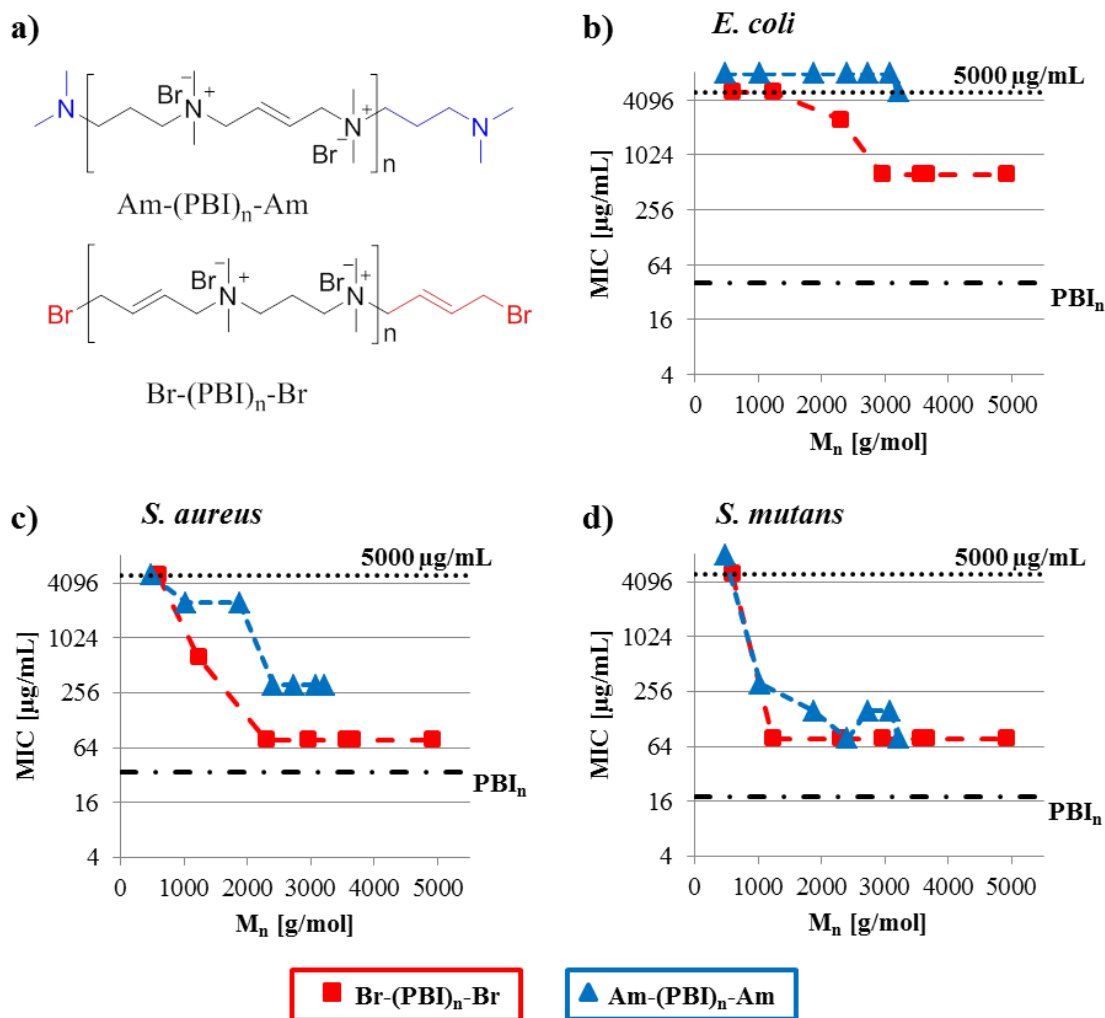


Abbildung 17: Antimikrobielle Aktivitäten (MIC) von Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br (a) rot) und Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am (a) blau) gegen die Bakterienstämme *E. coli* (b)), *S. aureus* (c)) und *S. mutans* (d)) in Abhängigkeit vom Molekulargewicht M<sub>n</sub> der Verbindungen. Ergänzend ist der MIC von PBI<sub>n</sub> (—▪) aus der Synthese durch Polyaddition und der maximal untersuchte MIC (···, 5000 μg/mL) durch Linien gekennzeichnet.<sup>17</sup>

Der Vergleich der Ergebnisse der sequentiellen PBI mit beidseitigen Brom- oder Amin-Endgruppen zeigt, dass ihre antimikrobielle Aktivität von ihrem Molekulargewicht und der Art ihrer Endgruppen abhängt. Im Allgemeinen nimmt die antimikrobielle Aktivität, von einem MIC = >5000 μg/mL auf bis 78 μg/mL, mit steigendem Molekulargewicht stark zu. Jedoch wurde in keinem Fall die antimikrobielle Aktivität von PBI<sub>n</sub> erreicht. Dies deutet daraufhin, dass die maximale Aktivität von PBI mit einem engverteilten Molekulargewicht erst bei einem Molekulargewicht über 5000 g/mol erreicht wird. Für die untersuchten Mikroorganismen gibt es spezifische Struktur-Wirkungs-

Beziehungen. Die größte Aktivitätszunahme bezüglich des Molekulargewichts tritt bei ca.  $\sim 1000$  g/mol für *S. mutans*, bei  $\sim 2000$  g/mol für *S. aureus*, und bei  $\sim 3000$  g/mol für *E. coli* auf. Diese Abhängigkeiten ermöglichen sogar die Bildung von Molekülen mit einer spezifischen antimikrobiellen Aktivität. Beispiele dafür sind Br-(PBI)<sub>3</sub>-Br ( $M_n = 1234$  g/mol,  $MIC_{E. coli} = 5000$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. aureus} = 680$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. mutans} = 78$   $\mu\text{g/mL}$ ) welches selektiv gegen *S. mutans* wirkt, wohingegen Br-(PBI)<sub>6</sub>-Br ( $M_n = 2279$  g/mol,  $MIC_{E. coli} = 2500$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. aureus} = 78$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. mutans} = 78$   $\mu\text{g/mL}$ ) selektiv gegen *S. aureus* und *S. mutans* wirkt.

Des Weiteren zeigt die Messung der Hämokompatibilität gegenüber roten Schweineblutzellen (siehe **Tabelle 22**; Seite 139), dass keines der synthetisierten sequentiellen PBI mehr als 1% der Blutzellen, selbst bei einer Konzentration von 40000  $\mu\text{g/mL}$ , lysiert. Das bedeutet, die Makromoleküle sind nicht hämolytisch aktiv. Die besten  $HC_{50}/MIC$  Selektivitäten (S) für *E. coli* sind für die Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br ( $S_{E. coli} = >63$ ) 8-mal besser als für die Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am ( $S_{E. coli} = >8$ ) Spezies. Darüber hinaus sind die besten Selektivitäten für *S. aureus* für die Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br ( $S_{S. aureus} = >513$ ) viermal höher als für die Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am ( $S_{S. aureus} = >129$ ) Spezies. Für die Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br und Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am Spezies ergeben sich gleich gute Selektivitäten für *S. mutans* ( $S_{S. mutans} = >513$ ).

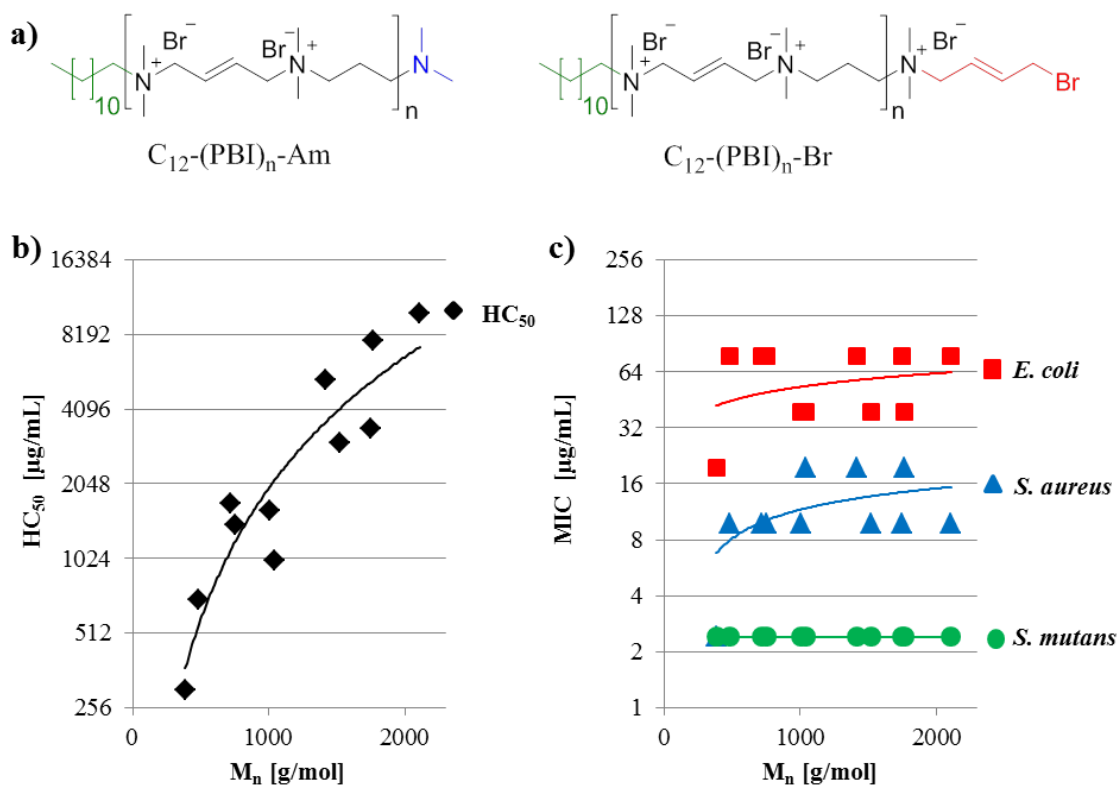
#### 4.1.1.2.2 Biologische Charakterisierung einseitig mit Dodecyl- und entgegengesetzt mit Brom-/Amin-terminierter 3,4en-Ionene

Um den Einfluss heterogener Endgruppen auf die antimikrobielle Aktivität und Hämokompatibilität zu untersuchen, wurden durch einseitige Monomeraddition ausgehend von DDA, C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub>-Am und C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub>-Br Spezies (siehe **Abbildung 18a**) sequentiell synthetisiert und anschließend biologisch analysiert. Die Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität und Hämokompatibilität vom Molekulargewicht dieser PBI-Spezies (427-2148 g/mol) ist **Abbildung 18b + c** dargestellt.

Gegenüber den drei untersuchten Bakterienstämmen sind alle C<sub>12</sub>-PBI Spezies (siehe **Tabelle 23**; Seite 141), aktiver als die entsprechenden PBIs mit beidseitigen Brom- oder Amin-Endgruppen. Für die Bakterienstämme *S. aureus* (bis zu 3.5-mal) und *S. mutans* (7-mal) sind diese sogar aktiver, als das hochmolekulare PBI<sub>n</sub> ( $MIC_{S. aureus} = 35$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. mutans} = 18$   $\mu\text{g/mL}$ ). Im Gegensatz zu dem, mit steigendem Molekulargewicht aktiver werdenden beidseitig Brom- und Amin-terminierten PBI, zeigen die C<sub>12</sub>-PBI keine signifikant zunehmende antimikrobielle Aktivität mit steigendem Molekulargewicht.

Die Schwankungen der MIC-Werte im Molekulargewichtsbereich von 563-2148 g/mol um eine Verdünnungsstufe ( $MIC_{E. coli} = 39-78$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. aureus} = 10-20$   $\mu\text{g/mL}$ ), deuten darauf hin, dass sich der wahre MIC-Wert jeweils zwischen den beiden Werten befindet. Für *S. mutans* ist die antimikrobielle Aktivität über den gesamten untersuchten Bereich konstant bei 2  $\mu\text{g/mL}$ . Ferner scheint die antimikrobielle Aktivität durch die DDA-Gruppe kontrolliert zu werden, ohne dass dabei ein Effekt durch die Brom- oder Amin-Gruppe am distalen Ende zu verzeichnen ist. Somit lässt sich im Gegensatz zu, mit heterogenen Endgruppen modifizierten Poly(2-oxazonlinen), kein Satellitengruppen-Effekt<sup>56, 58, 62, 64-65</sup> für hydrophile Polykationen feststellen. Interessanterweise nimmt

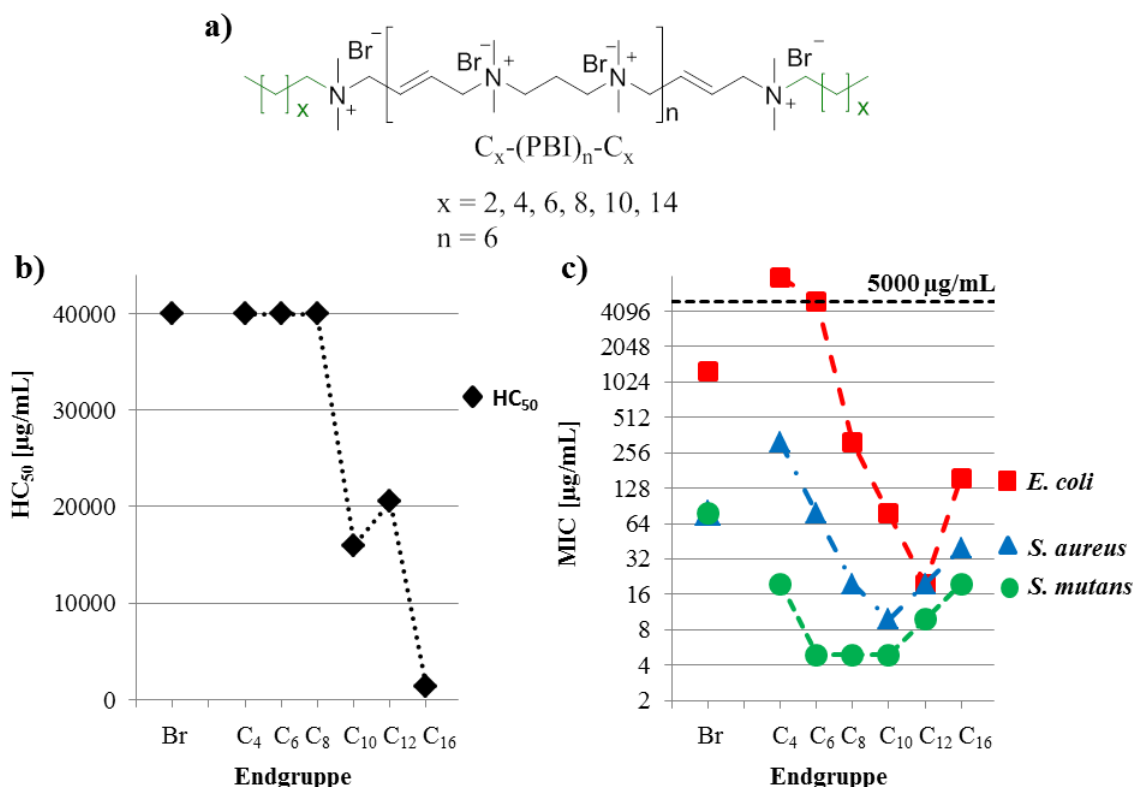
die hämolytische Aktivität mit zunehmendem Molekulargewicht der C<sub>12</sub>-PBI Kette, von anfangs 300 µg/mL bei 427 g/mol bis auf 10000 µg/mL bei 2148 g/mol, ab (siehe **Abbildung 18b**). Somit kann das hydrophile PBI Rückgrat dazu verwendet werden, die DDA-Funktion zu entgiften, ohne dabei die gute bis exzellente antimikrobielle Aktivität zu beeinflussen. In den Fällen von *E. coli* und *S. aureus* sind die MIC-Werte ähnlich denen des jeweiligen niedermolekularen Biozids, des Dodecyltrimethylammoniumsalzes (siehe **Tabelle 23**; Seite 141), und nahezu 10-mal niedriger gegenüber *S. mutans*. Bezüglich der Selektivität (HC<sub>50</sub>/MIC) weisen die C<sub>12</sub>-PBI bis zu S<sub>*E. coli*</sub> = 197, S<sub>*S. aureus*</sub> = 1000 und S<sub>*S. mutans*</sub> = 5000 auf. Die Selektivitäten sind im Vergleich zum niedermolekularen Biozid (S<sub>*E. coli*</sub> = 23, S<sub>*S. aureus*</sub> = 180, S<sub>*S. mutans*</sub> = 90) mit dem 5- bis 55-fachen signifikant höher.



**Abbildung 18:** Hämolytische Aktivität (b) und antimikrobielle Aktivität (c) gegen die Bakterienstämme *E. coli* (rot), *S. aureus* (blau) und *S. mutans* (grün) von C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub>-Br/Am in Abhängigkeit vom Molekulargewicht M<sub>n</sub> der Verbindungen (a).<sup>17</sup>

## 4.1.1.2.3 Biologische Charakterisierung beidseitig Alkyl-terminierter 3,4-en-Ionene

Die mit DDA gestarteten PBIs weisen ein beachtliches Potential als antimikrobiell, hochaktive Verbindungen mit einer für rote Schweineblutzellen geringen hämolytischen Aktivität auf. Um den Einfluss von beidseitigen, verschiedenen langen Alkylketten auf die antimikrobielle und hämolytische Aktivität zu untersuchen, wurden PBIs mit einem ähnlichen Molekulargewicht ( $\sim 2000$  g/mol), wie die höhermolekularen  $C_{12}$ -PBI, mit verschiedenen Alkylgruppen (Butyl bis Hexadecyl) an beiden Enden synthetisiert und biologisch untersucht (siehe **Abbildung 19a** und **Tabelle 24**; Seite 142). Die MIC-Werte und die hämolytische Aktivität der jeweiligen  $C_x$ -(PBI) $_6$ - $C_x$ , sowie der Brom-terminierten Ausgangsverbindung zum Vergleich, sind **Abbildung 19** gegen die jeweilige Endgruppe aufgetragen.



**Abbildung 19:** Hämolytische Aktivität (b) und antimikrobielle Aktivität (c) gegen die Bakterienstämme *E. coli* (rot), *S. aureus* (blau) und *S. mutans* (grün) von  $C_x$ -(PBI) $_6$ - $C_x$  (a) in Abhängigkeit von der Endgruppe der Verbindungen. Ergänzend ist der maximal untersuchte MIC (---, 5000 µg/mL) durch eine Linie gekennzeichnet.<sup>17</sup>

Die antimikrobielle Aktivität nimmt dabei für alle drei untersuchten Bakterienstämme im Allgemeinen mit zunehmender Länge der Alkylketten-Endgruppen zu, was laut Literatur für niedermolekulare quartäre Ammoniumverbindungen zu erwarten ist.<sup>229</sup> Überraschend ist jedoch, dass die PBI mit Hexadecyl-Gruppen weniger wirksam sind als die mit Dodecyl-Gruppen. Diese Tendenz zeigt sich jedoch auch für niedermolekulare beidseitig alkylierte, biquartäre Ammoniumverbindungen, welche einheitlich eine höhere antimikrobielle Aktivität für Dodecyl als für Hexadecyl- und Tetradecyl-Endgruppen zeigen.<sup>114, 230-232</sup> Erklärt wird dies durch die bessere Löslichkeit und die geringere

kritische Mizellkonzentration der Dodecyl-Spezies gegenüber den höher alkylierten Spezies.<sup>231</sup> Zudem wird die antimikrobielle Aktivität der beidseitig Brom-terminierten Ausgangsverbindung für  $MIC_{E. coli} = 1250 \mu\text{g/mL}$  und  $MIC_{S. aureus} = 78 \mu\text{g/mL}$  erst ab einer Alkylkettenlänge von  $C_8$  unterschritten. Dagegen unterschreiten alle beidseitig Alkyl-terminierte PBI, den  $MIC_{S. mutans} = 78 \mu\text{g/mL}$  der Brom-terminierten Ausgangsverbindung.

Des Weiteren ist die antimikrobielle Aktivität spezifisch für die getesteten Mikroorganismen. Gegen *S. mutans* liegen die Aktivitäten bei  $MIC_{S. mutans} = 5\text{-}20 \mu\text{g/mL}$ , wobei  $C_6\text{-(PBI)}_6\text{-}C_6$  am aktivsten ist. Bezüglich *S. aureus* sind die Aktivitäten bei  $MIC_{S. aureus} = 10\text{-}310 \mu\text{g/mL}$ , mit  $C_{10}\text{-(PBI)}_6\text{-}C_{10}$  als aktivste Spezies. Die Aktivitäten gegenüber *E. coli* zeigen  $MIC_{E. coli} = 20 \text{ - } >5000 \mu\text{g/mL}$ , dabei ist die aktivste Spezies  $C_{12}\text{-(PBI)}_6\text{-}C_{12}$ . Offensichtlich nimmt die zur Wachstumsinhibierung von mikrobiellen Zellen erforderliche Hydrophobie von  $C_x\text{-(PBI)}_6\text{-}C_x$  in der Reihenfolge *S. mutans* < *S. aureus* < *E. coli* zu.

Ein Vergleich der Ergebnisse mit den jeweiligen niedermolekularen Verbindungen  $C_x\text{-N}^+(\text{CH}_3)_3\text{X}^-$  zeigt, dass die effektive Alkylkettenlänge am PBI signifikant kürzer ist als die antimikrobielle Aktivität der Ersten in der Literatur untersuchten Spezies.<sup>229</sup> So beträgt der für  $C_8\text{-N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$   $MIC_{S. aureus} = 954 \mu\text{g/mL}$  und erreicht erst mit  $C_{12}\text{-N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$  ( $MIC_{S. aureus} = 7.9 \mu\text{g/mL}$ ) das Niveau der vergleichbaren  $C_{12}\text{-(PBI)}_6\text{-}C_{12}$  Spezies ( $MIC_{S. aureus} = 9.8 \mu\text{g/mL}$ ). Die Aktivitäten mit  $MIC_{E. coli} = 0.7\text{-}1.2 \mu\text{g/mL}$  und  $MIC_{S. aureus} = 0.6\text{-}1.3 \mu\text{g/mL}$  für niedermolekulare beidseitig Dodecyl-terminierte, biquartäre Ammoniumverbindungen, mit 2 bzw. 5  $\text{CH}_2$  Gruppen zwischen den quartären Ammoniumfunktionen (12-2-12 und 12-5-12), werden jedoch nicht erreicht.<sup>114, 230, 232</sup>

Ergänzend ermöglicht die Variation der Alkyl-Endgruppen das Design hochaktiver Biozide mit einstellbarer Selektivität für die Abtötung von Mikroorganismen. Die  $C_{12}\text{-(PBI)}_6\text{-}C_{12}$  Spezies stellt mit MIC-Werten von  $10\text{-}20 \mu\text{g/mL}$  für *E. coli*, *S. aureus* und *S. mutans* ein niedermolekulares Breitband-Biozid dar. Dagegen kann  $C_4\text{-(PBI)}_6\text{-}C_4$  ( $MIC_{E. coli} = >5000 \mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. aureus} = 310 \mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. mutans} = 20 \mu\text{g/mL}$ ) selektiv gegen *S. mutans* in zahnärztlichen Anwendungen verwendet werden. Zudem ist  $C_8\text{-(PBI)}_6\text{-}C_8$  ( $MIC_{E. coli} = 310 \mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. aureus} = 20 \mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{S. mutans} = 5 \mu\text{g/mL}$ ) ein nicht hämolytisch aktives Biozid, welches selektiv gegen die Gram-positiven Bakterienstämme *S. mutans* und *S. aureus* wirkt.

Die Betrachtung der hämolytischen Aktivität in **Abbildung 19b** zeigt, dass diese für  $C_x\text{-(PBI)}_6\text{-}C_x$  Spezies bemerkenswert niedrig ist. Die mit Butyl-, Hexyl- und Octyl-Endgruppen terminierten Spezies besitzen einen  $\text{HC}_{50}$ -Wert von über  $40000 \mu\text{g/mL}$  und die Spezies mit Decyl- und Dodecyl-Endgruppen,  $\text{HC}_{50}$ -Werte von  $16000$  und  $20500 \mu\text{g/mL}$ . Die geringfügige hämolytische Aktivität, trotz der beidseitigen Dodecyl-Endgruppen, bestätigt die These, welche bereits für die  $C_{12}$ -PBI Spezies gemacht wurde, dass das PBI-Rückgrat zur Entgiftung der Dodecyl-Endgruppen genutzt werden kann und dennoch eine sehr gute antimikrobielle Aktivität vorhanden ist. Nur das  $C_{16}\text{-(PBI)}_6\text{-}C_{16}$  stellt mit einem  $\text{HC}_{50}$ -Wert von  $1300 \mu\text{g/mL}$  ein hämolytisch aktives Derivat dar. Literatur bekannte

niedermolekulare beidseitig Dodecyl-terminierte, biquartäre Ammoniumverbindungen (12-2-12 und 12-5-12) sind dagegen mit  $HC_{20} = 4,9-5,3 \mu\text{g/mL}$  hämolytisch besonders aktiv.<sup>114</sup>

Die Selektivitäten der  $C_x\text{-(PBI)}_6\text{-C}_x$  Spezies übersteigen die der niedermolekularen quartären Ammoniumverbindungen, wie z.B. DTAC, mono- und bi-quartäre Ammoniumsalze, bei weitem.<sup>114, 233-234</sup> Besonders bemerkenswert ist die hohe Selektivität von  $C_{12}\text{-(PBI)}_6\text{-C}_{12}$  für *E. coli* von 1025, welche 5-mal höher als die Beste der  $C_{12}$ -PBI Spezies ist.

#### 4.1.1.2.4 Vergleich der verschiedenen 3,4en-Ionene auf Basis der biologischen Charakterisierung

Durch die sequentiellen Synthesen wurden Oligomere und Polymere PBI-Spezies mit engen Molekulargewichtsverteilungen, Molekulargewichten bis zu 5000 g/mol und verschiedenen definierten Endgruppen (Brom, Amin, Alkylgruppen) dargestellt. Die synthetisierten PBI-Spezies  $\text{Br-(PBI)}_n\text{-Br}$ ,  $\text{Am-(PBI)}_n\text{-Am}$ ,  $C_{12}\text{-(PBI)}_n\text{-Br/Am}$  und  $C_x\text{-(PBI)}_6\text{-C}_x$  wurden hinsichtlich ihrer antimikrobiellen Aktivität gegen die Bakterienstämme *E. coli*, *S. aureus* und *S. mutans* sowie bezüglich der Hämokompatibilität gegenüber roten Schweineblutzellen untersucht. Die  $\text{Br-(PBI)}_n\text{-Br}$  und  $\text{Am-(PBI)}_n\text{-Am}$  Spezies besitzen eine steigende antimikrobielle Aktivität mit steigendem Molekulargewicht, wobei die Aktivität für Brom-terminierte Verbindungen höher ist als für Amin-terminierte. Alle Verbindungen zeigen eine Lyse von  $<1\%$  für Schweineblutzellen bei einer Konzentration von  $40000 \mu\text{g/mL}$ , d.h. sie sind nicht hämolytisch aktiv. Die genannten Einflüsse/Faktoren können genutzt werden um nicht-hämolytisch aktive Biozide mit einer Mikroorganismus-spezifischen oder Breitband Aktivität zu generieren.

Der Blick in die Literatur, bezüglich der Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität vom Molekulargewicht kann am Beispiel anderer hydrophiler Polykationen gefestigt werden, wie die folgenden Beispiele zeigen. Einen Anstieg der antimikrobiellen Aktivität mit steigendem Molekulargewicht konnte Ikeda et. al. zwischen niedermolekularen ( $M < 1000 \text{ g/mol}$ ;  $\text{MIC}_{E. coli} = >1000 \mu\text{g/mL}$ ,  $\text{MIC}_{S. aureus} = >1000 \mu\text{g/mL}$ ) und polymeren ( $\text{MIC}_{E. coli} = 66-100 \mu\text{g/mL}$ ,  $\text{MIC}_{S. aureus} = 10-33 \mu\text{g/mL}$ ) 6,6-Ionen nachweisen.<sup>10</sup> Dementsprechend ist eine bessere antimikrobielle Aktivität gegen Gram-positive als gegen Gram-negative Bakterienstämme vorhanden. Ebenso weist Timofeeva et. al. für hochmolekulare sekundäre Polydiallylammoniumsalze ( $M_w = 24-62 \text{ kDa}$ ;  $\text{MIC}_{E. coli} = 125-15 \mu\text{g/mL}$ ,  $\text{MIC}_{S. aureus} = 31-1.5 \mu\text{g/mL}$ ) einen Anstieg der antimikrobiellen Aktivität mit steigendem Molekulargewicht nach.<sup>235</sup>

Im Gegensatz dazu besitzen amphiphile Polykationen keinen solchen Trend, wie die hydrophilen Polykationen. Keine Abhängigkeit der antimikrobiellen und hämolytischen Aktivität vom Molekulargewicht ist dagegen, bei von Engler et. al. untersuchten Polycarbonat-Copolymeren ( $M_n = 4000-18000 \text{ g/mol}$ ) mit quartären Ammoniumfunktionen in den Seitengruppen, vorhanden.<sup>236</sup> Kuroda und GeGrado präsentieren für amphiphile Polymethylmethacrylat-Derivate ( $M = 1300-10100 \text{ g/mol}$ ) eine Steigerung der antimikrobiellen Aktivität, Hämokompatibilität sowie Selektivität mit sinkendem Molekulargewicht.<sup>237</sup> Lienkamp et. al. zeigt für amphiphile Polymere, dass es keinen direkten Zusammenhang zwischen der antimikrobiellen/hämolytischen Aktivität und dem



Molekulargewicht gibt, sondern dass sich je nach Polymerspezies und biologischer Spezies, Optima ergeben.<sup>238</sup> Diese erreichen eine Selektivität von  $>533$  ( $HC_{50} = >2000 \mu\text{g/mL}$ ,  $MIC_{90} = <3.75 \mu\text{g/mL}$ ) für *S. aureus* und RBC. Eren, welcher mit quartären Pyridinium funktionalisierte Polynorborene untersuchte, zeigt keinen Einfluss des Molekulargewichts (3 kDa und 10 kDa) auf die antimikrobielle Aktivität von *E. coli* und *B. subtilis*.<sup>81</sup> Dabei ist im Allgemeinen die hämolytische Aktivität für die Polymere mit 3 kDa, gegenüber 10 kDa, erhöht. Analoge Ergebnisse stellte auch Ilker et. al. Polynorboren-Derivate mit Molekulargewichten von  $\sim 1600$ - $14000 \text{ g/mol}$  fest.<sup>70</sup> Einzig und allein Kuroda et. al. ermittelte, für Polymethacrylat-Homopolymere mit Aminoethyl-Seitenketten, eine Steigerung der antimikrobiellen Aktivität gegen *E. coli* von  $\sim 500 \mu\text{M}$  ( $\sim 1600 \text{ g/mol}$ ) bis auf  $40 \mu\text{M}$  ( $\sim 6000 \text{ g/mol}$ ), wobei die hämolytische Aktivität gegen RBC steigt (bester Wert des  $HC_{50} = \sim 100 \mu\text{g/mL}$ , bzw. der Selektivität  $= \sim 10$ ).<sup>239</sup>

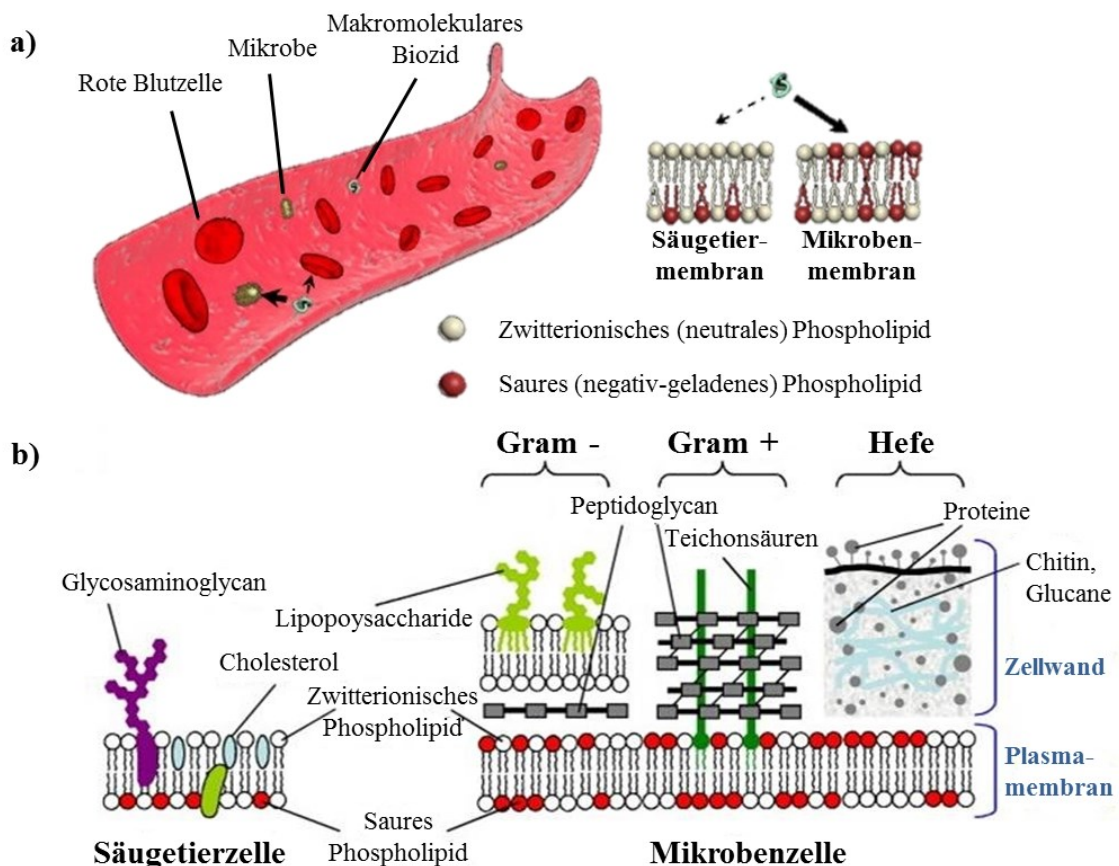
Des Weiteren kann in dieser Arbeit an Hand der  $C_{12}$ -PBI Spezies gezeigt werden, dass das PBI-Rückgrat zur Entgiftung antimikrobieller Monomere wie DTAC genutzt werden kann, ohne dabei an antimikrobieller Aktivität zu verlieren. Die Endgruppen-Modifizierung von PBI mit verschiedenen Alkyl-Endgruppen bietet ebenfalls eine Art Baukasten, um antimikrobielle Makromoleküle mit einer spezifischen oder breiten Aktivität gegenüber Mikroorganismen herzustellen, und dabei auch gezielt Einfluss auf die Hämokompatibilität nehmen zu können.

Eine Übersicht der besten Selektivitäten der verschiedenen PBI-Spezies, im Vergleich mit hohen Selektivitäten in der Literatur, zeigt **Tabelle 6**. Für *E. coli* besitzt die  $C_{12}$ -(PBI)<sub>6</sub>- $C_{12}$  ( $S_{E. coli} = 1025$ ) Spezies eine mehr als 7-fach höhere Selektivität als alle anderen sequentiellen PBI-Spezies, sowie eine 4-fach höhere als literaturbekannte Biozide Polymere. Diese übertrifft sogar die des hochmolekularen PBI<sub>n</sub>. Bezüglich *S. aureus* erzielte  $C_8$ -(PBI)<sub>6</sub>- $C_8$  ( $S_{S. aureus} = >2000$ ) die höchste Selektivität, welche etwa doppelt so hoch ist wie die von PBI<sub>n</sub> und der Literatur ( $S = >1250$ <sup>113</sup>). Zudem weisen auch die  $C_{12}$ -(PBI)<sub>6</sub>- $C_{12}$ ,  $C_{12}$ -(PBI)<sub>n</sub>-Br und das nicht-hämolytisch aktive Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br exzellente Selektivitäten ( $S_{S. aureus} = >513$  - $1025$ ) auf. Abschließend übertrifft die Selektivität für *S. mutans* von  $C_8$ -(PBI)<sub>6</sub>- $C_8$  ( $S_{S. mutans} = >8000$ ), um das 4-fache den Wert für PBI<sub>n</sub> und um das 60-fache den der Literatur ( $S_{S. mutans} = 128$ <sup>240</sup>). Insgesamt weisen die sequentiell, synthetisierten PBI-Spezies, vor allem die Alkylgruppen-terminierten Spezies, ähnlich exzellente oder bessere Selektivitäten auf, wie das hochmolekulare PBI<sub>n</sub>. Damit übersteigen sie auch besonders hohe Literaturwerte biozider Polymere (siehe **Tabelle 6**).

**Tabelle 6: Auswahl der besten Selektivitäten der verschiedenen PBI-Spezies im Vergleich zu besonders hohen Selektivitäten verschiedener Bakterienstämme.**

Polymer-Spezies	S <sup>a)</sup> ( <i>E. coli</i> )	S <sup>a)</sup> ( <i>S. aureus</i> )	S <sup>a)</sup> ( <i>S. mutans</i> )
Am-(PBI) <sub>n</sub> -Am	>8	>129	>513
Br-(PBI) <sub>n</sub> -Br	>63	>513	>513
C <sub>12</sub> -(PBI) <sub>n</sub> -Am	197	385	3850
C <sub>12</sub> -(PBI) <sub>n</sub> -Br	128	1000	1000
C <sub>8</sub> -(PBI) <sub>6</sub> -C <sub>8</sub>	>129	>2000	>8000
C <sub>12</sub> -(PBI) <sub>6</sub> -C <sub>12</sub>	1025	1025	2050
PBI <sub>n</sub> <sup>17</sup>	>1000	>1000	>2000
Literaturwerte Biozider Polymere	>54 <sup>96</sup> , 114 <sup>68</sup> , 250 <sup>85</sup>	283 <sup>68</sup> , 440 <sup>95</sup> , >533 <sup>238</sup> , >1250 <sup>113</sup>	30 <sup>58</sup> , 128 <sup>240</sup>

<sup>a)</sup> Die Selektivität S wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet.



**Abbildung 20: Zellhüllstruktur und deren Einfluss auf die antimikrobielle Selektivität.** a) Unterschied in der Plasmamembranzusammensetzung zwischen Säugetieren und mikrobiellen Zellen, die die Selektivität von membranaktiven antimikrobiellen Molekülen gewährleisten. b) Querschnittsdiagramm der wesentlichen Unterschiede zwischen der Zellhülle von Säugetierzellen und verschiedenen mikrobiellen Zelltypen. Schema des Aufbaus der Zellhüllen von Bakterien und Säugetierzellen. Reproduziert von Engler et. al.<sup>30</sup>

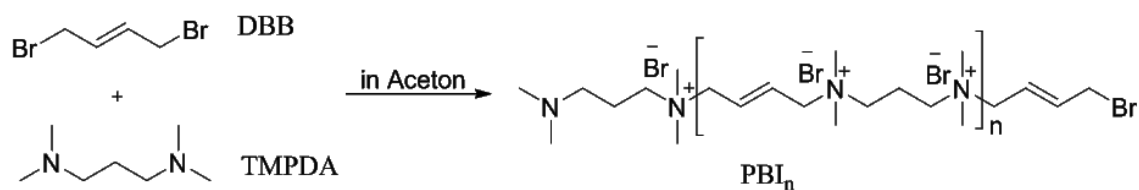
Die Ergebnisse der sequentiellen PBI-Spezies bestätigen in den meisten Fällen die extrem hohe Selektivität gegenüber Säugetierzellen; im Gegensatz zu Bakterienzellen, wie sie auch das hochmolekulare PBI<sub>n</sub> zeigt. Das Verhalten von hydrophilen Polykationen unterscheidet sich im Vergleich zu amphiphilen Polymeren deutlich, wie auch die vorherige Gegenüberstellung zur Abhängigkeit der biologischen Aktivität zum Molekulargewicht und die drastisch erhöhten Selektivitäten zeigen. Damit wird weiterhin der von Ikeda et. al.<sup>18</sup> vorgeschlagene Wirkmechanismus zur Membranzerstörung dieser Makromoleküle in Frage gestellt. Eine mögliche Variante für die antimikrobielle Aktivität dieser hydrophilen Polykationen stellt deren Komplexierung mit polymeren Anionen in den bakteriellen Zellwänden, wie den Teichonsäuren bei Gram-positiven und den Lipopolysacchariden bei Gram-negativen Zellen, dar. Dies würde zur Schwächung der Zellwände führen und diese zerstören. Säugetierzellen besitzen keine solch stabilisierenden Polyanionen (siehe *Abbildung 20*) und werden daher nicht durch die Polymere beeinflusst.

#### 4.1.2 Synthese, Modifizierung und Charakterisierung von 3,4en-Iononen aus Polyaddition

Ziel der in diesem Abschnitt vorgestellten Versuche war die Synthese von Iononen, zur Verwendung in Netzwerken, durch Polyaddition, deren Modifizierung und Charakterisierung. Im Fokus der Forschung steht dabei das Poly[(((dimethylimino)-propan-1,3-)((dimethyliminio)-2-buten-1,4-)diyl)dibromid] (3,4en-Ionen = PBI<sub>n</sub>), welches durch die Reaktion von *trans*-1,4-Dibrombuten (DBB) und *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,3-propandiamin (TMPDA) aufgebaut wird. Als Vorbild dienten die Arbeiten von F. Kracke<sup>16</sup> und J. Küpper<sup>111</sup>. Zunächst erfolgten Untersuchungen bezüglich verschiedener Reaktionsbedingungen (Temperatur, Reaktionszeit, Monomerverhältnis, Ansatzgröße) für die Synthese in Aceton, um gezielt PBI<sub>n</sub> mit verschiedenen Molekulargewichten und größere Mengen herzustellen. Anschließend wurden ausgewählte PBI<sub>n</sub> mit Brom- (Br-PBI<sub>n</sub>-Br) und Methacrylamid- (MAA-PBI<sub>n</sub>-MAA) Endgruppen modifiziert, um diese später in Netzwerke einbinden zu können. Für ausgewählte Br-PBI<sub>n</sub>-Br und MAA-PBI<sub>n</sub>-MAA Polymere, welche zur Herstellung von Netzwerken verwendet wurden, erfolgte eine umfassende Charakterisierung mittels der gängigen chemischen Analysemethoden und bezüglich der antimikrobiellen Eigenschaften. Dabei wurden Teile der Ergebnisse dieses Abschnittes in Zusammenarbeit mit Johanna Petranowitsch im Rahmen ihrer Masterarbeit<sup>241</sup> und mit Florian Pätzold im Rahmen seines Wahlpflichtpraktikums<sup>242</sup> erarbeitet.

##### 4.1.2.1 Synthese von 3,4en-Ionone in Aceton

Auf Basis der Vorarbeiten zu Iononen am Lehrstuhl für Biomaterialien und Polymerwissenschaften wurde Aceton für die Synthese der Polymere durch Polyaddition, in Form der Menshutkin<sup>243-244</sup> Reaktion, ausgewählt. Aceton bietet dabei durch seinen niedrigen Siedepunkt und hohe Flüchtigkeit die Möglichkeit zur schnellen, leichten und restlosen Entfernung des Lösungsmittels nach der Reaktion. Besonders in Hinblick auf medizinische Anwendungen ist die Entfernung des Lösungsmittels ein wichtiger Faktor.



**Abbildung 21:** Allgemeines Reaktionsschema der Polyaddition von TMPDA und DBB zu PBI<sub>n</sub>.

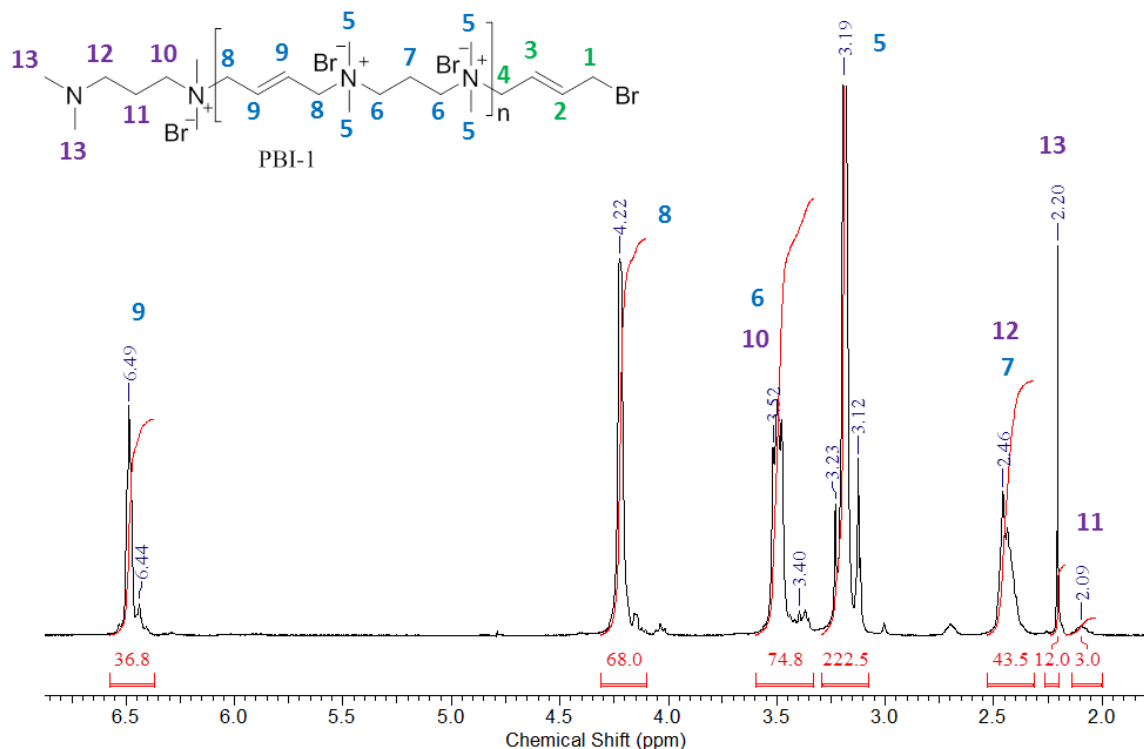
Auf Basis der Polyaddition von TMPDA und DBB in Aceton (siehe **Abbildung 21**) sollte eine Methode zur einfachen Herstellung, auch größerer Mengen, entwickelt werden, um diese später zur Herstellung und Einarbeitung in Netzwerke zu verwenden. Das Molekulargewicht sollte zwischen ~1000 - 15000 g/mol eingestellt werden können. Dafür wurden im Folgenden die Synthesebedingungen variiert und eine Reihe verschiedener PBI<sub>n</sub> (siehe **Tabelle 7**) hergestellt.

**Tabelle 7. Durch Polyaddition synthetisierte PBI<sub>n</sub> unter Angabe der Synthesebedingungen und dem aus <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum ermittelten Molekulargewicht (M<sub>n,NMR</sub>).**

Polymer	End- gruppe	n <sub>TMPDA</sub> /n <sub>DBB</sub>	m <sub>TMPDA+DBB</sub> [g]	Reaktions- bedingungen <sup>a)</sup>	M <sub>n,NMR</sub> <sup>b)</sup> [g/mol]
PBI <sub>n</sub> -1	Amin	1.00	4.83	24 h, 55 °C	6100
PBI <sub>n</sub> -2	Amin	1.00	21.38	24 h, 20 °C	8900
PBI <sub>n</sub> -3	Amin	0.95	21.38	24 h, 20 °C	14000
PBI <sub>n</sub> -4	Amin	0.95	117.75	24 h, 20 °C	7400
PBI <sub>n</sub> -5	Amin	0.96	118.39	24 h, 20 °C	7000
PBI <sub>n</sub> -6	Amin	0.97	24.27	2 h, 20 °C	3800
PBI <sub>n</sub> -7	Amin	1.01	24.60	2 h, 20 °C	3300
PBI <sub>n</sub> -8	Amin	1.01	24.60	2 h, 20 °C	3600
PBI <sub>n</sub> -9	Amin	1.62	6.04	2 h, 20 °C	1300

a) Die Monomerlösungen wurden vor der Reaktion jeweils auf 0 °C abgekühlt, schnellst möglich unter starken Rühren zusammen gegeben und dann wurde die Synthese unter den genannten Reaktionsbedingungen weiter geführt; b) Das mittlere Molekulargewicht (M<sub>n,NMR</sub>) wurde aus den Integralen der CH<sub>3</sub> Gruppen der quartären Ammoniumgruppe bei δ = 3.12-3.27 ppm, nach Normierung auf das Endgruppensignal, im <sup>1</sup>H NMR Spektrum (Abbildung 22 sowie Abbildung 95 bis Abbildung 102; Seite 195 ff.) mit einer Standardabweichung unter 5%, berechnet.

Am Beispiel von PBI-1 in **Abbildung 22** soll an dieser Stelle repräsentativ gezeigt werden, dass in allen Fällen Polymere mit Amin- (TMPDA) Endgruppen gebildet wurden (weitere Spektren siehe **Abbildung 95** bis **Abbildung 102** im Anhang; Seite 195 ff.).



**Abbildung 22: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von PBI-1 in D<sub>2</sub>O.**

Mit TMPDA terminierte PBI<sub>n</sub> sind gut an den Signalen der Methyl-Gruppen (Signal 13, δ = 2.20 ppm), am tertiären Stickstoff und der zentralen CH<sub>2</sub>-Gruppe im TMPDA-

Terminus (Signal 11,  $\delta = 2.09$ ) in **Abbildung 22**, zu erkennen. Die Signale 10 ( $\delta = 3.50$  ppm) und 12 ( $\delta = 2.46$  ppm) überlagern mit den Signalen 7 und 8 des PBI-Rückgrats. Dem PBI-Rückgrat lassen sich die charakteristischen Signale 5 ( $\delta = 3.12-3.23$  ppm), 6 ( $\delta = 3.50$  ppm), 7 ( $\delta = 2.46$  ppm), 8 ( $\delta = 4.22$  ppm) und 9 ( $\delta = 6.44-6.49$  ppm) zuordnen. Signifikante Hinweise auf Signale einer DBB-Terminierung (Protonen 1-4), sind nicht zu identifizieren. Die in diesem Abschnitt angegebenen Molekulargewichte wurden aus dem Endgruppen- zu Polymerrückgrat-Verhältnis (Signal 13 zu Signal 5) aus den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren berechnet.

Um die von Küpper erwähnte Bildung von Nebenprodukten, welche als Signale bei 5.25-5.81 ppm im  $^1\text{H-NMR}$  erkennbar sind, zu unterbinden, wurde eine Reaktionszeit von  $>24$  h und eine Reaktionstemperatur von  $>55$  °C vermieden.<sup>111</sup> Nach dem Vorbild der Syntheseoptimierung der durch sequentielle Synthese hergestellten PBI, wurden beide Monomere vor der Reaktion auf 0 °C abgekühlt und für eine homogene Durchmischung, ohne lokale Konzentrationsspitzen, schnellst möglich unter starkem Rühren zusammen gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde dann jeweils 1 h bei 0 °C nachgerührt. Anschließend erfolgte die Reaktion unter den in **Tabelle 7** angegebenen Reaktionsbedingungen und die Aufarbeitung unter analogen Bedingungen.

Auf dieser Grundlage erfolgte zunächst die PBI-Synthese für 24 h bei 55 °C mit einem molaren Diamin (TMPDA) zu Dihalogenid (DBB) Verhältnis von 1.00, wodurch ein  $\text{PBI}_n$  mit einer Amin-Endgruppe und einem Molekulargewicht von  $M_{n, \text{NMR}} = 6100$  g/mol erhalten wurde. Im nächsten Schritt sollte der Einfluss der Temperatur, unter gleichzeitiger Erhöhung der Ansatzgröße, auf das Molekulargewicht untersucht werden. Mit 8900 g/mol besaß  $\text{PBI}_n-2$  ein leicht erhöhtes Molekulargewicht, sodass die Erniedrigung der Temperatur statt zu einer Erniedrigung des Molekulargewichts, bedingt durch eine langsamere Reaktionsgeschwindigkeit, sogar zu einer Erhöhung führt. Der, aus der Literatur<sup>226</sup> und den sequentiellen Synthesen, bekannte Abbau durch freies Amin, ist vermutlich durch die geringe Temperatur entsprechend auch geringer ausgeprägt, was die Erklärung für das höhere Molekulargewicht darstellt.

Im nächsten Schritt wurde unter Beibehaltung der Reaktionsbedingungen und Ansatzgröße, ein leichter Überschuss von DBB (TMPDA/DBB-Verhältnis = 0.95) gewählt, um den Einfluss auf die Endgruppenbildung bei der Reaktion zu untersuchen. In dem Spektrum des  $\text{PBI}_n-3$ , kann kein Hinweis auf das Vorhandensein von Brom-Endgruppen entdeckt werden. Das Polymer besitzt Amin-Endgruppen und ein Molekulargewicht von  $M_{n, \text{NMR}} = 14000$  g/mol. Damit ist eine deutliche Erhöhung von  $M_n$  festzustellen, was durch den Überschuss des sehr reaktiven DBB<sup>245</sup> und dem damit verbundenen schnelleren Kettenaufbau, zu erklären wäre.

In zwei weiteren Synthesen sollte der Einfluss eines Scale-up um das 5.5-fache der eingesetzten Monomere, auf das Molekulargewicht untersucht werden. Die erhaltenen Polymere weisen ein Molekulargewicht von 7400 g/mol ( $\text{PBI}_n-4$ ) und 7000 g/mol ( $\text{PBI}_n-5$ ) auf. So führt der 5.5-fache Scale-up zu etwa einer Halbierung des Molekulargewichts. Als Ursache werden bedingt durch das

erhöhte Volumen, eine im Vergleich zu PBI<sub>n</sub>-3, schlechtere Durchmischung und dadurch ein geringeres Kettenwachstum vermutet.

Des Weiteren wurde bei der Synthese von PBI<sub>n</sub>-6, im Vergleich zu PBI<sub>n</sub>-3, die Reaktionszeit um den Faktor 12, auf 2 h, reduziert. Erhaltenen wurde ein Polymer mit einem Molekulargewicht von 3800 g/mol. Als Ursache, für das um den Faktor ~4 geringe Molekulargewicht, ist eindeutig die geringere Reaktionszeit zu nennen. Die verkürzte Reaktionszeit bewirkt einen geringen Umsatz der Polymerisation und damit geringere Molekulargewichte. Die mittels der Carothers-Gleichung aus den Wiederholungseinheiten der Polymere berechneten Umsätze bestätigen diese Vermutung. Das PBI<sub>n</sub>-6 besitzt mit 91% einen geringen Umsatz als das PBI<sub>n</sub>-3 mit 98%.

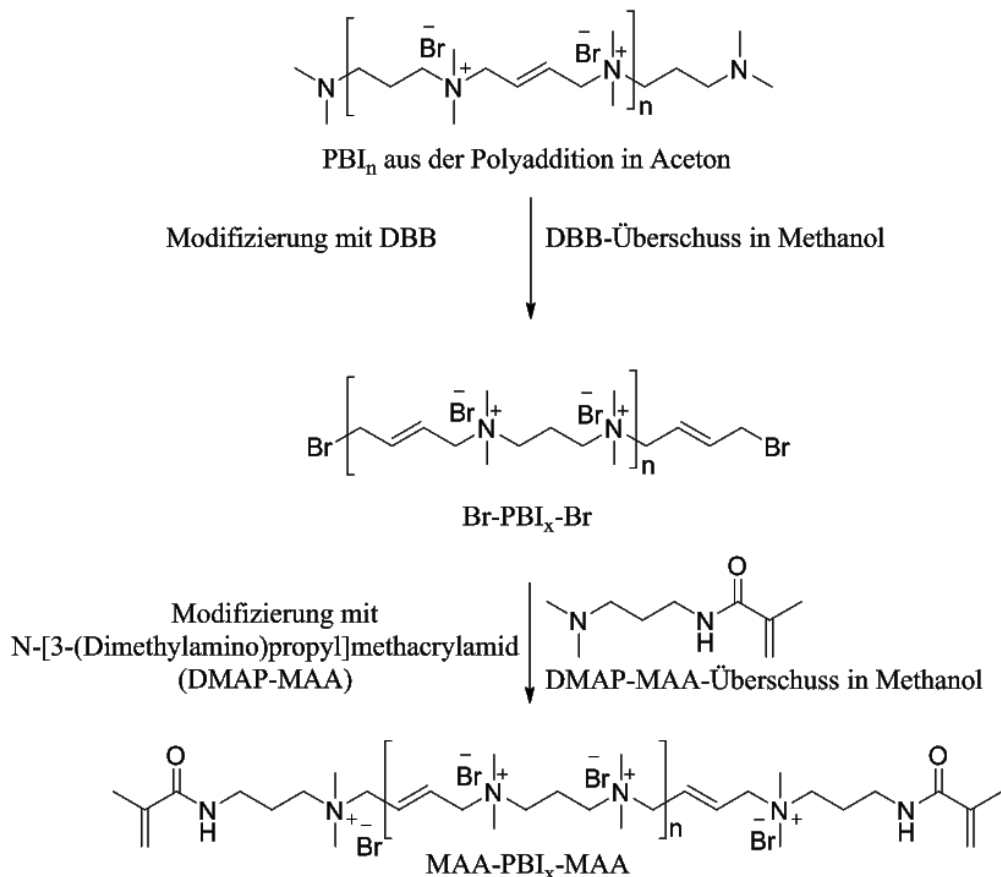
Die Synthesen von PBI<sub>n</sub>-7 und PBI<sub>n</sub>-8 mit einem leicht veränderten Diamin-Dihalogenid-Verhältnis von 1.01, bei einer erneuten Reaktionszeit von 2 h bei 20 °C, lieferten Polymere mit Molekulargewichten von 3300 g/mol (PBI<sub>n</sub>-7) und 3600 g/mol (PBI<sub>n</sub>-8). So ist kein signifikanter Einfluss bei der kurzen Reaktionszeit von 2 h, durch das Diamin-Dihalogenid-Verhältnis festzustellen. Um noch kürzere Polymere zu synthetisieren, wurde bei der Herstellung von PBI<sub>n</sub>-9, das molare Diamin-Dihalogenid-Verhältnis auf 1.62 geändert. Das synthetisierte Polymer weist ein Molekulargewicht von 1300 g/mol auf. Das geringere Molekulargewicht wurde durch den erhöhten Anteil an Diamin verursacht, welcher zu vermehrten Kettenabbaureaktionen führt. Der Überschuss eines Monomers bei Polyadditionsreaktionen, bewirkt bekanntermaßen eine Verringerung des Molekulargewichts, im Vergleich zum idealen 1:1 Verhältnis.

Abschließend lässt sich für die Synthese von PBI<sub>n</sub> in Aceton festhalten, dass durch die Variation der Reaktionstemperatur (20 °C, 55 °C), der Reaktionszeit (2 h, 24 h), der Ansatzgröße und des Monomer-Verhältnisses unterschiedliche Molekulargewichte ( $M_n = 1300\text{-}14000$  g/mol) erhalten werden können. Das Zusammenspiel der Reaktionsparameter in Hinblick auf das erhaltene Molekulargewicht des synthetisierten PBI<sub>n</sub>, ist komplex. Ein Einfluss der gewählten Reaktionsbedingungen auf die Endgruppen der PBI<sub>n</sub> kann jedoch nicht festgestellt werden, da alle erhaltenen PBI<sub>n</sub> Amin-Endgruppen aufweisen.

### 4.1.2.2 Modifizierung der Endgruppen von 3,4en-Iononen

Ziel der in diesem Abschnitt präsentierten Synthesen war die gezielte Endgruppen-Modifizierung, der durch Polyaddition in Aceton hergestellten Polymere (*Abschnitt 4.1.2.1*) für die spätere, feste Einbindung der antimikrobiellen PBI<sub>n</sub> in Polymernetzwerke. Es sollten jeweils modifizierte PBI<sub>n</sub> mit unterschiedlichen Molekulargewichten hergestellt werden. Die Modifizierung sollte dazu mit DBB für Brom-Endgruppen (Br-PBI<sub>x</sub>-Br) ausgehend von mit Amin-terminierten PBI<sub>n</sub> erfolgen. Basierend auf Br-PBI<sub>x</sub>-Br sollten diese, durch die Reaktion mit DMAP-MAA (N-[3-(Dimethylamino)propyl]methacrylamid, mit Methacrylamid-Endgruppen (MAA-PBI<sub>x</sub>-MAA) modifiziert werden (siehe *Abbildung 23*). Der Index X am PBI, kennzeichnet im Folgenden, dass nach der Modifizierung aus dem <sup>1</sup>H-NMR ermittelte mittlere Molekulargewicht des Polymers. Als Lösungsmittel für die Endgruppen-Modifizierungen wurde Methanol ausgewählt, da es neben Wasser

als einziges untersuchtes Lösungsmittel, eine gute Löslichkeit für  $\text{PBI}_n$  zeigte. Um zweiphasige Reaktionsgemische zu vermeiden, wurde Wasser als Lösungsmittel ausgeschlossen.



**Abbildung 23:** Reaktionsschema der Endgruppen-Modifizierung von  $\text{PBI}_n$  mit DBB sowie in einem weiteren Schritt die Endgruppenmodifizierung mit N-[3-(Dimethylamino)propyl]methacrylamid (DMAP-MAA)

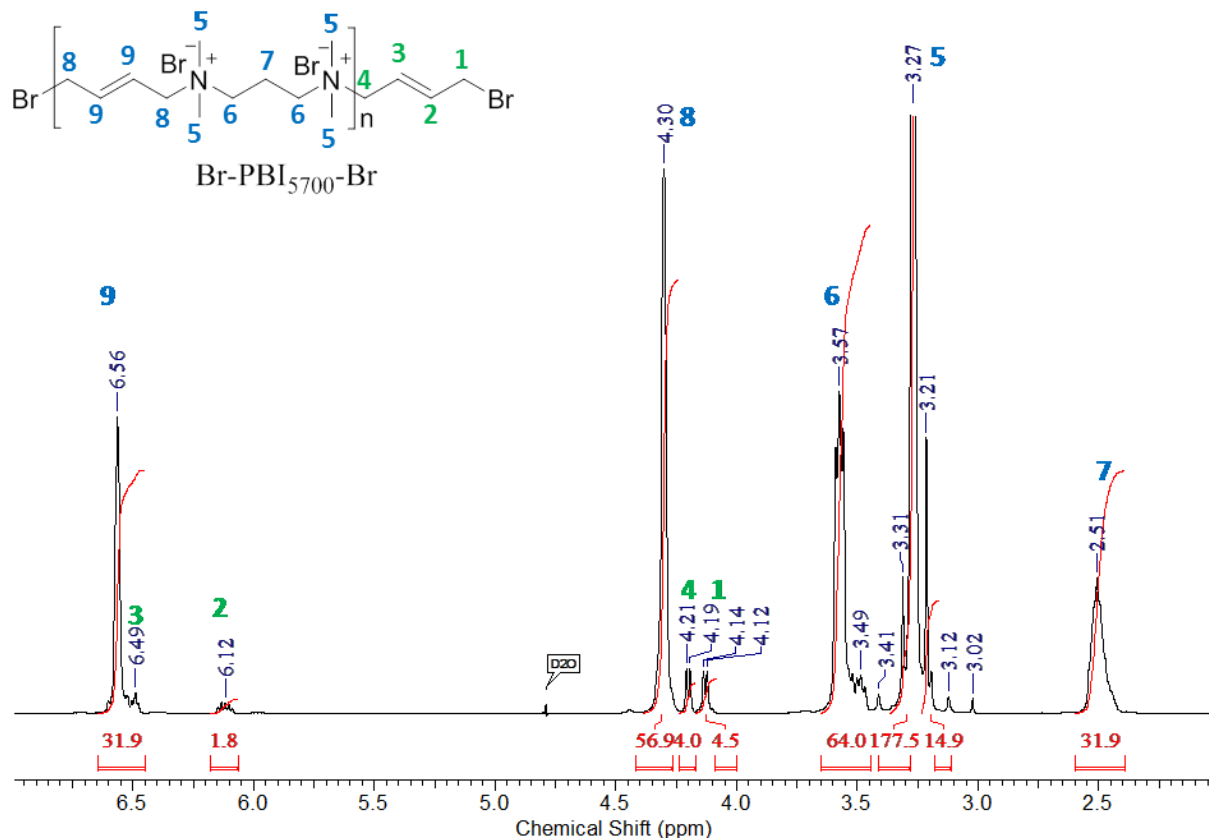
**Tabelle 8:** Übersicht von mit DBB Endgruppen-modifizierten  $\text{PBI}_n$  und der aus dem  $^1\text{H-NMR}$  ermittelten mittleren Molekulargewichte ( $M_{n,NMR}$ ).

Polymer	$M_{n,NMR}$ <sup>a)</sup> [g/mol]	Edukt-Polymer ( $M_{n,NMR}$ [g/mol])	$M_n$ -Änderung bei Modifizierung <sup>b)</sup> [%]
Br- $\text{PBI}_{3100}$ -Br	3100	$\text{PBI}_n$ -9 (1300)	+138
Br- $\text{PBI}_{7000}$ -Br	7000	$\text{PBI}_n$ -6 (3800)	+84%
Br- $\text{PBI}_{5700}$ -Br	5700	$\text{PBI}_n$ -7 + $\text{PBI}_n$ -8 (~3400)	+68
Br- $\text{PBI}_{8100}$ -Br	8100	$\text{PBI}_n$ -1 (6100)	+33
Br- $\text{PBI}_{8600}$ -Br	8600	$\text{PBI}_n$ -5 (7000)	+26
Br- $\text{PBI}_{9200}$ -Br	9200	$\text{PBI}_n$ -4 (7400)	+24
Br- $\text{PBI}_{13800}$ -Br	13800	$\text{PBI}_n$ -3 (14000)	-1
Br- $\text{PBI}_{5500}$ -Br	5500	( $\text{PBI}_n$ -10)	-
Br- $\text{PBI}_{8000}$ -Br	8000	( $\text{PBI}_n$ -11)	-

a) Das mittlere Molekulargewicht ( $M_{n,NMR}$ ) wurden aus den Integralen der  $\text{CH}_3$  Gruppen der quartären Ammoniumgruppe bei  $\delta = 3.12\text{-}3.27$  ppm, nach Normierung auf das Endgruppensignal, im  $^1\text{H NMR}$  Spektrum (Abbildung 24 sowie Abbildung 103 bis Abbildung 110; Seite 199 ff.) mit einer Standardabweichung unter 5%, berechnet. b) Die  $M_n$ -Änderung wurde aus „Br- $\text{PBI}_n$ -Br /  $\text{PBI}_{\text{Edukt}}$ “ berechnet.



Für die Endgruppen-Modifizierung mit DBB, wurden ausgewählte aus der Polyaddition in Aceton erhaltene  $\text{PBI}_n$  verwendet (siehe **Tabelle 8**). Dazu wurden diese direkt mit einem mindestens 6-molaren Überschuss an DBB umgesetzt. Des Weiteren wurden mit DBB-modifizierte  $\text{PBI}_n$ , direkt ohne komplette Aufarbeitung des Amin-terminierten  $\text{PBI}_n$ , hergestellt (PBI-10 und PBI-11).



**Abbildung 24:** Typisches  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der beidseitig mit DBB modifizierten  $\text{PBI}_n$ -Polymere in  $\text{D}_2\text{O}$  gemessen, am Beispiel von  $\text{Br-PBI}_{5700}\text{-Br}$ .

Die erfolgreiche Modifizierung wird über das komplette Verschwinden der typischen TMPDA-Endgruppen-Signale und Neubildung der für eine DBB-Endgruppen typischen Signale 1 ( $\delta = 4.13$  ppm), 2 ( $\delta = 6.12$  ppm), 3 ( $\delta = 6.49$  ppm) und 4 ( $\delta = 4.20$  ppm) im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (siehe **Abbildung 24**) nachgewiesen. Die angegebenen Molekulargewichte wurden aus dem Endgruppen (Signal 4) zu Polymerrückgrat (Signal 5) Verhältnis aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren ermittelt. Keines der Spektren besaß Hinweise auf Signale von Amin-terminierten  $\text{PBI}_n$ , sodass von einer vollständigen Modifizierung der  $\text{PBI}_n$  mit Brom-Endgruppen ausgegangen wird.

Die Betrachtung der Molekulargewichte der  $\text{PBI}_n$ , vor und nach der Modifizierung mit DBB, zeigt in fast allen Fällen einen Zuwachs des Molekulargewichts. Die Ausnahme bildet das  $\text{PBI}_n\text{-3}$  ( $\text{Br-PBI}_{13800}\text{-Br}$ ). Je kleiner das  $\text{PBI}_n$  vor der Modifizierung war, desto größer war der Zuwachs des Molekulargewichts im Laufe der PBI-Modifizierung. So weist das  $\text{PBI}_n\text{-9}$  ( $\text{Br-PBI}_{3100}\text{-Br}$ ) einen Zuwachs von 138% und das  $\text{PBI}_n\text{-4}$  ( $\text{Br-PBI}_{9200}\text{-Br}$ ) einen Zuwachs von nur noch 24% auf. Der minimale Abbau von 1% bei  $\text{PBI}_n\text{-3}$  ( $\text{Br-PBI}_{13800}\text{-Br}$ ) weist auf eine Grenze für den Zuwachs des Molekulargewichts durch die DBB-Modifizierung hin. Die Ursache für die Steigerung des

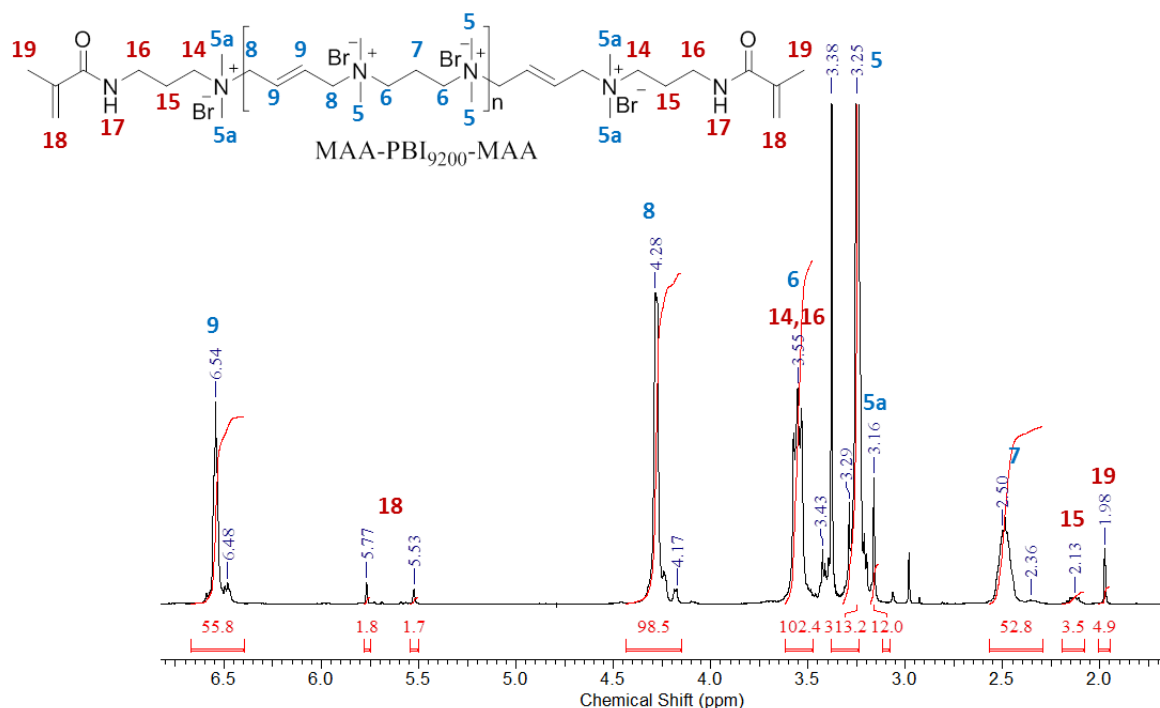
Molekulargewichts sind Verknüpfungen der Amin-terminierten  $\text{PBI}_n$ , durch das DBB. Mit steigendem Molekulargewicht, sinkt die Beweglichkeit und damit die Wahrscheinlichkeit zur Verknüpfung der Ketten. Des Weiteren ist aus den sequentiellen Synthesen, beim Überschuss von TMPDA, eine Stabilitätsgrenze der PBI bekannt. Ein Abbau durch DBB ist jedoch eher unwahrscheinlich, da keine entsprechenden Abbaureaktionen bekannt sind.

Als zweite Modifizierung, sollten  $\text{PBI}_n$  mit Methacrylamid-Endgruppen hergestellt werden. Für eine Modifizierung von  $\text{PBI}_n$  mit Methacrylamid-Endgruppen (MAA- $\text{PBI}_x$ -MAA) wurden ausgewählte Br- $\text{PBI}_x$ -Br (siehe **Tabelle 9**) mit DMAP-MAA im Überschuss in Methanol (siehe **Abbildung 23**), nach dem Vorbild von F. Kracke<sup>16</sup> und J. Küpper<sup>111</sup>, umgesetzt.

**Tabelle 9:** Übersicht von mit DMAP-MAA Endgruppen-modifizierten PBI (MAA- $\text{PBI}_x$ -MAA) und der aus dem  $^1\text{H-NMR}$  ermittelten mittleren Molekulargewichte.

Polymer	$M_{n, \text{NMR}}^{\text{a)}$ [g/mol]	Edukt-Polymer ( $M_{n, \text{NMR}}$ [g/mol])	$M_n$ -Änderung bei Modifizierung $^{\text{b)}$ [%]	Modifizierungsgrad $^{\text{c)}$
MAA- $\text{PBI}_{5700}$ -MAA	5700	Br- $\text{PBI}_{5500}$ -Br	+4%	88%
MAA- $\text{PBI}_{9200}$ -MAA	9200	Br- $\text{PBI}_{8000}$ -Br	+15%	82%

a) Das mittlere Molekulargewicht ( $M_{n, \text{NMR}}$ ) wurden aus den Integralen der  $\text{CH}_3$  Gruppen der quartären Ammoniumgruppe bei  $\delta = 3.12\text{-}3.27$  ppm, nach Normierung auf das Endgruppensignal, im  $^1\text{H NMR}$  Spektrum (Abbildung 25 sowie Abbildung 111; Seite 203) mit einer Standardabweichung unter 5%, berechnet. b) Die  $M_n$ -Änderung wurde aus „(MAA- $\text{PBI}_n$ -MAA / Br- $\text{PBI}_n$ -Br) · 100“ berechnet; c) Der Modifizierungsgrad wurde aus dem Integral der endständigen Methylgruppen (C- $\text{CH}_3$ , Signal 19) im Verhältnis zum Integral der äußeren Methylgruppen am quartären Ammonium ( $\text{N}^+$ - $\text{CH}_3$ , Signal 5a) als Referenz berechnet.



**Abbildung 25:** Typisches  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eines beidseitig mit DMAP-MAA modifizierten PBI-Polymers in  $\text{D}_2\text{O}$  gemessen, am Beispiel von MAA- $\text{PBI}_{9200}$ -MAA.

Das komplette Verschwinden der typischen DBB-Endgruppen-Signale und Neuausbildung der für eine DMAP-MAA-Endgruppen typischen Signale 18 ( $\delta = 5.50-5.74$  ppm) und 19 ( $\delta = 1.95$  ppm), weist auf eine erfolgreiche Endgruppen-Modifizierung hin (siehe **Abbildung 25**). Die Bestimmung des Modifizierungsgrades über das Integral der endständigen Methylgruppen (Signal 19), deutet auf Modifizierungsgrade von 82-88% hin. Eindeutige Signale der DBB-Endgruppen konnten in den Spektren nicht identifiziert werden. Neben den Signalen für das PBI<sub>n</sub>-Rückgrat und der DMAP-MAA Endgruppen, ist ein auffälliges Signal bei 3.35 ppm (s) sichtbar. Dies wurde Methanol zugeordnet und ist auf Lösungsmittelreste zurückzuführen. Die angegebenen Molekulargewichte wurden aus dem Endgruppen-Polymerrückgrat-Verhältnis aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren ermittelt. Die Betrachtung der Molekulargewichte der PBI<sub>n</sub>, vor und nach der Modifizierung mit DMAP-MAA, zeigt einen minimalen Zuwachs des Molekulargewichts (4% bei MAA-PBI<sub>5700</sub>-MAA, 15% bei MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA), welcher im Fehlerbereich der Bestimmungsmethode (~10%) liegt. Dies würde dem vom F. Kracke publizierten Abbau um 18%, von PBI durch DMAP-MAA widersprechen.<sup>16</sup> Schlussendlich konnten erfolgreich unterschiedliche PBI<sub>n</sub> mit DBB und DMAP-Endgruppen modifiziert werden. Es wurden 9 verschieden, große Br-PBI<sub>x</sub>-Br und 2 verschieden große MAA-PBI<sub>x</sub>-MAA Polymere hergestellt.

#### **4.1.2.3 Charakterisierung Endgruppen-modifizierter 3,4en-Ionene für die Verwendung in Netzwerken**

Für die Herstellung von antimikrobiellen Netzwerken wurden insgesamt 8 Endgruppen-funktionalisierte PBI<sub>n</sub> ausgewählt. Drei verschieden große PBI<sub>n</sub> mit beidseitiger DBB-Modifizierung (Br-PBI<sub>5500</sub>-Br, Br-PBI<sub>8000</sub>-Br, Br-PBI<sub>13800</sub>-Br) und zwei verschieden große PBI<sub>n</sub> mit DMAP-MAA Modifizierung (MAA-PBI<sub>5700</sub>-MAA, MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA), für die direkte Einarbeitung der PBI<sub>n</sub> als antimikrobielle Komponente in Acrylat-Netzwerke. Zudem wurden drei weitere verschieden große PBI<sub>n</sub> mit beidseitiger DBB-Modifizierung (Br-PBI<sub>3100</sub>-Br, Br-PBI<sub>5700</sub>-Br, Br-PBI<sub>7000</sub>-Br) für die Herstellung von antimikrobiellen interpenetrierenden Hydrogelen (IPH) ausgewählt. Im Folgenden wurden diese Polymere, zusätzlich zu den <sup>1</sup>H-NMR-Analysen, mittels Lichtstreuung (LS) und Gelpermeationschromatographie (GPC) hinsichtlich ihres Molekulargewichts und ihrer Polydispersität (PDI) untersucht (siehe **Tabelle 10**). Anschließend erfolgte zudem die antimikrobielle sowie hämolytische Charakterisierung der Verbindungen.

**Tabelle 10: Analytisch Daten der synthetisierten der synthetisierten PBI mit beidseitigen Brom (Br-PBI<sub>x</sub>-Br) oder Methacrylamid (MAA-PBI<sub>x</sub>-MAA) Endgruppen.**

Polymer	M <sub>n,NMR</sub> <sup>a)</sup> [g/mol]	M <sub>w,LS</sub> <sup>b)</sup> [g/mol]	M <sub>n,GPC</sub> <sup>c)</sup> [g/mol]	PDI <sub>GPC</sub> <sup>c)</sup>
Br-(PBI <sub>5500</sub> )-Br	5500	4600	10900	1.49
Br-(PBI <sub>8000</sub> )-Br	8000	6600	14400	1.58
Br-(PBI <sub>13800</sub> )-Br	13800	8400	18800	1.63
MAA-(PBI <sub>5700</sub> )-MAA	5700	2700	5400	1.30
MAA-(PBI <sub>9200</sub> )-MAA	9200	5100	10300	1.44
Br-(PBI <sub>3100</sub> )-Br <sup>246</sup>	3100	2400	5500	1.67
Br-(PBI <sub>5700</sub> )-Br <sup>246</sup>	5700	3500	8800	1.87
Br-(PBI <sub>7000</sub> )-Br <sup>246</sup>	7000	4400	8900	1.85

a) Das Molekulargewicht (M<sub>n,NMR</sub>) wurde aus dem Integral der CH<sub>3</sub> Gruppen der quartären Ammoniumgruppe bei  $\delta = 3.13\text{-}3.32$  ppm, nach dem Referenzieren auf das Endgruppensignal, aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren berechnet. b) Das Molekulargewicht (M<sub>w</sub>) wurde aus einem CONTIN fit ermittelt. Der Fehler der Messungen lag bei maximal 6%. c) Das Molekulargewicht (M<sub>n</sub>) und der Polydispersitätsindex (PDI) wurden aus der jeweiligen GPC-Messung bestimmt.

Alle untersuchten Polymere weisen die für Polyadditionsreaktionen typischen Molekulargewichtsverteilungen nahe 2 auf. Die niedrigsten PDI zeigen die DMAP-MAA modifizierten PBI<sub>n</sub>. Die Ursache dafür liegt vermutlich in der zusätzlichen Aufarbeitung, welche zur Verkleinerung des PDI führte, da beim Fällen bevorzugt kleine, gut lösliche Moleküle nicht ausfallen und daher abgetrennt werden. Der Vergleich der M<sub>n</sub>-Werte aus <sup>1</sup>H-NMR und GPC zeigt, dass letztere Werte zu hoch sind. Die abweichenden M<sub>n</sub> aus der GPC können auf die verwendeten Pullulan-Standards, welche für die PC-Kalibrierung verwendet wurden, zurückzuführen werden. Die mittels LS ermittelten Massenmittel des Molekulargewichts (M<sub>w</sub>) weisen für alle untersuchten PBI<sub>n</sub> ein geringeres Molekulargewicht auf, als das M<sub>n</sub> aus dem <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum. Die mit <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie ermittelten Molekulargewichte, gehen bei der Berechnung von einer vollständigen Terminierung der Endgruppen mit DBB aus, da keine weiteren Endgruppensignale identifizierbar sind. Das die mit <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie und Lichtstreuung ermittelten Molekulargewichte nahe beieinander liegen, deutet darauf hin, dass die PBI<sub>n</sub>-Endgruppen tatsächlich mit Brom-Endgruppen modifiziert sind. Somit sollten alle ausgewählten PBI<sub>n</sub> später in den Polymernetzwerken, auch kovalent eingebunden werden können.

Die antimikrobiellen Eigenschaften der PBI<sub>n</sub> wurden mit Hilfe von MIC-Tests analysiert. Alle Polymere wurden gegen die Standard-Bakterienstämme *E. coli* als Gram-negativer Vertreter und *S. aureus* sowie *S. mutans* als Gram-positive Vertreter untersucht. Im Hinblick auf die Nutzung der Polymere Br-PBI<sub>3100</sub>-Br, Br-PBI<sub>5700</sub>-Br und Br-PBI<sub>7000</sub>-Br für IPH im medizinischen Bereich, wurden diese zusätzlich gegen *S. epidermidis* (Gram-positiv) und *P. aeruginosa* (Gram-negative) getestet. Die Ergebnisse der MIC-Tests sind in **Abbildung 26** in Bezug auf das jeweilige Molekulargewicht und Endgruppe der PBI<sub>n</sub> dargestellt (Details siehe **Tabelle 29** im Anhang; Seite 167).

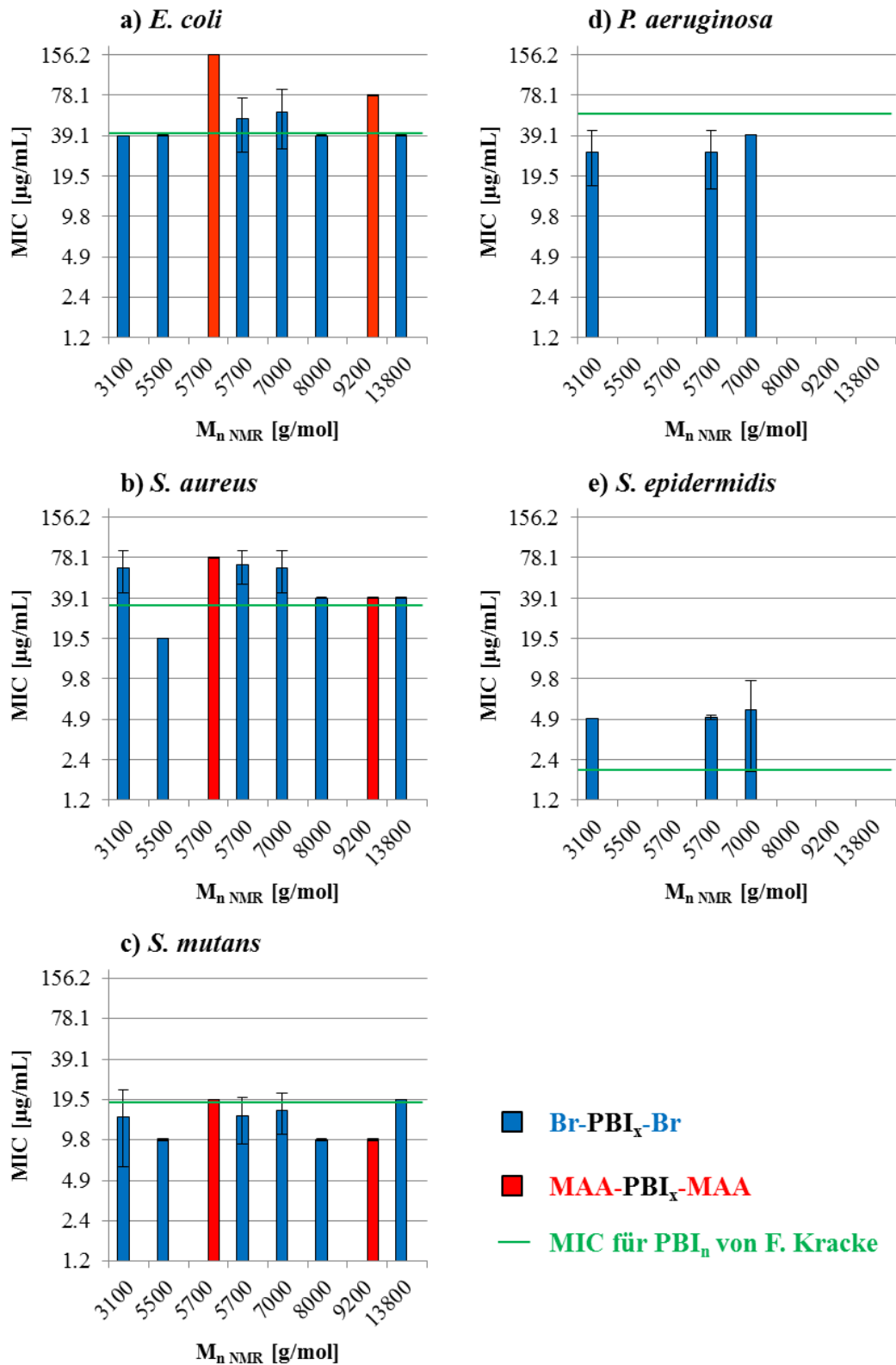


Abbildung 26: Antimikrobielle Aktivität in Form des MIC gegenüber den Bakterienstämmen *E. coli* (a), *S. aureus* (b), *P. aeruginosa* (c), *S. mutans* (d) und *S. epidermidis* (e) der synthetisierten PBI<sub>n</sub> mit beidseitigen Brom (Br-PBI<sub>x</sub>-Br) oder Methacrylamid (MAA-PBI<sub>x</sub>-MAA) Endgruppen. Mit einer grünen Linie sind ist der von F. Kracke<sup>16</sup> ermittelte MIC-Wert für PBI gekennzeichnet. Die Werte wurden mindestens doppelt bestimmt und der Fehler wird in Form der Standardabweichung angegeben.

Die ermittelten MIC-Werte (Konzentration bei der 99 % der bakteriellen Zellen am Wachstum gehindert werden), zeigen im Gegensatz zu den sequentiell synthetisierten PBI<sub>n</sub> keine Abhängigkeit vom Molekulargewicht des Polymers, was auf die teilweise deutlich höheren Molekulargewichte, sowie die breitere Molekulargewichtsverteilung zurückgeführt wird. Des Weiteren zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den MIC-Werten der Brom- und MAA-terminierten PBI. Der Grund dafür liegt vermutlich im steigenden Einfluss des Polymerrückgrats gegenüber der Endgruppe des Polymers, sodass die Endgruppen bei höheren Molekulargewichten keinen merklichen Einfluss mehr auf die antimikrobielle Aktivität besitzen.

Die PBI<sub>n</sub> weisen Aktivitäten mit MIC<sub>*E. coli*</sub> = 39.1- 156.3 µg/mL, MIC<sub>*S. aureus*</sub> = 19.5 - 78.1 µg/mL, MIC<sub>*S. mutans*</sub> = 9.8 - 19.1 µg/mL, MIC<sub>*P. aeruginosa*</sub> = 29.5 - 39.53 µg/mL und MIC<sub>*S. epidermidis*</sub> = 5.3 µg/mL auf. Die Werte liegen nach Fortuniak et. al.<sup>112</sup> im gutem bis exzellenten Bereich für die antimikrobielle Aktivität. Insgesamt liegen die MIC-Werte in fast allen Fällen sehr nahe den von F. Kracke detailliert ermittelten MIC-Werten und sogar darunter.<sup>16</sup>

Im HC<sub>50</sub>-Test wurde die Hämokompatibilität der PBI<sub>n</sub> gegenüber roten Schweineblutzellen bestimmt (siehe **Tabelle 30** im Anhang; Seite 167). Der HC<sub>50</sub>-Wert aller PBI<sub>n</sub> lag bei >40000 µg/mL, bei der die Lyse der roten Blutkörperchen zudem bei <1% lag. So konnten alle PBI<sub>n</sub> als nicht hämolytisch aktiv gegenüber roten Schweineblutzellen eingestuft werden, was auf ein großes Potential der PBI<sub>n</sub> für medizinische Anwendungen hindeutet.

Die berechneten Selektivitäten ( $S = HC_{50}/MIC$ , siehe **Tabelle 30** im Anhang; Seite 167) liegen mit  $S_{E. coli} = >256 - >1403$ ,  $S_{S. aureus} = >512 - >2056$ ,  $S_{S. mutans} = >2051 - >4092$ ,  $S_{P. aeruginosa} = >1318 - >1857$  und  $S_{S. epidermidis} = >9091 - >11186$  im Allgemeinen oberhalb der höchsten Selektivitäten für literaturbekannte biozide Polymere<sup>85, 100, 240</sup> (siehe **Tabelle 1** und **Tabelle 6**; Seite 9 und 46). Gegenüber den Selektivitäten von F. Kracke (siehe **Tabelle 3**; Seite 13) konnten bei den Selektivitäten für *E. coli*, *S. aureus*, *S. mutans* und *P. aeruginosa* sogar noch Steigerungen erzielt werden, welche auf die höheren HC<sub>50</sub>-Werte zurückzuführen sind.

Die antimikrobielle und hämolytische Charakterisierung der PBI<sub>n</sub> für die Einarbeitung in Polymernetzwerke, zeigt für alle Polymere mindestens gute antimikrobielle Aktivitäten und exzellente Hämokompatibilitäten. Diese Polymere sind daher besonders zur Herstellung von antimikrobiellen Netzwerken geeignet.

## 4.2 Antimikrobielle Netzwerke

Nach dem sich **Abschnitt 4.1** mit 3,4en-Iononen (PBI) in Lösung auseinandersetzt, behandelt dieser Abschnitt die Synthese und Charakterisierung antimikrobieller Netzwerke. Das Ziel war es, PBI<sub>n</sub> als antimikrobielle Komponente in Netzwerken kovalent zu binden, um so inhärent, antimikrobielle Netzwerke mit langfristigen, antimikrobiellen Eigenschaften zu erzeugen. Für die Herstellung der PBIs wurde anstatt der sehr aufwändigen sequentiellen Synthese, die Polyaddition (**Abschnitt 4.1.2**) verwendet, da diese deutlich kostengünstiger ist, wenig zeitintensiver ist und die Produktion größerer Mengen an Polymer ermöglicht. Dies ist im Hinblick auf kommerzielle Anwendungen von entscheidendem Wert, und es wurde gezielt ein möglichst geringer PBI-Gehalt in den Netzwerken angestrebt.

Für die Herstellung der antimikrobiellen Netzwerke wurden zwei Strategien verfolgt: die direkte Vernetzung von PBI mit einem Acrylatnetzwerk und die Herstellung eines interpenetrierenden Netzwerkes. Zunächst wird auf die direkte Einbindung von PBI mit Brom- oder Methacrylamid-Endgruppen in ein photovernetzbares Acrylatnetzwerk, bestehend aus 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) und Glyceroldimethacrylat (GDMA) als Vernetzer, sowie deren Charakterisierung eingegangen. Anschließend folgt die Vorstellung von durch Vernetzung mit dem trifunktionellen Tris(2-aminoethyl)amin (TREN) erzeugten PBI-Netzwerken, woraus in einem weiteren Schritt antimikrobielle, interpenetrierende Hydrogele (IPH) mit HEA und GDMA generiert und analysiert wurden.

Dabei wurden Teile der Ergebnisse dieses Abschnittes in Zusammenarbeit mit Florian Pätzold im Rahmen seines Wahlpflichtpraktikums<sup>242</sup>, mit Johanna Petranowitsch im Rahmen ihrer Masterarbeit<sup>241</sup>, Norman Herrmann im Rahmen seines Wahlpflichtpraktikums<sup>247</sup> und Tim Giele im Rahmen seines Wahlpflichtpraktikums<sup>248</sup>.

#### 4.2.1 Acrylat-Netzwerke mit 3,4en-Iononen

Ziel der Versuche dieses Abschnittes war es PBI<sub>n</sub> als antimikrobielle Komponente in ein Acrylat-Modell-Netzwerk einzubinden und kontaktaktive antimikrobielle Netzwerke zu erzeugen. Sie sollten photovernetzbar sein, um diese z.B. als Dentaladhäsiv einzusetzen. Das PBI<sub>n</sub> sollte idealerweise keine zwischenmolekularen Wechselwirkungen mit dem Acrylat-Netzwerk eingehen, um so Struktur-Eigenschafts-Beziehungen identifizieren zu können. Dazu wurde zunächst ein geeignetes Acrylat-System, basierend auf 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) und Glyceroldimethacrylat (GDMA), identifiziert. Anschließend erfolgten Untersuchungen zur Einbindung verschiedener PBI<sub>n</sub> mit beidseitigen Brom- (Br-PBI<sub>x</sub>-Br) und Methacrylamid- (MAA-PBI<sub>x</sub>-MAA) Endgruppen in das Acrylatnetzwerk. Die PBI-Spezies besitzen jeweils Doppelbindungen in den Endgruppen zur radikalischen Reaktion mit den Acrylat-Monomeren. Das Brom-terminierte PBI, erwies sich in vorhergehenden, nicht veröffentlichten Arbeiten am Lehrstuhl für Biomaterialien und Polymerwissenschaften von Prof. Tiller, als besser geeignet als die offensichtliche PBI-Spezies mit Methacrylamid-Terminus, was hier erneut überprüft werden sollte. Die hergestellten Netzwerke wurden anschließend hinsichtlich der Verteilung von PBI<sub>n</sub> im Netzwerk und bezüglich der langfristigen antimikrobiellen Aktivität untersucht. Dabei wurden Teile der Ergebnisse dieses Abschnittes in Zusammenarbeit mit Johanna Petranowitsch im Rahmen ihrer Masterarbeit<sup>241</sup> erarbeitet.

##### 4.2.1.1 Herstellung und Charakterisierung von Acrylat-Netzwerken mit 3,4en-Iononen

Zunächst galt es, ein geeignetes Acrylat-System für die Herstellung homogener Netzwerke, mit kovalent angebundenen PBI<sub>n</sub>, zu identifizieren. Eine Voraussetzung dafür ist die Löslichkeit der PBI<sub>n</sub> im Acrylat, um Phasenseparationen zu vermeiden. Dazu wurden Löslichkeitsversuche in einer Auswahl verschiedener Monomere, mit drei beidseitig mit Brom-Endgruppen-terminierte PBI<sub>n</sub> (Br-PBI<sub>x</sub>-Br) mit verschiedenen Molekulargewichten ( $x = M_n = 5500, 8000, 13800 \text{ g/mol}$ ), durchgeführt. Als Monomere wurden Acrylate verwendet, wie sie beispielweise für Dentalanwendungen üblich sind (siehe **Tabelle 11**). Da es sich bei den PBI<sub>n</sub> um polare, polyionische Verbindungen handelt, war es nicht verwunderlich, dass die Löslichkeit in Glycerol und 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) mit 10 mg/mL am besten ist. In den restlichen eingesetzten eher hydrophoben Monomeren ist die Löslichkeit schlechter (< 3 mg/mL). Die einzige Ausnahme bildet dabei das kleinste PBI<sub>n</sub>, mit  $M_n = 5500 \text{ g/mol}$ , welches mit 3 mg/mL noch in 2-Hydroxyethylmethacrylat löslich ist. Das hydrophile HEA stellt somit das am besten geeignete, untersuchte Monomer, für Netzwerke mit PBI<sub>n</sub> als antimikrobieller Komponente, dar.

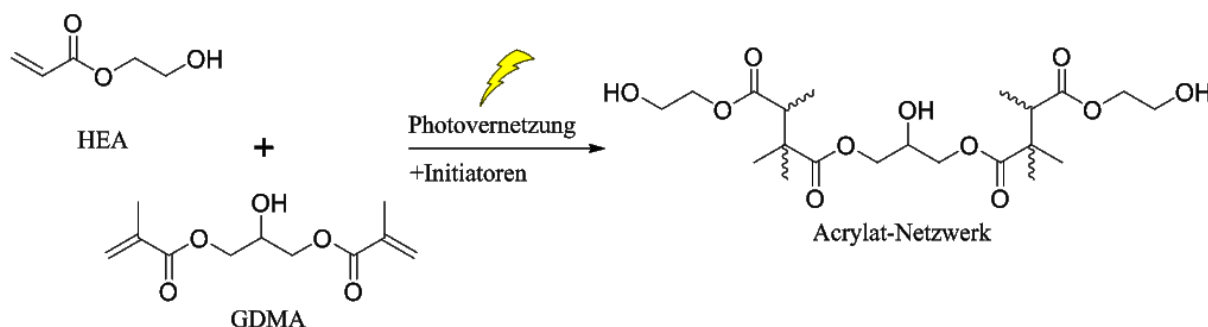


**Tabelle 11: Löslichkeiten für jeweils 10 mg Br-PBI<sub>5500</sub>-Br, Br-PBI<sub>8000</sub>-Br und Br-PBI<sub>13800</sub>-Br in verschiedenen Lösungsmitteln, nach Petranowitsch<sup>241</sup>.**

Lösungsmittel	V <sub>Lösungsmittel</sub> [mL]	Löslichkeit [mg/mL]
2-Hydroxyethylacrylat	1	10
Glycerol	1	10
Glyceroldimethacrylat	>3	<3.3
Butylacrylat	>3	<3.3
Ethyldimethacrylat	>3	<3.3
2-Hydroxyethylmethacrylat	>3 [3 <sup>a)</sup> ]	<3.3 [3.3 <sup>a)</sup> ]
Methylmethacrylat	>3	<3.3
Tetraethylglykoldimethacrylat	>3	<3.3
Triethylglykoldimethacrylat	>3	<3.3
Triethylglycolmethylethermethacrylat	>3	<3.3

a) Löslichkeit von Br-PBI<sub>5500</sub>-Br.

Nach dem Vorbild von Waschinski et. al.<sup>249</sup> wurde als Vernetzer 1,3-Glyceroldimethacrylat (HEA/GDMA, 3.5/1) sowie als Photoinitiatoren Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat (0.5 wt%) und Campherchinon (0.4 wt%) verwendet. Dieses radikalisch, photovernetzbares Acrylat-System (siehe **Abbildung 27**) hat den Vorteil, dass es auch ohne Sauerstoffausschluss polymerisiert werden kann und daher eine leichte Handhabung ermöglicht.



**Abbildung 27: Schema für die Darstellung von Acrylat-Netzwerken auf Basis von HEA mit GDMA-Vernetzer durch photochemische Vernetzung ( $\lambda = 320 - 540 \text{ nm}$ ) mit Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat und Campherchinon als Initiatoren.**

Um den Einfluss des Molekulargewichts, der Endgruppen (Br, MAA) für die Anbindung und des Anteils an PBI<sub>n</sub> im Netzwerk zu untersuchen, wurden Netzwerke verschiedener PBI<sub>n</sub> (Br-PBI<sub>5500</sub>-Br, Br-PBI<sub>8000</sub>-Br, Br-PBI<sub>13800</sub>-Br, MAA-PBI<sub>5700</sub>-MAA, MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA) mit geringen Gehalten von 2.5 wt% und 5 wt% PBI<sub>n</sub> im Netzwerk hergestellt. Durch den hohen Acrylat-Vernetzer-Anteil (GDMA) war es zudem notwendig, die Ausgangsmischungen mit Wasser (Monomer/Wasser, 2/1 und 1/1) zu versetzen, um homogene Mischungen mit PBI<sub>n</sub> in Lösung zu erzeugen. Insgesamt ergaben sich so 22 verschiedene Netzwerke (siehe **Tabelle 12**).

**Tabelle 12: Übersicht hergestellter Acrylat-Netzwerke mit verschiedenen PBI<sub>n</sub> sowie reine Acrylatnetzwerke als Referenz, nach Petranowitsch<sup>241</sup>.**

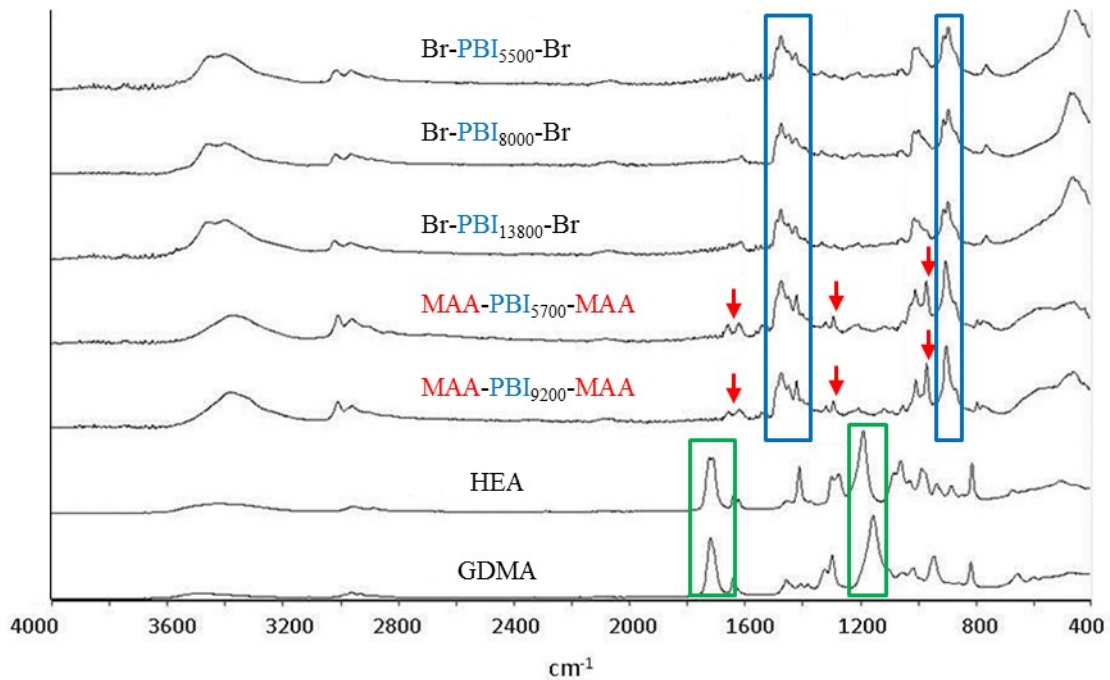
PBI <sup>a)</sup> [wt%]	Mono/ H <sub>2</sub> O <sup>b)</sup>	Referenz- netzwerk <sup>c)</sup>	Br- PBI <sub>5500</sub> - Br <sup>d)</sup>	Br- PBI <sub>8000</sub> - Br <sup>d)</sup>	Br- PBI <sub>13800</sub> - Br <sup>d)</sup>	MAA- PBI <sub>5700</sub> - MAA <sup>d)</sup>	MAA- PBI <sub>9200</sub> - MAA <sup>d)</sup>
0	2:1	X					
0	1:1	X					
2.5	2:1		X	X	X	X	X
2.5	1:1		X	X	X	X	X
5	2:1		X	X	X	X	X
5	1:1		X	X	X	X	X

a) Anteil an PBI im polymerisierten Netzwerksystem. b) Verhältnis der PBI-Monomerlösung (Mono) zur eingesetzten Wassermenge. c) Referenznetzwerk bestehend aus 2-Hydroxyethylacrylat mit dem Vernetzer 1,3-Glyceroldimethacrylat (HEA/GDMA, 3,5/1 Verhältnis), als Photoinitiatoren Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat (0.5 wt%) und Campherchinon (0.4 wt%). d) Die untersuchten Netzwerke enthalten ein 2-Hydroxyethylacrylat mit dem Vernetzer 1,3-Glyceroldimethacrylat (HEA/GDMA, 3,5/1 Verhältnis), als Photoinitiatoren Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat (0.5 wt%) und Campherchinon (0.4 wt%) und den angegebenen Anteil an PBI<sub>n</sub>.

Die Photovernetzung der Netzwerke fand in einer Heraflash-Polymerisationskammer auf mit 3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat modifizierten Glasobjektträgern statt. Die Silanisierung der Glasobjektträger mit einem Methacrylat war wichtig, um eine kovalente Anbindung der Acrylat-Netzwerke an die Oberfläche und eine damit verbundene Fixierung für spätere Waschtests garantieren zu können. Die Mischungen mit einem Monomer/Wasser-Verhältnis von 1/1 bildeten jedoch 2-Phasensysteme aus, welche nach intensiver Durchmischung/Homogenisierung innerhalb von 180 s Photobestrahlung vernetzt werden konnten. Für die 1-phasigen Mischungen mit einem Monomer/Wasser-Verhältnis von 2/1, war eine Photobestrahlung für die Vernetzung von 4-mal 180 s notwendig. Die Ursache dafür lag vermutlich in der unterschiedlichen Verteilung des Vernetzers (GDMA) in Wasser-, bzw. zwischen der Wasser- und Acrylat-Phase.

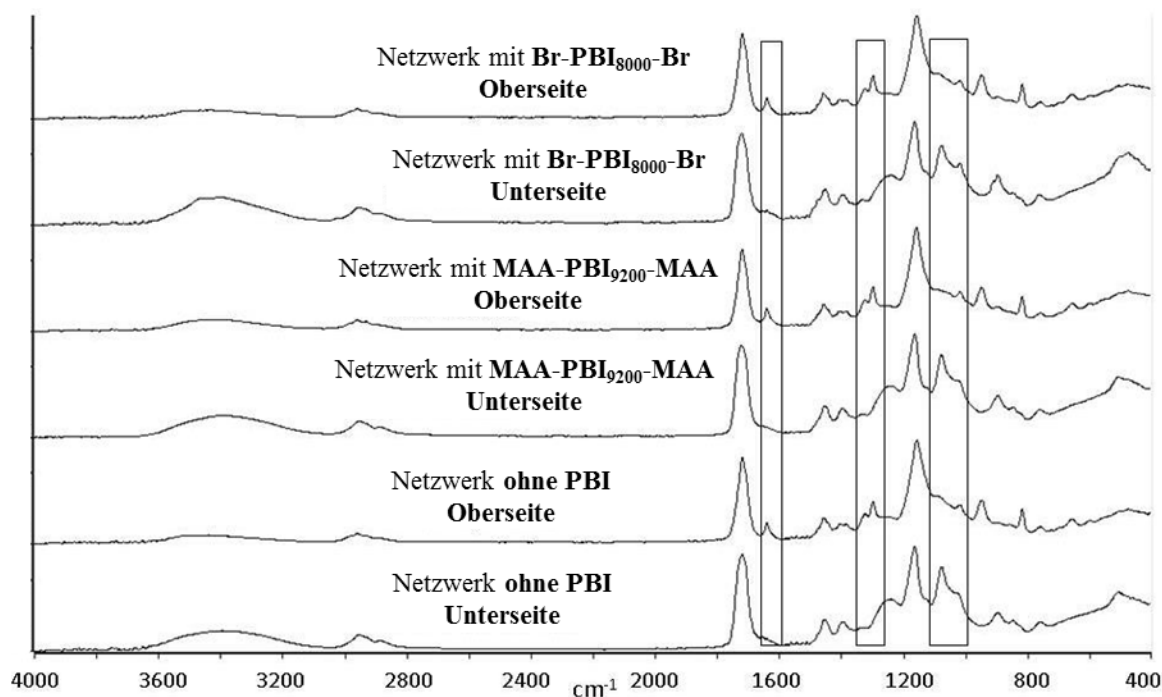
Die Charakterisierung der erzeugten Acrylat-Netzwerk-Filme mit PBI<sub>n</sub> erfolgte anschließend mit IR-Spektroskopie und REM-EDX, um die Verteilung von PBI<sub>n</sub> im Netzwerk und eine mögliche Anreicherung an den Grenzflächen (Oberfläche bzw. Unterseite) zu untersuchen.

Bevor die Netzwerke selbst mit IR-Spektroskopie untersucht wurden, fand zunächst die Untersuchung der Edukte statt. Die IR-Spektren der eingesetzten Ausgangssubstanzen (PBI<sub>n</sub>, HEA, GDMA, siehe **Abbildung 28**) sollen insbesondere der Identifikation der charakteristischen Banden von PBI<sub>n</sub> in den späteren Netzwerken dienen. Dabei zeigen sich Unterschiede zwischen den MAA-PBI<sub>x</sub>-MAA und Br-PBI<sub>x</sub>-Br Spezies, aber nicht innerhalb der Brom- bzw. Methacryl-terminierten Spezies. MAA-PBI<sub>x</sub>-MAA und Br-PBI<sub>x</sub>-Br Spezies können gut anhand der Banden der Methacryl-Spezies (siehe rote Pfeile) bei 967 cm<sup>-1</sup>, 1291 cm<sup>-1</sup>, 1623 cm<sup>-1</sup> und 1656 cm<sup>-1</sup> unterschieden werden. Beide Spezies weisen für PBI<sub>n</sub> charakteristische Banden (blaue Kästen) bei 900 cm<sup>-1</sup> und 1418 – 1473 cm<sup>-1</sup> auf, welche auf Gerüst-Schwingungen der N+ -CH<sub>3</sub> Gruppen zurückzuführen sind.<sup>250</sup> Die eingesetzten Monomere HEA und GDMA besitzen charakteristische Banden (grüne Kästen) bei 1155/1188 cm<sup>-1</sup> und 1720 cm<sup>-1</sup>.



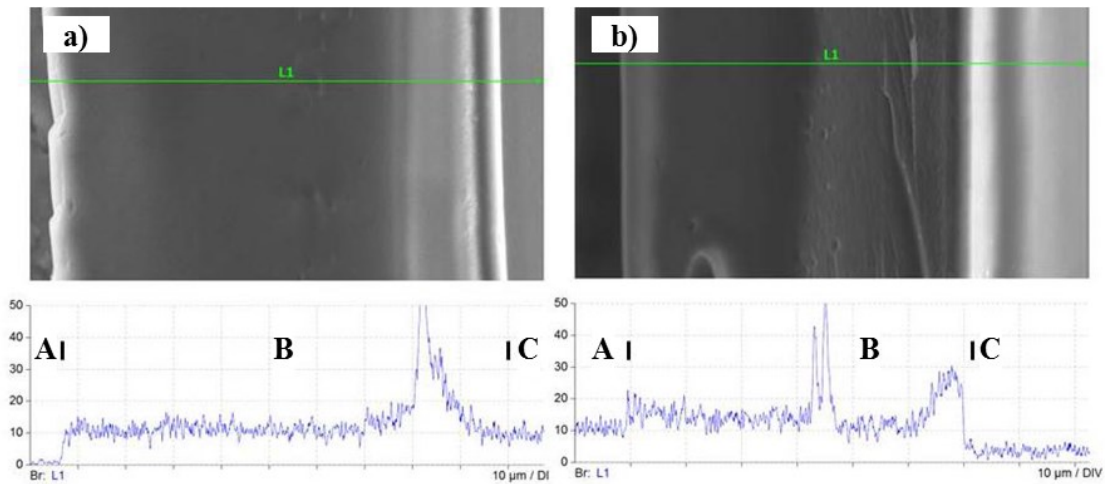
**Abbildung 28:** IR-Spektren der eingesetzten reinen  $\text{PBI}_n$  und der Acrylat-Monomere, nach Petranowitsch<sup>241</sup>. Farblich gekennzeichnet sind jeweils die charakteristischen Banden für PBI allgemein (blau), des MAA-PBI-MAA (rot) und der Acrylat-Monomere (grün).

Mittels IR-Spektroskopie wurden nun die einphasigen Netzwerke mit 0 wt%, 2.5 wt% und 5 wt% Br-PBI<sub>8000</sub>-Br sowie MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA, mit einem Monomer/Wasser-Verhältnis von 2/1, auf deren Ober- und Unterseite untersucht. Zwischen den Netzwerken mit 2.5 wt% und 5 wt% kann kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden, weshalb an dieser Stelle exemplarisch die Netzwerke mit 2.5 wt% und als Referenz 0 wt% präsentiert werden (siehe **Abbildung 29**). Die Analyse der IR-Spektren der Ober- und Unterseite der Netzwerke mit 2.5 wt% Br-PBI<sub>8000</sub>-Br, MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA und einem Referenznetzwerk ohne PBI<sub>n</sub>, sollte der Identifizierung einer möglichen Anreicherung des PBI<sub>n</sub> den Grenzflächen dienen.



**Abbildung 29:** IR-Spektren der Ober- und Unterseite der Netzwerke mit 2.5 wt% Br-PBI<sub>8000</sub>-Br, MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA und einem Referenznetzwerk ohne PBI, nach Petranowitsch<sup>241</sup>. Die Netzwerke wurden mit einem Monomerlösung/Wasser-Verhältnis von 2/1 angesetzt.

Zwischen den Spektren der drei Netzwerktypen gibt es keine Unterschiede bezüglich der untersuchten Ober- oder Unterseite. Die Spektren weisen bei  $\sim 1160\text{ cm}^{-1}$  und  $1720\text{ cm}^{-1}$ , die aus den Acrylat-Monomeren bekannten, typischen Banden für das Acrylatssystem auf. Jedoch sind charakteristische Banden des PBI<sub>n</sub> ( $900\text{ cm}^{-1}$ ,  $1418\text{--}1473\text{ cm}^{-1}$ ) nicht identifizierbar. Ein Rückschluss auf PBI<sub>n</sub> in den Netzwerken oder eine mögliche Anreicherung an den Grenzflächen, wie es bei Waschinski et. al.<sup>249</sup> der Fall war, war somit nicht möglich. Als Ursache wird vermutet, dass die entsprechenden Banden durch das Acrylatnetzwerk überlagert werden, da der Anteil an PBI im Netzwerk nur maximal 5 wt% betrug. Auffällig ist jedoch, dass sich die Spektren der Oberseite (Luft zugewandt) und Unterseite (Glas zugewandt) der Netzwerke, durch Banden bei  $1100\text{ cm}^{-1}$ ,  $1250\text{ cm}^{-1}$  und  $1650\text{ cm}^{-1}$ , unterscheiden. Durch Messung von Netzwerken auf Objektträgern, ohne Silanisierung mit 3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat, konnte die Glasoberflächen-Modifizierung als Ursache dafür ausgeschlossen werden, da keine entsprechenden Banden in den Spektren sichtbar waren. Die Unterschiede in den Spektren, sind somit auf das Netzwerk an sich zurückzuführen. So könnte die Bande bei  $1100\text{ cm}^{-1}$  auf C-O Streckschwingungen aus Estern oder sekundären Alkoholen stammen. Die Bande bei  $1250\text{ cm}^{-1}$  könnte aus Estern, unreaktierten Doppelbindungen oder sekundären Alkoholen resultieren. Zudem könnte die Bande bei  $1650\text{ cm}^{-1}$  sich aus C=C Streckschwingungen von unreaktierten Doppelbindungen ergeben. Jedoch kann über die genaue Ursache nur spekuliert werden. Abschließend kann durch die IR-Messungen weder eine Anreicherung von PBI an den Grenzflächen oder der gegenteilige Effekt, aufgrund überlagerter Banden, nachgewiesen werden. So lässt sich über die Verteilung von PBI<sub>n</sub> im Netzwerk nur spekulieren.



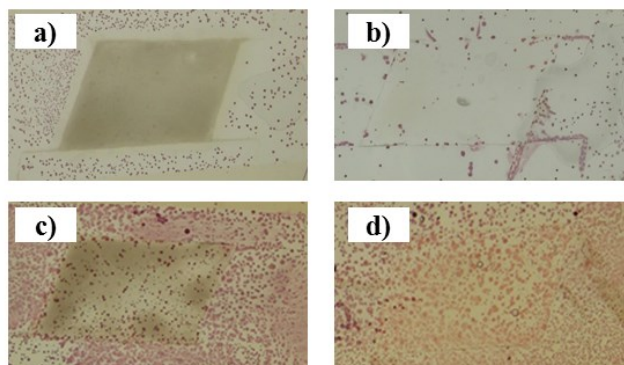
**Abbildung 30:** REM-EDX Aufnahmen der in flüssigem Stickstoff erzeugten Bruchflächen der Netzwerke mit 2.5 wt% MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA (a) und Br-PBI<sub>13800</sub>-Br (b), nach Petranowitsch<sup>241</sup>. In den Aufnahmen sind ergänzen die Bereiche des Glasobjektträgers (A), des Netzwerkes (B) und Luft (C) gekennzeichnet. Die Netzwerke wurden mit einem Monomerlösung/Wasser-Verhältnis von 2/1 angesetzt. Die EDX-Messung zeigt die Intensität des jeweiligen Brom-Signals in Counts.

Zusätzlich wurden die Netzwerke mittels REM-EDX bezüglich der PBI<sub>n</sub>-Verteilung im Netzwerk untersucht. Die Untersuchungen (siehe **Abbildung 30**) fanden exemplarisch an den in flüssigem Stickstoff erzeugten Bruchflächen der Netzwerke mit 2.5 wt% Br-PBI<sub>13800</sub>-Br und MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA, welche aus einem Monomer/Wasser-Verhältnis von 2/1 hergestellt wurden, statt. Aufschluss über die Verteilung des PBI<sub>n</sub> im Netzwerk, sollte über die Messung des EDX-Brom-Signals über den Probenquerschnitt erhalten werden. Die Betrachtung des Brom-EDX-Signals für die analysierten Netzwerke, deutet grundsätzlich auf eine homogene Verteilung des Broms und damit auch des PBI<sub>n</sub> in den Netzwerken hin. Ausnahmen bilden jedoch erhöhte Intensitäten des Brom-Signals, welche auf vereinzelte leichte Inhomogenitäten zurückgeführt werden. Eine eindeutige Anreicherung von PBI<sub>n</sub> an den Probengrenzflächen ist, wie bei den IR-Messungen, nicht zu erkennen. Es kann an dieser Stelle von einer weitgehend homogenen Verteilung von PBI<sub>n</sub> in den Netzwerken ausgegangen werden, welche für die antimikrobielle Aktivität an jeder Stelle der Netzwerke, essentiell ist.

#### 4.2.1.2 Charakterisierung der antimikrobiellen Eigenschaften der Acrylat-Netzwerke mit 3,4en-Iononen

Im Folgenden wird auf die Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften der hergestellten Acrylat-Netzwerke mit PBI<sub>n</sub> eingegangen werden. Die Analyse erfolgte durch den Bakterien-Sprühtest mit *S. aureus*. Der Grad des Bewuchses der Probenfläche mit Kolonie bildenden Einheiten (CFU, engl. colony forming units), ermöglicht eine qualitative Aussage über die antimikrobielle Aktivität der Netzwerke. Die Einteilung erfolgte in aktive (**aktiv**, komplett/überwiegend unbewachsene Probenoberflächen) und nicht aktive (**x**, überwiegend bis durchgehend bewachsene Probenoberflächen) Netzwerke (siehe **Abbildung 31**). Zudem deutet ein Hemmhof (siehe **Abbildung 31a**), eine bakterienfreie Zone neben dem Netzwerk, auf die Freisetzung von bioziden

Komponenten aus dem Netzwerk hin, was auch als „leaching“ bezeichnet wird. Damit die CFU nach der Inkubation auf den Proben besser identifiziert werden konnten, wurden diese mittels 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) rot angefärbt.



**Abbildung 31: Bewertungs-Beispiele der antimikrobiellen Aktivität von Netzwerken auf Objektträgern nach dem Sprühtest mit *S. aureus*, der Inkubation über Nacht bei 37 °C und Färbung mit TTC, nach Petranowitsch<sup>241</sup>. a) + b) werden als antimikrobiell „aktiv“ und c) + d) als antimikrobiell inaktiv „x“ bewertet. a) weist zudem einen Hemmhof auf, welcher auf „leaching“ hinweist.**

Es wurden zwei verschiedene Referenz-Netzwerksysteme (2/1 und 1/1 als Monomer/Wasser-Verhältnis) und je PBI<sub>n</sub>-Spezies (Br-PBI<sub>5500</sub>-Br, Br-PBI<sub>8000</sub>-Br, Br-PBI<sub>13800</sub>-Br, MAA-PBI<sub>5700</sub>-MAA, MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA) vier verschiedene Netzwerke mit PBI<sub>n</sub> (2/1 und 1/1 als Monomer/Wasser-Verhältnis sowie 2.5 wt% und 5 wt% PBI) für verschieden lange Waschzeiträume (keine Waschung, 1 Tag, 3 Tage, 5 Tage) in Wasser untersucht (siehe **Tabelle 13**). Die Waschung von Netzwerken ist eine entscheidende Prozedur für antimikrobielle Materialien, um nicht nur die initiale sondern auch langfristige antimikrobielle Aktivität zu untersuchen. Die Waschungen ermöglichen auch Rückschlüsse auf einen freisetzenenden oder kontaktaktiven, antimikrobiellen Mechanismus und damit auf eine erfolgreiche kovalente Anbindung des PBI<sub>n</sub> in die Acrylatnetzwerke.

Die Ergebnisse zeigen für alle Netzwerke, mit Ausnahme eines Referenznetzwerkes, eine antimikrobielle Aktivität gegen *S. aureus* ohne Waschung. Nach 1 Tag Waschen der Netzwerke in jeweils 15 mL Wasser wiesen nur noch 7, der 20 zuvor, ohne Waschung aktiven Netzwerke mit PBI<sub>n</sub>, eine antimikrobielle Aktivität auf. Die Zahl fällt nach 3 Tagen waschen auf 3 ab und nach 5 Tagen waschen war keines der Netzwerke mehr aktiv. Dabei sind nur die Netzwerke mit 2.5 wt% Br-PBI<sub>13800</sub>-Br (2/1, Monomer/Wasser-Verhältnis) und mit 5 wt% MAA-PBI<sub>9200</sub>-MAA (1/1, Monomer/Wasser-Verhältnis) durchgängig bis zu 3 Tage Waschen aktiv. Die antimikrobielle Aktivität der Netzwerke nimmt somit mit steigender Waschung, innerhalb kurzer Zeit (3 Tage), deutlich bis zu einem kompletten Aktivitätsverlust hin, ab. Ein klarer Zusammenhang zwischen dem Netzwerksystem (2/1 + 1/1, Monomer/Wasser-Verhältnis), dem PBI<sub>n</sub>-Gehalt, dem Molekulargewicht des PBI<sub>n</sub> oder den PBI<sub>n</sub>-Endgruppen kann nicht identifiziert werden. Somit können auch keine Struktur-Eigenschafts-Beziehungen nachgewiesen werden.

**Tabelle 13: Ergebnisse des Sprühtests mit *S. aureus* zur Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit verschiedener Netzwerksysteme auf Glas Objektträgern für unterschiedliche Waschzeiträume in Wasser, nach Petranowitsch<sup>241</sup>. Die Bewertung der antimikrobiellen Aktivität erfolgt mit „aktiv“ für komplett bis überwiegend unbewachsene Probenoberflächen und „x“ steht für überwiegend bis durchgehend bewachsene Probenoberflächen.**

Waschung <sup>a)</sup>	PBI <sup>b)</sup> [wt%]	Mono / H <sub>2</sub> O <sup>c)</sup>	Br- PBI <sub>5500</sub> - Br <sup>d)</sup>	Br- PBI <sub>8000</sub> - Br <sup>d)</sup>	Br- PBI <sub>13800</sub> - Br <sup>d)</sup>	MAA- PBI <sub>5700</sub> - MAA <sup>d)</sup>	MAA- PBI <sub>9200</sub> - MAA <sup>d)</sup>	reines Netzwerk <sup>e)</sup>
keine	2.5	2:1	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv
Waschung	2.5	1:1	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	x
	5	2:1	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	
	5	1:1	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	
	5	1:1	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	
1 Tag	2.5	2:1	x	x	aktiv	x	x	x
	2.5	1:1	x	x	x	aktiv	aktiv	x
	5	2:1	x	x	x	x	x	
	5	1:1	aktiv	aktiv	aktiv	x	aktiv	
3 Tage	2.5	2:1	x	aktiv	aktiv	x	x	x
	2.5	1:1	x	x	x	x	aktiv	x
	5	2:1	x	x	x	x	x	
	5	1:1	x	x	x	x	x	
5 Tage	2.5	2:1	x	x	x	x	x	x
	2.5	1:1	x	x	x	x	x	x
	5	2:1	x	x	x	x	x	
	5	1:1	x	x	x	x	x	

a) Die auf einem Glasobjektträger befindlichen Netzwerke wurden jeweils einzeln in Petrischalen mit 15 mL bei Raumtemperatur und 40 rpm gewaschen, wobei täglich ein Wasserwechsel erfolgte. b) Anteil an PBI im polymerisierten Netzwerksystem. c) Verhältnis der PBI-Monomerlösung (Mono) zur eingesetzten Wassermenge. d) Die untersuchten Netzwerke enthalten ein 2-Hydroxyethylacrylat mit dem Vernetzer 1,3-Glyceroldimethacrylat (HEA/GDMA, 3.5/1 Verhältnis), als Photoinitiatoren Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat (0.5 wt%) und Campherchinon (0.4 wt%) und den angegebenen Anteil an PBI<sub>n</sub>. e) Referenznetzwerk bestehend aus 2-Hydroxyethylacrylat mit dem Vernetzer 1,3-Glyceroldimethacrylat (HEA/GDMA, 3.5/1 Verhältnis), als Photoinitiatoren Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat (0.5 wt%) und Campherchinon (0.4 wt%).

Als Ursache für die schnelle Abnahme der antimikrobiellen Aktivität, wird die nicht-kovalente Anbindung der PBI<sub>n</sub> an das Acrylat-Netzwerk vermutet. Die Waschung führt so zu einer schnellen Herauslösung des gut wasserlöslichen PBI<sub>n</sub> aus den mit Wasser in Kontakt kommenden Schichten. Die bei einigen Proben nachgewiesenen Hemmhöfe sowie die Abnahme der antimikrobiellen Aktivität mit steigender Waschkdauer, untermauern die Vermutung der Freisetzung der antimikrobiellen Komponente (PBI<sub>n</sub>) und den damit verbundenen Aktivitätsverlust der Proben.

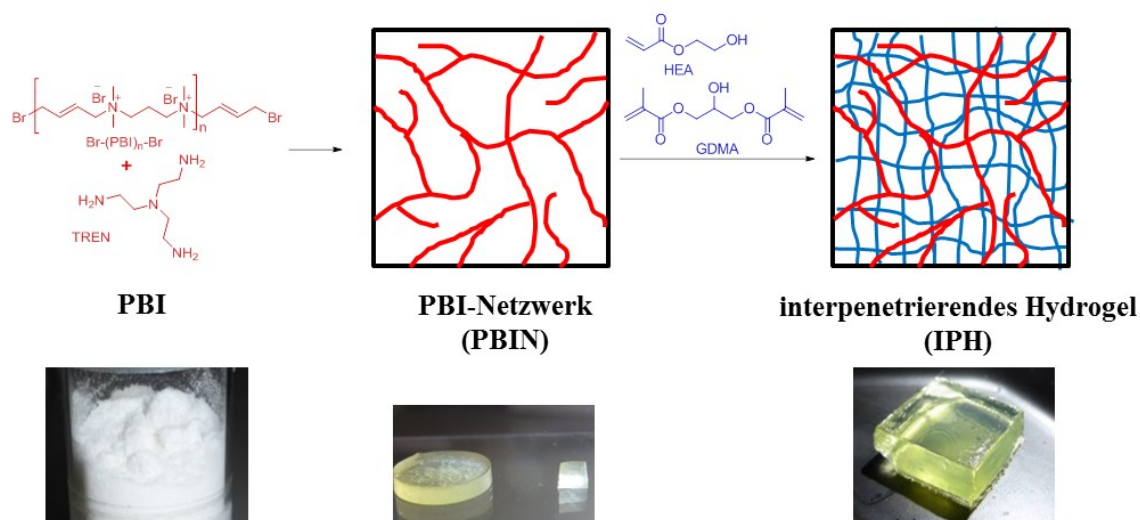
Abschließend lässt sich festhalten, dass kurzzeitig antimikrobielle Netzwerke erzeugt werden konnten, welche jedoch schnell ihre antimikrobielle Aktivität verloren und daher als Freisetzungssystem, somit nicht kontakt-aktiv, eingestuft werden. Um langfristig, antimikrobielle Netzwerke mit PBI<sub>n</sub> zu synthetisieren, wurde daher in weiteren Versuchen eine alternative Synthesestrategie gewählt (siehe **Abschnitt 4.2.2**).





#### 4.2.2 Interpenetrierende Hydrogele

Ziel der Versuche dieses Abschnittes war die Entwicklung einer alternativen Strategie (im Vergleich zu *Abschnitt 4.2.1*) für die Herstellung von antimikrobiell, langzeit-aktiven, hämokompatiblen Netzwerken mit einem möglichst geringen Anteil der antimikrobiellen Komponente ( $\text{PBI}_n$ ) sowie einstellbaren Eigenschaften. Als antimikrobielle Komponente wurde dafür das hämokompatible, hydrophile antimikrobielle Polykation  $\text{PBI}_n$ , welches auf *trans*-1,4-Dibrom-2-buten und *N,N,N',N'*-Tetramethylpropandiamin basiert, ausgewählt. Nachdem die direkte kovalente Einbindung von  $\text{PBI}_n$  in ein Acrylat-Netzwerk nur zu kurzzeitig antimikrobiellen Systemen führte, wurde nun eine alternative Route nach dem Vorbild von interpenetrierenden Netzwerken gewählt. Unter interpenetrierenden polymeren Netzwerken (IPN), werden sich gegenseitig durchdringende Netzwerke von Polymeren verstanden.<sup>190, 251</sup> Dabei kann es sich um chemisch identische oder verschiedene Strukturen handeln, wobei jedes Netzwerk kovalent oder nicht kovalent verknüpft ist. Für die Herstellung von IPNs werden grundsätzlich die sequentielle und simultane Polymerisation als Herstellungsmethoden unterschieden. Bei der simultanen Polymerisation erfolgt die Reaktion, nach unterschiedlichen, nicht interferierenden Mechanismen reagierenden Monomeren, in einphasigen Gemischen. Dagegen erfolgt die sequentielle Herstellung durch Durchtränken eines bereits bestehenden Netzwerkes mit Monomeren und anschließender Polymerisation. Dabei können Erst- und Zweitpolymer identisch sein. In dieser Arbeit wurde der Weg der sequentiellen Herstellung gewählt. Dazu wurde zunächst ein hochquellbares Polymernetzwerk durch die Vernetzung von  $\text{PBI}_n$  erzeugt, dieses dann mit einem Polymernetzwerk des hydrogelbildenden 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) gefüllt, und so interpenetrierende Hydrogele (IPH) hergestellt (siehe *Abbildung 32*).



**Abbildung 32:** Schema der Herstellung von antimikrobiellen, interpenetrierenden Hydrogelen mit typischen Bildern der Proben, basierend auf  $\text{PBI}_n$  als antimikrobieller Komponente und mit Glyceroldimethacrylat (GDMA) vernetzten 2-Hydroxyethylacrylat (HEA).<sup>246</sup>

Die folgenden Abschnitte beschreiben jeweils die Synthese und Charakterisierung der PBI-Netzwerke (PBIN, **Abschnitt 4.2.2.1**), sowie anschließend die Synthese und Charakterisierung von IPHs (**Abschnitt 4.2.2.2** und **4.2.2.5**) auf Basis der PBIN. Dabei wurden Teile der Ergebnisse dieses Abschnittes in Zusammenarbeit mit Johanna Petranowitsch im Rahmen ihrer Masterarbeit<sup>241</sup>, mit Florian Pätzold im Rahmen seines Wahlpflichtpraktikums<sup>242</sup>, Norman Herrmann im Rahmen seines Wahlpflichtpraktikums<sup>247</sup>, Tim Giele im Rahmen seines Wahlpflichtpraktikums<sup>248</sup> erarbeitet.

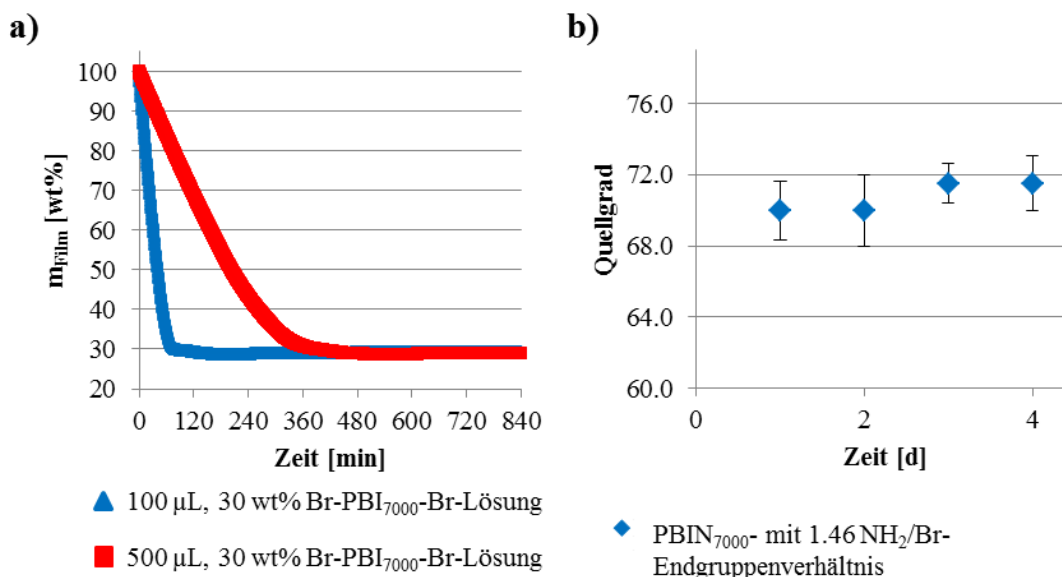
#### **4.2.2.1 3,4en-Ionen-Netzwerke (PBIN)**

##### *4.2.2.1.1 Synthese und Charakterisierung von PBIN*

Ziel der Versuche dieses Abschnittes ist die Synthese und Charakterisierung von quellbaren Polymernetzwerken, auf der Basis von  $\text{PBI}_n$  als Ausgangspolymer, für die spätere Herstellung von IPHs. Für die Herstellung von Netzwerken, auf Basis von Ionen, lassen sich in der Literatur verschiedene Varianten finden. Im Folgenden sollen einige Beispiele genannt werden. Rembaum et. al. stellten bereits 1969 mit der Polymerisation mit Redoxinitiatoren, Polymerisation durch Cobalt- $\gamma$ -Bestrahlung, Photopolymerisation und Copolymerisation verschiedene Möglichkeiten zur Vernetzung von Ionen mit entsprechenden Endgruppen dar.<sup>222</sup> Arbeiten von Long et. al. nutzt die Vernetzung mittels UV-Licht zur Herstellung von Polymerfilmen, z.B. für Membranen, basierend auf 12,12-Ionen.<sup>252-253</sup> Ruckenstein et. al. stellen durch Reaktion von Poly(4-vinylbenzylchlorid) mit tertiären Diaminen und Poly(2-Dimethylaminoethylacrylat) mit Dihalogeniden Netzwerke mit Ionen-Strukturen her.<sup>227</sup> Des Weiteren beschreiben Lakouraj et. al. Hydrogele, basierend auf mit Acrylamid vernetzten Ionen.<sup>254</sup> Zudem sind auch Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) basierte Hydrogele bekannt.<sup>255-256</sup> Die genannten vernetzten Ionene, mit ihrem hohen antimikrobiellen Potential, wurden jedoch nicht bezüglich ihrer antimikrobiellen Aktivität untersucht. Krumm et. al. stellten nahezu perfekte amphiphile Polymernetzwerke über mit *trans*-1,4-Dibrombut-2-en (DBB) vernetzte mit Tris(2-minoethyl)amin (TREN) terminierte Poly(2-oxazoline) her.<sup>60</sup> Diese Wahl der vernetzenden Gruppen lässt sich optimal auf das beidseitig mit Brom-Endgruppen funktionalisierte  $\text{PBI}_n$  (Br- $\text{PBI}_x$ -Br) und deren Vernetzung mit TREN übertragen.

Für die Vernetzung mit dem trifunktionellen Vernetzer TREN wurden drei Br- $\text{PBI}_x$ -Br Polymere mit verschiedenen Molekulargewichten ( $x = M_n = 3100, 5700, 7000 \text{ g/mol}$ ) ausgewählt, um den Einfluss des Molekulargewichts auf die Eigenschaften des PBIN zu untersuchen. Die aus den ausgewählten Br- $\text{PBI}_{3100}$ -Br, Br- $\text{PBI}_{5700}$ -Br und Br- $\text{PBI}_{7000}$ -Br resultierenden Netzwerke werden im Folgenden als  $\text{PBIN}_{3100}$ ,  $\text{PBIN}_{5700}$  und  $\text{PBIN}_{7000}$  bezeichnet. Die Charakterisierung der Polymere (**Abschnitt 4.1.2.3**) zeigt, dass die drei Polymere, für Polyadditionsreaktionen typische Molekulargewichtsverteilungen aufweisen. Das die mit  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und Lichtstreuung ermittelten Molekulargewichte nahe beieinander liegen, wies, wie bereits in **Abschnitt 4.1.2.3** erwähnt, darauf hin, dass die  $\text{PBI}_n$ -Endgruppen tatsächlich mit Brom-Endgruppen modifiziert sind. Somit sollten alle synthetisierten Br- $\text{PBI}_n$ -Br vernetzbar sein. Die bromterminierten Polymere wurden mit TREN unter Variation des

molaren Amin/Brom ( $\text{NH}_2/\text{Br}$ )-Endgruppen-Verhältnisses vernetzt. Die Untersuchungen für den Grad der Vernetzung fanden anschließend über die Messung des massebezogenen Quellgrades ( $Q_m = m_{\text{gequollen}} / m_{\text{Ausgangsgewicht trocken}}$ ) in Wasser statt.

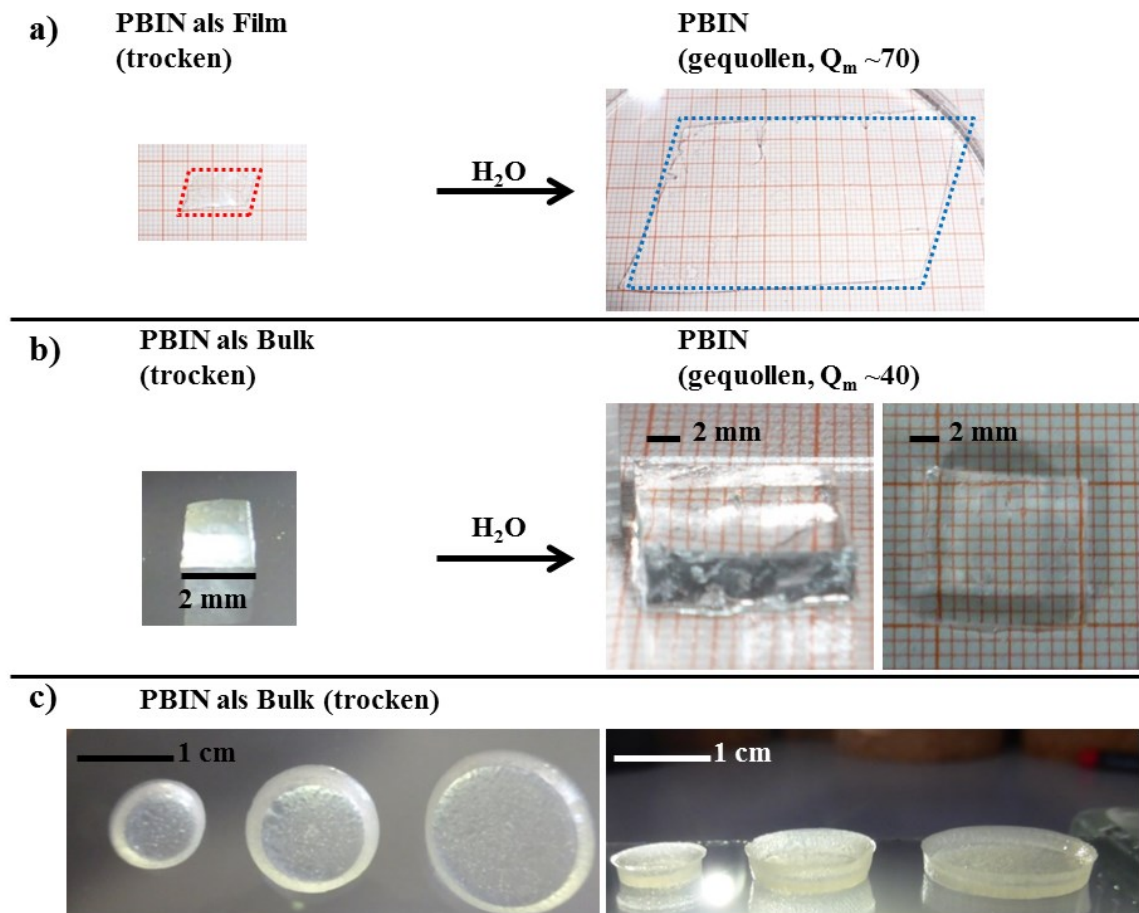


**Abbildung 33:** Trocknungsverlauf verschiedener Volumina (100 µL, 500 µL) einer jeweils wässrigen 30 wt% Br-PBI<sub>7000</sub>-Br-Lösung bei Raumtemperatur auf einer Feinwaage zu einem Polymerfilm; b) Quellgrade eines PBIN<sub>7000</sub> mit einem molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.51 nach verschiedenen Tagen als Vernetzungsdauer. Die Messungen wurden als dreifach-Bestimmung durchgeführt und die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar (Werte, siehe Tabelle 31 im Anhang; Seite 168).

Die Präparation der Netzwerke fand zunächst in Form von Filmen auf abgeklebten Glasobjektträgern statt, welche bei Raumtemperatur vernetzt wurden. Um das Vernetzungsende abschätzen zu können, wurde für verschiedene Volumina (100 µL, 500 µL) die Trocknungsgeschwindigkeit (siehe *Abbildung 33a*) der Filme und der Quellgrad nach verschiedenen Zeiten (1-4 Tage, siehe *Abbildung 33b*) untersucht. Die Abtrocknung der Filme mit 30 wt% Br-PBI<sub>7000</sub>-Br in wässriger Lösung wurde durch Wägung auf einer Feinwaage mit automatisierter Datenaufzeichnung bei Raumtemperatur untersucht. Das Aufgabevolumen von 100 µL war bereits nach 1.5 h komplett abgetrocknet, was sich in der Massenkonstanz bei 30 wt%, was der eingesetzten Br-PBI<sub>7000</sub>-Br-Masse entsprach, zeigt. Die Abtrocknung des Aufgabevolumens von 500 µL beansprucht dagegen eine Zeit von ~8 h, bis zur Massenkonstanz bei 30 wt%. Die 8 h (500 µL) Trocknungsdauer im Vergleich zu 1.5 h (100 µL) entsprechen etwa einem Faktor von 5, so dass die Trocknungszeit proportional zum Aufgabevolumen ist.

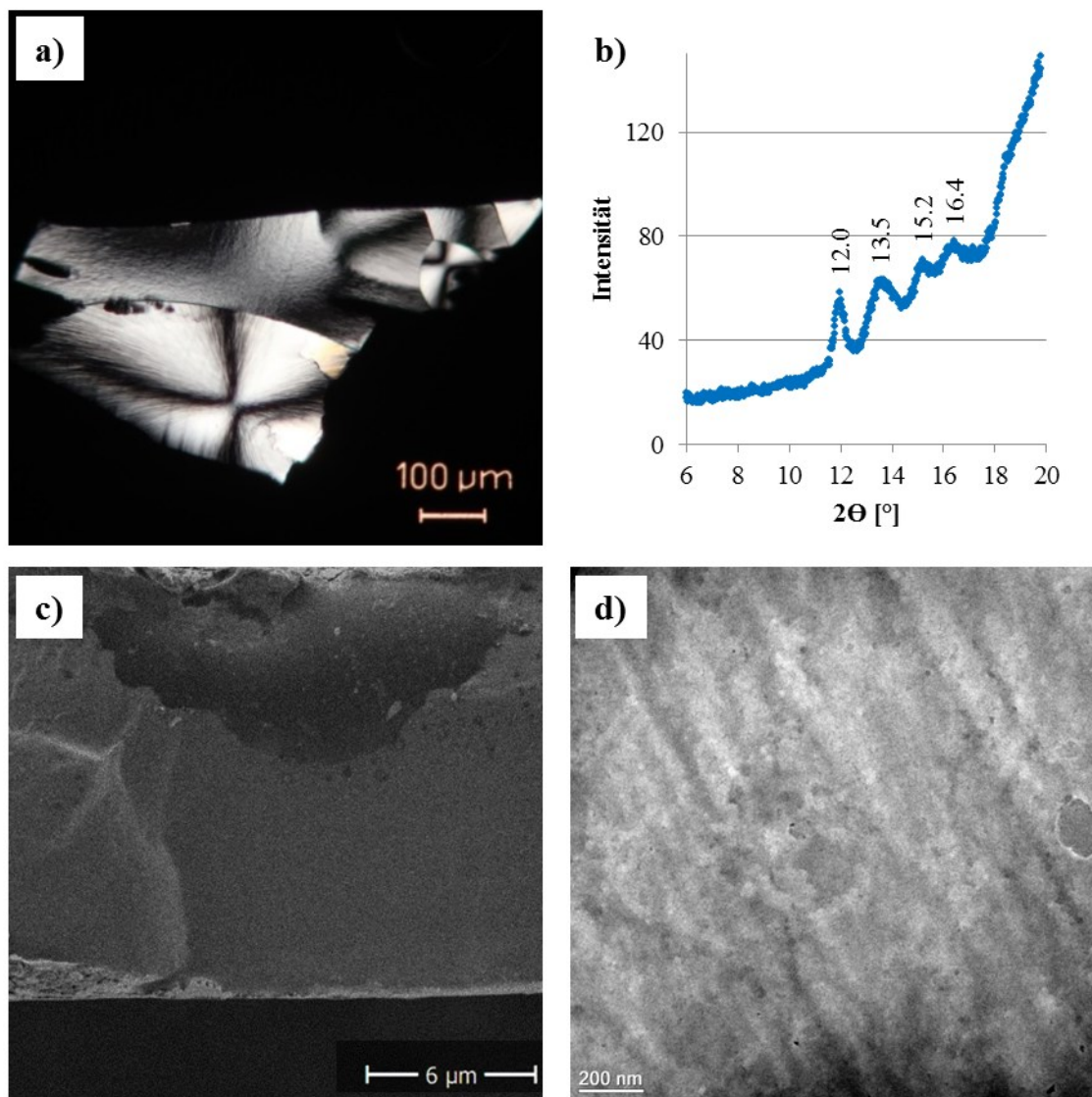
Des Weiteren wurde der Quellgrad in Wasser eines PBIN<sub>7000</sub> mit einem molaren Verhältnis der  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppen von 1.51, bezüglich verschiedener Vernetzungsdauern (1, 2, 3 und 4 Tage) analysiert (siehe *Abbildung 33b*). Die Untersuchung sollte Auskunft darüber geben, ob nach der Abtrocknung der Netzwerke auch die Vernetzung der Netzwerke beendet ist oder eine längere Lagerung (Vernetzungszeit) erforderlich wäre. Die gemessenen Quellgrade zeigen keine signifikanten

Unterschiede zwischen den Vernetzungszeiten und bewegen sich auf einem konstanten Niveau von  $Q_m = 70.6 \pm 1.7$ , was bedeutet, dass eine Vernetzungsdauer von 1 Tag ausreichend ist. Auf Basis der Abtrocknung der Filme mit 500  $\mu\text{L}$  nach 8 h und das nach 1 Tag keine signifikanten Unterschiede bei der Messung des Quellgrades festzustellen sind, wurde eine Vernetzungsdauer von mindestens 1 Tag für die Präparation aller weiteren Proben festgelegt.



**Abbildung 34:** a) Aufnahmen eines typischen  $\text{PBIN}_{7000}$  in Filmform (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.51) im trockenen und gequollenen Zustand ( $Q_m = 70$ ); b) Aufnahmen eines  $\text{PBIN}_{5700}$  in Bulkform (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.50) im trockenen und gequollenen Zustand ( $Q_m = 40$ ); c) Aufnahmen typischer  $\text{PBIN}_{5700}$  im trockenen Zustand in Bulkform (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.51) für verschiedene „Schälchen-Größen“ ((klein: 200  $\mu\text{L}$  auf 50  $\text{mm}^2$  (Durchmesser = 4 mm); mittel: 300  $\mu\text{L}$  auf 114  $\text{mm}^2$  (Durchmesser = 6 mm), groß: 900  $\mu\text{L}$  auf 254  $\text{mm}^2$  (Durchmesser = 8 mm)).

Neben den Proben in Filmform, wurden auch Netzwerke als Bulkform, hergestellt (siehe *Abbildung 34*). Die Bulkform ist dabei besser zur Herstellung von IPHs geeignet, da wesentlich dickere und variabelere Probengeometrien präpariert werden können. Alle erhaltenen PBIN sind im getrockneten Zustand opak und im gequollenen Zustand fragil, farblos und transparent. Das opake Erscheinungsbild deutete auf kristalline Strukturen hin, welche mittels Polarisationsmikroskop und SAXS-Analyse näher untersucht wurden (siehe *Abbildung 35*).

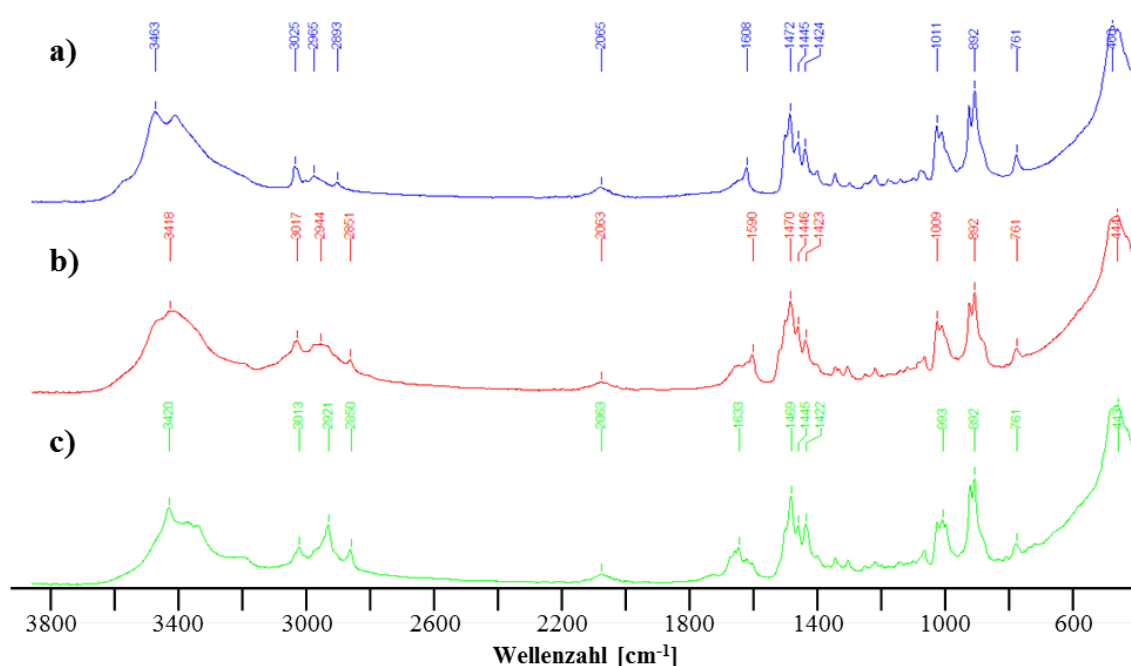


**Abbildung 35:** a) Polarisationsmikroskop-Aufnahme eines Schnittes (Dicke  $\sim 5 \mu\text{m}$ ) aus einem  $\text{PBIN}_{5700}$ -Bulk-Netzwerk (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.50, Bulkform); b) SAXS-Messung eines  $\text{PBIN}_{5700}$  (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.50, Bulkform); c) REM-Aufnahme einer in flüssigen Stickstoff erzeugten Bruchfläche eines  $\text{PBIN}_{5500}$ -Filmes (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.52, Filmform), nach Petranowitsch<sup>241</sup>; d) TEM-Aufnahme eines Mikrotomschnittes (Dicke  $\sim 100\text{-}120 \text{ nm}$ ) aus einem  $\text{PBIN}_{5700}$  (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.50, Bulkform).

Die Untersuchung eines dünnen Schnittes von einem repräsentativen  $\text{PBIN}_{5700}$  mittels eines Polarisationsmikroskops, zeigt sphärolith-ähnliche Strukturen (siehe *Abbildung 35a*), welche die bereits literaturbekannte Kristallinität von Ionen mit einer hohen Ladungsdichte ( $x,y = 2,2$  bis  $6,8$ ) bestätigen.<sup>257-259</sup> Die Analyse des identischen Netzwerkes mittels SAXS (siehe *Abbildung 35b*), zeigt Reflexe mit den dazugehörigen berechneten Abständen paralleler Gitterebenen bei  $2\theta$   $12.0^\circ$  ( $n = 0.7364 \text{ nm}$ ),  $13.5^\circ$  ( $n = 0.6551 \text{ nm}$ ),  $15.2^\circ$  ( $n = 0.5822 \text{ nm}$ ) und  $16.4^\circ$  ( $n = 0.5399 \text{ nm}$ ). Die Ebenen besitzen keine gleichmäßigen Abstände, so dass eine Kristallstruktur ausgeschlossen ist. Jedoch sind die Reflexe sehr diskret, was auf einen teilkristallinen oder flüssigkristallinen Zustand des  $\text{PBIN}$  schließen lässt.



Ergänzend wurden PBIN mittels REM und TEM betrachtet, um Informationen über die Homogenität der Netzwerke zu erhalten. Die REM-Aufnahme einer in flüssigen Stickstoff erzeugten Bruchfläche eines PBIN (siehe **Abbildung 35c**), zeigt eine glatte Bruchfläche ohne erkennbare signifikante Strukturierungen, was ein Hinweis auf ein homogenes Netzwerk ist. Ebenso zeigt die TEM-Aufnahme (**Abbildung 35d**) des Netzwerkes keine besonderen auffälligen Strukturen, welche auf ein inhomogenes Netzwerk hindeuten. Die Aufnahme zeigt jedoch leichte Masskontraste, als helle und dunklere Bereiche, wobei die dunkleren Bereiche mittels EDX als Brom-haltig identifiziert wurden (siehe **Abbildung 61b** im Anhang; Seite 170). Die hergestellten PBIN konnten somit mittels REM und TEM als homogene Netzwerke charakterisiert werden, wobei durch die Analyse mittels Polarisationsmikroskop und SAXS, Kristallinität nachgewiesen wird.



**Abbildung 36: IR-Spektren Vergleich von Br-PBI<sub>5700</sub>-Br (a) mit PBIN<sub>5700</sub> mit einem molaren NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.73 (b) und 1.50 (c).**

Ergänzend zeigt der Vergleich der IR-Spektren (siehe **Abbildung 36**) des Ausgangspolymers Br-PBI<sub>5700</sub>-Br mit denen der daraus hergestellten PBIN<sub>5700</sub> mit unterschiedlichen molaren NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnissen, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Banden sowie deren Intensitäten. So besitzen alle drei Spektren charakteristische Banden bei 445  $\text{cm}^{-1}$  (C-N), 761 (C-Br), 892  $\text{cm}^{-1}$  (N<sup>+</sup>-C), 993  $\text{cm}^{-1}$  (C=CH, N<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 1010  $\text{cm}^{-1}$  (N<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 1423-1469  $\text{cm}^{-1}$  (N<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 1590-1633  $\text{cm}^{-1}$  (C=C), 2063  $\text{cm}^{-1}$  (-N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>), 2850-2893  $\text{cm}^{-1}$  (CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>), 2921-2965  $\text{cm}^{-1}$  (C-C-H), 3013-3025  $\text{cm}^{-1}$  (C=C-H) und 3418-3463  $\text{cm}^{-1}$  (N<sup>+</sup>H, OH).<sup>250, 260</sup>

Die geringfügigen Unterschiede weisen darauf hin, dass es bei der Vernetzung des Br-PBI<sub>5700</sub>-Br zu keiner chemischen Veränderungen des PBI-Rückgrats kommt. Die Stabilität der Netzwerke in den Quellversuchen zeigt eine erfolgreiche Netzwerkbildung, wobei der Quellgrad abhängig vom molaren Verhältnis der NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppen ist. Die IR-Spektroskopie ermöglicht jedoch keine Unterscheidung

zwischen dem reinen Polymer, den PBIN oder bezüglich des Vernetzungsgrades (molares Verhältnis der  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppen).

Im Hinblick auf die Herstellung von interpenetrierenden Netzwerken mit einer einstellbaren Zusammensetzung zwischen den beiden Hauptnetzwerken, ist die Kontrolle des Quellgrades des ersten Netzwerkes (PBIN) von entscheidender Bedeutung. Der Quellgrad eines Netzwerkes hängt von einer Vielzahl an Parametern ab, wie z.B. der Netzwerkstruktur (Molekulargewicht und Struktur der Netzwurkbildner, hydrophil/hydrophob, geladen/ungeladen, Vernetzungsgrad) und dem Quellmedium (Lösungsmittel, Temperatur, pH).<sup>261-262</sup>

Die Wahl der richtigen Parameter ermöglicht die Steuerung der Quelleigenschaften. Für die hergestellten PBIN sollte der Einfluss des Molekulargewichts des  $\text{PBI}_n$  und Vernetzergehaltes (molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnisses) identifiziert werden. Dazu wurden die massenbezogenen Quellgrade ( $Q_m$ ) in bidestillierten Wasser für verschiedene molare  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnisse und drei verschiedene  $\text{PBI}_n$  (Br- $\text{PBI}_{3100}$ -Br, Br- $\text{PBI}_{5700}$ -Br, Br- $\text{PBI}_{7000}$ -Br) untersucht.

Die Ergebnisse bestätigen, wie erwartet, dass alle drei Ausgangspolymere tatsächlich vernetzbar sind (siehe **Abbildung 37a**). Idealerweise sollte der höchste Vernetzgrad, jeweils bei einem molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1:1 liegen, da dann alle Endgruppen reagiert haben sollten. Dies sollte dann zu der geringsten Quellung in Wasser führen. Wie **Abbildung 37a** zu sehen ist, steigt der minimale Quellgrad, d.h. dort wo die höchste Vernetzung vorliegt, erwartungsgemäß mit steigenden Molekulargewicht des Ausgangs-PBI von  $Q_m = 20.4$  (Br- $\text{PBI}_{3100}$ -Br), über  $Q_m = 40.3$  (Br- $\text{PBI}_{5700}$ -Br) auf  $Q_m = 58.2$  (Br- $\text{PBI}_{7000}$ -Br) an. Jedoch wird die minimale Quellung nicht bei einem molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1:1 erreicht, sondern bei einem  $\text{NH}_2$ -Gruppen-Überschuss. Dies kann durch Nebenreaktionen der primären Aminogruppen des TREN mit dem PBI-Rückgrat erklärt werden. Dabei könnte als Nebenreaktion eine Kettenspaltung durch Transaminierung auftreten, wie sie bereits bei den sequentiellen Synthesen beobachtet wurde. Wie in **Abbildung 37b** dargestellt, würde diese Nebenreaktion zur Bildung von unvernetzten Fragmenten und freien, unvernetzten Endgruppen im PBIN-Volumen führen.

Des Weiteren zeigen die Vernetzungsexperimente, dass die Variation des molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnisses und des Molekulargewichts der Br- $\text{PBI}_x$ -Br, die Steuerung des Quellgrades über einen breiten Bereich von  $Q_m = 20 - 170$  ermöglicht. Diese Steuerung stellt einen entscheidenden Faktor für die Einstellung verschiedener Gehalte der antimikrobiellen Komponente bei der Herstellung von interpenetrierenden Netzwerken dar. Der Unterschied zwischen Br- $\text{PBI}_{5700}$ -Br und Br- $\text{PBI}_{7000}$ -Br ist jedoch nicht signifikant. Zudem konnte kein signifikanter Einfluss der Temperatur ( $4^\circ\text{C} - 37^\circ\text{C}$ ), des Aufgabevolumens ( $100 - 1000 \mu\text{L}$ ) oder der Größe der Kristalle im PBIN auf den Quellgrad der Netzwerke festgestellt werden.

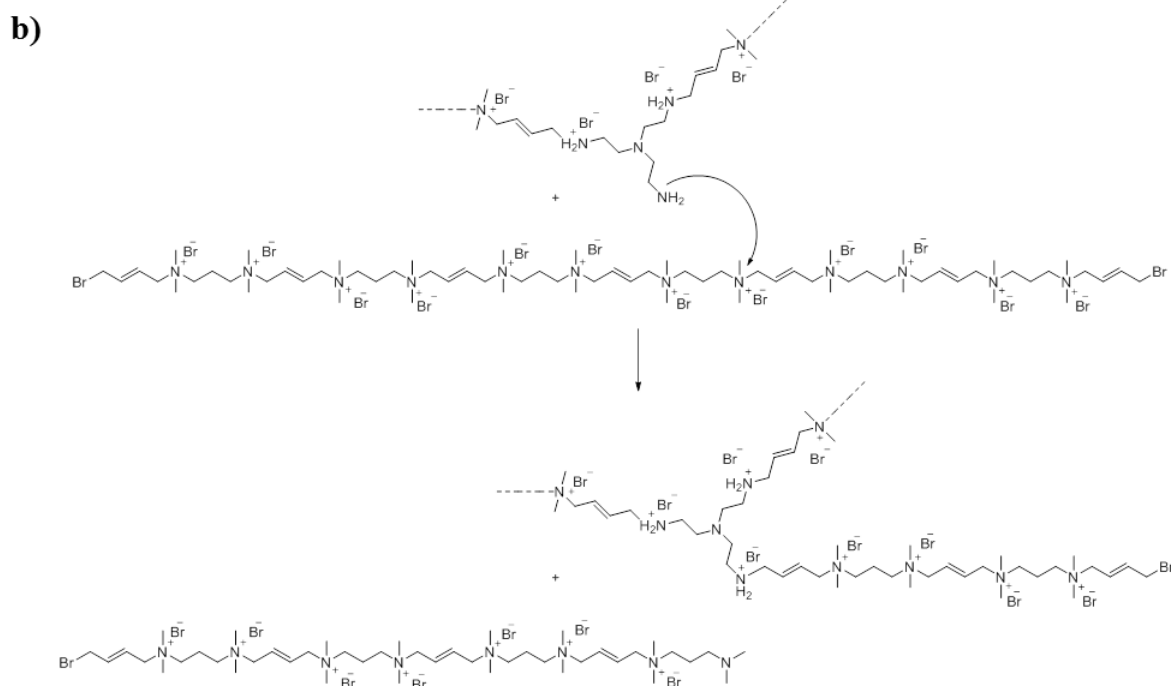
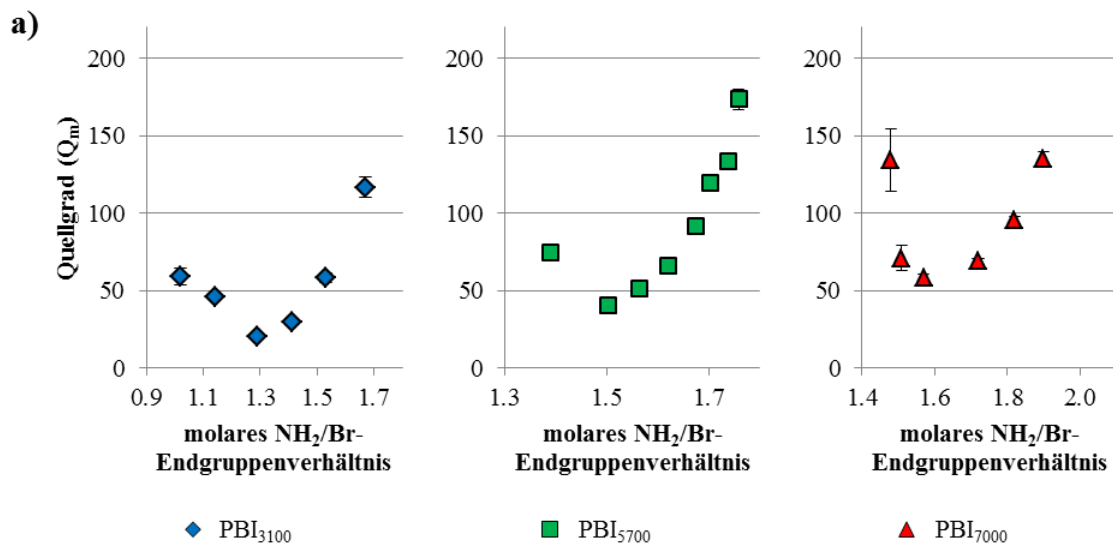
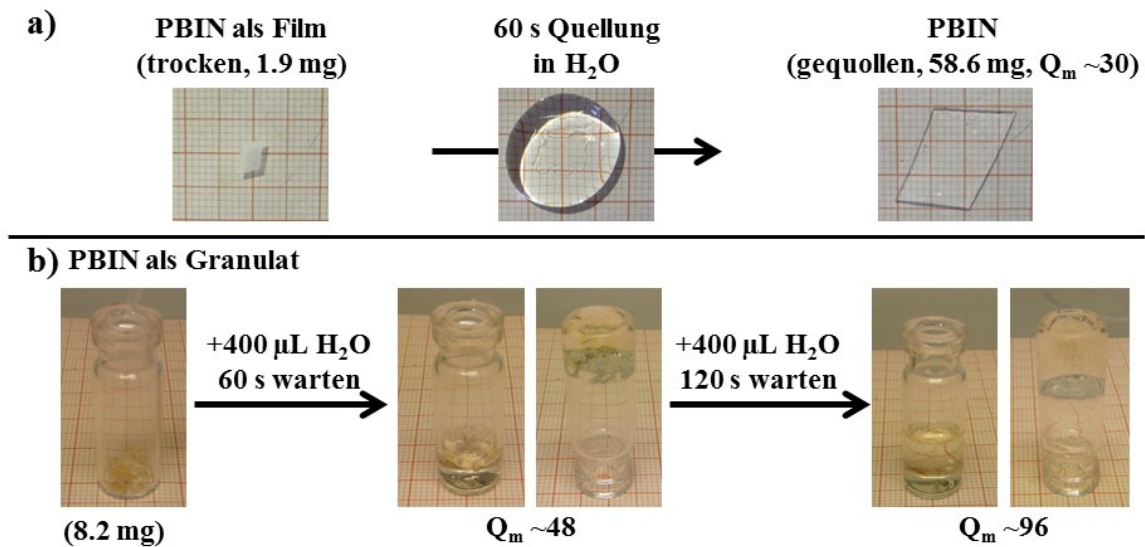


Abbildung 37: a) Abhängigkeit des Quellgrades ( $Q_m$ ) in bidestillierten Wasser für PBIN mit verschiedenen molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnissen für  $\text{Br-PBI}_{3100}\text{-Br}$ ,  $\text{Br-PBI}_{5700}\text{-Br}$  und  $\text{Br-PBI}_{7000}\text{-Br}$ . Der Quellgrad wurde nach 2 h bei Raumtemperatur ermittelt. Alle Messungen wurden als dreifach-Bestimmung durchgeführt und die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar. (Werte siehe Tabelle 32 im Anhang; Seite 168); b) Schema der Nebenreaktion (Kettenspaltung durch Transaminierung) für die Reaktion von  $\text{PBI}_n$  mit TREN zu PBIN.<sup>246</sup>

Des Weiteren wurde der Gelgehalt der PBIN, nach mehrfacher Quellung in Wasser und Ermittlung des Massenverlusts der trockenen Probe, ermittelt. Nach 5 Waschzyklen konnte kein Masseverlust mehr festgestellt werden. Der Gelgehalt der untersuchten  $\text{PBI}_{5700}$  lag zwischen  $\sim 60\text{-}75\text{ wt}\%$ . Diese vergleichsweise geringen Gelgehalte lassen sich auf die Kettenspaltungsreaktionen zurückführen. Der



hohe Quellgrad dieser antimikrobiellen Netzwerke, macht sie zu besonders spannenden Materialien auf dem Gebiet der Superabsorber.



**Abbildung 38:** a) Aufnahmen des schnellen Quellprozesses in Wasser eines PBIN<sub>5700</sub> als Film (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.50); b) Aufnahmen des schnellen Quellprozess in Wasser für eines granulierten PBIN<sub>5700</sub> (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.74).<sup>246</sup>

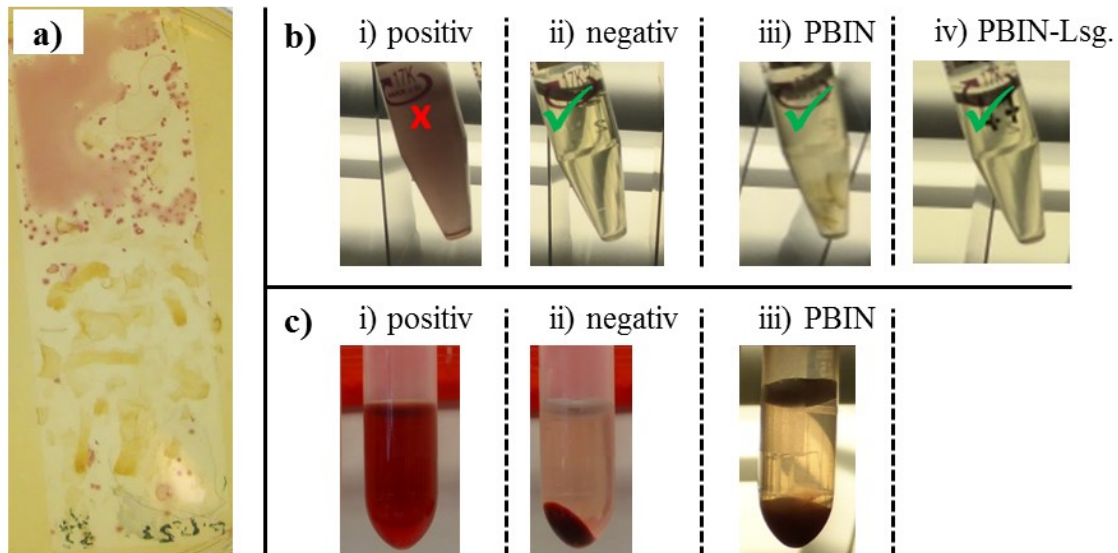
Ergänzend veranschaulichen die Experimente in *Abbildung 38* mit einem Stückchen PBIN-Film und PBIN-Granulat, welches durch zerkleinern eines Bulk-PBIN erhalten wurde, die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme. Der PBIN<sub>5700</sub>-Film (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.50) nimmt innerhalb von nur 60 s, das 30-fache seines Eigengewichts an Wasser bei Raumtemperatur auf. Das PBIN<sub>5700</sub>-Granulat (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.74) nimmt sogar das 48-fache seines Eigengewichts an Wasser in der gleichen Zeit und das 96-fache nach nur 2 Minuten, unter Bildung eines Hydrogels, auf. Die schnelle Quellung der superabsorbierenden PBIN erklärt sich durch die starke Hydrophilie des hochgeladenen PBI<sub>n</sub>, die zu idealen Polymer-Wasser-Wechselwirkungen führt.<sup>263</sup>

Die PBIN sind im trockenen Zustand eher spröde und im gequollenen Zustand sehr fragil und wenig belastbar. Für das am höchsten vernetzte PBIN<sub>5700</sub> (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.50) wurde im gequollenen Zustand ein Kompression-Modul von gerademal ~17 kPa ermittelt, bis es anschließend riss und zerbrach. In der Literatur sind nur wenige Kompressions-Module für gequollene Hydrogele bekannt, welche sehr vom Wassergehalt abhängen und so von kPa bis hin zu MPa reichen.<sup>264-266</sup>

Durch die Vernetzung von beidseitig bromfunktionalisiertes PBI<sub>n</sub> (Br-PBI<sub>x</sub>-Br) mittels TREN konnten erfolgreich sehr schnell quellbare Superabsorber hergestellt werden. Der Quellgrad der Materialien lässt sich abhängig vom Molekulargewicht des PBI<sub>n</sub> und dem molaren Polymer/Vernetzer-Verhältnis einstellen. Durch die Umsetzung der PBIN zu interpenetrierenden Hydrogelen (IPH) sollten im Folgenden, unter anderem, die mechanischen Eigenschaften und damit die Handhabung verbessert und der Anwendungsbereich des antimikrobiellen, fragilen Materials vergrößert werden.

## 4.2.2.1.2 Antimikrobielle und hämolytische Untersuchung von PBIN

Neben der in **Abschnitt 4.2.1.1** erfolgten chemischen und strukturellen Charakterisierung, behandelt dieser Abschnitt nun die antimikrobiellen und hämolytischen Eigenschaften der PBIN, anhand von hochvernetzten PBIN. Dabei ist besonders die antimikrobielle Aktivität der PBIN nach mehreren Tagen waschen mit jeweils täglichen Wasserwechseln von Interesse.



**Abbildung 39:** a) Aufnahme von mit  $\text{PBI}_{5500}$ -Filmen (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.44) auf einem Glasobjektträger nach 5 Tagen Waschung in Wasser, welcher nach dem Besprühen mit *E. coli*, in Nähragar eingebettet, 16 h bei 37 °C inkubiert und mit TTC angefärbt wurde, nach Petranowitsch<sup>241</sup>; b) Aufnahmen von 15 mL Zentrifugationsröhrchen gefüllt mit jeweils 4 mL Nährmedium: i) angeimpft mit  $2.5 \cdot 10^4$  *S. aureus* Zellen/mL und über Nacht bei 37 °C inkubiert, ii) ohne Zellen über Nacht bei 37 °C inkubiert, iii) 6 mg  $\text{PBIN}_{5700}$  (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis 1.50, nach 5-Waschzyklen in Wasser) mit 10  $\mu\text{L}$  *S. aureus* Suspension in Nährmedium ( $10^7$  Zellen/mL) für 10 min beladen, in Nährmedium gegeben und über Nacht bei 37 °C inkubiert, iv) Nährmedium worin zuvor 6 mg  $\text{PBIN}_{5700}$  (~50 mm<sup>2</sup>, molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis 1.50, nach 5-Waschzyklen in Wasser) für 24 h bei 37 °C inkubiert wurde, das PBIN entnommen, mit 10  $\mu\text{L}$  *S. aureus* Suspension in Nährmedium ( $10^7$  Zellen/mL) angeimpft und über Nacht bei 37 °C inkubiert wurden. Die Aufnahmen erfolgten nach 16 h Inkubation bei 37 °C und anfärben mit TTC<sup>246</sup>; c) Aufnahmen von Eppendorfcups gefüllt mit 800  $\mu\text{L}$  CPD-Puffer und 200  $\mu\text{L}$  Erythrozytenkonzentrat: i) mit 2  $\mu\text{L}$  Triton-X, ii) ohne Zusätze und iii) mit 13 mg  $\text{PBIN}_{5700}$  (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.50) jeweils nach 3 h Inkubation bei 37 °C und 10 min zentrifugieren bei 13500 U/min.

Zunächst erfolgte die Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität mittels des Bakterienprühtests, wobei die Proben mit einer Bakteriensuspension ( $10^6$  Zellen/mL in bidest. Wasser) besprüht, 60 s getrocknet, mit Nähragar überschichtet, über Nacht bei 37 °C inkubiert und abschließend mit TTC angefärbt wurden. Getestet wurden  $\text{PBIN}_{5500}$ -Filme (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis 1.50), nach 5 Tagen Waschung in Wasser bei Raumtemperatur, gegen *E. coli* und *S. aureus*. Dabei zeigten alle untersuchten PBIN gegen *E. coli* und *S. aureus* eine antimikrobielle Aktivität (siehe **Abbildung 39a**), was auf eine längerfristige antimikrobielle Aktivität der gewaschenen PBIN hinwies. Jedoch führt die Waschung und die gefolgte Trocknung, vor den eigentlichen Prühtests, zu einem

Zerbrechen der fragilen Netzwerke auf den Glasobjektträgern. Die unbewachsenen Bereiche zwischen den zerfallenen Stücken der Proben, deuten auf eine Freisetzung biozider Bestandteile hin. Darunter gibt es aber auch Stücke, an denen direkt Kolonien wuchsen, was jedoch gegen eine Freisetzung spricht. Es gilt jedoch zu beachten, dass die Netzwerke im ungequollenen Zustand besprüht, mit Agar überschichtet und inkubiert wurden, d.h. es fand ein Quellvorgang während der Inkubation statt. Diese Flüssigkeitsaufnahme der Netzwerke, während der Inkubation, kann einer Freisetzung entgegenwirken und damit die Ausbildung eines möglichen Hemmhofs unterdrücken. Durch die Verteilung der gewaschenen Proben auf dem Objektträger und der Quellung während der Inkubation, kann keine klare Aussage über eine mögliche Freisetzung erfolgen.

Alternativ zu den Bakterien Sprühtests, wurden zwei Abwandlungen des „shaking flask“-Test mit *S. aureus* durchgeführt. Zur Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität der PBIN selbst, wurden jeweils 6 mg PBIN direkt mit 10 µL einer Bakteriensuspension ( $10^7$  Zellen/mL) betropft, die Keime 10 min adhären lassen und dann in jeweils 4 mL Nährmedium über Nacht bei 37 °C inkubiert. Zusätzlich wurden die PBIN auf eine mögliche Freisetzung biozider Bestandteile untersucht. Dazu wurden jeweils 6 mg PBIN für 24 h bei 37 °C in 4 mL Nährmedium inkubiert, das PBIN abgetrennt, die Lösung mit 10 µL einer Bakteriensuspension ( $10^7$  Zellen/mL) angeimpft und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Alle Proben beider Reihen wurden abschließend mit TTC angefärbt.

Alle untersuchten Proben zeigen eine antimikrobielle Aktivität gegenüber *S. aureus*, (siehe **Abbildung 39b**) was analog zum Sprühtest die antimikrobielle Aktivität der PBIN bestätigt. Trotz der Waschung der PBIN für 5 Tage, zeigt die Untersuchung der Lösung, nach 24 h Inkubation mit PBIN, eine antimikrobielle Aktivität. Das bedeutet, dass die freigesetzte PBI-Konzentration oberhalb des MIC-Wertes ( $\text{MIC}_{S. aureus} = 35 \mu\text{g/mL}$ ) liegt. Die geringe Impfkonzentration von  $2.5 \cdot 10^4$  Zellen/mL, gegenüber  $10^5$  Zellen/mL im MIC-Test, sollte keinen essentiellen Einfluss haben, da Untersuchungen für PBI keinen signifikanten Inokulum-Effekt zeigen.<sup>17</sup> Somit müssen die PBIN als Freisetzungssystem eingestuft werden, obwohl die PBIN nach 5 maliger Waschung keinen erkennbaren Massenverlust mehr aufwiesen. Eine zusätzliche kontakt-aktive Wirkung könnte jedoch ebenfalls erfolgen.

Neben den antimikrobiellen Eigenschaften wurde auch die Hämokompatibilität gegenüber roten Schweineblutzellen (RBC) untersucht. Dazu wurde die Hämokompatibilität in CPD-Puffer von ungewaschenen, gequollenen PBIN<sub>5700</sub> (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.50) für den direkten Kontakt (3 h bei 37 °C) mit RBC untersucht. Zusätzlich wurde das Medium, worin die Netzwerke zuvor 64 h gequollen wurden, in analoger Weise untersucht. Sowohl für den direkten Kontakt der PBIN, als auch für das Quellmedium, wurden bei allen Proben RBC Lysen von <1% ermittelt. (siehe **Abbildung 39c**; Werte siehe **Tabelle 42** im Anhang, Seite 178). Damit weisen die PBIN, wie das reine PBI<sub>n</sub> ( $\text{HC}_{50}(\text{Br-PBI}_{5700}\text{-Br}) = >51800 \mu\text{g/mL}$ , mit einer Lyse <1%) auch, eine gute Hämokompatibilität für RBC auf.

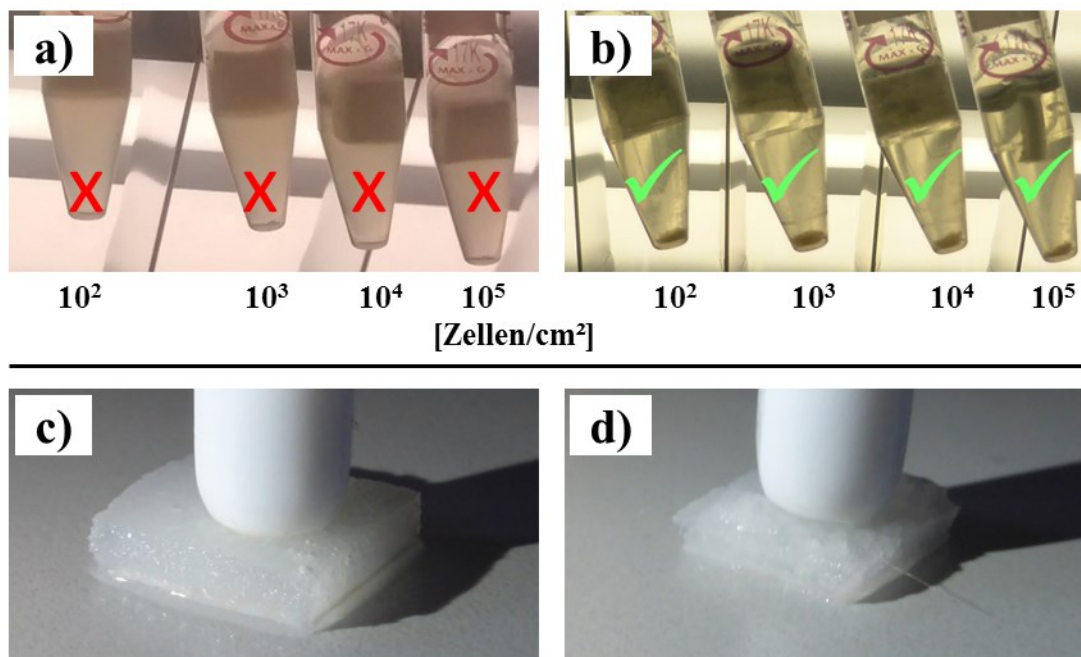
Mit Hilfe des Bakterien-Sprühtest und den „shaking flask“ Tests kann die antimikrobielle Aktivität der in Wasser gewaschenen PBIN gegen Gram-positive (*S. aureus*) und Gram-negative (*E. coli*) Bakterienstämme nachgewiesen werden. Trotz der Waschungen weisen die antimikrobiellen Tests auf eine Freisetzung biozider Bestandteile hin, sodass für die fragilen PBIN ein Freisetzungsmechanismus angenommen wird. Des Weiteren zeigen die Netzwerke, mit einer Lyse von <1% für RBC, eine gute Hämokompatibilität. Die antimikrobiellen und hämokompatiblen Eigenschaften der PBIN mit Superabsorber-Eigenschaften, machen diese zu einem interessanten Material, z.B. als Additiv für Wundauflagen, für den medizinischen Bereich.

### 4.2.2.1.3 Antimikrobielle Ausrüstung von Wundauflagen mit PBIN

Wundauflagen stellen im medizinischen Bereich ein wichtiges, täglich verwendetes Medizinprodukt zur Wundversorgung dar, welches auch im privaten Bereich zum Einsatz kommt. Dabei stehen eine gute Aufnahme von freigesetztem Wundsekret und der Schutz der Wunde im Vordergrund. Wundauflagen wie Mull oder Schaumstoffe, halten die aufgenommene Flüssigkeit bei Druck, z.B. durch ein Kleidungsstück, nicht zurück. Zudem wird die Ausbreitung von Keimen, welche zu Infektionen führen können, auch nicht bekämpft. Damit stellen die antimikrobielle Ausrüstung und ein verbessertes Rückhaltevermögen, wichtige Aspekte für moderne Wundauflagen dar. Als mögliches Anwendungsbeispiel sollte daher PBIN zur Ausrüstung von handelsüblichen Schaumstoffwundauflagen (DracoFoam) der Firma Draco mit antimikrobiellen und superabsorbierenden Eigenschaften erprobt werden.

Aufgrund der feinporigen Struktur der Wundauflage, war es wichtig das PBIN für die Applikation möglichst fein zu zerkleinern, damit es nicht nur auf, sondern auch in die Poren des Materials eingebracht wird. Dazu wurde ein PBIN<sub>5700</sub> (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.74) in Wasser gequollen, mechanisch zerkleinert, gefriergetrocknet um ein feines Pulver erhalten. Für eine möglichst einfache Applikation wurde das zerkleinerte PBIN in Isopropanol ( $Q_m = 1.1$ ) aufgeschlämmt, dann durch Auftropfen gleichmäßig auf der Wundauflage verteilt und bei Raumtemperatur unter Schwenken getrocknet. Aus dem Trockengewicht der Wundauflage, vor und nach der Applikation, wurde eine Beladung von ~0.9 mg PBIN pro cm<sup>2</sup> berechnet. Als Referenzprobe, wurde eine Wundauflage analog mit purem Isopropanol behandelt. Für die Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften, wurden je Probe (1 cm<sup>2</sup>) 10 µL verschiedenen konzentrierter *S. aureus* Bakteriensuspensionen (10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup> Zellen/mL) aufgetropft, 10 min adhärirt und dann 24 h in 4 mL Nährboullion bei 37 °C inkubiert.

Alle Referenzproben zeigen ein Bakterienwachstum, wohingegen keine der mit PBIN beladenen Wundauflagen einen Bewuchs aufweist (siehe **Abbildung 40a + b**). Selbst gegenüber hohen Bakterienbeladungen mit 10<sup>5</sup> Zellen/cm<sup>2</sup> weisen die Wundauflagen eine antimikrobielle Wirkung gegen *S. aureus* auf.



**Abbildung 40:** a+b) Aufnahmen von 15 mL Zentrifugationsröhrchen mit jeweils 4 mL Nährboullion und darin für 24 h bei 37 °C inkubierten unbeladenen (a) und mit 0.9 mg/cm<sup>2</sup> PBIN<sub>5700</sub> (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.74) beladenen (b) Wundauflagen (1 cm<sup>2</sup>), welche vor der Inkubation mit jeweils 10 µL *S. aureus* Bakteriensuspension unterschiedlicher Zellkonzentrationen (10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup> Zellen/mL) angeimpft wurden; c+d) Aufnahmen des qualitativen Vergleichs für das Wasserrückhaltevermögen einer unbeladenen (c) mit einer mit 0.9 mg/cm<sup>2</sup> PBIN<sub>5700</sub> (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.74) beladenen (d), mit Wasser getränkten Wundauflage (1·1 cm) unter Belastung (9.3 g).

Wichtige Faktoren für Wundauflagen, sind die Aufrechterhaltung eines feuchten Milieus im Wundbereich, aber auch die Entfernung von überschüssigen Exsudat und toxischen Bestandteilen von der Wunde.<sup>203, 267</sup> Diese Faktoren hängen direkt mit dem Aufnahme- und Flüssigkeitsrückhaltevermögen der Wundauflage zusammen. Zur Untersuchung dessen, wurden Probekörper (1·1 cm) durch Auftropfen, maximal mit Wasser beladen. Anschließend wurde die Probe mit einem definierten Gewicht (9.3 g), zur Untersuchung des Wasserrückhaltevermögens, belastet. Die Flüssigkeitsaufnahmekapazität für Wasser lag bei der Referenz bei 14.6 ± 0.4 wt% und bei der mit PBIN beladenen Wundauflage bei 13.4±0.7 wt%, sodass kein signifikanter Unterschied festzustellen ist. Das Flüssigkeitsrückhaltevermögen ist qualitativ betrachtet, für die mit PBIN beladene Wundauflage besser, als für die unbeladene Wundauflage, was durch austretendes Wasser beurteilt wurde (siehe *Abbildung 40c + d*).

Durch die sehr einfache Beladung von Wundauflagen mit dem Superabsorber PBIN, können diese einerseits mit antimikrobiellen Eigenschaften zur Vermeidung von Wundinfektionen ausgestattet werden und andererseits das Flüssigkeitsrückhaltevermögen, bei einer nahezu gleichbleibenden Flüssigkeitsaufnahmekapazität, verbessert werden. Anhand der mit antimikrobiellen, hämokompatiblen PBIN beladenen Wundauflagen, kann ein erstes konkretes Anwendungsbeispiel für PBIN erfolgreich präsentiert werden

#### 4.2.2.2 Herstellung und Charakterisierung von interpenetrierenden Hydrogelen

Ziel der Versuche dieses Abschnittes war die Herstellung und Charakterisierung von interpenetrierenden, Hydrogelen (IPH). Die IPH sollten im Hinblick auf medizinische Anwendungen, antimikrobiell und möglichst zellkompatibel sein. Durch die Untersuchung verschiedener Mengen an PBIN (*Abschnitt 4.2.2.1*) in den IPH, sollte der für eine antimikrobielle Wirkung minimal notwendige PBIN-Gehalt ermittelt werden. Zudem sollten die Eigenschaften der IPH einstellbar sein.

Die Herstellung der IPH erfolgte auf sequentiellm Wege. Als Basis-Monomer in den verwendeten Acrylatlösungen, wurde das wasserlösliche 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) ausgewählt. Poly(2-Hydroxyethylacrylat) (PHEA) zeichnet sich durch seine hohe Kapazität zur Wasseraufnahme<sup>268-269</sup>, hohe Biokompatibilität<sup>270</sup> und geringe Zytotoxizität<sup>271</sup> aus und ist damit ein idealer Kandidat für pharmazeutische und biomedizinische Anwendungen<sup>272-275</sup>. Um IPH mit unterschiedlichen Eigenschaften zu generieren und verschiedene PBIN Gehalte im IPH zu erzeugen, wurden für die Herstellung Acrylatlösungen mit HEA als Monomer, mit verschiedenen Gehalten des Vernetzers Glyceroldimethacrylat (GDMA) sowie unterschiedlich vernetzte PBIN<sub>5700</sub> eingesetzt. Als Initiatoren wurden Campherchinon und Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat ausgewählt, um eine schnelle, photochemische Vernetzung ohne Verwendung von Schutzgas (Luftausschluss) zu gewährleisten.<sup>276</sup> Die hergestellten IPH sind im Folgenden als IPH<sub>X(Y)</sub> benannt, wobei der Index X das molare NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis des eingesetzten PBIN und (Y) den GDMA-Gehalt in wt%, bezogen auf HEA in der Acrylatlösung, angibt.

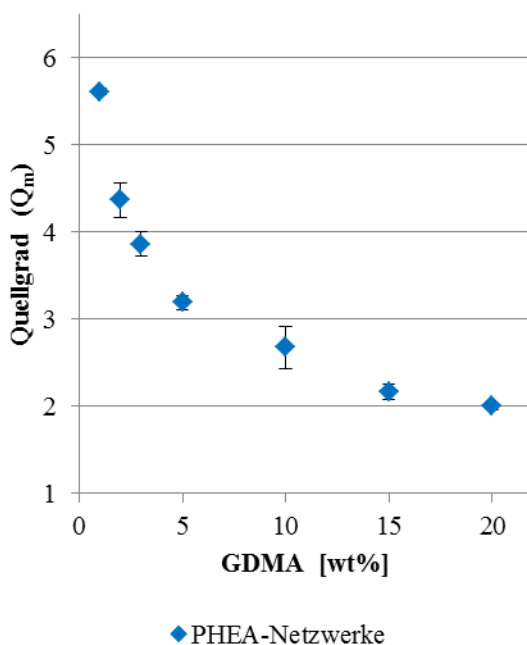
Um einen möglichst geringen Anteil des hydrophilen, antimikrobiellen PBIN im finalen IPH bei der sequentiellen Herstellung zu erzielen, ist es wichtig das PBIN möglichst hoch in der Acrylatlösung für das zweite Netzwerk zu quellen. Da die PBIN in Mischungen aus Acrylat-Monomeren und Initiatoren keine Quellung zeigen<sup>241</sup>, werden diese mit Wasser gemischt. Wasser als Lösungsmittel wurde gewählt, da die PBIN bereits darin Superabsorber-Eigenschaften zeigen und weil Wasser in Hinblick auf medizinische Anwendungen unbedenklich ist.

Aufgrund der limitierten Mischbarkeit von Wasser mit GDMA und dem Ziel nur einphasige Acrylatlösungen zu verwenden, wurden unterschiedliche Wasser-Acrylat-Mischungsverhältnisse eingesetzt. Die Acrylatlösungen mit 0.5 - 5 wt% GDMA enthalten 50 wt% Wasser und die Acrylatlösungen mit 7.5 – 10 wt% GDMA enthalten 43 wt% Wasser.

Zunächst galt es, durch die Untersuchung verschiedener GDMA-Vernetzergehalte in PHEA<sub>(Y)</sub>-Netzwerken, ein für die IPH-Herstellung geeignetes System auszuwählen. Der Index Y gibt dabei den GDMA-Gehalt in wt% bezogen auf HEA in der Acrylatlösung an. Dabei sollte überprüft werden, ob trotz des relativ hohen Wasseranteils in den Acrylatlösungen, überhaupt Netzwerke erhalten werden. Dazu wurden wässrige HEA-Acrylatlösungen (Details siehe *Tabelle 28*; Seite 145) mit verschiedenen GDMA-Gehalten (1, 3, 5, 10, 15, 20 wt% bezogen auf HEA) sowie Initiatoren photochemisch polymerisiert. Die Vernetzung fand in einer Heraflash Polymerisationskammer für 3·180 s statt.



Aus den gewählten Acrylatlösungen, konnten in allen Fällen in Wasser unlösliche Netzwerke hergestellt werden, sodass der gewählte Wassergehalt keinen limitierenden Faktor für die Netzwerkbildung darstellt. Die erhaltenen PHEA-Netzwerke waren bis zu einem GDMA-Gehalt von 10 wt% transparent, bei 15 wt% leicht trüb und bei 20 wt% sogar opak (Details siehe **Tabelle 33** im Anhang; Seite 169).



**Abbildung 41:** Quellgrad ( $Q_m$ ) nach 72 h in Wasser für PHEA-Netzwerke in Abhängigkeit vom GDMA-Gehalt. Die Messungen wurden als vierfach-Bestimmung durchgeführt und die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar (Werte siehe Tabelle 33 im Anhang; Seite 169).

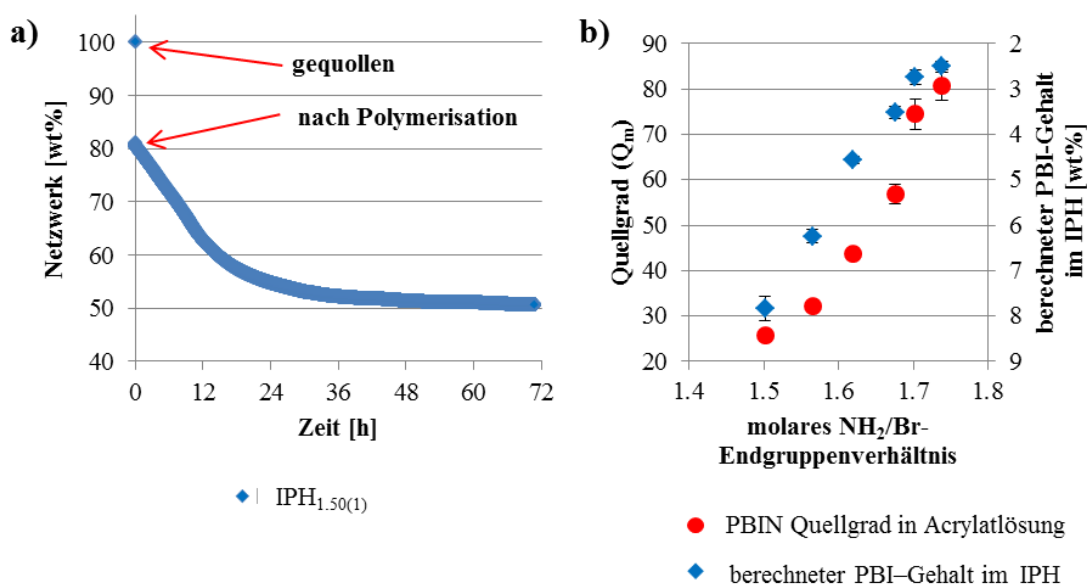
Als wichtiger Faktor für IPH, wurde anschließend der massebezogene Quellgrad ( $Q_m$ ) der PHEA-Netzwerke in Wasser untersucht. Die Auftragung des Quellgrades in Wasser gegen den GDMA-Gehalt (siehe **Abbildung 41**), zeigt deutlich eine Abnahme des Quellgrades, mit steigendem Vernetzergehalt von  $Q_m = 5.6 \pm 0.1$  der PHEA<sub>(1)</sub>-Netzwerke auf  $Q_m = 2.0 \pm 0.1$  für PHEA<sub>(20)</sub>-Netzwerke. Damit ist die Einstellung der Quelleigenschaften in Wasser über die Variation des GDMA-Gehaltes im Bereich von  $Q_m = 2.0 - 5.6$  möglich.

Mit dem Ziel, die Wasseraufnahmekapazität des Superabsorbers (PBIN) im höchst möglichen Maße auf die resultierenden IPH zu übertragen, wurde für die folgenden Untersuchungen als zweites Netzwerk PHEA<sub>(1)</sub> gewählt, da es mit dem geringsten GDMA-Gehalt von 1 wt% die höchsten Quellgrade aufwies. In den Quellexperimenten mit PBIN in Wasser, zeigten sich nach 2 h und 24 h Quellung identische Quellgrade, sodass die Netzwerke bereits nach 2 h die Gleichgewichtsquellung erreichen. Um den Zustand der Gleichgewichtsquellung für die PBIN in den komplexen Acrylatlösungen ebenso zu erreichen, wurden diese jeweils 24 h gequollen, bevor sie photochemisch vernetzt wurden.

Ausgehend von verschiedenen hoch vernetzten PBIN<sub>5700</sub>, welche unterschiedliche Quellgrade besitzen, sollten unterschiedliche PBIN-Gehalte in den IPH eingestellt werden. Eine Reihe ausgewählter

PBIN<sub>5700</sub> mit molaren NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnissen von 1.50 - 1.74 wurde dazu jeweils 24 h unter Lichtausschluss in einer Acrylatlösung mit 1 wt% GDMA gequollen, dann entnommen, überschüssige Lösung wurde entfernt, die Netzwerke wurden gewogen (Bestimmung von Q<sub>m</sub>), 3·180 s in einer Polymerisationskammer vernetzt und bis zur Massenkonstanz getrocknet.

Ein Wägungsexperiment, wobei das Gewicht einer Probe konstant verfolgt wurde, zeigt die Massenkonstanz des Netzwerkes nach ~72 h bei Raumtemperatur. Während der Vernetzung und der Trocknung (siehe *Abbildung 42a*) verlieren die Netzwerke jeweils 49.6 wt% des Gewichts gegenüber des gequollenen Zustands, sodass nahezu die komplette Menge (>99 wt%) des in der Monomerlösung befindlichen Wassers aus dem IPH entweicht und damit die Trocknung erfolgreich ist.



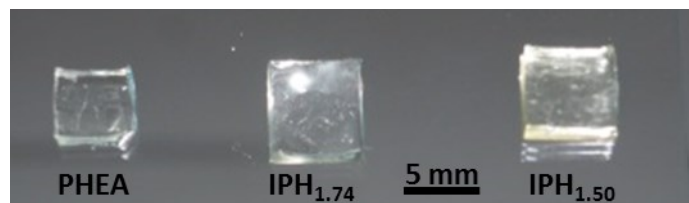
**Abbildung 42:** a) Gewichtsabnahme eines PBIN<sub>1.50</sub>, vom in einer wässrigen Acrylatlösung mit 1 wt% GDMA gequollenen Zustand (3444.8 mg), über die Vernetzung in der Heraeus-Polymerisationskammer (3·180s) und der Trocknung bei Raumtemperatur bis zur Massenkonstanz (1742 mg) des finalen IPH<sub>1.50(1)</sub>; b) Quellgrad (Q<sub>m</sub>, rot) von PBIN<sub>5700</sub> in einer wässrigen Acrylatlösung mit 1% von GDMA und dem daraus berechneten PBI-Gehalt (blau) im resultierenden IPH. Die Messungen wurden als vierfach-Bestimmung durchgeführt und die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar (Werte siehe Tabelle 32 im Anhang; Seite 168).

Die Bestimmungen der massebezogenen Quellgrade der PBIN<sub>5700</sub> in wässrigen Acrylatlösungen mit 1 wt% GDMA, ergeben Werte von Q<sub>m</sub> = 25.6 ± 0.9 (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis = 1.50) bis zu Q<sub>m</sub> = 80.6 ± 2.5 (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis = 1.74) (siehe *Abbildung 42b, rot*). Der Verlauf ist ähnlich zu dem Quellverhalten der Netzwerke in Wasser, wobei der Quellgrad, bedingt durch höheren unpolaren Monomeranteil im Quellmedium, jedoch um 36 - 40% geringer ausfällt. Ausgehend vom Gewicht des eingesetzten PBIN vor der Quellung, dem Gewicht im gequollenen Zustand und dass das während der Quellung aufgenommene Wasser, nach der Trocknung komplett entweicht, wurde der Gehalt an PBI in den erhaltenen IPH berechnet.



Die berechneten PBI-Gehalte sind in **Abbildung 42a** in blau dargestellt und zeigen ein dem Quellgrad komplementäres Verhalten. Den höchsten PBIN-Gehalt besitzt das  $\text{IPH}_{1.50(1)}$  mit  $7.8 \pm 0.3$ , welcher mit sinkenden Vernetzungsgrad des PBIN auf  $2.5 \pm 0.1$  für das  $\text{IPH}_{1.74(1)}$  fällt. Somit kann der PBIN-Gehalt im IPH, ausgehend von verschiedenen molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnissen in den PBIN, zwischen  $\sim 2 - 8$  wt% eingestellt werden.

Für alle weiteren Untersuchungen wurden die Netzwerke mit dem kleinsten und höchsten PBIN-Gehalt ( $\text{IPH}_{1.74}$  und  $\text{IPH}_{1.50}$ ) ausgewählt, da diese im Vergleich die größten Unterschiede und damit den Einfluss des PBI-Gehaltes auf Eigenschaftsveränderungen der IPH am besten zeigen sollten. Um einerseits Hydrogele mit einer hohen Flüssigkeitsaufnahmekapazität herzustellen, aber zudem den Einfluss des Acrylatvernetzers (GDMA) auf die Eigenschaften von IPHs zu untersuchen, wurden auf Basis der ausgewählten  $\text{PBIN}_{5700}$ , (molares  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis von 1.50 und 1.74) Hydrogele aus Acrylatlösungen mit 1, 3, und 5 wt% Vernetzer (GDMA) hergestellt. Sowohl die PHEA-Netzwerke (Referenz), als auch alle  $\text{IPH}_{X(1)}$ -Netzwerke waren farblos und transparent (siehe **Abbildung 43**).



**Abbildung 43: Aufnahme typischer PHEA<sub>(1)</sub>-, IPH<sub>1.74(1)</sub>- und IPH<sub>1.50(1)</sub> Netzwerke im trockenen Zustand.**

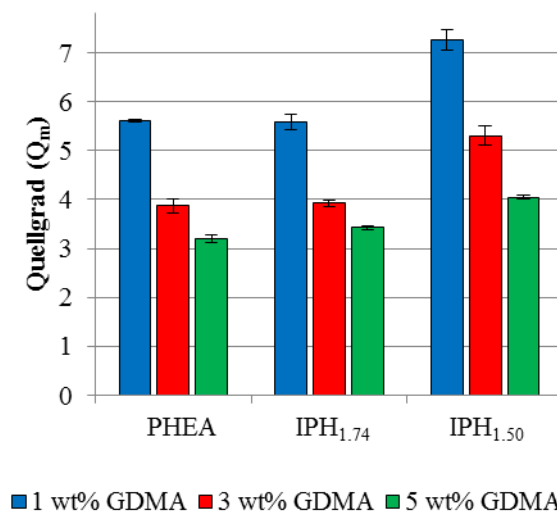
Für jedes hergestellte Netzwerk wurde dabei der Quellgrad in der Acrylatlösung und PBIN-Gehalt im IPH berechnet. Dabei zeigte sich, dass die Quellgrade in den komplexen Acrylatlösungen (HEA, GDMA, Wasser, Campherchinon, Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat) und damit die PBIN-Gehalte mehr schwankten, als es sich in der zuvor durchgeführten Modellreihe (**Abbildung 42b**) andeutete. Die Quellgrade der  $\text{IPH}_{1.74}$  liegen dabei im Bereich von  $Q_m = 57 - 100$  und für  $\text{IPH}_{1.50}$  im Bereich von  $Q_m = 25 - 36$ . Dabei ist keine Abhängigkeit des Quellgrades der PBIN vom GDMA-Gehalt (1 - 5 wt%) in den Acrylatlösungen erkennbar. Die PBIN-Gehalte der getrockneten IPH bewegten sich somit für alle  $\text{IPH}_{1.74}$  zwischen 2.0 - 3.5 wt% und für alle  $\text{IPH}_{1.50}$  zwischen 5.5 - 7.8 wt%.

#### 4.2.2.3 Bestimmung der Quellgrade und der mechanischen Eigenschaften der Hydrogele

Ziel der Experimente dieses Abschnittes ist die Charakterisierung der Quelleigenschaften und mechanischen Eigenschaften von PHEA,  $\text{IPH}_{1.50}$  und  $\text{IPH}_{1.74}$  Netzwerken mit 1, 3 oder 5 wt% GDMA. Dabei wurde der Einfluss des PBIN-Gehaltes und des Acrylatvernetzers auf die Eigenschaften der Hydrogele untersucht.

Für die Untersuchung der Flüssigkeitsaufnahmekapazität, welche in Hinblick auf medizinische Anwendungen einen wichtigen Faktor darstellt, wurden Quellexperimente in bidestilliertem Wasser (bidest. Wasser) durchgeführt. Dabei wurde der Einfluss des PBI-Gehaltes auf den massebezogenen

Quellgrad ( $Q_m$ ), anhand der Netzwerke PHEA<sub>(1/3/5)</sub>- (Referenznetzwerke), IPH<sub>1.74(1/3/5)</sub> und IPH<sub>1.50(1/3/5)</sub> untersucht (siehe *Abbildung 44*).



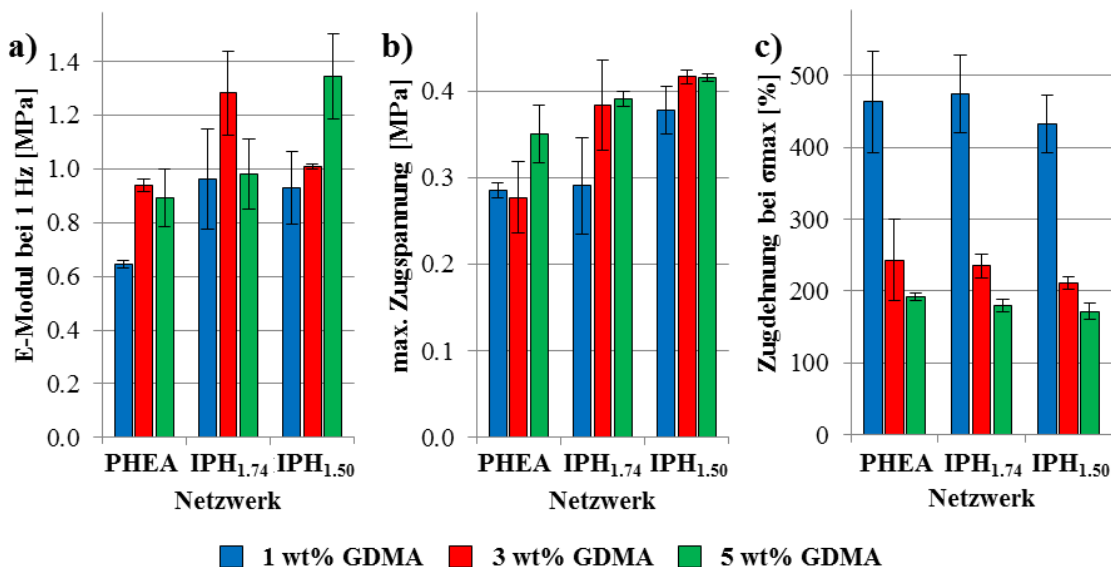
**Abbildung 44:** Abhängigkeit des Quellgrades ( $Q_m$ ) nach 72 h in bidest. Wasser für die Netzwerke PHEA, IPH<sub>1.74</sub> und IPH<sub>1.50</sub> mit 1 wt% (blau), 3 wt% (rot) und 5 wt% (grün) GDMA als Vernetzer. Die Messungen wurden als dreifach-Bestimmung durchgeführt und die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar (Werte siehe Tabelle 34 im Anhang; Seite 169).<sup>246</sup>

Für die PHEA- und IPH<sub>1.74</sub>-Netzwerke zeigen sich bei gleichem GDMA-Gehalt nahezu identische Quellgrade ( $Q_{m\ 1\ wt\% \ GDMA} \approx 5.6$ ,  $Q_{m\ 3\ wt\% \ GDMA} \approx 3.9$ ,  $Q_{m\ 5\ wt\% \ GDMA} \approx 3.3$ ). Im Gegensatz dazu weisen die jeweils dazugehörigen IPH<sub>1.50</sub>, einen um  $\sim 18 - 35\ wt\%$  höheren Quellgrad ( $Q_{m\ 1\ wt\% \ GDMA} \approx 7.3$ ,  $Q_{m\ 3\ wt\% \ GDMA} \approx 5.3$ ,  $Q_{m\ 5\ wt\% \ GDMA} \approx 4.0$ ) auf. Somit ist für den geringen PBIN-Gehalt in den IPH<sub>1.74</sub> kein Einfluss des PBIN auf den Quellgrad feststellbar. Erst für den höheren PBIN-Gehalt in den IPH<sub>1.50</sub>, kann ein Einfluss durch einen erhöhten Quellgrad nachgewiesen werden. Des Weiteren sinkt der Quellgrad jeweils für die PHEA, IPH<sub>1.74</sub> und IPH<sub>1.50</sub>-Netzwerke mit steigendem GDMA-Gehalt, von maximal  $Q_m = 7.3 \pm 0.2$  für IPH<sub>1.50(1)</sub> auf minimal  $Q_m = 3.2 \pm 0.1$  für PHEA<sub>(5)</sub>.

Der Gleichgewichtsquellgrad der PHEA-Netzwerke ist das Ergebnis der Quellung durch die Solvatisierung des Netzwerkes (Energiegewinn durch Entropie) und elastische Kräfte der nicht komplett getreckten Netzwerkketten, welche der Quellung entgegenwirken.<sup>263</sup> Bei den IPH, welche geladene Gruppen enthalten, wirken sich die Abstoßung gleichartiger Gruppen und der osmotische Druck ihrer Gegenionen zusätzlich positiv auf die Expansion des Netzwerkes bei der Quellung aus. Zudem gilt es zu berücksichtigen, dass die Netzwerkstruktur des Acrylates durch die Anwesenheit des PBIN-Netzwerkes gestört werden kann. Je höher der PBIN-Netzwerk-Anteil ist, desto höher sollte dessen Einfluss sein. Das die IPH<sub>1.74</sub>-Netzwerke nahezu identische Quellgrade wie die PHEA-Netzwerke aufweisen, lässt sich einerseits auf eine geringe Störung, der im Vergleich deutlich geringer gequollenen reinen PHEA-Netzwerke, zurückführen. Zum anderen scheinen durch den geringen PBIN-Netzwerkanteil und den damit verbundenen Abstand der PBI-Polymerketten,

die abstoßenden Kräfte der quartären Ammoniumgruppen und zudem der osmotische Druck der Bromionen geringer zu sein. Diese Kräfte müssen so gering sein, dass der Gleichgewichtsquellzustand gegenüber dem somit dominierenden PHEA-Netzwerk nicht signifikant beeinflusst wird. Bei den IPH<sub>1,50</sub>-Netzwerken ist der Gehalt des PBIN-Netzwerkes mehr als doppelt so hoch, sodass es zu einer höheren Störung des PHEA-Netzwerkes kommen kann. Zudem liegen die quartären Ammoniumgruppen näher zusammen, was die abstoßenden Kräfte erhöht. Die erhöhte Anzahl an Bromionen, gegenüber dem IPH<sub>1,74</sub>, erhöht zudem den osmotischen Druck. Die Kombination der genannten Einflüsse ist vermutlich die Ursache für den um ~25 - 35% höheren Quellgrad der IPH<sub>1,50</sub>-Netzwerke gegenüber den PHEA- und IPH<sub>1,74</sub>-Netzwerken. Es kann gezeigt werden, dass es durch die Kontrolle der PBIN- oder/und GDMA-Gehalte möglich ist, den Quellgrad in Wasser der IPH im Bereich von  $Q_m = 3.2$  bis 7.3 einzustellen. Der Gelgehalt, welcher nach mehrfacher Quellung in Wasser und Trocknung ermittelt wurde, liegt zwischen 86 - 93 wt%, was für eine erfolgreiche Vernetzung spricht.

Des Weiteren sollte der Einfluss des PBIN im IPH auf die mechanischen Eigenschaften der Netzwerke untersucht werden. Dazu wurden Messungen des E-Moduls mittels dynamisch-mechanischer Analyse (DMA), der maximalen Zugspannung mittels Zugprüfung und der Zugdehnung bei maximaler Zugspannung mittels Zugprüfung an trockenen PHEA<sub>(1/3/5)</sub>-, IPH<sub>1,74(1/3/5)</sub>- und IPH<sub>1,50(1/3/5)</sub>-Netzwerken durchgeführt (siehe *Abbildung 45*).

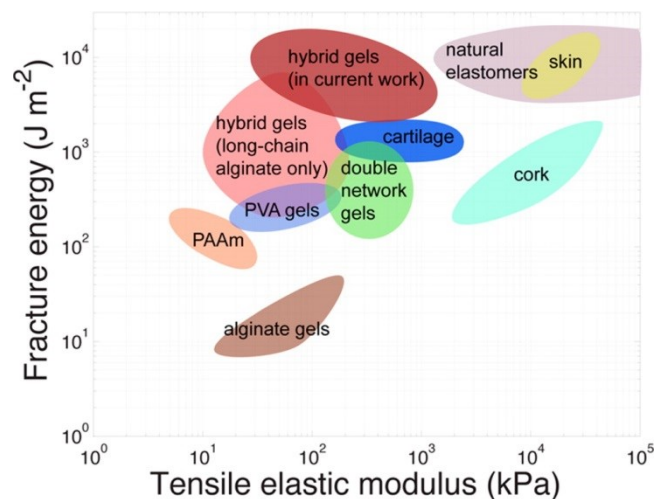


**Abbildung 45:** Mechanische Messungen a) des E-Moduls (1 Hz) mittels DMA, b) der maximalen Zugspannung ( $\sigma_{max}$ ) mittels Zugprüfung und c) der Zugdehnung bei  $\sigma_{max}$  mittels Zugprüfung für die Netzwerke PHEA, IPH<sub>1,74</sub> und IPH<sub>1,50</sub> mit 1 wt%, 3 wt% und 5 wt% GDMA als Vernetzer ermittelt. Die Messungen wurden als dreifach-Bestimmung durchgeführt und die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung dar. (Werte siehe Tabelle 34 im Anhang; Seite 169)

Die Auftragung der mit DMA gemessenen E-Module der untersuchten Netzwerke in *Abbildung 45a*, zeigt E-Module im Bereich von ~0.6 bis ~1.3 MPa. Dabei lassen die reinen PHEA-Netzwerke eine

leichte Erhöhung der E-Moduls mit einem von 1 wt% GDMA auf 3-5 wt% GDMA als Vernetzer erkennen. Ein signifikanter Einfluss des PBIN auf das E-Modul der IPH lässt sich jedoch nicht eindeutig identifizieren. Die hohen E-Module von  $IPH_{1.74(3)}$  ( $E = 1.28 \pm 0.16$  MPa) und  $IPH_{1.50(5)}$  ( $E = 1.34 \pm 0.16$  MPa) wurden als Ausreißer eingestuft.

Insgesamt erstrecken sich die E-Module für feucht gemessenen Hydrogele in der Literatur über einen sehr breiten Bereich, wie die Übersicht (siehe **Abbildung 46**) von Li et. al.<sup>277</sup> sehr gut zeigt.<sup>191, 264, 277-278</sup> Beispielsweise zeigen 2%ige Agarosegele E-Module von 1-300 kPa<sup>264</sup>, 3%ige Acrylamidgele 10 - 100 kPa<sup>264</sup>, IPN Komposithydrogele zeigen E-Module von  $\sim 1$  MPa<sup>277</sup>, PEG/PAA Doppelnetzwerkhydrogele 1 - 19 MPa<sup>279</sup> bis zu calcifizierten Hydrogelen mit bis zu 440 MPa<sup>280</sup>. Die hier gemessenen E-Module liegen in einem für Hydrogele typischen Bereich und stimmen mit Werten für ähnliche, reine, trockene PHEA-Netzwerke<sup>281</sup> (E-Modul = 0.13 bis 1.15 MPa bei 0 bis 1% 1,4-Butandiol dimethacrylat als Vernetzer) überein.



**Abbildung 46**<sup>277</sup>: Übersicht von Li. et. al.<sup>277</sup> von Bruchenergien und Zug-E-Modulen für verschiedene Materialien.

Die Messungen mittels Zugprüfung lieferten die Werte für die maximale Zugspannung (**Abbildung 45b**) und die Zugdehnung bei maximaler Zugspannung (**Abbildung 45c**). Die untersuchten Netzwerke weisen maximale Zugspannungen im Bereich von  $\sigma_{\max} = 0.28 - \sim 0.42$  MPa auf. Die Betrachtung der reinen PHEA-Netzwerke zeigt dafür einen leichten Anstieg der max. Zugspannung mit steigendem GDMA-Vernetzergehalt auf. Für die  $IPH_{1.74}$  lässt sich kein signifikanter Einfluss des PBIN-Netzwerkes, gegenüber den PHEA-Netzwerken, mit jeweils gleichem GDMA-Gehalt, identifizieren. Jedoch zeigt sich für die  $IPH_{1.50}$ , mit einem höheren PBIN-Netzwerkanteil, eine Erhöhung der max. Zugspannung von  $\sigma_{\max}(\text{PHEA}) = 0.29 - 0.35$  MPa auf  $\sigma_{\max}(IPH_{1.50}) = 0.38 - 0.42$  MPa.

Die Zugdehnungen bei max. Zugspannungen liegen im Bereich von  $\sim 180\%$  für die Netzwerke mit 5 wt% GDMA, bei  $\sim 230\%$  für die Netzwerke mit 3 wt% GDMA-Vernetzer und bis  $\sim 450\%$  für Netzwerke mit 1 wt% GDMA-Vernetzer. Damit zeigt sich eine deutlich Erniedrigung der Zugdehnung mit steigendem GDMA-Gehalt. Ein Einfluss des PBIN-Netzwerkes in den IPH-Netzwerken, im

Vergleich zu PHEA-Netzwerken mit identischem GDMA-Gehalt, war nicht feststellbar. Damit beeinflusst der PBIN-Gehalt keine der mechanischen Eigenschaften signifikant.

Als vergleichende Untersuchung wurde zudem das Kompressions-Modul an gequollenen IPH<sub>1.74(1)</sub> von 1 cm<sup>2</sup>, durch steigende Belastung mit Gewichten, ermittelt. Die ermittelten Kompressions-Module lagen in einem Bereich von 96-120 kPa, was eine Erhöhung um mehr als das 5-fache gegenüber dem Ausgangs-PBIN (~17 kPa) darstellt.

In den Untersuchungen der mechanischen Eigenschaften der Netzwerke konnten somit für das E-Modul eine Erhöhung und eine Erniedrigung der Zugdehnung bei max. Zugspannung, mit steigenden GDMA-Gehalt festgestellt werden. Beide Effekte lassen sich durch den erhöhten Vernetzungsgrad mit steigendem Vernetzergehalt des Acrylatnetzwerks erklären, was zu einer Steigerung der Steifigkeit (>E-Modul, < Dehnung) der Netzwerke führt. Durch den geringen Anteil des PBIN und deren große Maschenweite, kommt es jedoch zu keinen signifikanten Auswirkungen, da sich das PBIN vermutlich flexibel mitverformt.

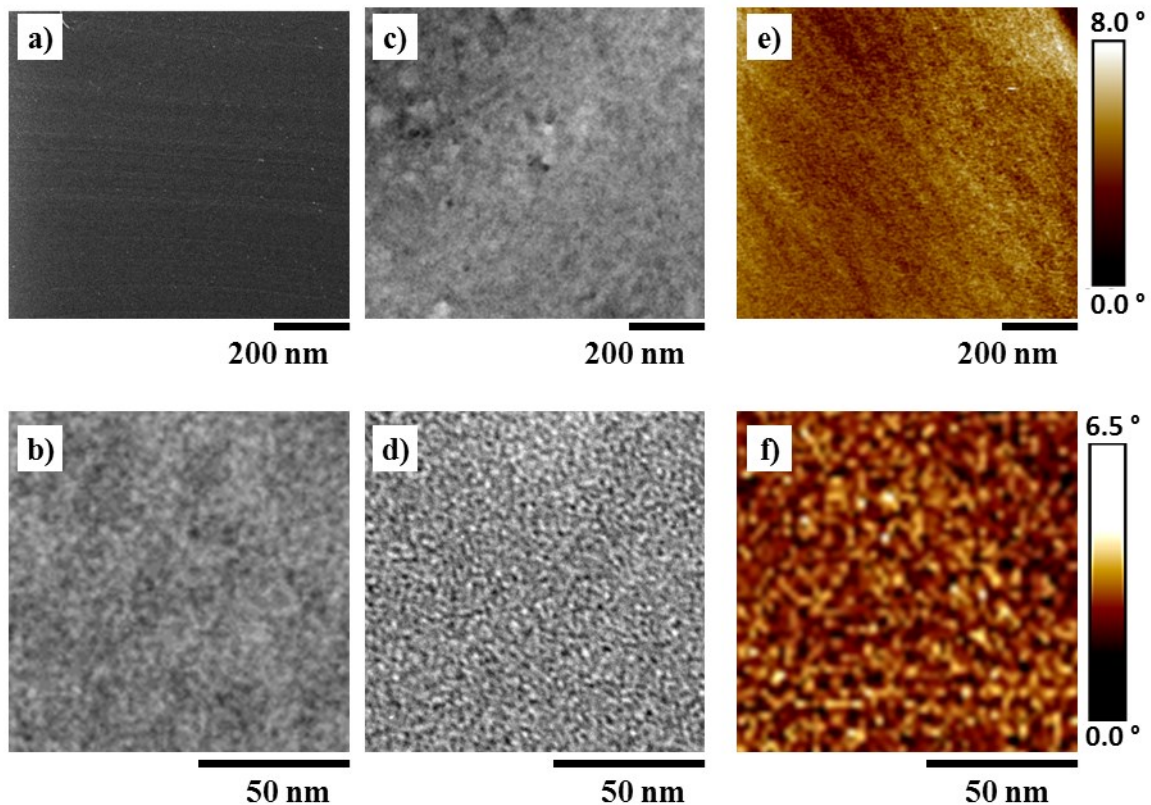
Mittels Quelltests und mechanischen Untersuchungen wurden die Hydrogele PHEA<sub>(1/3/5)</sub>- (Referenznetzwerke), IPH<sub>1.74(1/3/5)</sub>- und IPH<sub>1.50(1/3/5)</sub> erfolgreich charakterisiert. Die Gelgehalte von >86 wt% belegen die erfolgreiche Vernetzung der Polymere. Der Quellgrad der Gele liegt in einem Bereich von  $Q_m = 3.2$  bis 7.3 in Wasser und wird maßgeblich durch den GDMA-Gehalt beeinflusst. Je höher dieser ist, desto kleiner ist der Quellgrad. Zudem weisen die IPH<sub>1.50</sub> ( $Q_m = 4.0 - 7.3$ ) mit einem hohen PBI-Gehalt, einen um mehr als 25% erhöhten Quellgrad im Vergleich zu den PHEA und IPH<sub>1.74</sub> ( $Q_m = 3.2 - 5.6$ ) auf. Die mechanischen Tests zeigen signifikante Einflüsse des GDMA- aber nicht des PBIN-Gehalts auf die Eigenschaften der IPH. Mit steigendem GDMA-Gehalt ist eine Erniedrigung des E-Moduls, Erniedrigung der Zugdehnung bei nahezu gleichbleibender Zugspannung festzustellen.

#### 4.2.2.4 Strukturelle Charakterisierung der interpenetrierenden Hydrogele

Nach der Untersuchung der Quelleigenschaften und der mechanischen Eigenschaften der IPH, sollten anschließend Informationen bezüglich ihrer Struktur mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM + EDX), Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), Rasterkraftmikroskopie (AFM) und der Verteilung von PBIN im IPH erhalten werden. Um Unterschiede bestmöglich identifizieren zu können, wurden die Untersuchungen an einem IPH<sub>1.50(1)</sub>, mit einem hohen berechneten Ausgangs-PBI-Gehalt von 7.8 wt% (IPH<sub>1.50(1)A</sub>), durchgeführt. Ergänzend fanden auch Untersuchungen an einem IPH<sub>1.74(1)</sub> (berechneter Ausgangsgehalt 2.5 wt% PBIN, IPH<sub>1.74(1)A</sub>) statt. Um vor der weiteren Analyse alle Nebenprodukte zu entfernen, wurden diese 7 Tage lang in bidestilliertem Wasser mit täglichen Wasserwechseln gewaschen. Die untersuchten Netzwerke sind klar-transparent, elastisch und in Wasser quellbar. Auf Grund der Transparenz der untersuchten Netzwerke (siehe **Abbildung 43**; Seite 85) konnten Kristalle und Phasen, welche größer als 300 nm (Tageslicht  $\lambda \sim 400-800$  nm) sind, ausgeschlossen werden, da keine Wechselwirkungen/Streuungen mit Licht erkennbar sind. Das deutet

darauf hin, dass sowohl die PHEA- als auch die IPH-Netzwerke im Mikrometerbereich nicht phasensepariert sind.

Aufnahmen der REM, TEM und AFM Untersuchungen im Mikro- und Nanometerbereich an einem typischen  $\text{IPH}_{1.50(1)}$ , mit einem berechneten Ausgangs-PBI-Gehalt von 7.8 wt%, nach 7 Tagen Waschung in Wasser, sind in **Abbildung 47** dargestellt.



**Abbildung 47:** Aufnahmen eines typischen, getrockneten  $\text{IPH}_{1.50(1)}$  ( $\text{IPH}_{1.50(1)A}$ , mit einem berechneten Ausgangs-PBI-Gehalt von 7.8 wt%, nach 7 Tagen Waschung in Wasser mittels a-b) REM-Aufnahmen (10 kV) einer in flüssigem Stickstoff erzeugten Bruchfläche, c-d<sup>246</sup>) TEM-Aufnahmen eines Mikrotomschnittes und e-f<sup>246</sup>) AFM-Aufnahmen einer in flüssigem Stickstoff erzeugten Bruchfläche.

Zunächst sollen die Aufnahmen (siehe **Abbildung 47a, c, e**) im Mikrometerbereich betrachtet werden. Die REM-Aufnahme (siehe **Abbildung 47a**) zeigt eine sehr homogene Bruchfläche, ohne Poren und ohne erkennbare Massenkontraste, welche auf Phasenseparationen hinweisen würden.

In der TEM-Aufnahme (siehe **Abbildung 47b**) sind Massendickekontraste sichtbar, welche auf leichte Inhomogenitäten hindeuten. Dabei weisen helle Bereiche eine geringe und dunkle Bereiche eine höhere Elektronenstreuung sowie Dicke auf. Schwere Elemente besitzen dabei im Allgemeinen eine stärkere Streuung als leichte Elemente. Die Aufnahme weist sehr helle Bereiche (~20-100 nm) auf, welche auf feine Poren in den Proben hindeuten. Dunklere Bereiche deuten auf bromhaltige Bereiche hin, da das Brom das schwerste Element im Netzwerk darstellt. Diese These konnte durch EDX-Messungen bestätigt werden (siehe **Abbildung 61b** im Anhang; Seite 170). Die relativ breiten dunkleren und helleren Bereiche, welche als diagonale Streifen besonders gut in **Abbildung 47b**



erkennbar sind, lassen sich auf die relativ hohe Probendicke und Wellungen, welche den Massendickekontrast beeinflussen, zurückführen. Ein negativer Einfluss der Waschung auf das IPH, konnte nicht festgestellt werden. Das IPH<sub>1.50(1)</sub> besitzt eine homogene Struktur im Mikrometer-Bereich.

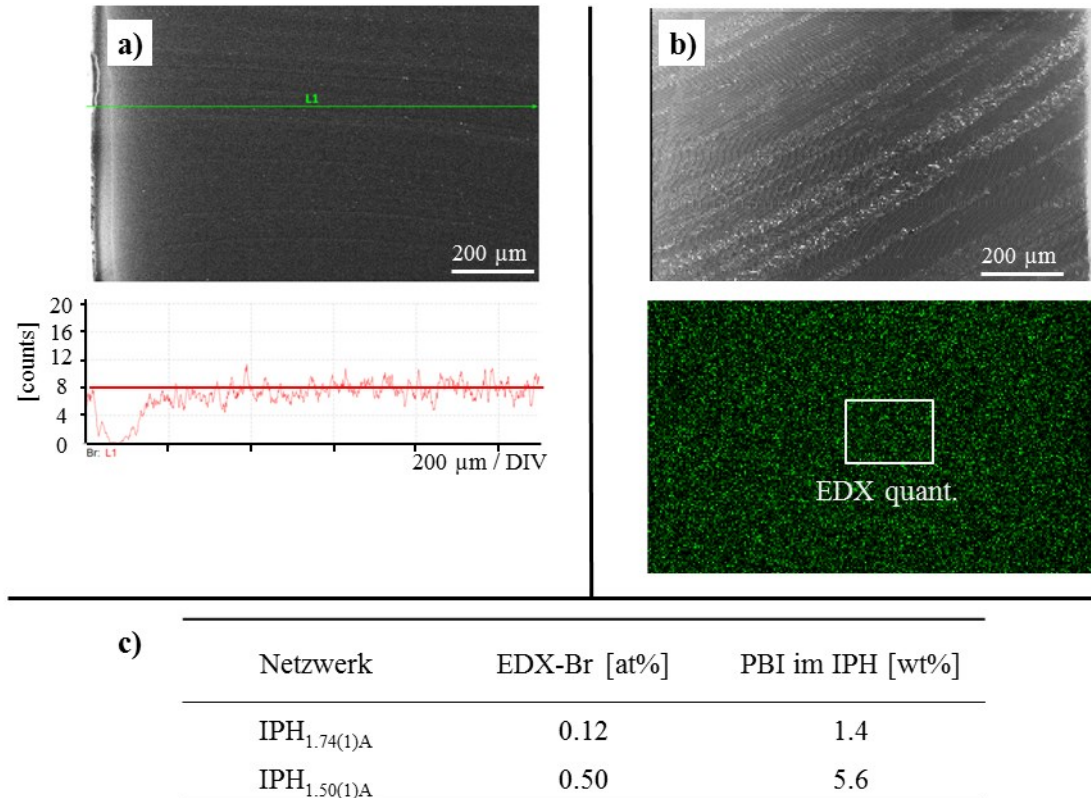
Die AFM-Aufnahme (siehe **Abbildung 47c**), im Tapping-Modus, an einer in flüssigen Stickstoff erzeugten Bruchfläche des IPH<sub>1.50(1)</sub>, bestätigt die Ergebnisse der REM- und TEM-Analysen. Die Aufnahme zeigt keine signifikanten Unterschiede in der Topographie und im Phasenkontrast. Generell erscheinen weiche Bereiche eher dunkel und härtere Bereiche eher hell, was generell im „non-contact Mode“ durch repulsive und adhäsive Kräfte zustande kommt. Im durchgeführten „tapping-Mode“ sind die weichen Bereiche ebenfalls dunkel und die härteren Bereiche heller. Dunkel steht für keine bzw. negative Phasenverschiebung und hell für eine höhere, positive Phasenverschiebung. Je weicher ein Material ist, desto eher kann die Spitze in die Oberfläche eindringen und wird gedämpft (negative Phasenverschiebung). Ist das Material härter, prallt die Spitze quasi ab und es kommt zu einer hohen positiven Phasenverschiebung. Die unterschiedlichen Steifigkeiten können so unterschieden werden und kommen durch die verschiedenen E-Module verschiedener Strukturen im Material zustande. Die geringen Kontrastunterschiede weisen somit auf homogene Netzwerke ohne Phasenseparationen im Mikrometer-Bereich hin.

Um die Homogenität der Netzwerke auf der nanophasigen Ebene ebenfalls zu betrachten, wurden die Aufnahmen in **Abbildung 47b, d, f** erstellt. Diese Querschnittsaufnahmen zeigen nanoskalierte, interpenetrierende Netzwerkstrukturen, welche typisch für solche Netzwerkarten sind.<sup>282-284</sup> Die dunkle Phase in der AFM-Aufnahme (siehe **Abbildung 47f**) wird dem PBIN zugeschrieben. Diese Phase scheint isoliert und in die perkolierte PHEA-Phase eingebettet zu sein, mit der, für diese typischen Zusammensetzung (8 wt% PBIN / 92 wt% PHEA).

Analog dazu verhält sich die REM-Aufnahme (siehe **Abbildung 47b**) mit einer identischen Zusammensetzung und Phasenseparierung. Die hellen Bereiche können dabei dem PBIN zugeschrieben werden, da das schwere Brom für eine stärkere Rückstreuung der Elektronen sorgt. Überprüft wurde die These durch die Untersuchung einer mit phasenseparierten IPH und PHEA Netzwerken präparierten Probe (siehe **Abbildung 61a** im Anhang, Seite 170). Die hellen Bereiche kennzeichnen die IPH/PBI-Phase, welche durch die Rückstreuelektronen des schwereren Broms zustande kommen, und die dunkleren Bereiche den Teil der PHEA-Phase. Die Messungen bestätigen, dass das synthetisierte Material tatsächlich ein durch Nanophasen getrenntes IPH ist.

Die TEM-Aufnahme (siehe **Abbildung 47d**) zeigt dagegen deutlich kleinere Strukturen. Diese kleineren Strukturen sind jedoch typisch für diese Dimensionen von Nanostrukturen, da das Übertragungsbild der 50 – 100 nm dicken Probe, eine Überlappung mehrerer Schichten der Struktur zeigt, die in der AFM-Aufnahme zu sehen sind.<sup>285-287</sup>

Um Informationen über die Verteilung des PBIN im gesamten IPH zu erhalten, wurden ergänzend Analysen mittels REM-EDX (siehe **Abbildung 48**) an der bereits beschriebenen Probe durchgeführt. Die beiden Analysen der Probe mittels eines REM-EDX „linescan“ und eines „mappings“ zeigen in den Aufnahmen eine homogene Verteilung des Broms über den Probenquerschnitt.



**Abbildung 48:** Aufnahmen eines a) REM-EDX Linescan und b)<sup>246</sup> Mapping für die Bromverteilung in einem IPH<sub>1.50(1)A</sub> nach 7 Tagen Waschung in Wasser; c)<sup>246</sup> Die Tabelle zeigt die mit REM-EDX ermittelten Bromgehalte eines IPH<sub>1.74(1)A</sub> und IPH<sub>1.50(1)A</sub> nach 7 Tagen waschen in Wasser (Details siehe Tabelle 35 im Anhang; Seite 170)

Die homogene Verteilung wird im REM-EDX Linescan (siehe **Abbildung 48a**) durch die konstante Intensität des Bromsignals, in dem dazugehörigen Diagramm, über den Probenquerschnitt sichtbar. Im REM-EDX-Mapping (siehe **Abbildung 48b**) erscheint das Bromsignal und damit die Bromverteilung in der Probe als grüne Punkte. Die Helligkeit der Punkte lässt Rückschlüsse auf die Intensität/Anhäufung von PBI zu. Die gleichmäßige Intensität des Bromsignals und deren gleichmäßige Verteilung lassen darauf schließen, dass das PBI-Netzwerk homogen im gesamten Probenquerschnitt verteilt ist. Selbst in den Randbereichen ist keine Abschwächung des Signals erkennbar, sodass keine sichtbare, örtliche Auswaschung im Randbereich der Probe erkennbar ist.

Ergänzend wurden Elementaranalysen mit EDX im REM an einem IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> nach 7 Tagen Waschung in Wasser durchgeführt. Ausgehend von der elementaren Zusammensetzung der Probe, wurde das molare Verhältnis von HEA und PBI und daraus der PBIN-Gehalt im IPH berechnet. Das IPH<sub>1.50(1)A</sub>, welches ausgehend von PBIN<sub>1.50(1)</sub> hergestellt wurde, besaß 5.6 wt% PBI. Dies weist auf eine Auswaschung von etwa 25% (berechneter Startgehalt 7.8 wt%) hin. Dagegen wies das aus



PBIN<sub>1.74</sub> hergestellte IPH<sub>1.74(1)A</sub> einen Gehalt von 1.4 wt% PBI auf, was einer Auswaschung von etwa 40% (berechneter Startgehalt 2.5 wt%) entspricht. Die Ursache kann auf den geringeren Vernetzungsgrad des PBIN<sub>1.74</sub> und damit auf weniger vernetzte Ketten zurückgeführt werden.

Mittels der REM, TEM und AFM Analysen können die transparenten Netzwerke im Mikrometer- und Nanometer-Bereich als homogen und mit einer gleichmäßigen Verteilung des PBIN im IPH eingestuft werden. Die Auswaschung von PBI erfolgt gleichmäßig über das gesamte Netzwerk hinweg und liegt abhängig vom Vernetzungsgrad des PBIN zwischen 25–40%. Für den nanophasigen Bereich können zudem interpenetrierende Netzwerkstrukturen nachgewiesen werden.

#### 4.2.2.5 Biologische Untersuchung der interpenetrierenden Hydrogele

Für antimikrobielle Materialien ist die Einordnung bezüglich ihres Wirkungsmechanismus ein wichtiger Aspekt. Wie in **Abschnitt 2.2** gezeigt, lassen sich grundsätzlich antimikrobielle Materialien als freisetzen- oder kontaktaktive Systeme einordnen. Die Herausforderung für die richtige Einstufung der Materialien besteht im Beweis des Mechanismus. In der Literatur ist jedoch bislang kein Test bekannt, welcher spezifisch die Kontaktaktivität eines Materials beweist. Der beste, unterstützende Beweis ist das intensive Waschen der Probe in Kombination mit dem Vergleich verschiedener Tests.<sup>27</sup>

Neben dem Wirkmechanismus der IPH soll auch der Einfluss des PBIN-Gehaltes, als antimikrobielle Komponente, auf die antimikrobielle Aktivität untersucht werden. Aus diesem Grund wurden die IPH<sub>1.74(1)</sub> mit niedrigem PBI-Gehalt und IPH<sub>1.50(1)</sub> mit hohem PBI-Gehalt sowie PHEA<sub>(1)</sub> als Referenz untersucht. Die PHEA<sub>(1)</sub> wurde in der Regel im ungewaschenen Zustand und die IPH nach verschiedenen Waschzyklen im getrockneten Zustand eingesetzt.

Die antimikrobiellen Untersuchungen erfolgten ausgehend von unterschiedlichen Fragestellungen mittels verschiedener Tests: eines Bakterien-Sprühtests, durch direkte Applikation von verschiedenen Bakterienbeladungen auf Netzwerke, durch die Untersuchung des Desorptionsverhaltens von Bakterien auf Netzwerken mit einer hohen Bakterienbeladung und mit einem Bakterien-Adhärenz-Test. Je nach Test wurden im Hinblick auf medizinische Anwendungen die Gram-negativen Bakterienstämme *Escherichia coli* (*E. coli*) und *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) sowie der Gram-positive Bakterienstamm *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) untersucht.

Als Alternative zu den antimikrobiellen Versuchen, wurde ein Test zum quantitativen Nachweis von PBI, welches möglicherweise aus den IPH freigesetzt wird, basierend auf der Komplexbildung des Polymers mit Fluoreszein entwickelt. Ziel war es, besonders Konzentrationen weit unterhalb des MIC-Wertes nachzuweisen.

Des Weiteren wurden die Netzwerke im Hinblick auf ihre Biokompatibilität analysiert. Dazu fanden Untersuchungen für die Hämokompatibilität mit roten Schweineblutzellen statt. Durch den Arbeitskreis von Prof. Dr. M. Köller am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum erfolgten außerdem Analysen bezüglich der Kompatibilität mit mesenchymalen Stammzellen.

4.2.2.5.1 Quantifizierung von 3,4en-Ionene im Waschwasser

Mit dem Ziel, möglicherweise aus den IPH freigesetztes PBI nachzuweisen, wurde ein quantitativer Test, basierend auf der Komplexierung von PBI mit Fluorescein, entwickelt. Die Entwicklung basierte auf Arbeiten von Tiller et. al., welche Fluorescein zum Nachweis der Dichte von quartären Ammoniumgruppen auf kontaktaktiven, antimikrobiellen Oberflächen nutzten.<sup>164</sup> Durch die große Anzahl quartärer Ammonium-Funktionen in Ionenen, damit im PBI, stellte die Komplexierung der Polymere mit Fluorescein eine aussichtsreiche Basis dar. Wichtig bei der Entwicklung der Methode war der Nachweis freigesetzter Biozide deutlich unterhalb ihrer biologischen Bedeutung, d.h. diese unterhalb der MIC zu detektieren. Dies sollte dazu genutzt werden, die entsprechende PBI-Konzentration im täglich gewechselten Wasser bei der Waschung von Netzwerken zu ermitteln.

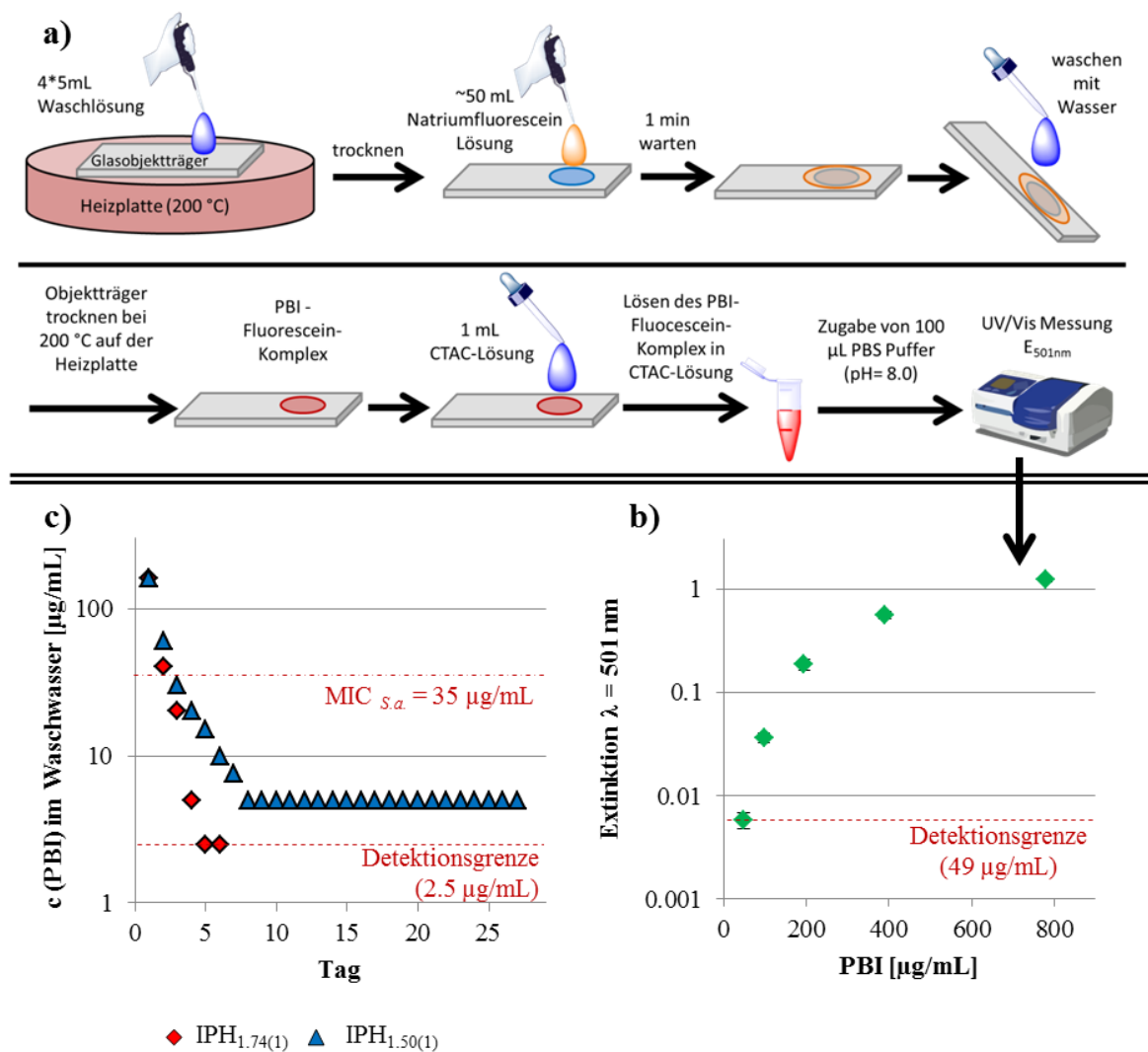


Abbildung 49: a) Schema der Prozedur zur Quantifizierung von PBI im Waschwasser; b) Kalibrationskurve von Br-PBI<sub>5700</sub>-Br (grün) in Wasser nach der Prozedur in a); c) Konzentration an PBI im jeweils täglich gewechselten Waschwasser der Netzwerke IPH<sub>1.74(1)B</sub> (rot) und IPH<sub>1.50(1)B</sub> (blau). Die Waschung wurde mit einem 24-fachen Überschuss an Wasser gegenüber dem Netzwerk, bei 37 °C durchgeführt.<sup>246</sup>

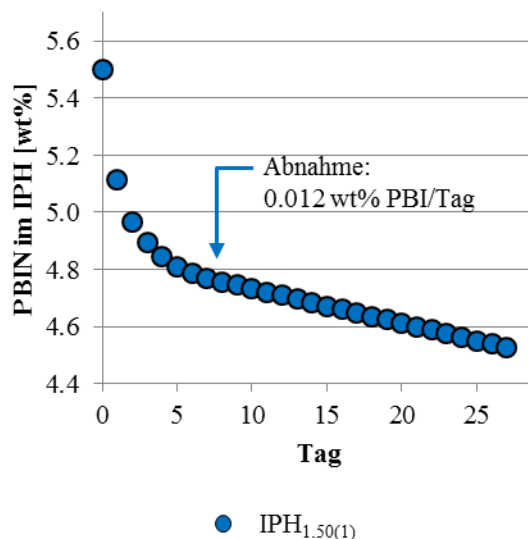
Als Methode konnte die in **Abbildung 49a** dargestellte Prozedur für eine PBI<sub>n</sub>-Kalibrationslösung und die Waschwasserproben etabliert werden. Die zu untersuchende PBI<sub>n</sub>-Lösung wurde dabei zunächst auf einem Glasobjektträger getrocknet, mit Natriumfluoreszein-Lösung behandelt, mit Wasser gespült und erneut getrocknet. Durch das Fluoreszein wird das in der Probe enthaltene PBI<sub>n</sub> zu einem roten Rückstand komplexiert und ausgefällt.

Die Intensität des Rückstandes gibt dabei erste Hinweise auf die enthaltene PBI-Menge (Details siehe **Tabelle 36** im Anhang; Seite 171) in der Probe. Im nächsten Schritt wird der Komplex durch die Zugabe einer CTAC-Lösung (Cetyltrimethylammoniumchlorid) wieder gelöst, sodass die Extinktion am Absorptionsmaximum ( $\lambda = 501 \text{ nm}$ ) mittels UV/Vis-Spektroskopie ermittelt werden kann. Mit Hilfe einer definierten Br-PBI<sub>5700</sub>-Br Lösung, wurde eine Eichkurve (siehe **Abbildung 49b**) erstellt und 49 mg/mL als Nachweisgrenze der Methode ermittelt. Die entwickelte Methode zeigt für den untersuchten Konzentrationsbereich einen linearen Zusammenhang zwischen der PBI-Konzentration und der bei 501 nm gemessenen Extinktion.

Als Proben wurden IPH<sub>1.74(1)B</sub> und IPH<sub>1.50(1)B</sub> untersucht. Die Netzwerke wurden in einem 24-fachen Überschuss an Wasser (1650 mg Netz in 40 mL Wasser) bei 37 °C mit täglichen Wasserwechseln gewaschen. Durch Aufkonzentrieren der Waschlösungen um den Faktor 20, konnte die Nachweisgrenze für PBI auf 2.5 µg/mL gesenkt werden. Dieser Wert liegt deutlich unter dem MIC von 35 µg/mL gegen *S. aureus*.<sup>16-17</sup> Der PBI-Gehalt der Waschlösungen wurde von IPH<sub>1.74(1)B</sub> für 12 Tage Waschung und von IPH<sub>1.50(1)B</sub> für 27 Tage Waschung ermittelt und ist in **Abbildung 49c** dargestellt.

Besonders in den ersten 5 - 7 Tagen sinkt die Konzentration an PBI im Waschwasser für beide Netzwerke drastisch. Dabei wird die Konzentration des MIC-Wertes für *S. aureus* (35 µg/mL) bereits am 3. Washtag von beiden Netzwerken unterschritten. Nach dem 6. Washtag fällt die PBI-Konzentration für das IPH<sub>1.74(1)B</sub> sogar unterhalb der Nachweisgrenze von 2.5 µg/mL. Für das IPH<sub>1.50(1)B</sub> beträgt die PBI-Konzentration ab dem 8. Washtag auch nur noch 5 µg/mL und bleibt bis zum letzten Washtag (Tag 27) auf diesem Niveau, was eine konstante Freisetzung bedeutet. Damit liegt die PBI-Konzentration beim IPH<sub>1.50(1)B</sub> (5 µg/mL) 7-mal niedriger und für das IPH<sub>1.74(1)</sub> (<2.5 µg/mL) um mehr als 14-mal niedriger, als der MIC<sub>*S. aureus*</sub> von 35 µg/mL.

Zusätzlich wurden IPH<sub>1.74(1)B</sub> nach den 12 Tagen Waschen, jeweils 25 min von der Ober- und der Unterseite mittels UV-Licht bestrahlt. Diese Prozedur dient bei den antimikrobiellen Untersuchungen der Sterilisation der Probenkörper vor den Tests, um Kontaminationen zu vermeiden. Nach der Bestrahlung wurden die Proben weitere 3 Tage gewaschen, wobei keine nachweisbare PBI-Konzentration ermittelt werden konnte. So kann eine durch UV-Licht induzierte Freisetzung von PBI, bei antimikrobiellen Untersuchungen, ausgeschlossen werden.



**Abbildung 50:** Abhängigkeit des berechneten Gehaltes an PBIN im  $IPH_{1.50(1)B}$  (berechneter Ausgangsgehalt: 5.5 wt% PBIN) mit fortschreitender Waschung des Netzwerkes bei 37 °C in Wasser.

Um die Dauer der antimikrobiellen Aktivität der Hydrogele abzuschätzen, wurde aus den PBI-Konzentrationen im Waschwasser des  $IPH_{1.50(1)}$  (berechneter PBIN-Ausgangsgehalt: 5.5 wt%), die Masse an PBI im Wasser und daraus der Restgehalt an PBI im IPH berechnet und entsprechend aufgetragen (siehe **Abbildung 50**). Resultierend aus der konstanten Freisetzung an PBI ab dem 8. Waschtage, ergibt sich eine konstante Abnahme des PBIN-Gehaltes im IPH von  $\sim 0.012$  wt% PBI pro Tag. Wird von einer weiterhin konstanten, sehr langsamen Freisetzung von PBI bis zu dessen kompletten Verlust von PBIN ausgegangen, beträgt die Dauer dafür 401 Tage. Bis zu einem Gehalt von 2.5 wt% ( $IPH_{1.74(1)}$ ) ergeben sich bereits 194 Tage. Ein antimikrobiell aktiver Zeitraum von 27 - 57 Wochen wäre für ein antimikrobielles Hydrogel ein exzellenter Wert, um dieses beispielsweise als Material für Implantate mit langfristig antimikrobiellen Eigenschaften einzusetzen.

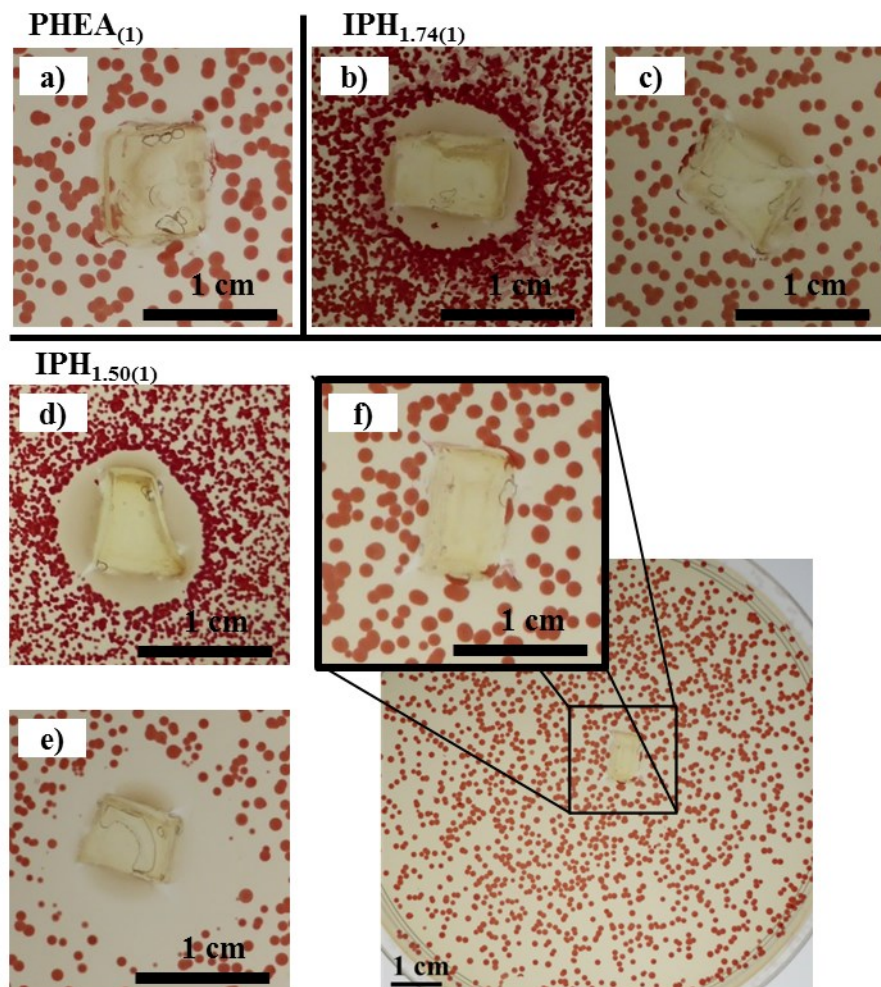
So lässt sich festhalten, dass auf Basis der Komplexierung von PBI mit Fluoreszein, eine Prozedur zur quantitativen Bestimmung von PBI im Waschwasser der IPH entwickelt wurde. Die ermittelte Detektionsgrenze liegt dabei 14-mal tiefer als der MIC-Wert von PBI gegen *S. aureus*. So ist es möglich auch Biozidkonzentrationen weit unterhalb der biologischen Bedeutung von PBI nachzuweisen. Mit Hilfe des Tests können die IPH, als Netzwerke mit einem sehr langsamen Freisetzung-Mechanismus identifiziert werden.

#### 4.2.2.5.2 Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften von interpenetrierenden Hydrogelen

##### 4.2.2.5.2.1 Bakteriensprühtest mit *S. aureus*

Zunächst wurden  $PHEA_{(1)}$ ,  $IPH_{1.74(1)}$  und  $IPH_{1.50(1)}$  mittels des Bakteriensprühtests für *S. aureus* untersucht. *S. aureus* wurde hier als empfindlichster Keim, d.h. mit dem niedrigsten MIC, der für die Netzwerke untersuchten Bakterien, ausgewählt. Beim Bakteriensprühtest wird für gewöhnlich die zu untersuchende, feste Probe mit einer Bakteriensuspension besprüht, mit Nähragar überschichtet, unter Wachstumsbedingungen über Nacht inkubiert und mit TTC angefärbt. Der Test ermöglicht zum einen

eine Aussage über die antimikrobielle Aktivität beim Kontakt mit Keimen, d.h. wenn die Probe selbst nach der Inkubation nicht bewachsen ist. Zudem kann durch eine sichtbare Inhibitionszone (Hemmhof) um die eingebettete Probe, eine Aussage über die Freisetzung von Bioziden getroffen werden. Um die Quellung nach der Einbettung in Nähragar nach dem Besprühen und damit den Einfluss auf das Sprühbild sowie Bakterienwachstum (Inhibitionszonen) möglichst gering zu halten, wurden die Netzwerke einen Tag zuvor bereits in Nähragar zur Equilibrierung eingebettet. Die Proben wurden am Folgetag mit einer Bakteriensuspension ( $10^6$  Zellen/mL in Wasser) besprüht, eine Nacht unter Wachstumsbedingungen inkubiert und mittels TTC angefärbt.



**Abbildung 51:** Aufnahmen der Untersuchung des Wachstums der in Nähragar eingebetteten und mit *S. aureus* besprühten Proben nach der Inkubation bei 37 °C über Nacht und dem Anfärben mit TTC-Lösung. Es sind folgende Netzwerke mit abgebildet: a) PHEA<sub>(1)</sub> ungewaschen, b) IPH<sub>1.74(1)</sub> ungewaschen, c) IPH<sub>1.74(1)</sub> nach 1 Tag waschen, d) IPH<sub>1.50(1)</sub> ungewaschen, e) IPH<sub>1.50(1)</sub> nach 3 Tagen waschen und f) <sup>246</sup>IPH<sub>1.50(1)</sub> nach 7 Tagen waschen. Die Waschung erfolgte in Wasser bei RT mit täglichen Wasserwechseln.

Die Ergebnisse zeigen für die IPH mit PBIN im Sprühtest in allen Fällen eine antimikrobielle Aktivität (siehe *Abbildung 51*). PHEA<sub>(1)</sub> wies, wie zu erwarten, weder eine antimikrobielle Aktivität noch eine Inhibitionszone durch Biozidfreisetzung auf. Jegliche antimikrobielle Aktivität der IPH, lässt sich somit auf das enthaltene PBIN zurückführen.

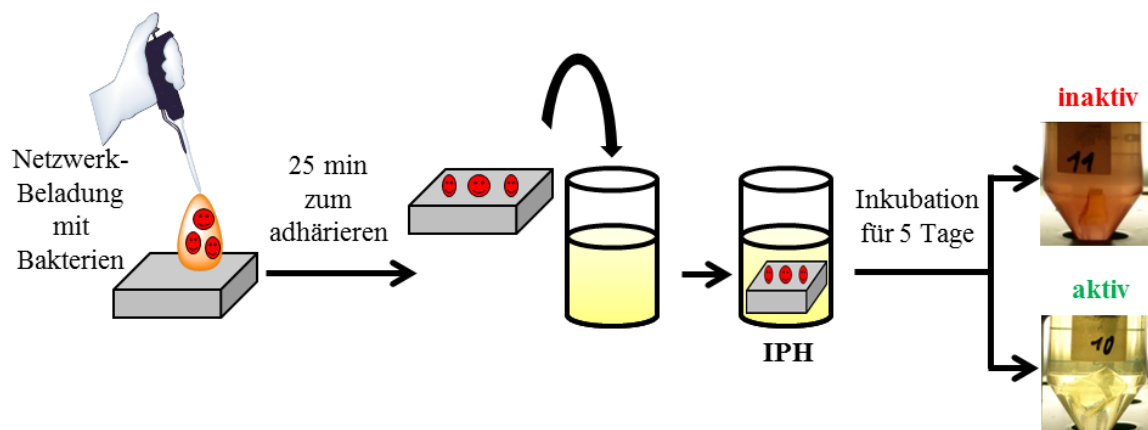
Die ungewaschenen IPHs zeigen im Vergleich zum PHEA<sub>(1)</sub> jeweils einen deutlichen Hemmhof, welcher auf eine Freisetzung hindeutet. Bereits nach einem Waschzyklus ist beim IPH<sub>1.74(1)</sub> kein Hemmhof mehr erkennbar. Das IPH<sub>1.50(1)</sub> besitzt dagegen nach drei Waschzyklen noch einen klar erkennbaren Hemmhof. Nach 7 Tagen waschen kann auch beim IPH<sub>1.50(1)</sub> kein Hemmhof mehr identifiziert werden. Alle untersuchten IPH weisen unabhängig vom Auftreten eines Hemmhofs keinen Bakterienbewuchs auf den Probenkörpern auf, was auf eine antimikrobielle Wirkung bei direktem Kontakt schließen lässt.

Der Bakterienprüfetest bestätigt für den ungewaschenen Zustand der IPH, sowie nach 3 Tagen Waschung des IPH<sub>1.50(1)</sub>, die Freisetzung biozider Bestandteile im Vergleich zur PBI-Waschwasser-Analyse. Jedoch zeigt das IPH<sub>1.74(1)</sub> nach 1 Waschtage und das IPH<sub>1.50(1)</sub> nach 7 Waschtagen eine antimikrobielle Aktivität, ohne dabei auf ein Freisetzungssystem hinzuweisen, d.h. eine kontaktaktive, antimikrobielle Wirkung. Somit weist der Prüfetest bei den ungewaschenen Proben auf ein Freisetzungssystem hin, suggeriert aber nach 1 Tag bzw. 7 Tagen Waschen antimikrobiell, kontaktaktive Eigenschaften der Netzwerke, da keine Freisetzungszone mehr erkennbar ist.

#### 4.2.2.5.2.2 Direkte Applikation von verschiedenen Bakterienbeladungen auf Netzwerke

In einem weiteren Test sollte das Überleben von Bakterien im direkten Kontakt mit den Hydrogelen untersucht werden. Dabei sollte der Einfluss verschieden hoher Bakterienbeladungen auf die antimikrobielle Aktivität des Materials nach einer kurzen Adhärenzzeit von 25 min und gefolgerter Inkubation unter idealen Wachstumsbedingungen untersucht werden. Durch die Wahl einer kurzen Adhärenzzeit sollte eine möglichst schnelle Abtötung der Keime überprüft und reale Einsatzbedingungen, wie z.B. der Kontakt einer Wundauflage mit der Haut, nachgestellt werden. Die Untersuchungen erfolgten mittels der klinisch relevanten Bakterienstämme *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa*.

Die Untersuchungen erfolgten an für 7 Tage bei Raumtemperatur in Wasser gewaschenen IPH<sub>1.74</sub> und IPH<sub>1.50</sub> sowie PHEA (ungewaschen) als Referenz. Die sterilen Proben (~0.5 cm<sup>2</sup>) wurden zunächst mit 10 µL einer definierten Bakterien suspension (10<sup>3</sup> bis 10<sup>7</sup> Zellen/mL → 2·10 bis 2·10<sup>5</sup> Zellen/cm<sup>2</sup>) betropft, 25 min lang zur Anhaftung der Bakterien an Luft belassen, in Nährmedium überführt, über 5 Tage unter Wachstumsbedingungen inkubiert, beobachtet und abschließend mit TTC angefärbt (Schema siehe **Abbildung 52**). Trübe, rotgefärbte Proben wurden als antimikrobiell inaktiv eingestuft und klare, farblose Proben als antimikrobiell aktiv. In jeder Reihe wurde jeweils ein PHEA als Referenz unter gleicher Behandlung mitgeführt.



**Abbildung 52:** Schema zur Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität von Polymernetzwerken für verschiedene Bakterienbeladungen ( $2 \cdot 10^2$  –  $2 \cdot 10^5$  Zellen/cm<sup>2</sup> aus PBS) und –stämme (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*). (Daten siehe Tabelle 14)

Für Bakterienbeladungen ab  $2 \cdot 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup> weist keines der untersuchten Netzwerke eine antimikrobielle Aktivität auf, weshalb hierauf nicht näher eingegangen wird. Für Bakterienbeladungen von  $2 \cdot 10^2$  Zellen/cm<sup>2</sup> und  $2 \cdot 10^3$  Zellen/cm<sup>2</sup> konnte eine antimikrobielle Aktivität der IPH nachgewiesen werden. Ein Wachstum der Bakterien auf den PHEA-Referenznetzwerken war bei einer Beladung von  $2 \cdot 10$  Zellen/cm<sup>2</sup> nicht mehr gegeben, sodass an dieser Stelle nur die Ergebnisse für Bakterienbeladungen von  $2 \cdot 10^2$  und  $2 \cdot 10^3$  Zellen/cm<sup>2</sup> vorgestellt werden (siehe **Tabelle 14**). In allen Fällen konnte dabei für das PHEA-Kontrollnetzwerk ein Bakterienwachstum nachgewiesen werden.

**Tabelle 14:** Ermittelte antimikrobielle Aktivität von PHEA<sub>(1)</sub>(ungewaschen), IPH<sub>1.74(1)</sub> (7 Tage bei RT gewaschen) und IPH<sub>1.50(1)</sub> (7 Tage bei RT gewaschen) für verschiedene Bakterienbeladungen ( $10^2$ ,  $10^3$  Zellen/cm<sup>2</sup>) und Bakterienstämme (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) aus PBS appliziert, 25 min Adhärenzzeit und 5 Tagen Inkubation unter idealen Wachstumsbedingungen. Klare, unbewachsene Proben wurden als aktiv und trüb mit TTC färbbare Proben wurden als inaktiv klassifiziert.

Netzwerk <sup>a)</sup>	antimikrobielle Aktivität					
	<i>S. aureus</i> <sup>d)</sup> [Zellen/cm <sup>2</sup> ]		<i>E. coli</i> <sup>e)</sup> [Zellen/cm <sup>2</sup> ]		<i>P. aeruginosa</i> <sup>f)</sup> [Zellen/cm <sup>2</sup> ]	
	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^3$
PHEA <sub>(1)</sub> <sup>b)</sup>	inaktiv	inaktiv	inaktiv	inaktiv	inaktiv	inaktiv
IPH <sub>1.74(1)</sub> <sup>c)</sup>	aktiv	aktiv	aktiv	inaktiv	aktiv	inaktiv
IPH <sub>1.50(1)</sub> <sup>c)</sup>	aktiv	aktiv	aktiv	inaktiv	aktiv	inaktiv

a) Die Proben besaßen eine Fläche von  $\sim 0.5$  cm<sup>2</sup> bei einer Dicke von 1-2 mm; b) Für die Untersuchungen wurden ungewaschene Netzwerke verwendet; c) Die untersuchten Netzwerke wurden zuvor 7 Tage bei Raumtemperatur, mit täglichem Wasserwechsel, gewaschen und dann getrocknet; d) Inkubation der Proben erfolgte in Nährboullion (pH = 7.3) bei 37 °C; e) Inkubation der Proben erfolgte in Nährboullion (pH = 6.8) bei 37 °C; f) Inkubation der Proben erfolgte in Nährboullion (pH = 7.0) bei 30 °C.

Die Netzwerke IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> weisen in den Untersuchungen identische antimikrobielle Aktivitäten auf, sodass keine Abhängigkeiten der antimikrobiellen Aktivität vom PBIN-Gehalt im



Netzwerk gegeben waren. Die IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> besitzen bei einer Beladung von  $2 \cdot 10^2$  Zellen/cm<sup>2</sup> gegen *S. aureus*, *E. coli* und *P. aeruginosa* eine antimikrobielle Wirkung. Für eine Beladung mit  $2 \cdot 10^3$  Zellen/cm<sup>3</sup> ist dagegen nur noch eine antimikrobielle Aktivität gegen *S. aureus* (Gram-positiv) und nicht gegen Gram-negative Keime vorhanden. Da *S. aureus* mit dem kleinsten MIC (35 µg/mL), den empfindlichsten der drei untersuchten Keime darstellt, wäre auch eine antimikrobielle Aktivität gegen die anderen Beiden zu erwarten.

Da bei diesem Test die antimikrobielle Aktivität der Netzwerke nicht direkt, sondern abhängig von dem Bewuchs des Inkubationsmediums eingestuft wird, kann eine „inaktive“ Einstufung auf zwei Arten zustande kommen. Einerseits kann die Probe antimikrobiell inaktiv sein, aber andererseits können sich noch auf dem Netzwerk befindliche lebende Keime, während der Inkubation ablösen und sich dann im Nährmedium vermehren, da sie dort durch ein kontaktaktives Netzwerk weder getötet noch inhibiert werden. Die Desorption von lebenden Keimen kann unterschiedliche Gründe haben. Zum einen könnte die Bakterienbeladung der Probenoberfläche so hoch sein, dass die Oberfläche komplett mit Bakterien bedeckt ist und die Bakterien sich in mehreren Lagen auf der Oberfläche befinden. Dabei würden durch Kontakt nur die unterste Schicht abgetötet oder inhibiert. Sich lösende Keime der höheren Schichten würden entsprechend zu einem Bewuchs des Nährmediums führen. Ausgehend für *S. aureus* als kugelförmiges Bakterium mit 1 µm Durchmesser<sup>180</sup> und 74% Packungsdichte für die dichteste Kugelpackung beträgt die maximale Oberflächenbeladung mit Bakterien  $1.5 \cdot 10^8$  Zellen/cm<sup>2</sup>. Eine zu hohe Beladung der Oberfläche mit Bakterien, über eine ideale Monolage hinaus, ist somit eher unwahrscheinlich, da die verwendeten Beladungen 4-Zehnerpotenzen unterhalb des berechneten Wertes liegen. Das unterschiedliche Adhärenzverhalten<sup>137, 288-290</sup> der Keime könnte zudem einen entscheidenden Einfluss auf die Testergebnisse gehabt haben. Daher kann an dieser Stelle nicht geklärt werden, ob die ermittelten Inaktivitäten der IPH für verschiedene Keime und Bakterienbeladungen  $>2 \cdot 10^3$  Zellen/cm<sup>2</sup> durch die Probe oder durch desorbierte Keime zustande kamen.

Des Weiteren wurden IPH mit 3 und 5 wt% GDMA-Vernetzgehalt sowie die Netzwerke auf der Außenseite und Innenseite (nach durchschneiden) der Probe untersucht, bei denen sich identische Ergebnisse ergaben. Somit kann ein Einfluss des GDMA-Gehaltes auf die antimikrobielle Aktivität ausgeschlossen werden. Zudem bestätigt die Untersuchung der Innen- und Außenseiten eine intrinsische antimikrobielle Aktivität der Netzwerke, worauf die in den REM-Aufnahmen (**Abschnitt 4.2.2.4**) gezeigte gleichmäßige PBI-Verteilung im Netzwerk, bereits hindeutete.

In der Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität der Netzwerke bei der direkten Beladung mit definierten Keimzahlen, sind die 7 Tage lang gewaschenen IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> nur bei  $2 \cdot 10^2$  Zellen/cm<sup>2</sup> gegen *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* aktiv. Bei einer Beladung von  $2 \cdot 10^3$  Zellen/cm<sup>2</sup> ist eine Aktivität nur gegen *S. aureus* gegeben. Somit waren die nachgewiesenen antimikrobiellen Aktivitäten bei der durchgeführten Prozedur auf vergleichsweise geringe Bakterienbeladungen, welche vermutlich auf eine Desorption noch lebender Keime zurückzuführen



ist, beschränkt. Aus diesem Grund wird der Test in einer abgewandelten Variante für höhere Keimbelastungen und zur Untersuchung des Desorptionsverhaltens im Folgenden vorgestellt.

#### *4.2.2.5.2.3 Untersuchung des Desorptionsverhaltens von Bakterien auf Netzwerken mit einer hohen Bakterienbelastung*

Mit dem Ziel das Desorptionsverhalten der Keime (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) und die antimikrobielle Aktivität der IPH bei direkter Bakterienapplikation weiter zu untersuchen, erfolgten weitere Experimente des Tests aus **Abschnitt 4.2.2.5.2.2** in abgewandelter Form.

Um eine vermutete Desorption nicht abgetöteter Keime besonders zu Beginn der Inkubation im Nährmedium unter Wachstumsbedingungen und damit eine Verfälschung des antimikrobiellen Tests zu untersuchen, wurden Waschzyklen der Netzwerke im Anschluss an die Applikation der Bakterien durchgeführt. Ein Waschzyklus umfasste jeweils das zehnmahlige Schwenken des jeweiligen angeimpften Netzwerkes in jeweils 15 mL Nährboullion in einem 50 mL Zentrifugationsröhrchen. Jede Waschlösung sowie das Netzwerk selbst wurden anschließend unter Wachstumsbedingungen inkubiert und auf ein Bakterienwachstum überprüft. Dabei sollten Informationen über die Zahl notwendiger Waschzyklen, welche nötig sind um keine Desorption von aktiven Keimen mehr zu haben, erhalten werden. Damit sollte geklärt werden, wie fest die verschiedenen Bakterien an den Netzwerken haften. Abweichend erfolgte in diesem Test eine Bakterienbelastung mit  $2 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>, um direkt das Desorptionsverhalten der Keime für eine hohe Bakterienbelastung der Netzwerke zu untersuchen. Des Weiteren galt es, die Höhe der Keimzahl auf den Netzwerken nach den Waschzyklen zu analysieren, um eine Aussage über die Bakterienbelastung zu treffen.

Als Prozedur zur Untersuchung des Desorptionsverhaltens von Bakterien auf Netzwerken mit einer hohen Bakterienbelastung wurde die im Folgenden beschriebene und in **Abbildung 53** schematisch dargestellte Prozedur etabliert. In der Prozedur wurden sterile Proben (~0.5 cm<sup>2</sup>) jeweils mit 10 µL Bakteriensuspension ( $10^8$  Zellen/mL) betropft, 25 min lang zur Anhaftung der Bakterien an Luft belassen, in 15 mL Nährmedium in einem 50 mL Zentrifugationsröhrchen überführt und mehrere Waschzyklen durchgeführt. Die Probe in 15 mL Nährboullion und die separat gesammelten Waschlösungen wurden jeweils über 5 Tage unter Wachstumsbedingungen inkubiert, beobachtet und abschließend mit TTC angefärbt. Trübe, rotgefärbte Proben wurden als antimikrobiell inaktiv eingestuft und klare, farblose Proben als antimikrobiell aktiv. In jeder Reihe wurde jeweils mindestens ein PHEA<sub>(1)</sub> als Referenz-Netzwerk unter gleicher Behandlung wie die IPH mitgeführt. Zusätzlich wurden exemplarisch Proben nach dem Waschen und einer analogen Probenpräparation mittels REM oder Laser-Scanning-Mikroskop (LSM), bezüglich der Bakterienbelastung nach der Prozedur, untersucht.

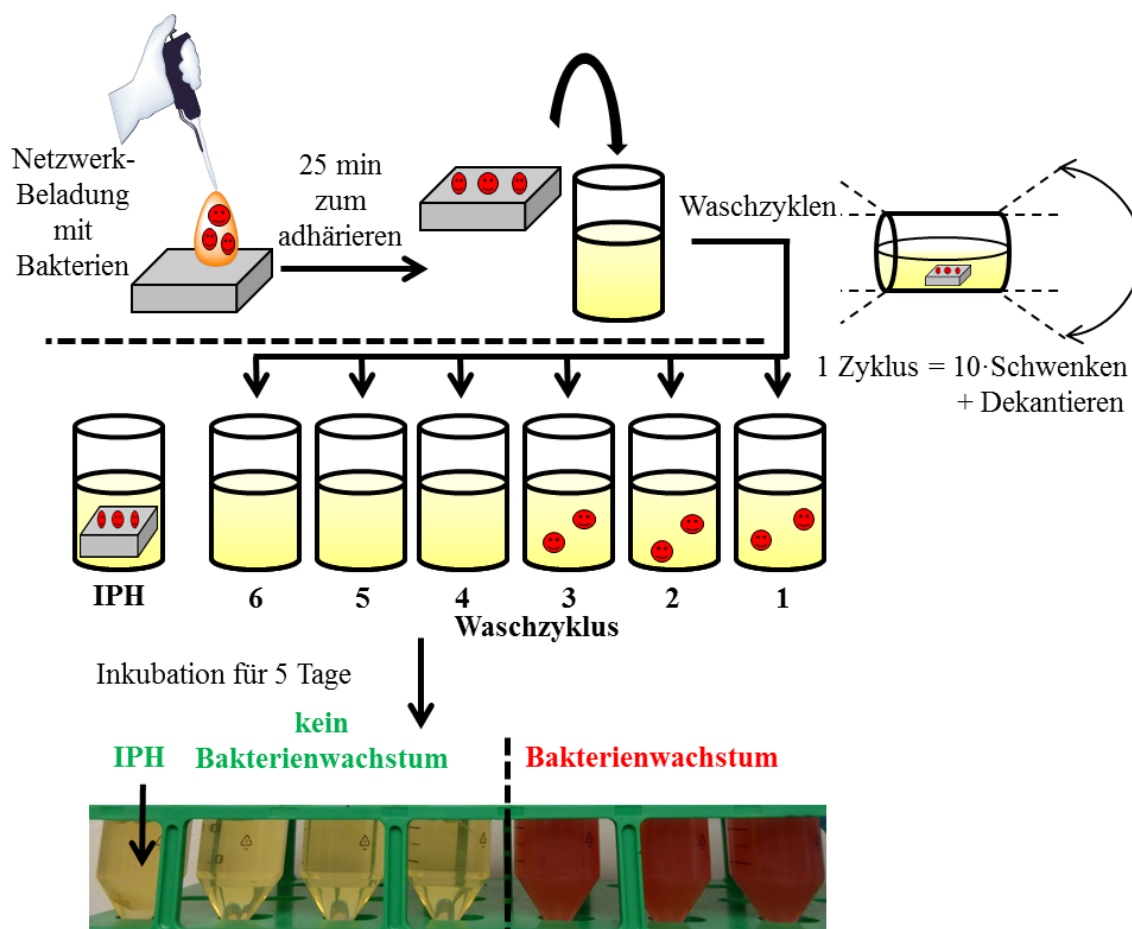


Abbildung 53: Schema der Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität von Polymernetzwerken für eine hohe Bakterienbeladung ( $2 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup> aus PBS) und –stämme (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) am Beispiel der Untersuchung von IPH<sub>1.74</sub> gegen *S. aureus* mit 6 Bakterienwaschzyklen. (Daten siehe Tabelle 15 sowie Tabelle 40 im Anhang; Seite 176)

Tabelle 15: Antimikrobielle Untersuchung der Netzwerke PHEA<sub>(1)</sub> (ungewaschen), IPH<sub>1.74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C gewaschen) und IPH<sub>1.50(1)</sub> (7 Tage bei Raumtemperatur gewaschen) durch die Beladung dieser mit jeweils 10 µL Bakteriensuspension ( $10^8$  Zellen/mL in PBS,  $2 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>; *S. aureus*, *E. coli* oder *P. aeruginosa*), 25 min Adhärenzzeit, 6 Waschzyklen in Nährboullion und gefolgt 5-tägiger Inkubationszeit.

Wasch- zyklus <sup>a)</sup>	antimikrobielle Aktivität <sup>b)</sup>								
	PHEA <sub>(1)</sub> (ungewaschen)			IPH <sub>1.74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C)		IPH <sub>1.50(1)</sub> (7 Tage bei RT)			
	<i>S.a.</i> <sup>c)</sup>	<i>E.c.</i> <sup>d)</sup>	<i>P.a.</i> <sup>e)</sup>	<i>S.a.</i> <sup>c)</sup>	<i>E.c.</i> <sup>d)</sup>	<i>S.a.</i> <sup>c)</sup>	<i>E.c.</i> <sup>d)</sup>	<i>P.a.</i> <sup>e)</sup>	
6	inaktiv	inaktiv	inaktiv	aktiv	aktiv	aktiv	aktiv	inaktiv	

a) Nach der Applikation der Bakteriensuspension auf den Netzwerken sowie der Adhärenz der Bakterien, wurden die Proben analog zu Prozedur in Abbildung 53 (Abschnitt 6.4.2.6) präpariert, durch 10-maliges wippen mit gefolgt Nährboullionwechsel (15 mL) je Waschzyklus behandelt; b) Die Bewertung der Proben erfolgte nach 5 Tage Inkubation in 15 mL unter Wachstumsbedingungen und Anfärbung mit jeweils 1 mL TTC-Lösung (1 mg/mL). Klare, ungefärbte Proben wurden als antimikrobiell „aktiv“ und trübe, rot gefärbte Proben wurden als antimikrobiell „inaktiv“ eingestuft; c) Inkubation der Proben erfolgte in Nährboullion (pH = 7.3) bei 37 °C; d) Inkubation der Proben erfolgte in Nährboullion (pH = 6.8) bei 37 °C; e) Inkubation der Proben erfolgte in Nährboullion (pH = 7.0) bei 30 °C.

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse der antimikrobiellen Untersuchungen, nach der in **Abbildung 53** beschriebenen Prozedur, der hochbeladenen Netzwerke vorgestellt. Die Analysen

fanden an ungewaschenen PHEA<sub>(1)</sub> sowie gewaschenen IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> statt (siehe **Tabelle 15**). In allen Fällen war für das mitgeführte PHEA-Referenznetzwerk sowie dessen Waschlösungen ein Bakterienwachstum nach der Inkubation unter Wachstumsbedingungen zu verzeichnen. Der Bewuchs der Waschlösungen zeigte eine konstante Ablösung lebender Keime vom PHEA<sub>(1)</sub> während der Waschzyklen.

Die untersuchten, gewaschenen IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> wiesen trotz ihrer unterschiedlichen PBI-Gehalte, für *E. coli* und *S. aureus* antimikrobielle Eigenschaften für die hohe Bakterienbeladung auf. Die Untersuchung der dazugehörigen Waschlösungen lieferten *E. coli* und *S. aureus* ebenfalls analoge Ergebnisse. Wie am Beispiel mit *S. aureus* und IPH<sub>1.74(1)</sub> in **Abbildung 53** zu sehen ist, blieben die Waschlösungen spätestens nach dem dritten Waschzyklus klar. Dies zeigt an, dass ab diesem Waschzyklus keine lebenden Bakterien mehr vom Netzwerk abgelöst wurden. Zudem zeigt die klare Lösung des IPH an, dass anhaftende Bakterien sich selbst nach 5 Tagen Inkubationszeit nicht auf dem IPH proliferieren konnten und die antimikrobielle Aktivität der intensiv gewaschen Netzwerke bestätigt wurde.

Für die Beladung des IPH<sub>1.50(1)</sub> mit *P. aeruginosa* nach 6 Waschzyklen und Inkubation, war das Netzwerk selbst und alle Waschlösungen bewachsen. Damit war eine konstante Ablösung lebender Zellen während der Waschzyklen vorhanden, weshalb vermutlich auch die Probe des Netzwerks einen Bakterienbewuchs aufwies. Ergänzend wurde weitere Versuche für *P. aeruginosa* mit bis zu 20 Waschzyklen durchgeführt. Darin zeigte das inkubierte IPH<sub>1.50(1)</sub> (7 Tage bei RT gewaschen) erst nach 20 Waschzyklen keinen Bakterienbewuchs damit eine antimikrobielle Aktivität an. Die Waschlösungen waren bei allen Versuchen sehr ungleichmäßig, aber konstant, mit Bakterien bewachsen. Dies macht eine klare Beurteilung der antimikrobiellen Eigenschaften für *P. aeruginosa* mit dem durchgeführten Test nicht möglich.

Die Ergebnisse deuten auf ein für *P. aeruginosa*, deutlich von *S aureus* und *E. coli*, abweichendes Adhärenz- und damit Desorptionsverhalten der Bakterien auf den Netzwerken hin. Die Ursache für die lockere Haftung der Keimen auf den Netzwerken könnte darin liegen, dass es sich bei *P. aeruginosa* um schleimbildende Bakterien<sup>291</sup> handelt und die Schleimschicht eine starke Adhärenz der Keime, sowie Inhibierung an der Probenoberfläche verhindert.

Nachdem die antimikrobielle Aktivität der untersuchten IPH nach hohen Bakterienbeladung mit gefolgten Waschzyklen nachgewiesen wurde, erfolgte anschließend die Quantifizierung der Bakterienzahl auf den Proben. Die Untersuchungen zur Quantifizierung der Keimzahl auf den PHEA sowie IPH nach einer hohen Beladung mit Bakterien ( $2.0 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>) und gefolgtter Waschzyklen, wurden mittels REM und Laser-Scanning-Mikroskopie (LSM) durchgeführt (Details siehe **Tabelle 39** im Anhang; Seite 174). Die nach den Waschzyklen auf den Netzwerken ermittelten Bakterienbeladungen liegen im Bereich von  $1.6 \cdot 10^4$  bis  $2.0 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>. Dies zeigt, dass die Bakterien nur teilweise von den Netzwerken abgewaschen werden, der Großteil der Keime aber auf der Probe verbleibt. Die ermittelten Beladungen liegen deutlich oberhalb der erfolgten definierten

Beladungen mit  $2 \cdot 10^2$  bis  $10^3$  Zellen/cm<sup>2</sup> (ohne Waschzyklen), weshalb auf eine erfolgreiche hohe Beladung der Netzwerke mit Bakterien, trotz Waschzyklen, geschlossen werden kann.

Abschließend konnten durch die erfolgten Tests zur Untersuchung des Desorptionsverhaltens von Bakterien auf Netzwerken mit einer hohen Bakterienbeladung von bis zu  $10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>, die antimikrobielle Wirkung der gewaschenen IPH gegenüber *E. coli* und *S. aureus* nachgewiesen werden. Für *E. coli* und *S. aureus* zeigten die Untersuchungen der Waschlösungen eine feste Haftung der Keime auf den Netzwerken, nach maximal 3 Waschzyklen. Dagegen waren für *P. aeruginosa* zwar nach 20 Waschzyklen eine antimikrobielle Aktivität des Netzwerkes nachzuweisen, jedoch waren alle Waschlösungen stets uneinheitlich bewachsen. Die Ergebnisse weisen für *P. aeruginosa* somit auf eine sehr schwache Anhaftung auf den IPH hin. Der Bakterienbewuchs der ersten Waschlösungen einer Reihe bestätigt zudem die Vermutung einer Desorption von Keimen im Test der direkten Applikation von verschiedenen Bakterienbeladungen auf Netzwerke (**Abschnitt 4.2.2.5.2.2**), d.h. dass die entsprechenden Ergebnisse durch Desorption vermutlich verfälscht wurden. Der Test selbst bestätigt die antimikrobielle Aktivität der IPH, lässt jedoch keine Aussage über den Wirkmechanismus (Freisetzung vs. Kontaktaktivität) der IPH zu.

#### 4.2.2.5.2.4 Adhärenz von Bakterien auf Netzwerken

Als weitere antimikrobielle Untersuchung der IPH<sub>1.74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C gewaschen) und IPH<sub>1.50(1)</sub> (27 Tage bei 37 °C gewaschen) wurden Adhärenztests durchgeführt. Der Test wurde gewählt, um die antimikrobielle Wirkung der IPH nach den intensiven Waschversuchen zu bestätigen. Zudem ermöglicht die Prozedur dieses antimikrobiellen Tests eine Aussage darüber, ob die Netzwerke die Keime lediglich inhibieren oder in welchem Grad (log-Reduktion) sie diese töten.

Die Netzwerke wurden dazu zunächst in PBS equilibriert, mit einer Konzentration von  $10^7$  Zellen/mL für 3 h bei 37 °C inkubiert, die adhärennten Keime mittels Ultraschall von der Probe abgelöst, die Überstände inkl. Verdünnungen ausplattiert, über Nacht bei 37 °C inkubiert und abschließend die koloniebildenden Einheiten (CFU) ausgezählt (Schema siehe **Abbildung 54**). Die Prozedur erfolgte für die drei klinisch relevanten Bakterienstämme *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa*.

In jeder Probenreihe wurde jeweils mindestens ein PHEA<sub>(1)</sub> Netzwerk als Referenz mitgeführt. Auf Basis der jeweils ausgezählten CFU wurden für IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> die log<sub>10</sub>-Reduktionen, bezugnehmend zu PHEA<sub>(1)</sub>, ermittelt (siehe **Abbildung 55**).

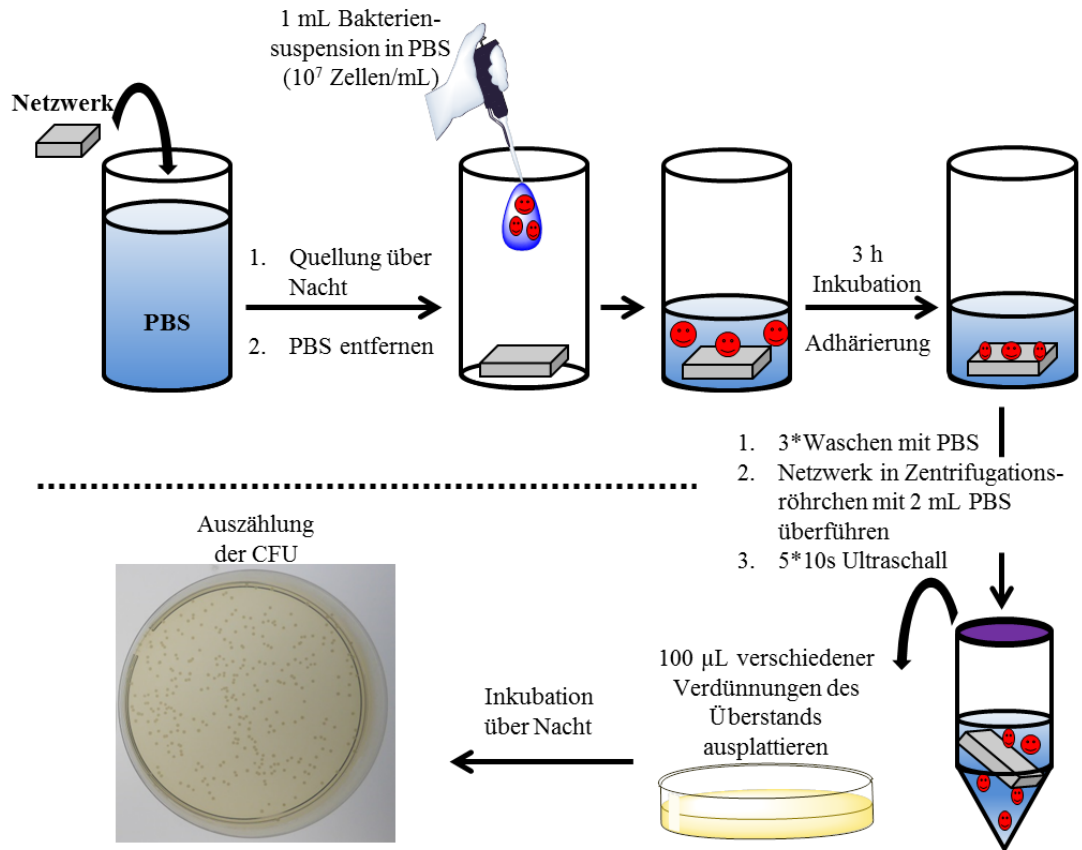


Abbildung 54: Schematische Darstellung des Adhärenztests zur Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität von Netzwerken.

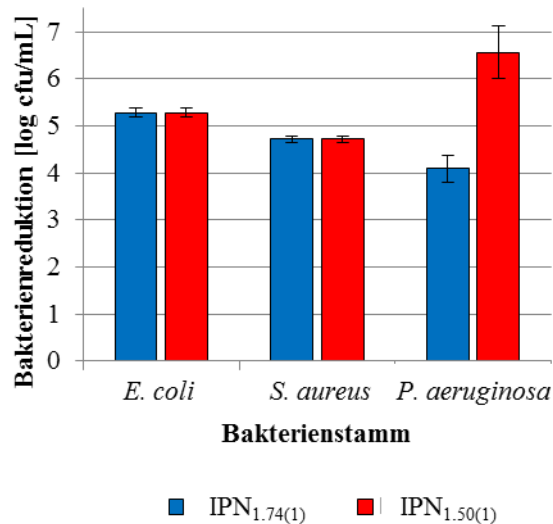


Abbildung 55: Bakterienreduktion auf in Wasser gewaschenen gewaschen IPN<sub>1.74(1)</sub> (12 Tage Waschung bei 37 °C) und IPN<sub>1.50(1)</sub> (27 Tage Waschung bei 37 °C) nach 3 h Inkubation bei 37 °C in PBS. Die Bakterienanzahl auf PHEA<sub>(1)</sub> als Referenz waren Folgende: *E. coli* in PBS ( $3.3 \pm 2.0$ )· $10^5$  Zellen/cm<sup>2</sup>, *S. aureus* in PBS ( $5.3 \pm 0.9$ )· $10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup>, *P. aeruginosa* in PBS ( $7.5 \pm 9.0$ )· $10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>. Alle Messungen erfolgten mindestens als Doppelbestimmung und die Fehlerbalken kennzeichnen die Standardabweichung.<sup>246</sup> (Daten siehe Tabelle 41 im Anhang; Seite 176)

Die Ergebnisse zeigen jeweils für *E. coli* eine log-Reduktion von  $5.3 \pm 0.1$  und für *S. aureus* eine log-Reduktion von  $4.7 \pm 0.1$  für beide IPH (siehe **Abbildung 55**). Dabei bietet bereits das IPH<sub>1.74(1)</sub> mit seinem geringen PBI-Gehalt eine komplette Abtötung aller adhärenierten Bakterien. Im Fall von *P. aeruginosa* weist das IPH<sub>1.74(1)</sub> ( $\log 4.1 \pm 0.3$ ) eine etwas geringere Reduktion als das IPH<sub>1.50(1)</sub> ( $\log 6.6 \pm 0.6$ ) auf. Dies weist auf eine gewisse Abhängigkeit der Tötungseffizienz vom PBI-Gehalt für die anscheinend weniger empfindlichen *P. aeruginosa* hin.

Die unterschiedlichen höchsten log-Reduktionen für *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* kommen durch die unterschiedlichen, ermittelten Bakterienzahlen, auf den PHEA-Referenznetzwerken, zustande. Das bedeutet, dass kein Rückschluss auf eine unterschiedliche, bakterienspezifische Abtötungseffizienz möglich ist.

Dennoch sind alle IPHs trotz ihrer intensiven Waschung bei 37 °C über mehrere Wochen hinweg, immer noch antimikrobiell hoch aktiv. Ähnlich lang und hochaktive Hydrogele sind in der Literatur nur vereinzelt zu finden, wie z.B. ein langsam PHMB-freisetzendes Hydrogel von Zhang et. al.<sup>157</sup> oder ein Amphodextrin B-freisetzendes Dextranhydrogel von Zumbuehl et. al.<sup>156</sup>.

Des Weiteren wurde der Einfluss von Proteinen auf die Tötungseffizienz untersucht, indem das Experiment in einem Albumin haltigen Inkubationsmedium für *S. aureus* wiederholt wurde. Die Bakterienreduktion beträgt für das IPH<sub>1.74(1)</sub> mit dem niedrigeren PBI-Gehalt  $\log 3.5 \pm 0.3$  und für das IPH<sub>1.50(1)</sub>  $\log 5.2 \pm 0.2$ . Die unterschiedlichen Bakterienreduktionen, im Vergleich zum Adhärenztest in PBS zeigen, dass die antimikrobielle Aktivität der IPH von der Zusammensetzung des umgebenden Mediums abhängt.

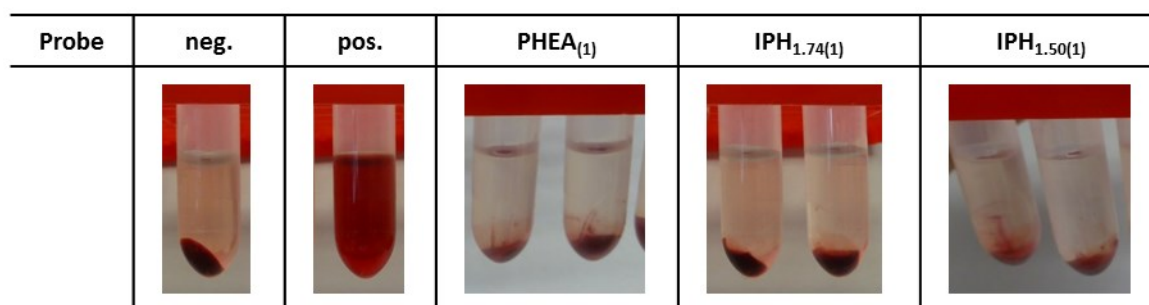
Nach der Bestätigung der hohen, antimikrobiellen Aktivität der IPH, sollten weitere Informationen über die Höhe der Biozidfreesetzung gewonnen werden. Damit sollte geklärt werden, ob wie im Bakterienprüfetest die Bakterien nur an der Probenoberfläche oder auch im Umfeld der Probe abgetötet werden. Dazu wurde zusätzlich das IPH<sub>1.50(1)</sub> (50 mg Hydrogel/mL) analog zum Adhärenztest für 3 h bei 37 °C in Nährbouillon inkubiert und das Netzwerk dann entnommen. Das entsprechende Medium wurde mit *S. aureus* Bakterien angeimpft ( $10^5$  Zellen/mL) und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Alle Proben waren komplett mit Bakterien bewachsen, sodass keine aktive Biozidkonzentration im Medium vorlag. Damit liegt die PBI-Konzentration eindeutig unterhalb des MIC-Wertes. Das Experiment zeigt, dass die geringe, freigesetzte PBI-Menge nicht ausreicht, um Bakterien in der Umgebung des IPH abzutöten, was eine Konzentration unterhalb des MIC von 35 µg/mL für *S. aureus* bedeutet. Somit findet die Abtötung der Bakterien direkt auf der Oberfläche des Gels statt.

#### 4.2.2.5.3 Biokompatibilität der interpenetrierenden Netzwerke

Für den Einsatz der IPH im Bereich medizinischer Anwendungen ist neben der bewiesenen antimikrobiellen Wirkung gegen schädliche Keime, auch die Kompatibilität z.B. gegenüber Blutkörperchen und Stammzellen ein wichtiger Faktor. Dafür wurden die Netzwerke bezüglich ihrer Hämokompatibilität gegenüber roten Schweineblutzellen untersucht. Ergänzend führte der

Arbeitskreis von Prof. Dr. M. Köller am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum Untersuchungen des Ausgangspolymers Br-PBI<sub>5700</sub>-Br und der Netzwerke mit menschlichen, mesenchymalen Stammzellen (hMSC) durch.

Die Untersuchungen der Hämokompatibilität des Ausgangspolymers Br-PBI<sub>5700</sub>-Br in **Abschnitt 4.1.2.3**, zeigte bereits mit einem HC<sub>50</sub>-Wert von >51800 µg/mL bei einer Lyse <1% eine exzellente Hämokompatibilität gegenüber roten Schweineblutzellen (RBC). Nach dem Vorbild des HC<sub>50</sub>-Tests und in der Literatur<sup>210, 292-294</sup> beschriebener Tests zur Hämokompatibilität von Netzwerken, wurden die ungewaschenen Netzwerke PHEA<sub>(1)</sub>, IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> auf ihre Hämokompatibilität mit RBC untersucht. Dazu wurden vor der eigentlichen Inkubation der Netzwerke mit RBC, diese zunächst 64 h in CPD gequollen. Anschließend wurden die Quelllösungen für 1 h sowie die Netzwerke in CPD für 1 h und 3 h jeweils bei 37 °C mit RBC inkubiert. Anschließend wurden diese zentrifugiert und der Lysegrad des Hämoglobins über die Extinktion bei 541 nm (25 °C) mittels UV/Vis-Spektroskopie ermittelt (Werte siehe **Tabelle 42** im Anhang; Seite 178).



**Abbildung 56:** Aufnahmen der Netzwerke (~50 mg) PHEA<sub>(1)</sub>, IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> nach 3 h Inkubation bei 37 °C in 800 µL CPD mit 200 µL RBC-Konzentrat sowie einer negativ (800 µL CPD + 200 µL RBC-Konzentrat) und positiv Probe (800 µL CPD + 200 µL RBC-Konzentrat + 2 µL Triton-X). Werte siehe **Tabelle 42** im Anhang; Seite 178.

Der ermittelte Lysegrad des Hämoglobins liegt für alle Proben zwischen 0.37 - 1.43%, was im Bereich des Fehlers der Bestimmungsmethode liegt. Die geringen Lysegrade von <1.5% zeigen trotz des ungewaschenen Zustandes der Netzwerke eine sehr gute Hämokompatibilität für alle untersuchten Proben. Unterschiede zwischen den PHEA<sub>(1)</sub>, IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> sind nicht erkennbar. Ein Einfluss des PBIN-Gehaltes der IPH auf die Erythrozytenlyse ist nicht festzustellen. Die antimikrobiellen IPH sind somit von Anfang an für den Kontakt mit RBC geeignet, wie es für eine Wundauflage Bedingung wäre.

Anschließend erfolgten Untersuchungen mit hMSC für das Ausgangspolymer Br-PBI<sub>5700</sub>-Br und für die Netzwerke PHEA<sub>(1)</sub> (ungewaschen), IPH<sub>1.74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C gewaschen) und IPH<sub>1.50(1)</sub> (27 Tage bei 37 °C gewaschen) durch den Arbeitskreis von Prof. Dr. M. Köller. Für die Untersuchung des Br-PBI<sub>5700</sub>-Br wurde ein AlamarBlau-Assay mit hMSC und für die Netzwerke Adhärenzversuche mit hMSC durchgeführt.

Der AlamarBlau-Assay zeigte, im Gegensatz zur exzellenten Hämokompatibilität für RBC, bereits ab 20 µg/mL eine toxische Wirkung gegenüber den hMSC. Diese Konzentration liegt in einem ähnlichen Bereich wie die MIC-Werte von PBI<sub>n</sub>.

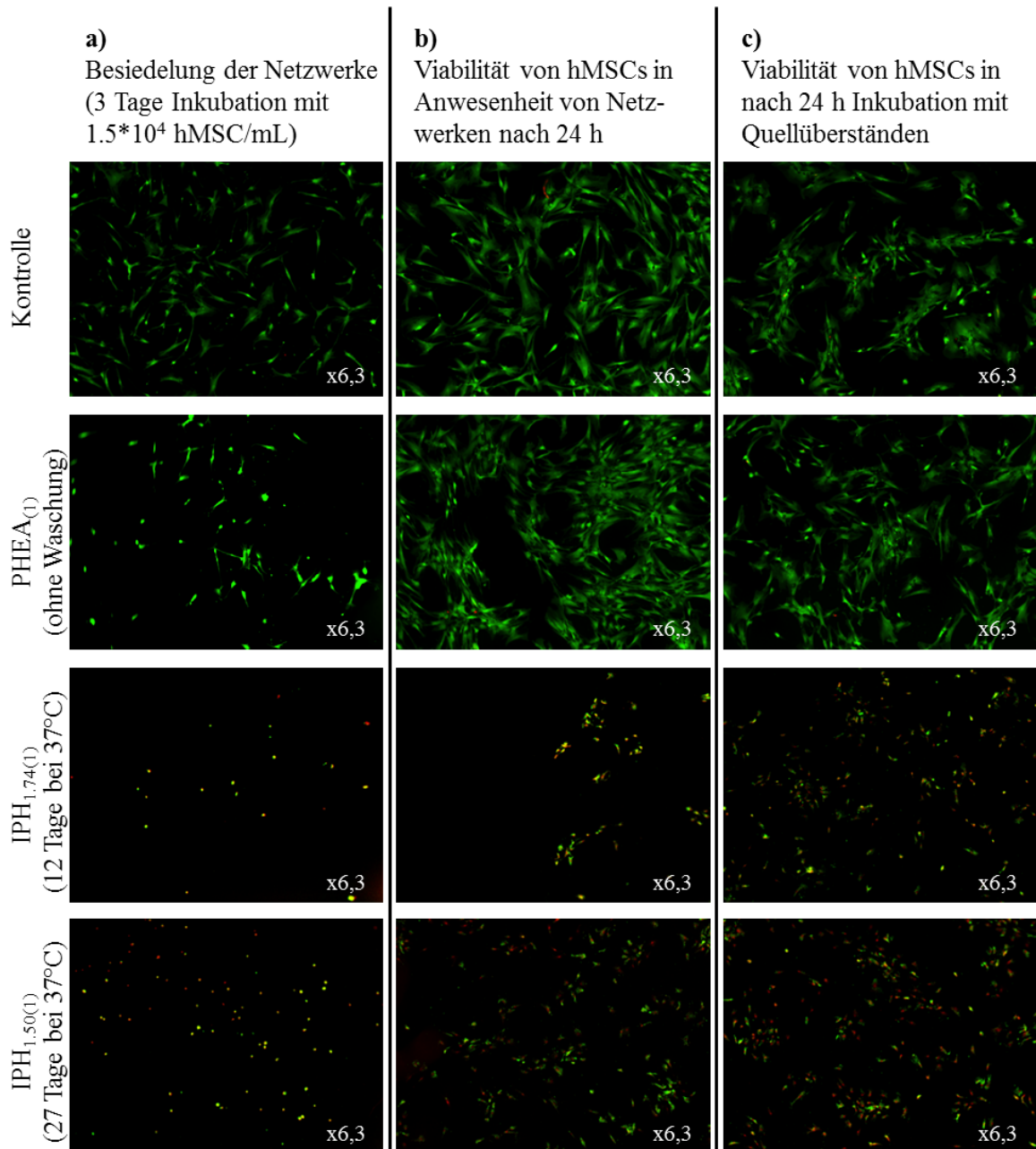


Abbildung 57: Aufnahmen der Untersuchungen durch Köller et. al.<sup>295</sup> der Viabilität von hMSCs gegenüber den Netzwerken PHEA<sub>(1)</sub> (ungewaschen), IPH<sub>1,74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C gewaschen) und IPH<sub>1,50(1)</sub> (27 Tage bei 37 °C gewaschen) im Vergleich zur Kontrolle (ohne Probenkörper) für verschiedene Experimente (a-c) nach Anfärbung mit Calcein-AM und PI; a) zeigt die Inkubation von in RPMI/FCS gequollenen Netzwerken mit jeweils 1 mL mit  $1.5 \cdot 10^4$  hMSCs/mL; b) zeigt die Viabilität jeweils einer 1 mL mit  $1.5 \cdot 10^4$  hMSC/mL besiedelten Kontroll-Platte (Zellrasen) nach 24 h Inkubation mit gequollenen Netzwerken; c) zeigt die Viabilität jeweils einer 1 mL mit  $1.5 \cdot 10^4$  hMSC/mL besiedelten Kontroll-Platte (Zellrasen) nach 24 h Inkubation dem Quellüberstand der Netzwerke nach einer 24 h Quellung in RPMI/FCS.



Anschließend sollten die Untersuchungen der Adhärenztests zeigen, ob die Netzwerke ebenso toxische Eigenschaften aufweisen wie das Ausgangspolymer. Dazu wurden drei unterschiedliche Experimente durchgeführt. Es wurde die Besiedelung der Netzwerke als Adhärenztest (3 h Inkubation der Netzwerke mit  $1.5 \cdot 10^4$  hMSC/mL unter Wachstumsbedingungen, siehe **Abbildung 57a**), die Viabilität von hMSC in Anwesenheit von Netzwerken (Positionierung von Netzwerken auf einem Zellrasen für 24 h unter Wachstumsbedingungen, siehe **Abbildung 57b**) und die Viabilität von hMSC im Quellüberstand (24 h Inkubation unter Wachstumsbedingungen, siehe **Abbildung 57c**) untersucht. Neben den Netzwerken wurde als Kontrolle die Viabilität der Zellen in Lösung ohne Netzwerke untersucht (Kontrolle). Die Untersuchung der Viabilität der Stammzellen fand nach der Anfärbung mit Calcein-AM und Propidiumiodid (PI) mittels Fluoreszenzmikroskopie statt.

Die Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen (siehe **Abbildung 57**) zeigen in allen drei Experimenten für PHEA<sub>(1)</sub> als Referenz eine hohe Viabilität der Zellen (grün), ohne das tote Zellen (rot) erkennbar sind. Somit lässt sich für das PHEA<sub>(1)</sub> folgern, dass dieses keine hMSC toxischen Substanzen freisetzt und somit prinzipiell für medizinische Anwendungen in Frage kommt.

Für die untersuchten IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> zeigen dagegen verringerte Zellviabilitäten, durch die geringe Anzahl an lebenden, grünen Zellen, in allen drei Experimenten. Die roten Zellen deuten zudem auf Toxizität der Netzwerke für hMSC hin. Da sowohl die Viabilität beim direkten Kontakt der hMSC, als auch in den Quellüberständen geringer ausfällt, ist dies auf die Freisetzung biozider Bestandteile zurückzuführen. Die in den Waschexperimenten ermittelten Konzentrationen für freigesetztes PBI, lagen für IPH<sub>1.74(1)</sub> nach 12 Tagen unterhalb von  $2.5 \mu\text{g/mL}$  und für IPH<sub>1.50(1)</sub> nach 27 Tagen bei  $5 \mu\text{g/mL}$ . Diese Konzentrationen entsprechen damit maximal  $1/4$  der toxischen Br-PBI<sub>5700</sub>-Br Konzentration für hMSC.

Auffällig ist, dass die Zellviabilität in allen Experimenten von IPH<sub>1.74(1)</sub>, scheinbar etwas geringer ausfällt, als bei der Anwesenheit von IPH<sub>1.50(1)</sub>. Wäre die verringerte Zellviabilität auf den PBI-Gehalt zurückzuführen, würde dies der im Waschwasser ermittelten PBI-Freisetzung widersprechen, da IPH<sub>1.50(1)</sub> in den Waschexperimenten mit Fluoreszein mehr PBI freisetzte, was zu einer erhöhten Toxizität führen würde. Grundsätzlich ist auch die Freisetzung von bioziden Bestandteilen denkbar, welche eine andere Struktur und somit vielleicht eine erhöhte Toxizität für MSC aufweisen als Br-PBI<sub>5700</sub>-Br. Aufgrund dessen, dass alle Aufnahmen noch lebende Zellen aufweisen, ist neben einer tödenden auch eine wachstumshemmende Wirkung der IPH auf hMSC nicht auszuschließen. So würde die Entfernung der IPH aus der hMSC-Mischung anschließend wieder zu einer Vermehrung der Zellen führen. Die Verringerung der Zellviabilität von hMSC in Gegenwart von IPHs, konnte auf das enthaltene PBI-Netzwerk zurückgeführt werden, da PHEA (ohne PBI-Netzwerk) eine sehr gute Viabilität der Zellen zeigt. Diese Feststellung kann durch die ermittelte Toxizität von Br-PBI<sub>5700</sub>-Br für hMSC bestätigt werden.

#### 4.2.2.5.4 Zusammenfassende Betrachtung der biologischen Untersuchungen der Netzwerke

An dieser Stelle werden die erhaltenen Ergebnisse zu den antimikrobiellen sowie biokompatiblen Eigenschaften der untersuchten Hydrogele kurz zusammenfassend betrachtet.

Ein wichtiger Ausgangspunkt für die Untersuchung war die intensive Waschung der Hydrogele (IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub>) über Wochen, mit jeweils täglichem Wasserwechsel. Die Analyse des Waschwassers, durch die Bestimmung der darin enthaltenen PBI-Konzentration, wies für beide Hydrogele eine Freisetzung auf, welche in den ersten 5 Tagen stetig abnahm. Für das IPH<sub>1.50(1)B</sub> mit dem höheren berechneten PBI-Gehalt von 5.5 wt%, stellte sich ab dem 7. Waschtage bis zum Ende der Waschung (Tag 27) konstant eine Konzentration von 5 µg/mL im Waschwasser ein. Dagegen sank für das PH<sub>1.74(1)B</sub> die PBI-Konzentration im Waschwasser ab dem 7. Tag unterhalb der Detektionsgrenze von 2.5 µg/mL, sodass keine PBI-Freisetzung mehr detektiert werden konnte.

Im folgenden Bakterienprüfetest, bei der direkten Applikation von Bakterien auf die Netzwerke und im Adhärenztest, kann jeweils die antimikrobielle Aktivität von intensiv gewaschenen IPH gegenüber den klinisch relevanten Keimen *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* bestätigt werden. Dabei zeigt der Bakterienprüfetest spätestens nach 7 Tagen Waschung keine erkennbare Freisetzung biozider Komponenten mehr an. Der Adhärenztest kann durch die log-Reduktionen (log 3.5 – 6.6) nachweisen, dass die Bakterien auf der Netzwerkoberfläche nicht inhibiert sondern besonders effizient abgetötet werden. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die im Adhärenztest freigesetzte PBI-Menge nicht ausreicht, um Bakterien in der Umgebung der IPH abzutöten. Die antimikrobielle Aktivität der IPH gegen verschiedene hohe Bakterienbeladungen ( $\sim 10^2$ - $10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>) wird in Tests der direkten Applikation von Bakterien auf die Hydrogele bewiesen. Zudem zeigen die Untersuchungen ein unterschiedliches Adhärenzverhalten, in Form von Desorption, der verschiedenen Bakterienstämme. Alle Ergebnisse der antimikrobiellen Analysen deuten ab dem 7. Waschtage auf keine Freisetzung und damit auf kontaktaktive Eigenschaften der antimikrobiellen IPH hin.

Bezüglich der Biokompatibilität, wurde in den Untersuchungen mit roten Blutzellen (RBC) eine gute Hämokompatibilität der IPH nachgewiesen. Jedoch wurde eine Toxizität des PBI und damit der IPH für die mesenchymalen Stammzellen festgestellt.

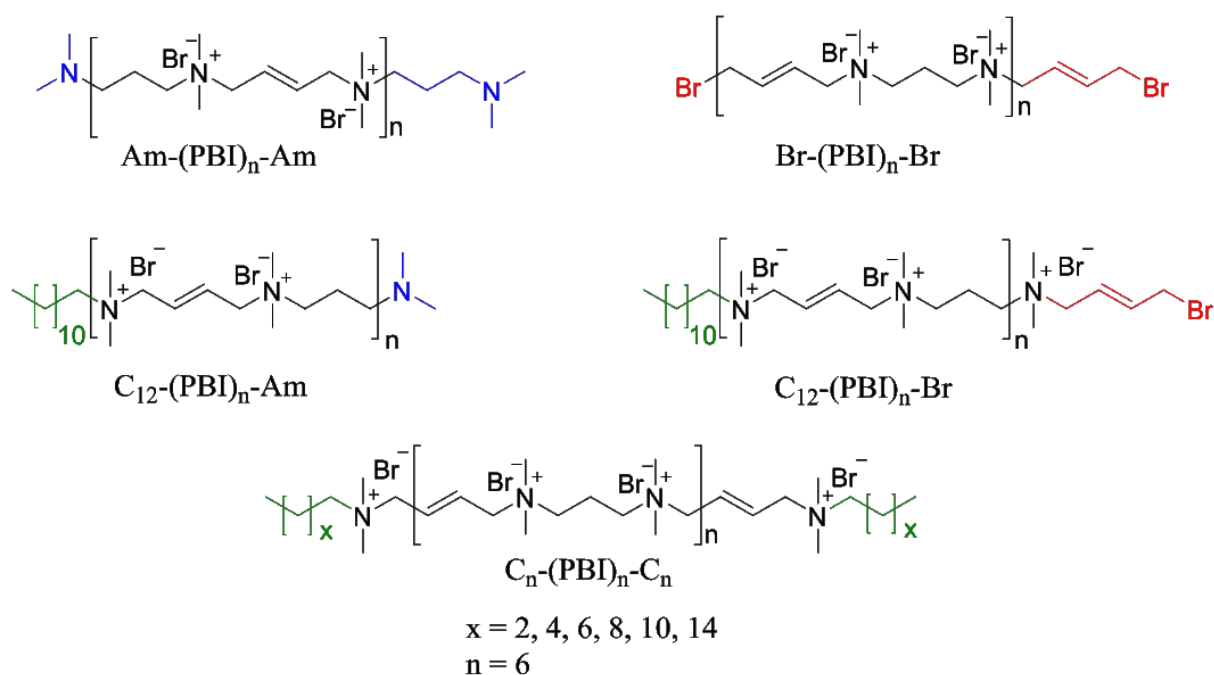
Die antimikrobielle Aktivität der IPH über Wochen gegen Gram-positive und Gram-negative Bakterien macht diese hämokompatiblen, wasserspeichernden Hydrogele zu einem vielversprechenden Material im medizinischen Bereich für Hautverbrennungen oder infizierte Wunden.

## 5 Zusammenfassung

### 5.1 Antimikrobielle Polymere in Lösung

Im ersten Teil dieser Arbeit konnten erfolgreich mittels einer sequentiellen Synthesestrategie, als neues Verfahren, 3,4en-Ionene (PBI) mit engverteilten Molekulargewichten sowie definierten Endgruppen hergestellt und hinsichtlich ihrer antimikrobiellen und hämolytischen Eigenschaften charakterisiert werden. Des Weiteren wurde die Synthese, durch Polyaddition, und Charakterisierung von Endgruppen-modifizierten  $\text{PBI}_n$  für die Einarbeitung in antimikrobielle Polymernetzwerke durchgeführt. Die Basis für das Polymerrückgrat aller hergestellten PBI waren die Monomere *trans*-1,4-Dibrom-2-buten (DBB) und *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,3-propandiamin (TMPDA).

Die sequentiellen Synthesen ausgehend von verschiedenen Startmolekülen (DBB, TMPDA, *N,N*-Dimethylaminododecan), ermöglichten die Herstellung verschiedener PBI-Spezies mit unterschiedlichen Molekulargewichten und definierten Endgruppen (siehe **Abbildung 58**). Es wurden zum einen PBI mit beidseitigen Brom- ( $\text{Br}-(\text{PBI})_n-\text{Br}$ ) oder Amin- ( $\text{Am}-(\text{PBI})_n-\text{Am}$ ) Endgruppen hergestellt. Zum anderen wurden PBI mit einer Dodecyl-Endgruppe (DDA) auf der einen und mit einer Brom- ( $\text{C}_{12}-(\text{PBI})_n-\text{Br}$ ) bzw. Amin- ( $\text{C}_{12}-(\text{PBI})_n-\text{Am}$ ) Endgruppe auf der entgegengesetzten Seite synthetisiert. Des Weiteren wurden  $(\text{PBI})_n$  mit verschiedenen, beidseitigen Alkyl-Endgruppen ( $\text{C}_x-(\text{PBI})_n-\text{C}_x$ ;  $x = \text{Butyl bis Hexadecyl}$ ) erzeugt. Der Index  $n$  gibt jeweils die Anzahl der Wiederholungseinheit an. Durch die Wahl kontrollierter Synthesebedingungen, Kühlen und schnelle Zugabe, konnte die Bildung von Nebenprodukten in den Synthesen maßgeblich gesenkt werden. Dies ermöglichte die Herstellung eng verteilter Oligomere ( $\text{PDI} < 1.2$ ), welche sogar im Rahmen einer lebenden Polymerisation liegen.



**Abbildung 58:** Übersicht der durch sequentielle Synthese hergestellten PBI-Spezies.

Zur Identifizierung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, wurden die sequentiell synthetisierten PBI-Spezies mit ihren definierten Molekulargewichten (bis zu ~5000 g/mol) und Endgruppen bezüglich ihrer minimal inhibierenden Konzentration (MIC) gegen die Bakterienstämme *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) und *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) untersucht. Ergänzend fand die Untersuchung der Hämokompatibilität (HC<sub>50</sub>) für rote Schweineblutzellen (RBC) statt.

Die Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br und Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am Spezies besitzen eine steigende antimikrobielle Aktivität von MIC = >5000 µg/mL auf 78 µg/mL mit steigendem Molekulargewicht im Bereich von M<sub>n</sub> = 500 - 4900 g/mol. Dabei sind die Amin-terminierten Spezies im Allgemeinen weniger aktiv als die jeweiligen Brom-terminierten. Jedoch wird in keinem Fall die antimikrobielle Aktivität von PBI<sub>n</sub> (MIC = 18 - 40 µg/mL) aus Polyaddition erreicht. Für die untersuchten Mikroorganismen gibt es spezifische Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Die größte Aktivitätszunahme bezüglich des Molekulargewichts tritt bei ca. ~1000 g/mol für *S. mutans*, bei ~2000 g/mol für *S. aureus*, und bei ~3000 g/mol für *E. coli* auf. Ferner zeigen alle beidseitig Brom- und Amin-terminierten Verbindungen bei einer Konzentration von 40000 µg/mL eine RBC-Lyse von < 1% und damit keine hämolytische Aktivität.

Die C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub>-Br und C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub>-Am Spezies zeigen keine Abhängigkeit der antimikrobiellen Aktivität vom Molekulargewicht im Bereich von 400 – 2100 g/mol. Die antimikrobielle Aktivität wird primär durch die DDA-Gruppe kontrolliert und macht sie um bis so 7-mal aktiver als die entsprechenden beidseitig Brom- und Amin-terminierten PBI. Erstaunlicherweise nimmt die Hämokompatibilität von HC<sub>50</sub> = 300 µg/mL auf 10000 µg/mL für die C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub> mit steigendem Molekulargewicht zu. Damit kann die DDA-Funktion mit Hilfe des hydrophilen PBI-Rückgrats entgiftet werden, ohne dabei die gute antimikrobielle Aktivität (MIC = 2 - 78 µg/mL) zu beeinflussen. Die beidseitig mit verschiedenen Alkylketten funktionalisierten C<sub>x</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>x</sub> (x = 4, 6, 8, 10, 12, 16), zeigen im Allgemeinen eine zunehmende antimikrobielle Aktivität (MIC = >5000 - 5 µg/mL) sowie eine Abnahme der Hämokompatibilität (HC<sub>50</sub> = >40000 - 130 µg/mL) mit zunehmender Länge der Alkylketten-Endgruppen. Des Weiteren ist eine spezifische, antimikrobielle Aktivität für die getesteten Mikroorganismen zu verzeichnen. Die höchsten erreichten antimikrobiellen Aktivitäten liegen bei MIC<sub>*S. mutans*</sub> = 5 µg/mL (C<sub>6</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>6</sub>), MIC<sub>*S. aureus*</sub> = 10 µg/mL (C<sub>10</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) und MIC<sub>*E. coli*</sub> = 20 µg/mL (C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>). Dabei nimmt offensichtlich die zur Abtötung von Keimen erforderliche Hydrophobie von C<sub>x</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>x</sub> in der Reihenfolge *S. mutans* < *S. aureus* < *E. coli* zu.

Die Untersuchungen der verschiedenen sequentiell hergestellten PBI-Spezies zeigen, dass die antimikrobiellen und hämolytischen Eigenschaften stark vom Molekulargewicht, aber auch von den Endgruppen der Verbindung abhängig sind. Daneben ist die antimikrobielle Aktivität spezifisch für die untersuchten Bakterienstämme. Dies ermöglicht nach einer Art Baukastenprinzip, die Herstellung von antimikrobiellen Makromolekülen mit einer spezifischen oder breiten Aktivität gegenüber Mikroorganismen, wobei zusätzlich gezielt Einfluss auf die Hämokompatibilität genommen werden

kann. Die extrem hohen Selektivitäten gegenüber Säugetierzellen der sequentiellen  $(\text{PBI})_n$ , im Gegensatz zu Bakterienzellen, bestätigen den Trend, wie es bereits das  $\text{PBI}_n$  aus Polyaddition zeigte. Damit unterscheidet sich das Verhalten der hydrophilen Polykationen deutlich von den amphiphilen Polymeren. Dies stellt den von Ikeda et. al.<sup>18</sup> vorgeschlagenen Wirkmechanismus der Membranzerstörung in Frage.

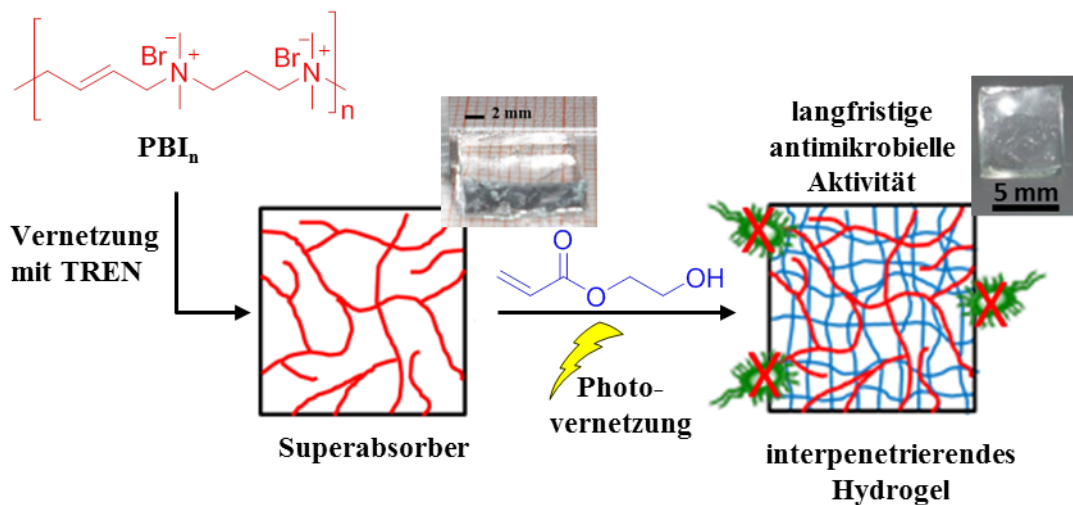
## 5.2 Antimikrobielle Netzwerke

Der zweite Teil dieser Arbeit setzt sich mit der Herstellung und Charakterisierung von antimikrobiellen Netzwerken, mit Endgruppen-modifizierten 3,4en-Ionen ( $\text{PBI}_n$ ) aus Polyaddition als antimikrobielle Komponente, auseinander. Zur Herstellung möglichst langzeitaktiver Netzwerke auf Acrylat-Basis wurden zwei Strategien verfolgt. Die direkte kovalente Einbindung von Endgruppen-modifizierten  $\text{PBI}_n$  und der Aufbau von interpenetrierenden Netzwerken auf Basis von  $\text{PBI}_n$ . Für beide Strategien wurde als Acrylatsystem das hydrophile 2-Hydroxyethylacrylat (HEA) als Monomer, Glyceroldimethacrylat (GDMA) als Vernetzer sowie Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat und Campherchinon als Initiatoren gewählt.

Bei der direkten Einbindung wurden Netzwerke mit  $\text{PBI}_n$ -Gehalten von 2.5 wt% und 5 wt% durch radikalische Photovernetzung hergestellt. Dabei wurden verschiedene  $\text{PBI}_n$  mit Brom- (Br) oder Methacrylamid- (MAA) Endgruppen sowie unterschiedlichen Molekulargewichten ( $M_n = 5500 - 13800 \text{ g/mol}$ ) eingesetzt. Mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) und energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) konnte eine homogene Verteilung des  $\text{PBI}_n$ , anhand eines konstanten Bromsignals über den probenquerschnitt der Netzwerke nachgewiesen werden. Die antimikrobiellen Untersuchungen mit Hilfe des Bakteriensprühtests gegen *S. aureus* an verschieden lang in Wasser gewaschenen Netzwerken, zeigen einen Verlust der antimikrobiellen Aktivität nach spätestens 5 Tagen. Dieser schnelle Aktivitätsverlust und ein teilweise erkennbarer Hemmhof, weisen auf die Auswaschung von  $\text{PBI}_n$  hin. Das bedeutet, dass keine kovalente Anbindung des  $\text{PBI}_n$  an das Netzwerk gegeben war. Ein klarer Zusammenhang zwischen dem  $\text{PBI}_n$  Gehalt, dem Molekulargewicht des  $\text{PBI}_n$  oder den  $\text{PBI}_n$ -Endgruppen kann nicht identifiziert werden. Um langfristig, antimikrobiell aktive Netzwerke mit  $\text{PBI}_n$  zu synthetisieren, wurde in weiteren Versuchen mit der Herstellung von interpenetrierenden Netzwerken eine alternative Synthesestrategie gewählt.

Die Herstellung der interpenetrierenden Netzwerke erfolgte sequentiell. Dazu wurden hochquellbare  $\text{PBI}$ -Netzwerke ( $\text{PBIN}$ ) erzeugt, welche mit HEA sowie GDMA gefüllt und photovernetzt wurden, um so interpenetrierende Hydrogele (IPH) herzustellen. Es wurden zunächst  $\text{PBIN}$  auf Basis drei verschiedenen langer  $\text{Br-PBI}_x\text{-Br}$  ( $x = M_n = 3100, 5700, 7000 \text{ g/mol}$ ), durch die Vernetzung mit unterschiedlichen Mengen Tris(2-aminoethyl)amin (TREN) erzeugt. Der Vernetzungsgrad der Netzwerke wurde über die Messung des massebezogenen Quellgrades ( $Q_m$ ) in Wasser analysiert. Der jeweils höchste Vernetzungsgrad der Polymere weist einen, mit zunehmenden Molekulargewicht des Ausgangspolymers, steigenden Quellgrad von  $Q_m = 20$  (3100 g/mol) auf  $Q_m = 58$  (7000 g/mol) auf. Des Weiteren zeigen die Vernetzungsexperimente, dass die Variation des molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -

Endgruppenverhältnisses und des Molekulargewichts der Br-PBI<sub>x</sub>-Br, die Steuerung des Quellgrades über einen breiten Bereich von  $Q_m = 20 - 170$  ermöglicht. Bemerkenswert ist besonders die extrem schnelle Wasseraufnahme von PBIN-Granulat, von mehr als der 40-fachen Masse an Wasser innerhalb von 60 s oder sogar mehr als der 90-fachen Menge innerhalb von 180 s. Die PBIN sind im trockenen Zustand eher spröde und im gequollenen Zustand sehr fragil und wenig belastbar. Die antimikrobiellen Eigenschaften der PBIN gegen *E. coli* und *S. aureus* wurden mittels des Bakteriensprühtest sowie einer Abwandlung des „shaking flask“ Test, auch nach 5 Tagen waschen in Wasser (inkl. täglicher Wasserwechsel), nachgewiesen. Ergänzend konnte PBIN in Pulverform auf handelsübliche Schaumstoffwundauflagen aufgebracht werden, welche sich so mit antimikrobiellen Eigenschaften ausstatten lassen und ein verbessertes Wasserrückhaltevermögen aufweisen. Im Hämokompatibilitätstest mit roten Schweineblutzellen, zeigen ungewaschene PBIN Lysen von <1% und damit keine messbare, hämolytische Aktivität. Auf Basis verschiedener Br-PBI<sub>x</sub>-Br lassen sich mittels der Vernetzung mit TREN, antimikrobielle und hämokompatible Netzwerke mit Superabsorber-Eigenschaften herstellen. Die Netzwerke stellen ein sehr interessantes Material für den medizinischen Bereich dar und bilden mit ihren kontrollierbaren Quellgraden eine gute Ausgangsbasis für die Herstellung antimikrobieller, interpenetrierender Netzwerke.



**Abbildung 59:** Schematische Darstellung des Aufbaus von interpenetrierenden Hydrogelen (IPH) auf Basis von PBI<sub>n</sub>.<sup>246</sup>

Die IPH-Herstellung erfolgt jeweils dadurch, dass ein PBI<sub>5700</sub> in einer wässrigen Acrylatlösung (Monomer, Vernetzer, Initiatoren) gequollen, photochemisch polymerisiert und getrocknet wird (siehe **Abbildung 59**). Um IPH mit unterschiedlichen Eigenschaften zu generieren und verschiedene PBIN-Gehalte im IPH zu erzeugen, wurden Acrylatlösungen mit verschiedenen Gehalten des Vernetzers GDMA sowie unterschiedlich vernetzte PBI<sub>5700</sub> (molares NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.50 bis 1.74) eingesetzt. Die interpenetrierenden Hydrogele sind als IPH<sub>X(Y)</sub> benannt, wobei der Index X das molare NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis des eingesetzten PBIN und (Y) den GDMA-Gehalt in wt% bezogen auf HEA in der Acrylatlösung angibt. Als Referenz werden analog hergestellte

Acrylatnetzwerke (PHEA<sub>(Y)</sub>) ohne PBIN verwendet. Der aus dem Quellgrad der PBIN in den wässrigen Acrylatlösungen ermittelte PBIN-Gehalt in den IPH, liegt für alle IPH<sub>1.74</sub> im Bereich von 2.0 - 3.5 wt% und für alle IPH<sub>1.50</sub> im Bereich von 5.5 - 7.8 wt%. Die erhalten Netzwerke sind klar, elastisch und in Wasser quellbar.

Mit Hilfe von Transmissionselektronenmikroskopie- (TEM) und Rasterkraftmikroskopie- (AFM) Aufnahmen der Netzwerkquerschnitte, wurden die IPH als nanophasige Materialien charakterisiert. Ergänzend wurde mittels einer Reihe unterschiedlicher Vernetzergehalte in der PHEA-Phase, deren Einfluss auf die Quelleigenschaften und mechanischen Eigenschaften der IPH untersucht. Der Quellgrad der Hydrogele wird dabei maßgeblich durch den Vernetzergehalt (1 – 5 wt% GDMA) der PHEA-Phase dominiert. Lediglich die IPH<sub>1.50</sub> ( $Q_m = 4.0 - 7.3$ ) mit einem höheren PBIN-Gehalt, zeigen durch leicht erhöhte Quellgrade gegenüber PHEA und IPH<sub>1.74</sub> ( $Q_m = 3.2 - 5.6$ ) einen Einfluss des PBIN auf die Quelleigenschaften der IPH. Im Gegensatz dazu, zeigen die Analysen der mechanischen Eigenschaften mittels Dynamisch-mechanischer Analyse (DMA) und Zugversuchen, zur Bestimmung des E-Moduls, der Zugfestigkeit und der maximalen Dehnung, keinen signifikanten Einfluss des PBIN-Gehaltes in den IPH, in Bezug auf die PHEA Netzwerke.

Abschließend wurden die biologischen Eigenschaften der IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> gegen die drei klinisch relevanten Bakterienstämme *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* untersucht. Für die Identifizierung des Wirkmechanismus wurden intensive Waschungen der Hydrogele mit täglichem Wasserwechsel durchgeführt. Für die Untersuchung des Waschwassers, wurde ein für PBI quantitativer Test, auf Basis der Komplexbildung mit Fluoreszein, entwickelt. Dieser Test ermöglicht die Bestimmung von PBI deutlich unterhalb der biologisch aktiven Konzentration ( $MIC_{S. aureus} = 35 \mu\text{g/mL}$ ) bis zu einer Detektionsgrenze von  $2.5 \mu\text{g/mL}$  PBI im Waschwasser. Die Analyse des Waschwassers weist für IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> eine in den ersten 5 Tagen abnehmende Freisetzung nach. Für das IPH<sub>1.50(1)</sub> stellt sich ab dem 7. Waschtage, bis zum Ende der Waschung (Tag 27), konstant eine PBI-Konzentration von  $5 \mu\text{g/mL}$  im Waschwasser ein. Dagegen sinkt für das IPH<sub>1.74(1)</sub> die PBI-Konzentration im Waschwasser ab dem 7. Tag unterhalb der Detektionsgrenze von  $2.5 \mu\text{g/mL}$ .

Im Bakterienprüfetest mit *S. aureus* konnte eine antimikrobielle Aktivität der IPH in allen Fällen bestätigt werden. Dabei weisen das IPH<sub>1.74(1)</sub> nach 1 Tag Waschung und das IPH<sub>1.50(1)</sub> nach 7 Tagen, keinen erkennbaren Hemmhof und damit keine Freisetzung im toxischen Bereich mehr auf, ohne dass ein Bewuchs der Probe selbst zu verzeichnen ist. Die antimikrobielle Aktivität der IPH gegen verschiedene hohe Bakterienbeladungen ( $\sim 10^2 - 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>) von *E. coli* und *S. aureus*, wird in Tests durch direkte Applikation von Bakterien suspension auf IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub>, bewiesen. Abschließend wurden in Adhärenz-Tests mit *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* in PBS, log-Reduktionen im Bereich von log 4.1 – 6.6 für IPH<sub>1.74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C gewaschen) und IPH<sub>1.50(1)</sub> (27 Tage bei 37 °C gewaschen), im Vergleich zu PHEA, nachgewiesen. Die Adhärenz-Tests zeigen, dass die Bakterien auf der Netzwerkoberfläche nicht inhibiert, sondern besonders effizient

abgetötet werden. Es konnte dabei zudem gezeigt werden, dass die im Adhärenz-Test freigesetzte PBI-Menge nicht ausreicht, um Bakterien in der Umgebung des IPH abzutöten. Die Ergebnisse der antimikrobiellen Analysen deuten somit ab dem 7. Washtag, abweichend zur Waschwasseranalyse, auf keine Freisetzung und damit auf kontaktaktive Eigenschaften der antimikrobiellen IPH hin. Die Untersuchungen der ungewaschenen IPH für rote Schweineblutzellen (RBC) zeigen Lysen von  $<1.5\%$ , d.h. eine exzellente Hämokompatibilität. Für menschliche, mesenchymale Stammzellen wies der Arbeitskreis von Prof. Manfred Köller in Bochum jedoch in Adhärenz-Tests toxische Eigenschaften der IPH nach.

Im zweiten Teil dieser Arbeit konnten erfolgreich quellbare, langzeitaktive, antimikrobielle Netzwerke hergestellt und charakterisiert werden. Die Endgruppenvernetzung von  $\text{PBI}_n$  mittels TREN führte zur Bildung von schnell quellbaren Superabsorbern (PBIN) mit antimikrobiellen und hämokompatiblen Eigenschaften. PBIN könnte als Additiv für Wundauflagen genutzt werden, um deren Wasserrückhaltevermögen unter Druck zu verbessern und das Bakterienwachstum in der Umgebung zu minimieren. Die IPH besitzen langfristige, antimikrobielle Eigenschaften gegen verschiedene klinisch relevante Bakterienstämme. Die geringfügige Freisetzung von PBI ergibt dabei nachgewiesene antimikrobielle Aktivitäten von bis zu 4 Wochen. Die IPH stellen ein potentielles Material als Wundauflage für Brandwunden oder infizierte Wunden dar.



## 6 Experimentelles

### 6.1 Chemikalien

**Tabelle 16: Liste der verwendeten Chemikalien**

Chemikalie	Lieferant	CAS	Abkürzung
1,6-Dibromhexan	Sigma Aldrich	629-03-8	
2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid	AppliChem	298-96-4	TTC
2-Hydroxyethylacrylat	TCI	818-61-1	HEA
2-Propanol	VWR	67-63-0	
3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat	Sigma Aldrich	2530-85-0	
Aceton	VWR	67-64-1	
Acetonitril	Sigma Aldrich	75-05-8	
Agar	Appllichem	9002-18-0	
Butylhydroxytoluol	Sigma Aldrich	128-37-0	BHT
Campherquinon	Sigma Aldrich	10373-78-1	
Cetyltrimethylammoniumchlorid	Sigma Aldrich	112-02-7	CTAC
Chloroform	VWR	67-66-3	
D(+)-Glucose-Monohydrat	Merck	14431-43-7	
Deuteriumoxid	Armar	7789-20-0	D <sub>2</sub> O
Diethylether	VWR	60-29-7	Et <sub>2</sub> O
Dodecyltrimethylammoniumchlorid	Alfa Aesar	112-00-5	DTAC
Eisessig	Merck	64-19-7	
Ethanol, absolut	VWR	64-17-5	EtOH
Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat	Sigma Aldrich	10287-53-3	
Fetales Kälberserum	GIBCO		FCS
Glycerol	Merck	56-81-5	
Glyceroldimethacrylat	Sigma Aldrich	1830-78-0	GDMA
Glycin	AppliChem	56-40-6	
I-Nährboullion (ISO, APHA)	VWR		
Methanol	VWR	67-56-41	MeOH
Methanol-d <sub>4</sub>	Armar	811-98-3	
<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl-1,3-propandiamin	Sigma Aldrich	110-95-2	TMPDA
<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl-1,6-hexandiamin	ABCR	111-18-2	
<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylendiamin	Merck	110-18-9	TEMED
<i>N,N</i> -Dimethylbutylamin	Alfa Aesar	927-62-8	
<i>N,N</i> -Dimethyldecylamin	Sigma Aldrich	1120-24-7	
<i>N,N</i> -Dimethyldodecylamin	TCI	112-18-5	
<i>N,N</i> -Dimethylhexadecylamin	VWR	112-69-6	
<i>N,N</i> -Dimethylhexylamin	Alfa Aesar	4385-04-0	

<i>N,N</i> -Dimethyloctylamin	Sigma Aldrich	7378-99-6	
N-[3-(Dimethylamino)propyl]methacrylamid	Sigma Aldrich	5205-93-6	DMAP- MAA
Natriumacetat	VWR	127-09-3	
Natriumchlorid	VWR	7647-14-5	NaCl
Natriumcirtrat monobasisch	Sigma Aldrich	18996-35-5	
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	Merck	10028-24-7	
Natriumfluoreszein	Carl Roth	518-47-8	
Natriumhydroxid	VWR	1310-73-2	NaOH
Natriumnitrat	VWR	7631-99-4	NaNO <sub>3</sub>
Propidiumiodid	Invitrogen GmbH	25535-16-4	PI
RPMI 1640 Medium	GIBCO		RPMI
Salzsäure	VWR	7647-01-0	HCl
SYTO 9	Invitrogen GmbH		SYTO
<i>trans</i> -1,4-Dibromo-2-buten	Sigma Aldrich	821-06-7	DBB
<i>trans</i> - <i>N,N,N,N</i> '-Tetramethyl-2-buten-1,4-diamin	Sigma Aldrich	111-52-4	
Trifluoressigsäure	AppliChem	76-05-1	TFA
Tris(2-aminoethyl)amin	Acros	9002-93-1	TREN
Triton X-100	Sigma Aldrich	9002-93-1	Triton-X
Zitronensäure-Monohydrat	Roth	5949-29-1	

---

## 6.2 Geräte

### 6.2.1 Dynamische Differenzkalorimetrie (DSC)

Die Untersuchungen mittels Dynamischer Differenzkalorimetrie zur Bestimmung der Glas temperatur der IPH wurde mittels einer DSC 2910, der Firma TA Instruments durchgeführt.

### 6.2.2 Dynamisch-mechanische-Analyse (DMA)

Die E-Module der Netzwerke wurden mittels Dynamisch-mechanischer-Analyse an einer DMA 2980 von TA Instruments Inc. bei 20 °C im Multi-Frequency-Mode durchgeführt. Dazu wurde die jeweilige Probe (7.3 mm, 2.7 mm, 1.2 mm; Länge, Breite, Tiefe) mittels einer Folienspannungsklemme eingespannt und bei einer Frequenz von 1 Hz, einer Vorspannkraft von 0.01 N und einer Amplitude von 10 vermessen.

### 6.2.3 Fluoreszenz-Mikroskop

Die Aufnahmen mittels Fluoreszenz-Mikroskopie erfolgten an einem BX61 Mikroskop der Firma Olympus mit einer DP80 Kamera und der cellSens Software von Olympus im Arbeitskreis von Prof. Manfred Köller in Bochum.

#### **6.2.4 Gefriertrocknung**

Die Trocknung von wässrigen Polymerproben erfolgte in Rundkolben an einer Alpha 1-4 Gefriertrocknungsanlage von Christ bei  $1 \cdot 10^{-3}$  mbar und  $-56$  °C durch Sublimieren. Vor der Trocknung wurden die Rundkolben in flüssigem Stickstoff eingefroren.

#### **6.2.5 Gelpermeationschromatographie (GPC)**

Die Gelpermeationselugramme wurden einem GPC-System der Firma PSS aufgenommen. Das System war aus einem 1260 Infinity HPLC-System der Firma Agilent Technologies, zwei Säulen der Firma Tosoh Bioscience (TSKGelG3000PWXL 6  $\mu\text{m}$ , TSKGel4000PWXL 10  $\mu\text{m}$ ) und einen Brechungsindex-Detektor aufgebaut. Als Eluent wurde eine wässrige Natriumsulfatlösung (0.1 M) mit 1 wt.% Essigsäure verwendet. Alternativ wurden Analysen mit Wasser (0.1 M  $\text{NaNO}_3$ , 0.01% TFA) mittels einer Agilent Technologies 1260 Infinity GPC mit PSS GRAM Analytik 1000 Å und 30 Å Säulen, einem Knauer RI Detektor Smartline 2300 durchgeführt. Die Kalibrierung wurde jeweils mit Pullulanstandards ( $M_p = 1000 - 10000$  g/mol) und Probenkonzentrationen von ca. 2 mg/mL durchgeführt. Aus dem erhaltenen Elogramm können das zahlenmittlere Molekulargewicht ( $M_n$ ), das gewichtsmittlere Molekulargewicht ( $M_w$ ) und der Polydispersitätsindex ( $\text{PDI} = M_w/M_n$ ) bestimmt werden.

#### **6.2.6 Infrarot Spektroskopie**

Für Untersuchungen mittels Infrarot-Spektroskopie wurden die Polymere oder Netzwerke mittels eines Bruker Alpha FTIR-Spektrometer mit ATR-Einheit analysiert. Dazu wurde die jeweilige Probe stets mit einem Stempel fixiert.

#### **6.2.7 Laser-Scanning-Mikroskop (LSM)**

Die Aufnahmen erfolgten mittels eines konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops LSM 700 von Zeiss mit einer 40-fachen Vergrößerung und Nutzung der Zeiss 2010 Software im Arbeitskreis von Prof. Manfred Köller in Bochum.

#### **6.2.8 Lichtstreuung (LS)**

Die Messungen zur dynamischen Lichtstreuung wurden an einem Malvern Zetasizer Nana S (ZEN 1600) bei  $25$  °C durchgeführt. Als Lösungsmittel wurde ein Gemisch aus Wasser/Methanol/Eisessig (54/23/23 mL) mit 0.54 Natriumacetat eingesetzt. Die Polymerkonzentrationen betragen 0.5 - 5 wt%.

#### **6.2.9 Mikroskop**

Mikroskopie-Aufnahmen wurden mit Hilfe eines Polarisationsmikroskop Zeiss Axioplan 2 mit Digitalkamera aufgenommen.

### **6.2.10 Polarisationskammer**

Die Photovernetzungen der Acrylat-basierten IPN fanden unter Verwendung einer Polymerisationskammer Heraflash von Heraeus Kulzer bei Raumtemperatur statt. Der verwendete Wellenlängenbereich lag bei 320–540 nm.

### **6.2.11 Rasterelektronenmikroskopie (REM) und energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)**

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden an einem Hitachi S4500 mit einer Anregungsspannung von 1 kV durchgeführt. Die energiedispersive Röntgenspektroskopie wurde mittels eines an das REM gekoppelten Oxford Link Isis-Systems gemessen. Die Eindringtiefe hierbei betrug bei 5 kV circa 1.5  $\mu\text{m}$ , bei 10 kV ca. 2.5  $\mu\text{m}$  und bei 20 kV circa 8  $\mu\text{m}$ .

Untersucht wurden die Bruchflächen von auf Glasobjektträgern polymerisierten Polymerfilmen untersucht. Gebrochen wurden die Proben nach dem Abkühlen in flüssigem Stickstoff (-196 °C). Des Weiteren wurden Querschnitte der Hydrogele analysiert, welche durch Schneiden oder in Stickstoff gebrochen, erzeugt wurden.

Es wurden sowohl Linienscans (engl. Linescans) als auch Flächenscans (engl. Mapping) mit REM-EDX-Messungen aufgenommen, um die Bromverteilung in der Probe darzustellen.

Die Bromgehaltsbestimmung erfolgte mittels Standard Elementaranalyse Prozedur unter Verwendung einer 300-fachen Vergrößerung, welche jeweils einer untersuchten Oberfläche von 222·169  $\mu\text{m}$  entspricht. Der jeweilige PBI-Gehalt im IPH basierte auf der Standard Elementaranalyse. Berechnet wurde dieser aus dem molaren Verhältnis der HEA und PBI Einheiten in der jeweiligen Probe. Abschließend wurde auf dem molaren Verhältnis, unter Verwendung des Molekulargewichts der Einheiten, die Gewichtsverteilung berechnet.

### **6.2.12 Rasterkraftmikroskopie (AFM)**

Die AFM-Aufnahmen wurden mittels eines Veeco Dimension Icon Scanning Probe Mikroscope von Veeco Instruments unter Verwendung eines Nanoscope V Controllers und einer AVH-1000 Workstation durchgeführt. Alle Querschnittsuntersuchungen wurden im „Tapping Mode“ mit geätzten Silikonspitzen (Cantilever) (RTESP, TESP) der Firma Bruker im Bereich von 300-400 kHz durchgeführt. Die Aufnahmen erfolgten mit einer Anregungsfrequenz, welche 5% unterhalb der eigentlichen Resonanzfrequenz des Cantilevers lag, einer bei 1 Hz liegenden typischen Scanrate und einer Auflösung von 512 Pixeln pro aufgenommener 1000 nm Linie.

### **6.2.13 Röntgen**

Röntgenografische Untersuchungen der von PBI, PBIN oder IPH wurden mittels SAXS/WAXS durchgeführt (Bruker Nano Star, mit einem Vantec 2000 Flächendetektor). Es wurden eine Röhrenspannung von 60 kV und ein Kathodenstrom 0.6 mA verwendet. Die Cu-Anode (Incoatec Microfocus Source, Incoatec GmbH) erzeugt eine Strahlung mit einer Wellenlänge von 0.154nm.

Die Auswertung der SAXS Messung erfolgte nach einem radialen Scan mit einer Chi-Integration über 360°. Basierend auf der Bragg-Gleichung ( $n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin\theta$ ) der Abstand  $n$  der parallelen Gitterebenen für die gemessenen  $2\theta$  Winkel mit  $\lambda = 0.154$  nm berechnet.

#### **6.2.14 Protonen-Kernresonanzspektroskopie ( $^1\text{H-NMR}$ )**

Für die Durchführung der  $^1\text{H-NMR}$ -Experimente wurde ein DRX-400 Advance ( $\nu$ :  $^1\text{H} = 400$  MHz) NMR-Spektrometer der Firma Bruker-Daltonic verwendet. Die Experimente erfolgten bei Raumtemperatur mit einem 5 mm Probenkopf in deuterierten Lösungsmitteln ( $\text{D}_2\text{O-d}_2$ , M ethanol- $\text{d}_4$ , Chloroform- $\text{d}$ ). Durch undeuterierte Lösungsmittelreste wurde die chemische Verschiebung (in ppm) ermittelt.

#### **6.2.15 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)**

Die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurde an einem FEI CM 200 Mikroskop durchgeführt und es wurde dabei mit einer Beschleunigungsspannung von 200 kV gearbeitet.

#### **6.2.16 Thermogravimetrische Analyse (TGA)**

Thermogravimetrische Analysen zur Bestimmung des Zersetzungspunktes oder des Wassergehaltes von Proben wurden mit Hilfe des Thermo-Gravimetrischen-Analysators Netzsch STA 409 C oder TA Instruments TGA 2950 durchgeführt. Dazu wurden Proben der Hybridmaterialien von ca. 10 bis 30 mg in Aluminiumoxid- oder Platintiegeln unter konstantem Luftstrom mit einer Heizrampe 10 K/min auf 600 °C erhitzt und dabei die Gewichtsveränderung der Probe aufgezeichnet.

#### **6.2.17 UV/Vis Spektroskopie**

Die UV/Vis-Spektroskopie-Messungen in Lösung wurden an einem Zweistrahl Photometer Specord 210 der Firma Analytik Jena bei 25 °C durchgeführt.

#### **6.2.18 Zugprüfung**

Die Zugprüfungen wurden zur Analyse der maximalen Zug-Dehnung an verschiedenen IPH wurden an einer Zugprüfmaschine von Instron (Darmstadt, Deutschland) mit einer Kapazität von 1 kN für den Kraftaufnehmer durchgeführt. Die Zuggeschwindigkeit betrug dabei 5 mm/min und die Probendimensionen 15 mm, 2.8 mm, 1.2 mm (Länge, Höhe, Tiefe).

### **6.3 Methoden**

#### **6.3.1 Analyse des Waschwassers verschiedener IPH**

Analysiert wurden jeweils die separat gesammelten Waschwasserproben der IPH1.50<sub>(1)</sub> und IPH1.74<sub>(1)</sub> jeden Tages. Anschließend wurde jede Probe an einer Gefriertrocknungsanlage getrocknet, der Rückstand gewogen und in 2 mL bidest. Wasser gelöst. So wurde jeweils eine 20-fach

aufkonzentrierte Lösung des Waschwassers erzeugt. Die Konzentration von PBI im Waschwasser wurde nun unter Verwendung von Fluoreszein ermittelt, ähnlich zu der Arbeit von Tiller et. al.<sup>164</sup>. Für jede Probe wurde mindestens eine dreifach-Bestimmung durchgeführt. Dazu wurden jeweils ein Glasobjektträger auf einer Heizplatte (IKA CRT CL mit digitaler Temperaturkontrolle) auf bis zu 200°C erhitzt und 4-5µL der aufkonzentrierten Waschlösung in der Mitte des unteren Drittels der Glasobjektträger aufgetropft. Die mit der eingetrockneten Probe versehenen Objektträger wurden auf der Laborarbeitsplatte auf 20 °C abgekühlt. Der Probenrückstand wurde nun mit ~90 µL wässriger Natriumfluoreszeinlösung (11 mg/mL) überschichtet. Nach 1 min wurde das überschüssige Fluoreszein durch vorsichtiges Spülen der Oberseite (4 mL) und Unterseite (2 mL) des Glasobjektträgers mit bidest. Wasser entfernt. Der Glasobjektträger wurde nun auf einer Heizplatte bei 200 °C getrocknet und wieder auf der Laborbank auf 20 °C abgekühlt. Die Proben wurden auf einem weißen Blatt Papier zur ersten Einstufung visuell bewertet (Intensität des roten Rückstands) und fotografisch dokumentiert. Der rote Rückstand, des mit Fluoreszein gefällten PBI, wurde portionsweise in insgesamt 1 mL wässriger Cethyltrimethylammoniumchlorid-Lösung (CTAC, 1 mg/mL) gelöst, in einen 1.5 mL Eppendorfcup überführt und mit 0.1 mL PBS (pH = 8.0) gemischt. Die Absorption der erhaltenen Lösungen wurde nun mittels UV/Vis bei 400-600 nm (25 °C), gegen eine CTAC-Lösung (1 mg/mL) mit 9.1 Vol% PBS (pH = 8.0) als Referenz, vermessen. Die Prozedur wurde an Hand verdünnter Proben (je Verdünnungsschritt: 200 µL aufkonzentrierter Waschlösung in 200 µL bidest. Wasser) so lange wiederholt, bis das Detektionslimit erreicht wurde. Das Detektionslimit wurde ausgehend von einer wässrigen PBI<sub>5700</sub>-Lösung (200 mg/mL) und einer daraus hergestellten Verdünnungsreihe, durch jeweiliges halbieren der Konzentration, erstellt. Die Kalibrierlösungen wurden analog zu der zuvor beschriebenen Prozedur gehandhabt. Die letzte Verdünnungsstufe, welche detektiert werden konnte, besaß eine Konzentration von 0.05 mg/mL. Auf dieser Basis wurden die Konzentrationen an PBI in den untersuchten Waschwasserproben bestimmt.

### 6.3.2 Bestimmung des Quellgrades und des Gelgehaltes von Netzwerken

Das jeweilige Netzwerk wurde in Stücke von 5-20 mg geschnitten, gewogen ( $m_{\text{Ausgangsgewicht trocken}}$ ) und jeweils in ein Schnappdeckelglas mit 8 mL des entsprechenden Quellmediums (bidest. Wasser, Monomerlösung) gegeben. Die Quellung erfolgte bei 20 °C für verschiedene, jeweils angegebene Zeiträume. Anschließend wurde das Netzwerk aus dem Quellmedium entnommen, überschüssige Flüssigkeit am Netzwerk, mittels eines fusselreien Tuches (KIMTEC Science von Kimberly-Clark) entfernt und das Netzwerk wurde erneut gewogen ( $m_{\text{gequollen}}$ ). Der massebezogene Quellgrad  $Q_m$  wurde aus dem Verhältnis des Gewichts der Probe im gequollenen Zustand ( $m_{\text{gequollen}}$ ) zum Gewicht der trockenen Probe am Anfang der Quellprozedur ( $m_{\text{Ausgangsgewicht trocken}}$ ) berechnet.

$$\text{massebezogener Quellgrad} = Q_m = \frac{m_{\text{gequollen}}}{m_{\text{Ausgangsgewicht trocken}}}$$

Der Gelgehalt wurde jeweils nach 5 Wasch- und Trockenzyklen aus dem Anfang der Quellprozedur ( $m_{\text{Ausgangsgewicht trocken}}$ ) und der getrockneten Probe nach der Prozedur ( $m_{\text{trocken nach Quellung}}$ ) berechnet.

$$\text{Gelgehalt} = \frac{m_{\text{trocken nach Quellung}}}{m_{\text{Ausgangsgewicht trocken}}}$$

### 6.3.3 Löslichkeitsversuche mit 3,4en-Ionene

Für die Löslichkeitsversuche mit PBI, wurden jeweils 10 mg Polymer in ein Schnappdeckelglas eingewogen, 1 mL des jeweiligen Lösungsmittels hinzugegeben und über Nacht auf dem Magnetrührer gerührt. Bei Nichtlösen des Polymers, wurde die Prozedur nach Zugabe von 1 mL wiederholt und gegebenenfalls am nächsten Tag analog verfahren. Bei einer Höchstmenge von 3 mL Lösungsmittel und rühren über Nacht, wurde der Versuch beendet.

### 6.3.4 Oberflächenmodifizierung von Glasobjektträgern

Für die kovalente Anbindung von Acrylatnetzwerken auf Glasobjektträgern, wurden diese durch Silanisierung mit 3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat) modifiziert. Dazu wurden die Glasobjektträger (76·26·2 mm, Länge·Breite·Höhe) zunächst mit Aceton gereinigt, 5 min in 5 mM Kaliumhydroxid-Lösung getaucht, mit bidest. Wasser abgespült und mit fusselfreien Tüchern abgetrocknet. Die Objektträger wurden dann für 3 min in eine Lösung aus Isopropanol / Ethanol/ bidest. Wasser (60/30/10 vol%) mit 1 wt.% 3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat) getaucht, mit Ethanol abgespült und mittels ölfreier Druckluft getrocknet. Die Objektträger wurden dann jeweils hochkant in Färbtrögen aus Glas (mit Parafilm verschlossen) unter Argon über Nacht im Kühlschrank bis zur Polymerisation mit den Acrylatnetzwerken gelagert.

### 6.3.5 Waschprozedur für Acrylatnetzwerke auf Glasobjektträgern

Eine Auswahl der auf Objektträgern befindlichen Acrylatnetzwerke wurde zur Untersuchung der langfristigen antimikrobiellen Aktivität vor dem biologischen Test zusätzlich Waschprozeduren unterzogen. Dazu wurde der Glasobjektträger mit dem jeweiligen polymerisierte Netzwerk in einer Petrischale ( $\varnothing = 85$  mm) platziert und 15 mL bidest. Wasser hinzugegeben. Die Waschung erfolgte bei Raumtemperatur auf einer Schüttelplatte bei 40 rpm. Bis zum Ende der jeweiligen Waschung erfolgte täglich der Austausch der Waschlösung gegen frisches bidest. Wasser. Nach Beendigung der Waschprozedur wurden die Proben jeweils vorsichtig mit ölfreier Druckluft grob und anschließend weiter im Abzug über Nacht getrocknet.

### 6.3.6 Waschprozedur von PBIN und IPH Netzwerken

Das jeweilige IPH wurde zunächst direkt für spätere Untersuchungen in Stücke (Oberfläche:  $\sim 50$  mm<sup>2</sup>, Dicke: 1 2 mm, Gewicht: 41 99 mg) geschnitten. Die PBIN-Filme wurden ebenfalls in Stücke geschnitten (Oberfläche:  $\sim 50$  mm<sup>2</sup>, Gewicht:  $\sim 6$  mg). Insgesamt wurden jeweils 1.6 1.7 g IPH<sub>1.50(1)</sub> oder IPH<sub>1.74(1)</sub> in eine Petrischale ( $\varnothing = 90$  mm) gegeben und ein 24-facher Überschuss (40 mL) von bidest. Wasser hinzugegeben. Für die PBIN wurden abweichend, aufgrund des Quellgrades, circa 100 mg in 400 -fachen Überschuss (40 mL) von bidest. Wasser gegeben. Die Netzwerke wurden bei

Raumtemperatur oder bei 37 °C in einem Inkubator unter leichtem Schütteln auf einem Schüttler (50 rpm) gewaschen. Jeden Tag wurde das Wasser ausgetauscht.

## **6.4 Biologische Untersuchungen**

### **6.4.1 Herstellung von Medien und Puffern**

#### **6.4.1.1 Herstellung von Nährbouillon**

Die Nährbouillon für Untersuchungen mit Bakterien wurde durch Lösen von 25 g I-Nährbouillon in 1 L bidest. Wasser hergestellt und anschließend 20 min bei 120 °C autoklaviert. Der für den Bakterienstamm benötigte pH-Wert wurde durch Zugabe von sterilfiltrierter 1 M NaOH- oder 1 M HCl-Lösung eingestellt. Die Lagerung erfolgte im Kühlschrank bei 4 °C.

#### **6.4.1.2 Isotonische Natriumchlorid-Lösung**

Die isotonische Natriumchloridlösung (0.15 M) wurde durch Lösen von 8.77 g NaCl in 1 L bidest. Wasser hergestellt. Die Lösung wurde anschließend 20 min bei 121 °C autoklaviert und im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

#### **6.4.1.3 Herstellung von Nähragar**

Der Nähragar (1.5 w% Agar) für die Kultivierung in Petrischalen wurde durch Mischen von 3 g Agar, 7 g I-Nährbouillon und 200 mL bidest. Wasser hergestellt. Anschließend wurde der Nähragar 20 min bei 121 °C autoklaviert und im Kühlschrank bei 4 °C gelagert. Vor der Verwendung wurde der Nähragar in der Mikrowelle (ca. 3-3 min, 800 Watt) solange erhitzt und zwischendurch geschüttelt, bis eine klare Flüssigkeit vorlag. Anschließend wurde der Agar unter kaltem fließend Wasser unter Schütteln auf 45 °C abgekühlt und im Wasserbad (45 °C) bis zum Gießen der Proben zwischengelagert.

#### **6.4.1.4 Herstellung von PBS-Puffer**

Hergestellt wurde der PBS-Puffer (engl. phosphate buffered saline) durch Lösen von Natriumchlorid (8.77 g, 150 mmol) und Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat (1.56 g, 10 mmol) in 1 L bidest. Wasser. Der PBS-Puffer wurde anschließend 20 min bei 121 °C autoklaviert, mit steriler 1 M NaOH-Lösung auf pH = 7 eingestellt und im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

#### **6.4.1.5 CPD-Puffer**

Der für Hämokompatibilitäts-Tests eingesetzte CPD-Puffer (engl. citrate phosphate dextrose) wurde durch Lösen von Natriumcitrat (26. g, 102 mmol), Glucose-Monohydrat (25.5 g, 142 mmol), Citronensäure-Monohydrat (3.27 g, 163 mmol) und Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat (2.51 g, 16 mmol) in 1 L bidest. Wasser hergestellt. Mit 1 M NaOH-Lösung wurde ein pH = 7.38 eingestellt.



Mit einem 0.2 µm PP-Spritzenvorsatzfilter wurde die Lösung steril filtriert und anschließend bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

## 6.4.2 Antimikrobielle Untersuchungen

### 6.4.2.1 Herstellung von Bakterienstammkulturen

Die Stammkultur des jeweiligen Bakterienstammes wurde aus einem Stammpellet von DSMZ hergestellt. Das Stammpellet des jeweiligen Bakterienstammes wurde in 50 ml der jeweiligen Nährbouillon suspendiert und 24 h lang, unter den in **Tabelle 17** genannten Bedingungen, inkubiert. Das konfluente Medium wurde zentrifugiert (3000 U / min, 10 min) und der Überstand wurde abdekantiert. Der Bakterienrückstand wurde in 50 ml sterilem PBS-Puffer suspendiert und dann erneut zentrifugiert (3000 U/min, 10 min). Dieser Schritt wurde dreimal wiederholt. Im letzten Schritt wurde der bakterielle Rückstand in 10 mL sterilem PBS-Puffer suspendiert und mit 10 mL einer steril filtrierten 50%igen wässrigen Glycerollösung versetzt. Die Stammkulturen wurden bei -20°C gelagert.

**Tabelle 17: Verwendete Bakterienstämme und ihre Inkubationsbedingungen.**

Bakterienstamm	DSM	ATCC	Gram Färbung	Inkubationsbedingungen
<i>Escherichia coli</i>	1103	25922	negative	Nährbouillon, pH = 6.8-7.2, 37 °C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50078	17423	negative	Nährbouillon, pH = 7.0, 30 °C
<i>Staphylococcus aureus</i>	1104	25923	positive	Nährbouillon, pH = 6.8-7.2, 37 °C
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1798	12228	positive	Nährbouillon, pH = 7.0-7.2, 37 °C
<i>Streptococcus mutans</i>	20523	24178	positive	Nährbouillon, pH = 6.8-7.2, 37 °C

### 6.4.2.2 Untersuchung der bakteriellen Suszeptibilität durch Bestimmung der minimalen inhibierenden Konzentration (MIC)

100 µL der entsprechenden Bakterienstammkultur wurden in 50 mL Nährbouillon gegeben und für 24 h inkubiert (Inkubationsbedingungen siehe **Tabelle 17**). Die Bakterienkonzentration der Bakteriensuspension wurde mittels UV/Vis Spektroskopie bei 541 nm (25 °C) kontrolliert (Extinktion = 1 entspricht 10<sup>9</sup> Zellen/mL) und in PBS-Puffer bis auf 10<sup>7</sup> Zellen/mL verdünnt. Für die bakteriellen Suszeptibilitäts-Tests (MIC-Test) wurden dann ca. 20 mg des entsprechenden Polymers in 4.0 mL Nährbouillon in einem sterilen Zentrifugationsröhrchen (15 mL) angesetzt. Durch Abnehmen von 2.0 mL und mischen mit 2.0 mL Nährbouillon, wurden so durch Halbieren der Konzentration, je nach Aktivität der Probe, 10-15 Verdünnungsstufen hergestellt. Separat wurden jeweils 2.0 mL Nährbouillon in ein Zentrifugationsröhrchen für eine Positiv- und eine Negativprobe gegeben. Die 2.0 mL jeder Verdünnungsstufe und der Positivprobe wurden mit 20 µL der Bakteriensuspension (~10<sup>7</sup> Zellen/mL) versetzt. Die Proben wurden für 24 h bei der entsprechenden, in **Tabelle 17** angebenen, Temperatur und 200 rpm inkubiert. Im Vergleich zur Negativprobe liefert die letzte nicht bewachsene (klare) Verdünnungsstufe die minimale inhibierende Konzentration (MIC, engl. minimal inhibitory concentration) an Polymer, bei der 99 % der bakteriellen Zellen am Wachstum gehindert

werden. Bewertet wurden die MIC-Werte nach der von Fortuniak et al.<sup>112</sup> bekannten Einteilung (siehe **Tabelle 18**).

**Tabelle 18: Einteilung zur Bewertung der MIC-Konzentrationen nach Fortuniak et al.<sup>112</sup>.**

MIC [ $\mu\text{g/mL}$ ]	antibakterielle Aktivität
< 10	exzellent
10 -50	sehr gut
50 – 160	gut
160 – 600	moderat
600 – 2000	schwach
> 2000	sehr schwach

#### 6.4.2.3 Bakteriensprühtest

Die Sprühversuche wurden mittels einer Revell Airbrush Pistole (standard class, Düsenausführung: medium, Spitzbreite: 6.5 30 mm) durchgeführt. Vor Beginn der Sprühversuche wurde der Airbrushbehälter im Ofen bei 120 °C, die Airbrush Pistole sowie der Schraubdeckelverschluss mit Ethanol-Wasser-Lösung (70:30 Vol.%) sterilisiert und getrocknet. Der benötigte Nähragar wurde durch Erhitzen in der Mikrowelle in Lösung gebracht, die Schott-Flasche unter fließendem Wasser auf 45 °C abgekühlt und im Wasserbad auf 45 °C temperiert.

100  $\mu\text{L}$  der entsprechenden Bakterienstammkultur wurden in 50 mL Nährbouillon gegeben und für 24 h inkubiert (Bedingungen siehe **Tabelle 17**; Seite 125). Aus einer, je nach Testreihe (*S. aureus*, *E. coli*), frisch kultivierten Bakterienstammkultur, wurden 20 mL gewachsene Bakteriensuspension entnommen, im Zentrifugationsröhrchen abzentrifugiert (2750 rpm, slow, 10 min), die überstehende Nährbouillon abgetrennt und in 10 mL PBS-Puffer aufgeschlämmt. Die Bakterienkonzentration der Bakteriensuspension wurde mittels UV/Vis-Spektroskopie bei 541 nm (25 °C) kontrolliert (Extinktion = 1, entspricht  $10^9$  Zellen/mL) und erst direkt vor dem Sprühprozess durch mehrmaliges Abnehmen von 1.0 mL und mischen mit 9.0 mL sterilem bidest. Wasser bis hin zu  $10^6$  Zellen/mL verdünnt. Je nach Probenform erfolgte eine unterschiedliche Prozedur bis zur Inkubation.

**IPH-Proben:** Für die Untersuchung der IPH, wurden zunächst die Ober- und Unterseite der jeweiligen Netzwerke in der Sterilwerkbank, für jeweils 25 min mit UV-Licht sterilisiert. Anschließend wurde jede Probe jeweils in eine sterile Petrischale ( $\varnothing = 90$  mm) überführt und in Nähragar eingebettet, wobei die IPH Oberfläche, oberhalb der Agaroberfläche war, und über Nacht bei 8 °C gelagert. Anschließend wurde der Deckel der Petrischale entfernt und die Schale im 70° Winkel auf einem Halter platziert. Als Positivprobe wurde eine analog behandelte pure Agarplatte (ohne IPH) verwendet.

Die Proben wurden nun mit der frisch hergestellten Sprühsuspension mittels der Airbrush Pistole ( $p \approx 2$  bar, Abstand  $\approx 30$  cm, gefächerter Strahl) mit einem Aerosol, welches innerhalb 30-60 s abtrocknet, horizontal besprüht. Anschließend wurde jede Probe mit einem sterilem Petrischalendeckel verschlossen und ca. 16 h bei 37 °C sowie 60 % rel. Luftfeuchtigkeit inkubiert.

**Glasobjektträger-Proben:** Für die Untersuchung von Glasobjektträger mit den Polymerfilmen der Acrylatnetzwerke (HEA/GDMA, 3.5/1), wurden diese und ein mit Aceton gereinigter Glasobjektträger (Positivprobe), jeweils im 70° Winkel auf einem Halter platziert. Die Proben wurden nun mit einer frisch hergestellten Sprühsuspension mittels der Airbrush Pistole ( $p \approx 2$  bar, Abstand  $\approx 30$  cm, gefächerter Strahl) mit einem Aerosol, welches innerhalb 30-60 s abtrocknet, horizontal besprüht. Anschließend wurde jede Probe in eine sterile Petrischale überführt, mit Nähragar (45 °C, 15 30 mL) blasenfrei überschichtet, verschlossen, ca. 10 min abgekühlt und ca. 16 h bei 37 °C sowie 60 % rel. Luftfeuchtigkeit inkubiert.

Nach der Inkubation wurden die Proben fotografisch im Durchlichtverfahren dokumentiert. Es folgte das Überschichten des Nähragars mit 4 mL 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung (TTC, 1 mg/mL) und nachinkubieren für ca. 1 h bei 37 °C. Durch das TTC kommt es zum Abtöten und rot Anfärben der Bakterien. Die Proben wurden dann erneut fotografisch im Durchlichtverfahren dokumentiert. Zur Auswertung wurde das Wachstum der Bakterien auf den Polymerfilmen (Glasobjektträger mit Acrylatnetzwerk) durch die Einteilung in aktive (**aktiv**, komplett/überwiegend unbewachsene Probenoberflächen) und nicht aktive (**x**, überwiegend bis durchgehend bewachsene Probenoberflächen) Netzwerke bewertet.

#### 6.4.2.4 Untersuchung der antimikrobiellen Aktivität von PBIN

100  $\mu$ L der *S. aureus* Bakterienstammkultur wurden zu 50 mL der Nährboullion gegeben und für 24 h inkubiert (Bedingungen siehe **Tabelle 17**; Seite 125). Die Bakterienkonzentration der Suspension wurde durch UV/Vis-Spektroskopie bei 541 nm bei 25°C kontrolliert und mit Nährboullion auf  $\sim 10^7$  Zellen/mL verdünnt. 10  $\mu$ L, der Bakteriensuspension wurden auf das jeweilige Netzwerk ( $\sim 6$  mg,  $\sim 0.5$  cm<sup>2</sup>  $\rightarrow 10^5$  Zellen/cm<sup>2</sup>) appliziert und adhärten in den nächsten 10 min. Das Netzwerk wurde in ein steriles 15 mL Falcon-Röhrchen transferiert, in 4 mL Nährboullion getaucht und bei 37 °C für 24 h inkubiert. Zusätzlich wurden eine Negativkontrolle (nur 4 ml Nährboullion) und eine Positivkontrolle (10  $\mu$ L Bakteriensuspension, die direkt in 4 mL Nährbrühe geimpft wurde) unter den gleichen Bedingungen inkubiert. Zur Untersuchung der Freisetzung biozider Bestandteile wurde ein analoges Netzwerk für 24 h in Nährmedium inkubiert, dann entnommen, das Medium mit 10  $\mu$ L Bakteriensuspension ( $\sim 10^7$  Zellen/mL) angeimpft und 24 h bei 37 °C inkubiert. Das Bakterienwachstum wurde visuell beobachtet und dann wurden 100  $\mu$ L TTC-Lösung (1 mg/mL) zugegeben. Nach weiteren 3 h Inkubation, zeigten die Proben mit einer Bakterienzellkonzentration  $> 1\%$  eine rote Färbung.

#### 6.4.2.5 Direkte Applikation von verschiedenen hohen Bakterienbeladungen auf Netzwerke

100  $\mu$ L der jeweiligen Bakterienstammkultur wurden zu 50 ml der Nährbrühe gegeben und für 24 h inkubiert (Bedingungen siehe **Tabelle 17**; Seite 125). Die Bakterienkonzentration der Suspension wurde durch UV/Vis-Spektroskopie bei 541 nm und 25 °C kontrolliert und mit PBS auf  $\sim 10^8$  Zellen/mL verdünnt. Davon ausgehend wurde durch entsprechendes einmaliges oder

mehrmaliges Abnehmen von 1.0 mL und Mischen mit 9.0 mL sterilem PBS, die Bakteriensuspension bis auf  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$  oder  $10^3$  Zellen/mL verdünnt. Die entsprechenden IPHs wurden in einer Sterilwerkbank mittels UV-Licht für 25 min von der Oberseite und 25 min von der Unterseite sterilisiert. Nun wurden 10  $\mu$ L der entsprechenden Bakteriensuspension auf das jeweilige IPH ( $\sim 0.5$  cm<sup>2</sup>) appliziert und in den nächsten 25 min adhärirt. Anschließend wurden die inokulierten IPHs jeweils separat in ein 50-mL-Falcon-Röhrchen mit 15 mL Nährbouillon überführt und für 5 Tage inkubiert (Bedingungen siehe **Tabelle 17**; Seite 125). Zusätzlich wurden für die Tests der antimikrobiellen Aktivität, eine Negativkontrolle (ohne Bakteriensuspension), eine Negativkontrolle mit Referenznetzwerk (reines Acrylatnetzwerk und ohne Bakteriensuspension), eine Positivkontrolle (10  $\mu$ L Bakteriensuspension direkt in 15 mL Nährbouillon) und eine Positivkontrolle mit einem Netzwerk (reines Acrylatnetzwerk in 15 mL Nährbouillon mit 10  $\mu$ L Bakteriensuspension) unter gleichen Bedingungen wie die Probenserie getestet. Das Bakterienwachstum wurde visuell beobachtet und es wurde 1 mL TTC-Lösung zugegeben. Nach weiteren 3 h Inkubation zeigten die Proben mit einer Bakterienzellkonzentration  $>1\%$  eine rote Färbung.

#### **6.4.2.6 Untersuchung des Desorptionsverhaltens von Bakterien auf Netzwerken mit einer hohen Bakterienbelastung**

100  $\mu$ L der jeweiligen Bakterienstammkultur wurden zu 50 ml der Nährbrühe gegeben und für 24 h inkubiert (Bedingungen siehe **Tabelle 17**; Seite 125). Die Bakterienkonzentration der Suspension wurde durch UV/Vis-Spektroskopie bei 541 nm bei 25°C kontrolliert und mit PBS auf  $\sim 10^8$  Zellen/mL verdünnt.

Die entsprechenden IPHs wurden in einer Sterilwerkbank mittels UV-Licht für 25 min von der Oberseite und 25 min von der Unterseite sterilisiert. Nun wurden 10  $\mu$ L der Bakteriensuspension auf das jeweilige IPH ( $\sim 0,5$  cm<sup>2</sup>  $\rightarrow 2 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup>) appliziert und in den nächsten 25 min adhärirt. Anschließend wurden die inokulierten IPHs jeweils separat in einem 50-mL-Falcon-Röhrchen mit 15 mL Nährbouillon gewaschen, indem die Mischung 10-mal von einer Seite zur anderen Seite (wie ein schwankendes Schiff) bewegt wurde. Nach jedem Waschschriff wurde die Nährbouillon in ein steriles Röhrchen dekantiert und für 5 Tage inkubiert (Bedingungen siehe **Tabelle 17**; Seite 125). Zusätzlich wurden für die Tests der antimikrobiellen Aktivität eine Negativkontrolle (ohne Bakteriensuspension), eine Negativkontrolle mit Referenznetzwerk (reines Acrylatnetzwerk und ohne Bakteriensuspension), eine Positivkontrolle (10  $\mu$ L Bakteriensuspension direkt in 15 mL Nährbouillon) und eine Positivkontrolle mit einem Netzwerk (reines Acrylatnetzwerk in 15 mL Nährbouillon mit 10  $\mu$ L Bakteriensuspension) unter gleichen Bedingungen wie die Probenserie getestet. Das Bakterienwachstum wurde visuell beobachtet und es wurde 1 mL TTC-Lösung zugegeben. Nach weiteren 3 h Inkubation zeigten die Proben mit einer Bakterienzellkonzentration  $>1\%$  eine rote Färbung. Ergänzend ist in **Abschnitt 6.4.2.8** (Seite 129) und **Abschnitt 6.4.2.9** (Seite 129) die Quantifizierung der Bakterienzahl auf den Netzwerken mittels REM und LSM beschrieben.

#### 6.4.2.7 Evaluierung einer hohen Bakterien Beladung auf den Netzwerken mittels REM

Die Bakterienbeladung auf den Netzwerkoberflächen wurde mittels REM analysiert. Zuvor wurden die Proben nach der Beladung mit Bakterien und den Waschzyklen, bis zur Massenkonstanz getrocknet. Die Anregungsspannung betrug dabei 1 kV, mit einem Arbeitsabstand von 8 mm und die Probe wurde um 20° verkippt. Für jede Probe wurden mindestens 6 Aufnahmen gemacht. Die Bakterien wurden auf allen Bildern jeder Probe ausgezählt. Die Gesamtzahl der Bakterien und die ausgezählte Fläche, wurden für jede Probe addiert und in Zellen pro cm<sup>2</sup> umgerechnet

#### 6.4.2.8 Evaluierung einer hohen Bakterienbeladung auf Netzwerken mittels LSM

Die Bakterienbeladung wurde mittels konfokaler Laserscanning-Mikroskopie im Arbeitskreis von Prof. Manfred Köller in Bochum überprüft. Die mit hoher Bakterienbeladung und in Nährbouillon gewaschenen IPHs wurden jeweils in die Kammer einer 24-Zellkulturplatte transferiert. Jede Probe in der Platte wurde mit 1 mL PBS gewaschen (aufgeben und danach direkt wieder mittels Eppendorf abziehen), 15 min lang in 1 mL BacLight (1,5 µL PI und 1,5 µL SYTO 9 in 1 mL DPBS, LIVE/DEAD-Kit) unter Lichtausschluss gefärbt, mit 1 mL DPBS gewaschen und unter Lichtausschluss in 1 mL PBS aufbewahrt. Jede Probe wurde direkt auf einen Objektträger übertragen und durch konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie analysiert. Bilder wurden im PI- und SYTO-Modus aufgenommen. Für jede Probe wurden die Zellen auf den Bildern gezählt, die Größe der gezählten Bereiche bestimmt, Flächen und Zellen wurden addiert und als Zellen pro cm<sup>2</sup> angegeben.

#### 6.4.2.9 Adhärenz von Bakterien auf Netzwerken

Die Adhärenz auf Netzwerken, wurde für die Bakterienstämme von *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* untersucht. Die Untersuchungen zur Adhärenz der Bakterien erfolgten für die drei Bakterienstämme in PBS. Ergänzend führte der Arbeitskreis von Prof. Manfred Köller in Bochum unter analogen Bedingungen, Untersuchungen für *S. aureus* in RPMI 1640 (+10% FCS) als Medium durch. Die entsprechenden IPHs ( $m \approx 50$  mg,  $\approx 5 \cdot 5 \cdot 2$  mm, Länge·Breite·Dicke) wurden in einer Sterilwerkbank mittels UV-Licht für 25 min von der Oberseite und 25 min von der Unterseite sterilisiert. Anschließend wurde jedes Netzwerk in ein steriles Schnappdeckelglas ( $\varnothing = 15$  mm) transferiert, über Nacht in 2 mL PBS gequollen und dann wurde das PBS aus der Kammer entfernt. 100 µL der Bakterienstammkultur wurden zu 50 mL der Nährbouillon gegeben und für 24 h inkubiert (Bedingungen siehe **Tabelle 17**; Seite 125). Die Bakterienkonzentration der Suspension, wurde durch UV/Vis-Spektroskopie bei 541 nm bei 25 °C kontrolliert und in PBS auf  $\sim 10^7$  Zellen/mL in verdünnt. 1 mL der Bakteriensuspension in PBS wurden zu dem jeweiligen Netzwerk ( $\sim 1$  cm<sup>2</sup>) gegeben und 3 h bei 37 °C inkubiert. Die Bakteriensuspension wurde aus der Kammer entfernt, das Netzwerk 3-mal mit 1 mL PBS gewaschen (jeweils 5-mal auf und abziehen mittel Eppendorfpipette) und in ein steriles 15 mL Falcon-Röhrchen mit 1 mL PBS überführt. Das eingetauchte Netzwerk wurde 5-mal für 10 Sekunden in ein Ultraschallbad gegeben. 100 µL des Überstandes wurden mit 900 µL PBS

gemischt und so eine Verdünnungsreihe des Überstands bis zu einer Verdünnung von 1: 10000 hergestellt. 50 µL des reinen Überstands, die Verdünnung 1:10, 1: 100, 1: 1000 und 1: 10000 wurden jeweils auf eine Nähragarplatte ausplattiert und bei 37 ° C über Nacht inkubiert. Die Anzahl der überlebenden Zellen wurde durch Auszählung von koloniebildenden Einheiten (cfu) bestimmt. Die Bakterien-LOG-Reduktion der untersuchten IPH<sub>1,50</sub> und IPH<sub>1,74</sub> wurde als „LOG-Reduktion = log<sub>10</sub> (cfu auf PHEA) -log<sub>10</sub> (cfu auf IPH)“ mit PHEA als Referenznetzwerk berechnet.

Um eine Freisetzung biozider Bestandteile zu untersuchen, wurden analog behandelte Proben statt in 1 mL PBS, abweichend in Nährboullion, 3 h inkubiert. Das jeweilige Netzwerk wurde anschließend aus dem Nährmedium entfernt und mit 10 µL *S. aureus* Bakteriensuspension (10<sup>7</sup> Zellen/mL) angeimpft und 24 h bei 37 °C inkubiert. Alle Proben wiesen einen Bakterienbewuchs auf, sodass die freigesetzte Konzentration unterhalb des MIC (MIC<sub>*S. aureus*</sub> = 35 µg/mL) lag.

### **6.4.3 Untersuchungen der Biokompatibilität**

#### **6.4.3.1 Herstellung von Erythrozytenkonzentrat**

Das Erythrozytenkonzentrat wurde aus frischem Schweineblut gewonnen. Dazu wurden jeweils 10 mL frisches Schweineblut in 15 mL Zentrifugalröhrchen 15 min bei 4000 rpm (slow) zentrifugiert und das Blutplasma abdekantiert. Der Erythrozytenrückstand wurde vorsichtig bei 8 rpm im waagegerecht im Zentrifugalröhrchen auf einem taumelnden Plattenschüttler (Heidolph Polymax 1040), mit 10 mL steriler, isotonischer Natriumchloridlösung (NaCl, 0.15 M) gewaschen, 15 min bei 4000 rpm zentrifugiert und der Überstand abdekantiert. Der Schritt des Waschens wurde sechsmal in Folge durchgeführt, bis der Überstand nur noch eine sehr geringe rötliche Färbung aufwies. Nach dem letzten Waschschritt wurden die sedimentierten Erythrozyten auf 10 mL mit CPD-Puffer aufgefüllt. Das Erythrozytenkonzentrat wurde im Kühlschrank (4 °C), für maximal 3 Tage, gelagert.

#### **6.4.3.2 Bestimmung der Hämokompatibilität von löslichen Proben**

Der HC<sub>50</sub>-Wert beschreibt diejenige Konzentration, bei der 50 % der Erythrozyten zerstört werden und stellt somit ein Maß für die Bluttoxizität von Substanzen dar. 80 mg der zu untersuchenden Probe wurden in einem 2 mL Eppendorfgefäß in 1.6 mL sterilem CPD-Puffer gelöst und jeweils durch halbieren der Konzentration, eine Verdünnungsreihe mit acht Verdünnungsstufen (50000 - 390 µg/mL) mit je 800 µL hergestellt. Ergänzend wurden eine Negativprobe mit 800 µL sterilem CPD-Puffer sowie eine Positivprobe mit 800 µL sterilem CPD-Puffer und 2 µL Triton X angesetzt. Zu den Verdünnungsstufen, Positivprobe und Negativprobe wurden 200 µL Erythrozytenkonzentrat gegeben und vorsichtig gemischt. Die finale Mischung enthielt jeweils eine Konzentration von etwa 5·10<sup>8</sup> roter Blutzellen pro mL, was mittels einer „Neubauer-improved“ Zählkammer durch Zählung überprüft wurde. Die Proben wurden dann 1 h bei 37 °C und 50 rpm inkubiert und bei 13500 rpm für 5 min (slow) zentrifugiert. Die Überstände der Proben wurden zeitnah

mittels eines UV/VIS-Spektrometers bei 541 nm bei 25 °C vermessen und falls nötig verdünnt, sodass die Extinktion stets kleiner als 1 war. Die gemessene Extinktion ist direkt proportional zur Hämoglobinkonzentration und damit zum Hämolysegrad. Die Konzentration bei der 50% der Erythrozyten zerstört wurden, ergibt den HC<sub>50</sub>-Wert. Die Referenz für die vollständige Hämolyse diente die Extinktion der Positivprobe mit Triton X.

#### **6.4.3.3 Bestimmung der Hämokompatibilität von Netzwerken**

Der Lysegrad, der durch den Kontakt mit dem Netzwerk oder von dem Netzwerk freigesetzten Substanzen zerstörten Erythrozyten, stellt ein Maß für die Bluttoxizität des Netzwerkes selbst oder von ihm freigesetzten Substanzen dar. Zur Differenzierung zwischen der Toxizität des Netzwerke und möglicher freigesetzter Substanzen, erfolgte die Bestimmung sowohl bezüglich des direkten Kontaktes von Blutzellen mit dem Netzwerk aber auch mit einer Waschlösung.

~50 mg der Acrylat-basierten Netzwerke (PHEA, IPH) und 14 mg der PBIN wurden jeweils getrennt für 64 h in 1.6 ml CPD-Puffer eingetaucht und dabei gequollen. Danach wurden die Netzwerke und deren Quelllösung voneinander durch Abpipettieren der Lösung getrennt. 200 µL des Erythrozytenkonzentrats wurden zu 800 µL der jeweiligen Quelllösung gegeben, vorsichtig gemischt, für 1 h bei 37 °C inkubiert und dann zentrifugiert (13500 U/min, 5 min). Die überstehende Flüssigkeit wurde weiter mit CPD-Puffer (1:20) verdünnt, und die Absorption des freigesetzten Hämoglobins wurde in einem UV/Vis-Spektrometer bei 541 nm und 25°C gemessen. Das jeweilige gequollene Netzwerk wurde in 800 µL CPD-Puffer eingetaucht und 200 µL des Erythrozytenkonzentrats wurden zugegeben. Die Proben wurden vorsichtig gemischt und 3 h bei 37 °C inkubiert und dann zentrifugiert (13500 U/min, 5 min). Die überstehende Flüssigkeit wurde weiter mit CPD-Puffer (1:20) verdünnt und die Absorption des freigesetzten Hämoglobins wurde mit einem UV/Vis-Spektrometer bei 541 nm und 25 °C gemessen. Ergänzend wurden eine Negativprobe mit 800 µL sterilem CPD-Puffer sowie eine Positivprobe mit 800 µL sterilem CPD-Puffer und 2 µL Triton X angesetzt. Zu der Positivprobe und Negativprobe wurden 200 µL Erythrozytenkonzentrat gegeben, vorsichtig gemischt und identisch im gleichen Verfahren zu den Quelllösungen und Netzwerken hin untersucht.

Der Prozentsatz der Hämolyse wurde durch die Bestimmung der Menge an freigesetztem Hämoglobin, als Ergebnis eines Membranrisses, bestimmt und als Grad der Lyse angegeben. Die Werte wurden in mindestens zweifacher Ausfertigung mit voller Reproduzierbarkeit in allen Fällen bestimmt. Die gemessene Extinktion ist direkt proportional zur Hämoglobinkonzentration und damit zum Hämolysegrad. Die Konzentration der Erythrozyten, die zerstört wurden, ergibt den angegebenen Lysegrad. Als Referenz für die vollständige Hämolyse (100%) diente die Extinktion der Positivprobe mit Triton X.

#### **6.4.3.4 Untersuchung der Kompatibilität von der hMSC gegenüber IPHs**

Die Untersuchungen der Kompatibilität von hMSC (engl. human mesenchymal stem cells; humane, mesenchymale Stammzellen) für PHEA<sub>(1)</sub> (ungewaschen), IPH<sub>1,74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C in Wasser

gewaschen) und IPH<sub>1.50(1)</sub> (27 Tage bei 37 °C in Wasser gewaschen) wurden durch den Arbeitskreis von Prof. Manfred Köller am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum durchgeführt. Vor der Untersuchung wurden die Probekörper jeweils 24 h in RPMI-FCS equilibriert. Die Untersuchungen erfolgten in RPMI/FCS und die Proben wurden jeweils mit  $1.5 \cdot 10^4$  Zellen/mL besiedelt. Zur Auswertung wurden die Proben mit Calcein-AM und PI angefärbt und mittels Fluoreszenzmikroskop dokumentiert.

#### 6.4.3.5 Untersuchung der Kompatibilität von MSC gegenüber PBI

Die Untersuchungen der Toxizität von MSC (engl. mesenchymal stem cells; mesenchymale Stammzellen) gegenüber PBI<sub>5700</sub> wurden durch den Arbeitskreis von Prof. Manfred Köller am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte mittels eines AlamarBlau-Assays mit  $1 \cdot 10^4$  Zellen/mL für einen Endkonzentrationsbereich von PBI<sub>5700</sub> von 200-1 µg/mL in RPMI-FCS. Die Auswertung erfolgte mittels Farbumschlag und Analyse in einem Fluoreszenz-Plattenlesegerät. Konzentrationen ab 20 µg/mL wurden dabei als toxisch identifiziert.

## 6.5 Synthesen

### 6.5.1 Synthesen von Ionen durch Polyaddition

#### 6.5.1.1 4en,4en-Ionene

*Trans*-1,4-Dibromo-2-buten (DBB, 2.14 g, 10 mmol) wurde in 25 mL Aceton gelöst und unter Argonatmosphäre (Septum und Luftballon) im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Im nächsten Schritt wurde *trans*-*N,N,N',N'*-Tetramethyl-2-buten-1,4-diamin (1.42 g, 1 mmol) schnell (5 s) unter starken magnetischen Rühren mittels einer Spritze zu der DBB-Lösung gegeben. Bereits innerhalb von 5 min kam es zur Bildung eines Niederschlags. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei 0 °C und weitere 23 h bei 25 °C gerührt. Der Niederschlag wurde mittels einer Nutsche abfiltriert 5-mal mit 40 mL Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Ausbeute des leicht gelblichen Produktes betrug 95 %.

<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, δ): 2.29 (s, 12H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.08-3.28 (bs, *n*-6H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.07-4.30 (bs, *n*-4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=), 6.40-6.65 (bs, *n*-2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=) ppm.

#### 6.5.1.2 6,6-Ionene

1,6-Dibromhexan (4.39 g, 18 mmol) wurde in 50 mL Aceton gelöst und unter Argonatmosphäre im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Im nächsten Schritt wurde *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,6-hexandiamine (3.10 g, 18 mmol) unter starkem Rühren schnell (5 s) mittels einer Spritze zu der Dihalogenid-Lösung gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei 0 °C und weitere 23 h bei 25 °C gerührt. Anschließend



wurde der gebildete Niederschlag mittels einer Nutsche abfiltriert, 5-mal mit 50 mL Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Ausbeute des weißen Produktes betrug 96%.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$ ): 1.43-1.60 (bs,  $n\cdot 4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2^-$ ), 1.78-1.92 (bs,  $n\cdot 4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2^-$ ), 2.32 (s, 12H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_6\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.08-3.18 (bs,  $n\cdot 6\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.33-3.44 (bs,  $n\cdot 4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2^-$ ) ppm.

### 6.5.1.3 Synthese von 3,4en-Ionen

Alle Synthesen erfolgten in frisch destilliertem Aceton als Lösungsmittel. Die im Folgenden beschriebene Syntheseprozedur zur Herstellung von 3,4en-Ionen (PBI) bezieht sich jeweils auf die in **Tabelle 19** angegebenen Massen, Volumina und Reaktionsbedingungen.

Für die Synthese der PBI wurden zunächst *N,N,N',N'*-Tetramethyl-1,3-propandiamine (TMPDA) und *trans*-1,4-Dibromo-2-butene (DBB) jeweils separat in Kolben eingewogen und dann mit der angegebenen Menge an Aceton versetzt. Die Kolben wurden in einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Unter starken magnetischen Rühren wurde die TMPDA-Lösung schnellst möglich, mittels einer Spritze oder bei größeren Volumina, durch Kippen, hinzugeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 1 h bei 0 °C unter Argonatmosphäre gerührt. Innerhalb der ersten 5 min kam es zur Ausfällung eines weißen Feststoffes. Es folgte das weitere Rühren unter den aufgeführten Reaktionsbedingungen (siehe **Tabelle 19**). Das ausgefallene, weiße Polymer wurde nun abgenutscht und mehrmals, unter Aufschlännen mit Aceton (siehe **Tabelle 19**) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der hergestellten Polymere sind in **Abbildung 22** (Seite 49) und im Anhang (**Abbildung 95** bis **Abbildung 102**; Seite 195 bis 198) abgebildet.

$^1\text{H}$  NMR<sub>PBI-1</sub> ist im Folgenden exemplarisch angegeben ( $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$ ): 2.09,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ , 2.20 ppm,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.46 ppm,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ , 3.12-3.23 ppm,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ , 3.50 ppm,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ , 4.22 ppm,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ , 6.44-6.49 ppm,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ) ppm.

**Tabelle 19: Massen, Volumina und Reaktionsbedingungen der jeweiligen PBI-Synthesen durch Polyaddition.**

Polymer	TMPDA (M = 130.23 g/mol)			DBB (M = 213.91 g/mol)			Reaktionsbedingungen Zeit, Temperatur (V <sub>Aceton</sub> für Waschung)
	m [g]	n [mmol]	V <sub>Aceton</sub> [mL]	m [g]	n [mmol]	V <sub>Aceton</sub> [mL]	
PBI-1	1.83	14	3	3.00	14	28	24 h, 55 °C <sup>a)</sup> (4·10 mL)
PBI-2	8.08	62	20	13.30	62	130	24 h, 20 °C (4·50 mL)
PBI-3	7.83	60	20	13.55	63	130	24 h, 20 °C (4·50 mL)
PBI-4	43.01	330	100	74.74	349	900	24 h, 20 °C (4·100 mL)
PBI-5	43.65	335	100	74.74	349	900	24 h, 20 °C (4·100 mL)
PBI-6	9.04	69	0	15.23	71	350	2 h, 20 °C (4·50 mL)
PBI-7	9.35	72	0	15.25	71	350	2 h, 20 °C (4·50 mL)
PBI-8	9.35	72	0	15.25	71	350	2 h, 20 °C (4·50 mL)
PBI-9 <sup>b)</sup>	3.00	23	40	3.04	14	15	2 h, 20 °C (4·50 mL)
(PBI-10) <sup>c)</sup>	3.91	30	5	6.74	32	63	1. 0.5 h, 20 °C <sup>d)</sup> 2. direkte DBB-Zugabe (4.49 g), 0.5 h bei 20 °C 3. abrotieren von Aceton (25 °C, ~125 mbar)
(PBI-11) <sup>c)</sup>	9.04	69	0	15.23	71	350	1. 24 h, 20 °C <sup>d)</sup> 2. direkte DBB-Zugabe (13.20 g), 0.5 h bei 20 °C 3. abrotieren von Aceton (25 °C, ~125 mbar)

a) Zugabe der TMPDA-Lösung zur DBB-Lösung erfolgten hier abweichend durch zutropfen mittels Tropftrichter; b) Der Ansatz wurde in 6facher Ausfertigung, parallel und identischen Bedingungen durchgeführt und zur Aufarbeitung zusammengeführt; c) Die Polymere entstanden im Rahmen der Masterarbeit von J. Petranowitsch<sup>241</sup>; d) Das Rühren, nach der Monomerzusammengabe, für 1 h bei 0 °C entfiel. Das Reaktionsgemisch wurde direkt unter den angegebenen Reaktionsbedingungen hergestellt, ohne die oben beschriebene Aufarbeitung.

#### 6.5.1.4 Modifizierung der Endgruppen synthetisierter PBI mit DBB

An dieser Stelle erfolgt die allgemeine Versuchsbeschreibung zur Modifizierung ausgewählter PBI aus *Abschnitt 6.5.1.3*, mit Amin-Endgruppen, durch die Umsetzung mit DBB. Bei der Synthese und Aufarbeitung wurden jeweils die in *Tabelle 20* angegebenen Substanzen, Mengen und Bedingungen verwendet.

Zunächst wurden aus dem jeweils angegebenen Polymer (PBI), DBB und Methanol, eine Polymer- und DBB-Lösung hergestellt. Die beiden Lösungen wurden dann im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Anschließend wurde die DBB-Lösung schnellst möglich, mittels einer Spritze oder durch Kippen (bei größeren Volumina), unter starkem Rühren zu der Polymer-Lösung gegeben. Es folgte das Rühren (Rü.) des Reaktionsgemischs unter den für die Zeit angegebenen Bedingungen, unter Argonatmosphäre. Anschließend wurde das Methanol am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in bidest. Wasser gelöst (Lö.), mehrmals gegen Diethyläther extrahiert (Ext.) und die wässrige Phase an einer Lyophylle getrocknet. Das Molekulargewicht  $M_n$  der beidseitig Bromterminierten PBI ( $\text{Br-(PBI)}_x\text{-Br}$ ) wurde aus den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren ermittelt und ist als Index  $x$  jeweils angegeben. Die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der einzelnen Polymere sind *Abbildung 24* (Seite 53) und im Anhang dargestellt (siehe *Abbildung 103* bis *Abbildung 110*; Seite 199 bis 202)

$^1\text{H NMR}_{\text{Br-(PBI5700)-Br}}$  ist im Folgenden exemplarisch angegeben ( $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$ ): 2.51 (bs,  $n \cdot 2\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.13-3.31 (bs  $n \cdot 12\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.57 (bs,  $n \cdot 4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ ), 4.13 (d,  $4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-CH}_2\text{Br}$ ), 4.20 (d,  $4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-CH}_2\text{Br}$ ), 4.30 (bs,  $n \cdot 4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 6.12 (m,  $2\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-CH}_2\text{Br}$ ), 6.49 (m,  $2\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-CH}_2\text{Br}$ ) and 6.56 (bs,  $n \cdot 2\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH-CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ) ppm.

**Tabelle 20: Verwendete Substanzen, Mengen und Bedingungen der bei der Endgruppen-Modifizierung von PBI mit DBB erfolgten Reaktionen sowie Aufarbeitungen.**

Polymer	Polymer-Lösung PBI als Edukt mit Amin- Endgruppen				DBB-Lösung DBB zur Endgruppen- Modifizierung (M = 213.91 g/mol)			Reaktionsbedingungen + Aufarbeitung
	Polymer	m [g]	n [mmol]	V <sub>MeOH</sub> [mL]	m [g]	n [mmol]	V <sub>MeOH</sub> [mL]	
Br-PBI <sub>8100</sub> -Br	PBI-1	0.25	0.04	20	0.52	2.41	30	Rü.: 1 h bei 0 °C, 24 h bei 20 °C, Fä.: 175 mL Et <sub>2</sub> O Lö.: 6 mL H <sub>2</sub> O Ext.: 3·20 mL
Br-PBI <sub>13800</sub> -Br	PBI-3	21.41	1.53	750	4.82	22.53	100	Rü.: 1 h bei 0 °C, 24 h bei 50 °C, Lö.: 350 mL H <sub>2</sub> O Ext.: 5·400 mL Et <sub>2</sub> O
Br-PBI <sub>9200</sub> -Br	PBI-4	56.08	7.58	1500	13.25	61.92	200	Rü.: 1 h bei 0 °C, 24 h bei 50 °C, Lö.: 300 mL Ext.: 5·300 mL Et <sub>2</sub> O
Br-PBI <sub>8600</sub> -Br	PBI-5	59.70	8.78	1500	13.59	63.51	250	Rü.: 1 h bei 0 °C, 24 h bei 50 °C, Lö.: 300 mL H <sub>2</sub> O Ext.: 5·300 mL Et <sub>2</sub> O
Br-PBI <sub>7000</sub> -Br	PBI-6	21.00	5.53	120	13.20	61.71	300	Rü.: 1 h bei 0 °C, 16 h bei 20 °C, Lö.: 300 mL H <sub>2</sub> O Ext.: 5·300 mL Et <sub>2</sub> O
Br-PBI <sub>5700</sub> -Br	PBI-7 + PBI-8	49.00	14.41	900	31.02	145.01	400	Rü.: 2 h bei 0 °C, 20 h bei 20 °C, Lö.: 300mL H <sub>2</sub> O Ext.: 5·300 mL Et <sub>2</sub> O
Br-PBI <sub>3100</sub> -Br	PBI-9	32.78	25.22	300	41.20	192.60	460	Rü.: 1 h bei 0 °C, 16 h bei 20 °C, Lö.: 330 mL H <sub>2</sub> O Ext.: 5·350 mL Et <sub>2</sub> O
Br-PBI <sub>5500</sub> -Br <sup>a)</sup>	PBI-10	10.65	5.33	0	4.49	20.99	150	Rü.: 24 h bei 20 °C Lö.: 150 mL H <sub>2</sub> O Ext.: 6·300 mL Et <sub>2</sub> O
Br-PBI <sub>8000</sub> -Br <sup>a)</sup>	PBI-11	24.27	12.14	0	13.20	61.71	300	Rü.: 24 h bei 60 °C Lö.: 150 mL H <sub>2</sub> O Ext.: 6·300 mL Et <sub>2</sub> O

In der Tabelle verwendete Abkürzungen und deren Aufschlüsselung: MeOH = Methanol, H<sub>2</sub>O = bidestilliertes Wasser, Et<sub>2</sub>O = Diethylether, Fä. = Fällung, Rü. = Rühren, Lö. = lösen, Ext. = Extraktion. a) Die gekennzeichneten Polymere sind im Rahmen der Masterarbeit von Johanna Petranowitsch entstanden.

### 6.5.1.5 Modifizierung der Endgruppen von Br-PBI-Br mit DMAP-MAA

Vor der eigentlichen Reaktion wurden N-[3-(Dimethylamino)propyl]methacrylamid (DMAP-MAA) unter Lichtausschluss im Vakuum (130 °C, ~200 mbar) frisch destilliert. Alle Arbeiten mit DMAP-MAA wurden, so weit möglich, unter Lichtausschluss durchgeführt. Die verwendeten Reaktionsbedingungen und Mengen sind in **Tabelle 21** angegeben.

**Tabelle 21: Verwendete Substanzen, Mengen und Bedingungen der bei der Endgruppen-Modifizierung von PBI mit DMAP-MAA erfolgten Reaktionen sowie Aufarbeitungen.**

Polymer	Polymer-Lösung PBI als Edukt mit Brom- Endgruppen				DBB-Lösung DMAP-MAA zur Endgruppen- Modifizierung (M = 170.25 g/mol)			Aufarbeitung
	Polymer	m [g]	n [mmol]	V <sub>MeOH</sub> [mL]	m [g]	n [mmol]	V <sub>MeOH</sub> [mL]	
MAA- PBI <sub>5700</sub> - MAA <sup>a)</sup>	Br- PBI <sub>5500</sub> - Br	7.82	1.4	150	7.82	45.9	50	Fä.: in 300 mL Et <sub>2</sub> O Lö.: 50 mL MeOH
MAA- PBI <sub>9200</sub> - MAA <sup>a)</sup>	Br- PBI <sub>8000</sub> - Br <sup>a)</sup>	6.58	0.8	250	6.58	38.6	50	Fä.: in 400 mL Et <sub>2</sub> O Lö.: 75 mL MeOH

In der Tabelle verwendete Abkürzungen und deren Aufschlüsselung: MeOH = Methanol, Et<sub>2</sub>O = Diethylether, Fä. = Fällung, Lö. = lösen. a) Die gekennzeichneten Polymer sind im Rahmen der Masterarbeit von Johanna Petranowitsch entstanden.

Zunächst wurde jeweils eine Polymer-Lösung des Br-(PBI)-Br, inklusive einer Spatelspitze BHT, und DMAP-MAA-Lösung mit Methanol hergestellt und für jeweils 30 min im Eisbad unter Argonatmosphäre auf 0 °C abgekühlt. Nun wurde die Polymer-Lösung schnellst möglich unter starkem Rühren zu der DMAP-MAA-Lösung gegeben, 30 min bei 0 °C nachgerührt und anschließend weitere 120 h bei 45 °C unter Argonatmosphäre gerührt. Die Lösungen wurden am Rotationsverdampfer bei 40 °C (~300 mbar) bis zur leichten Trübung des Reaktionsgemischs eingengt und dann im 5-fachen des eingengten Volumens in Diethylether über Nacht bei 4 °C gefällt (Fä.). Der Überstand wurde vom ausgefallten Produkt mittels einer Pipette abgetrennt und wieder in Methanol gelöst (Lö.). Die Fällung wurde weitere 3-mal unter analogen Bedingungen wiederholt. Abschließend wurde das Produkt im Vakuum getrocknet.

Das Molekulargewicht  $M_n$  der beidseitig DMAP-MAA-terminierten PBI (MAA-(PBI)<sub>x</sub>-MAA) wurde aus den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren ermittelt und ist als Index x jeweils angegeben. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der einzelnen Polymere sind in **Abbildung 25** (Seite 54) und im Anhang (siehe **Abbildung 111**; Seite 203) dargestellt.

<sup>1</sup>H NMR<sub>MAA-(PBI<sub>9200</sub>)-MAA</sub> ist im Folgenden exemplarisch angegeben (D<sub>2</sub>O, δ): 1.98 (s, 6H, -NH-CO-C(=CH<sub>2</sub>)(-CH<sub>3</sub>)), 2.15 (m, 4 H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH-CO-C(=CH<sub>2</sub>)(-CH<sub>3</sub>)), 2.50 (bs, n·2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.16-3.38 (bs n·12H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.55 (bs, n·4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-

$\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ , 4.28 (bs,  $n \cdot 4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 6.54 (bs,  $n \cdot 2\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ) und 5.54-5.77 (m, 4 H,  $-\text{NH}-\text{CO}-\text{C}(=\text{CH}_2)(-\text{CH}_3)$ ) ppm.

## 6.5.2 Sequentielle Synthesen verschiedener PBI-Spezies

### 6.5.2.1 Sequentielle Synthese von beidseitig mit Brom- oder Amin-terminierten 3,4en-Iononen

DBB (1.82 g, 8.5 mmol, 1 aq.) wurde in 20 mL Methanol und TMPDA (13.29 g, 102 mmol, 12 aq.) in 240 mL Methanol gelöst. Die Lösungen wurden im Eisbad unter Rühren auf 0 °C abgekühlt. Unter Argonatmosphäre und starken Rühren, wurde die methanolische DBB-Lösung mit einer Spritze schnell (5 s) zu der methanolischen TMPDA-Lösung gegeben. Nach dem Rühren für 1 h bei 0 °C und 23 h bei 25 °C, wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (25 °C, 125 mbar) entfernt. Der Rückstand wurde in 15 mL bidest. Wasser gelöst und 5-mal mit 60 mL Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wurde abschließend gefriergetrocknet. Die Ausbeute des hochviskosen Produktes (Am-(PBI)<sub>1</sub>-Am) betrug 60%.

Im zweiten Schritt wurde Am-(PBI)<sub>1</sub>-Am (1.96 g, 4.1 mmol, 1 aq.) in 20 mL Methanol und DBB (10.52 g, 49.2 mmol, 12 aq.) in 260 ml Methanol gelöst. Die Lösungen wurden im Eisbad unter Rühren auf 0 °C abgekühlt. Die erste Lösung wurde nun unter Argonatmosphäre und starkem Rühren mit einer Spritze schnell (5 s) zu der DBB-Lösung gegeben. Nach dem Rühren für 1 h bei 0 °C und 23 h bei 25 °C, wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (25 °C, 125 mbar) entfernt. Der Rückstand wurde in 15 mL bidest. Wasser gelöst und 5-mal mit 60 mL Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wurde abschließend gefriergetrocknet. Die Ausbeute des viskosen Produktes betrug 83%. Die darauf folgenden Synthesestufen wurden mit einem analogen Protokoll durchgeführt, wobei jeweils ein 12 molarer Überschuss an DBB bzw. TMPDA verwendet wurde.

Ergänzend wurde eine Syntheseroute, ausgehend von TMPDA, mit einem 12 molaren Überschuss an DBB, unter Anwendung des gleichen Protokolls durchgeführt. Die folgenden Schritte wurden analog durchgeführt. Die Ausbeute der Produkte lag zwischen 70% und 90%.

Eine Übersicht der synthetisierten Spezies und ihrer Eigenschaften ist in **Tabelle 22** dargestellt. **Abbildung 64** bis **Abbildung 77** im Anhang (Seite 179 bis 185) zeigen zudem die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der jeweiligen Verbindungen.

<sup>1</sup>H NMRs sind im Folgenden exemplarisch angegeben: <sup>1</sup>H NMR von Am-(PBI)<sub>8,6</sub>-Am (D<sub>2</sub>O, δ): 1.95-2.15 (bs, 4H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.21 (s, 12H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.41-2.45 (bs, 8.6·2H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ) and 4H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.08-3.25 (bs, 8.6·12H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.32 (bs, 4H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.46 (bs, 8.6·4H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ), 4.10-4.25 (bs,  $n \cdot 4\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 6.40-6.50 (bs,  $n \cdot 2\text{H}$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ) ppm. <sup>1</sup>H NMR von Br-(PBI)<sub>6</sub>-Br (D<sub>2</sub>O, δ): 2.44 (bs, 6·2H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.11-3.27 (bs, 6·12H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$ ), 3.38-3.53 (bs, 6·4H,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$

CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 4.06 (d,  $J = 7.3$  Hz, 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br), 4.13 (d,  $J = 7.3$  Hz, 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br), 4.23 (bs, 6·4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6.05 (bs, 2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br), 6.43 (bs, 2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br), 6.50 (bs, 6·2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm.

**Tabelle 22: Analytische Daten, antimikrobielle Aktivität (gegen *Escherichia coli* (E.c.), *Staphylococcus aureus* (S.a.), *Streptococcus mutans* (S.m.)), Selektivität (S = HC<sub>50</sub>/MIC) und hämolytische Aktivität für rote Schweineblutzellen der sequentiell synthetisierten Br-(PBI)<sub>n</sub>-Br und Am-(PBI)<sub>n</sub>-Am Spezies.<sup>17</sup>**

Ziel n	End- gruppe	n <sup>a)</sup>	M <sub>n</sub> <sup>a)</sup> [g/mol]	D <sup>b)</sup>	MIC <sup>c)</sup> [µg/mL]			S <sup>d)</sup>			HC <sub>50</sub> <sup>e)</sup> [µg/mL]
					E. c.	S. a.	S. m.	E. c.	S. a.	S. m.	
1	Br	1.1	598	1.05	5000	5000	5000	>8	>8	>8	>40000
2	Am	2.6	1027	1.04	>5000	2500	310	-	>16	>129	>40000
3	Br	6.0	2279	1.07	2500	78	78	>16	>513	>513	>40000
4	Am	8.6	3083	1.11	>5000	310	160	-	>129	>250	>40000
5	Br	13.7	4933	1.10	630	78	78	>63	>513	>513	>40000
6	Am	9.0	3215	1.15	5000	310	78	>8	>129	>513	>40000
1	Am	1.0	480	1.02	>5000	5000	>5000	-	>8	-	>40000
2	Br	3.0	1234	1.09	5000	630	78	>8	>63	>513	>40000
3	Am	5.1	1877	-	>5000	2500	160	-	>16	>250	>40000
4	Br	9.8	3571	1.07	630	78	78	>63	>513	>513	>40000
5	Am	7.6	2732	1.11	>5000	310	160	-	>129	>250	>40000
6	Br	10.0	3666	1.10	630	78	78	>63	>513	>513	>40000
7	Am	6.6	2405	1.13	>5000	310	78	-	>129	>513	>40000
8	Br	8.0	2959	1.12	630	78	78	>63	>513	>513	>40000

a) Polymerisationsgrad (n) und mittleres Molekulargewicht (M<sub>n</sub>) wurden aus den Integralen der CH<sub>3</sub> Gruppen der quartären Ammoniumgruppe bei  $\delta = 3.12$ - $3.27$  ppm, nach Normierung auf das Endgruppensignal, im <sup>1</sup>H NMR Spektrum mit einer Standardabweichung unter 5%, berechnet. b) Der Polydispersitätsindex (D) wurde aus GPC Messungen mit einer Standardabweichung von unter 20%, berechnet. c) MIC steht für die minimal inhibierende Konzentration. Wiederholungsmessungen des MIC resultierten immer im gleichen Wert. Jedoch liegt der wahre MIC zwischen dem angegebenen Wert und dessen Halbierung. d) Die Selektivität S wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet. e) HC<sub>50</sub> steht für die hämolytische Aktivität (50% der eingesetzten roten Schweineblutzellen wurden bei dieser Konzentration lysiert). Die gemessene Standardabweichung des HC<sub>50</sub> war nie über 15%.

### 6.5.2.2 Sequentielle Synthese von einseitig mit Dodecyl- und entgegengesetzt mit Brom-/Amin-terminierten 3,4en-Iononen

*N,N*-Dimethyldodecylamin (DDA; 10 g, 47 mmol, 1 aq.) wurde in 200 mL und DBB (40.01 g, 187 mmol, 6 aq.) in 400 mL Methanol gelöst. Die Lösungen wurden im Eisbad unter Rühren auf 0 °C abgekühlt. Die DDA-Lösung wurde unter starkem Rühren mittels einer Spritze schnell (20 s) zu der DBB-Lösung gegeben. Nach dem Rühren für 1 h bei 0 °C und 23 h bei 25 °C wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (25 °C, 125 mbar) entfernt. Der Rückstand wurde in 120 mL bidest. Wasser gelöst und 5-mal mit 180 mL Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wurde gefriergetrocknet. Die Ausbeute des hochviskosen Produktes betrug 90 %.

Im nächsten Schritt wurden 17.38 g des Produktes in 500 mL Methanol und 21.19 g TMPDA in 40 mL Methanol gelöst. Die Lösungen wurden im Eisbad auf 0 °C abgekühlt und schnell unter starkem Rühren zusammengegeben. Die Reaktionsbedingungen und Aufarbeitungen verliefen analog zum ersten Schritt. Jeder der folgenden Schritte wurde in gleicher Weise durchgeführt, wobei jeweils ein sechsfacher molarer Überschuss an DBB bzw. TMPDA eingesetzt wurde.

Eine Übersicht der synthetisierten Spezies und ihrer Eigenschaften ist in **Tabelle 23** dargestellt. **Abbildung 78** bis **Abbildung 88** im Anhang (Seite 186 bis 191) zeigen zudem die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der jeweiligen Verbindungen.

<sup>1</sup>H NMR von C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>3,5</sub>-Br (D<sub>2</sub>O, δ): 0.84 (bs, 3 H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>CH<sub>3</sub>), 1.26 (bs, 18H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>CH<sub>3</sub>), 1.79 (bs, 2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>CH<sub>3</sub>), 2.43 (m, 3.5·2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.04-3.25 (m, 3.5·12H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.263.50 (bs, 2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>-CH<sub>3</sub> and 3.5·4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.03 (m, 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br), 4.10 (m, 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br), 4.21 (bs, 3.5·4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6.03 (m, 2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br), 6.40-6.50 (bs, 2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>Br and 3.5·2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm. <sup>1</sup>H NMR of C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>1,8</sub>-Am (D<sub>2</sub>O, δ): 0.85 (bs, 3 H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>CH<sub>3</sub>), 1.27 (bs, 18H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>CH<sub>3</sub>), 1.80 (bs, 2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>CH<sub>3</sub>), 2.01 (bs, 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.26 (s, 12H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.47 (bs, 1.8·2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> and 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.07-3.25 (bs, n·12H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.30-3.55 (bs, 1.8·4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> and 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.10-4.27 (bs, 1.8·4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6.39-6.5 (bs, 1.8·2H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm.



**Tabelle 23: Analytische Daten, antimikrobielle Aktivität (gegen *E. coli* (*E.c.*), *S. aureus* (*S.a.*), *S. mutans* (*S.m.*)), Selektivität ( $S = HC_{50}/MIC$ ) und hämolytische Aktivität für rote Schweineblutzellen für sequentiell synthetisierte  $C_{12}$ -(PBI) $_n$ -Br/Am Spezies und Dodecyltrimethylammoniumchlorid DTAC.<sup>17</sup>**

Ziel n	End- gruppe	n <sup>a)</sup>	M <sub>n</sub> <sup>a)</sup> [g/mol]	Dimere <sup>c)</sup> [%]	MIC <sup>b)</sup> [μg/mL]			S <sup>d)</sup>		HC <sub>50</sub> <sup>e)</sup> [μg/mL]	
					<i>E. c.</i>	<i>S. a.</i>	<i>S. m.</i>	<i>E. c.</i>	<i>S. a.</i>		<i>S. m.</i>
0.5	Br	0.5	427	5	20	2	2	15	150	150	300
1.0	Am	1.0	563	9	78	10	2	9	70	350	700
1.5	Br	1.5	760	16	78	10	2	22	170	850	1700
2.0	Am	1.8	836	18	78	10	2	18	140	700	1400
2.5	Br	2.3	1047	8	39	10	2	41	160	800	1600
3.0	Am	2.7	1128	16	39	20	2	26	50	500	1000
3.5	Br	3.5	1463	3	78	20	2	69	270	2700	5400
4.0	Am	4.0	1601	2	39	10	2	77	300	1500	3000
4.5	Br	4.5	1787	27	78	10	2	44	340	1700	3400
5.0	Am	4.7	1845	4	39	20	2	197	385	3850	7700
5.5	Br	5.5	2148	20	78	10	2	128	1000	5000	10000
DTAC <sup>e)</sup>					80	10	20	23	180	90	1800

a) Polymerisationsgrad (n) und mittleres Molekulargewicht (M<sub>n</sub>) wurden aus den Integralen der CH<sub>3</sub> Gruppen der quartären Ammoniumgruppe bei δ = 3.12-3.27 ppm, nach Normierung auf das Endgruppensignal, im <sup>1</sup>H NMR Spektrum mit einer Standardabweichung unter 5%, berechnet. b) MIC steht für die minimal inhibierende Konzentration. Wiederholungsmessungen des MIC resultierten immer im gleichen Wert. Jedoch liegt der wahre MIC zwischen dem angegebenen Wert und dessen Halbierung. c) Aus dem Endgruppenverhältnis (Brom/Amin zu C12) im <sup>1</sup>H-NMR berechneter Gehalt an C<sub>12</sub>-(PBI)<sub>n</sub>-C<sub>12</sub> Spezies., d) Die Selektivität S wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet. e) HC<sub>50</sub> steht für die hämolytische Aktivität (50% der eingesetzten roten Schweineblutzellen wurden bei dieser Konzentration lysiert). Die gemessene Standardabweichung des HC<sub>50</sub> war nie über 15%. <sup>e)</sup> Die gemessenen Werte waren ähnlich zu literaturbekanntem Werten für DTAC<sup>65</sup> und DTAB<sup>68, 229, 296</sup> (Dodecyltrimethylammoniumbromid).

### 6.5.2.3 Modifizierung von Br-(PBI)<sub>6</sub>-Br mit *N,N*-Dimethylalkylaminen

Br-(PBI)<sub>6</sub>-Br (0.5 g, 0.4 mmol, 1 aq.) wurde in 15 mL und das *N,N*-Dimethylalkylamin (4.8 mmol, 12 aq.; C<sub>4</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>16</sub> Alkylamin) in 85 mL Methanol gelöst. Die Lösungen wurden im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Anschließend wurde die PBI-Lösung unter starkem Rühren mit einer Spritze schnell (5 s) zu der *N,N*-Dimethylalkylamin-Lösung gegeben. Nach dem Rühren für 1 h bei 0 °C und 23 h bei 25 °C, wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (25 °C, 125 mbar) entfernt. Der Rückstand wurde in 20 mL bidest. Wasser gelöst 5-mal mit 50 mL Diethylether extrahiert und die wässrige Phase gefriergetrocknet. Die Ausbeute der festen, weißen Produkte lag zwischen 57 % (C<sub>16</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>16</sub>) und 89 % (C<sub>4</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>4</sub>).

Eine Übersicht der synthetisierten Spezies und ihrer Eigenschaften ist in **Tabelle 24** dargestellt. **Abbildung 89** bis **Abbildung 94** im Anhang (Seite 192 bis 194) zeigen zudem die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der jeweiligen Verbindungen.

<sup>1</sup>H NMR von C<sub>6</sub>-DBB-C<sub>6</sub> (D<sub>2</sub>O, δ): 0.93 (bs, 6H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 1.40 (bs, 12H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 1.83 (bs, 4H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 3.15 (bs, 12H, N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),

3.31-3.41 (bs, 4H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$ ), 4.19 (bs, 6·4H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH=CH-CH_2-$   
 $N^+(CH_3)_2$ ), 6.50 (bs, 2H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH=CH-CH_2N^+(CH_3)_2$ ) ppm.

**Tabelle 24: Analytische Daten, antimikrobielle Aktivität (gegen *E. coli* (*E.c.*), *S. aureus* (*S.a.*), *S. mutans* (*S.m.*)), Selektivität ( $S = HC_{50}/MIC$ ) und hämolytische Aktivität für rote Schweineblutzellen für  $C_x$ -(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>x</sub> Spezies.<sup>17</sup>**

Endgruppe	n <sup>a)</sup>	M <sub>n</sub> <sup>a)</sup> [g/mol]	PDI <sup>b)</sup>	MIC <sup>c)</sup> [µg/mL]			S <sup>d)</sup>			HC <sub>50</sub> <sup>e)</sup> [µg/mL]
				<i>E. c.</i>	<i>S. a.</i>	<i>S. m.</i>	<i>E. c.</i>	<i>S. a.</i>	<i>S. m.</i>	
C <sub>4</sub>	6.3	2201	1.08	>5000	310	20	-	>129	>2000	>40000
C <sub>6</sub>	6.5	2258	1.02	5000	78	5	>8	>513	>8000	>40000
C <sub>8</sub>	6.7	2347	1.02	310	20	5	>129	>2000	>8000	>40000
C <sub>10</sub>	6.4	2224	1.02	78	10	5	205	1600	3200	16000
C <sub>12</sub>	6.2	2175	1.00	20	20	10	1025	1025	2050	20500
C <sub>16</sub>	5.7	1997	1.04	160	40	20	8	33	65	1300

a) Polymerisationsgrad (n) und mittleres Molekulargewicht (M<sub>n</sub>) wurden aus den Integralen der CH<sub>3</sub> Gruppen der quartären Ammoniumgruppe bei δ = 3.12-3.27 ppm, nach Normierung auf das Endgruppensignal, im <sup>1</sup>H NMR Spektrum mit einer Standardabweichung unter 5%, berechnet. b) Der Polydispersitätsindex (D) wurde aus GPC Messungen mit einer Standardabweichung von unter 20%, berechnet. c) MIC steht für die minimal inhibierende Konzentration. Wiederholungsmessungen des MIC resultierten immer im gleichen Wert. Jedoch liegt der wahre MIC zwischen dem angegebenen Wert und dessen Halbierung. d) Die Selektivität S wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet. e) Die gemessene Standardabweichung des HC<sub>50</sub> war nie über 15%.

#### 6.5.2.4 Modifizierung von DBB mit *N,N*-Dimethylalkylaminen

DBB (0.35 g, 1.6 mmol, 1 aq.) wurde in 15 mL und das *N,N*-Dimethylalkylamin (9.8 mmol, 6 aq.; C<sub>6</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> Alkylamin) in 300 mL Methanol gelöst. Die Lösungen wurden im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Anschließend wurde die PBI-Lösung unter starkem Rühren mit einer Spritze schnell (5 s) zu der *N,N*-Dimethylalkylamin-Lösung gegeben. Nach dem Rühren für 1 h bei 0 °C und 23 h bei 25 °C, wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (25 °C, 125 mbar). Der Rückstand wurde in ca. 10 mL Methanol aufgenommen und anschließend in 300 mL Diethylether über Nacht bei -28 °C Gefrierschrank gefällt. Die Fällung wurde weitere 2mal wiederholt. Anschließend wurde das Produkt im Vakuum getrocknet.

Eine Übersicht der synthetisierten Spezies und ihrer Eigenschaften ist in **Tabelle 25** dargestellt. **Abbildung 112** bis **Abbildung 114** Anhang (Seite 204 bis 205) zeigen zudem die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der jeweiligen Verbindungen.

<sup>1</sup>H NMR von C<sub>6</sub>-(PBI)<sub>6</sub>-C<sub>6</sub> (Methanol-d<sub>4</sub>, δ): 0.94 (bs, 2·3H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH_2(CH_2)_3CH_3$ ), 1.40 (bs, 6·2H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH_2(CH_2)_3CH_3$ ), 1.87 (bs, 2·2H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH_2(CH_2)_3CH_3$ ), 2.51 (bs, 6·2H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH_2CH_2N^+(CH_3)_2$ ), 3.27-3.33 (bs, 6·12H,  $N^+(CH_3)_2$ ), 3.37 (bs, 2H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH_2-(CH_2)_3CH_3$ ), 3.57 (bs, 6·4H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$ ), 4.12-4.33 (bs, 6·4H,  $N^+(CH_3)_2CH_2-CH=CH-CH_2N^+(CH_3)_2$ ), 6.48 (bs, 6·2H,  $N^+(CH_3)_2CH_2CH=CH-CH_2N^+(CH_3)_2$ ) ppm.

**Tabelle 25: Analytische Daten, antimikrobielle Aktivität (gegen *E. coli* (*E.c.*), *S. aureus* (*S.a.*), *S. mutans* (*S.m.*)), Selektivität ( $S = HC_{50}/MIC$ ) und hämolytische Aktivität für rote Schweineblutzellen für  $C_x$ -DBB- $C_x$  Spezies**

Spezies	MIC <sup>a)</sup> [µg/mL]			S <sup>b)</sup>			HC <sub>50</sub> <sup>c)</sup> [µg/mL]
	<i>E. c.</i>	<i>S. a.</i>	<i>S. m.</i>	<i>E. c.</i>	<i>S. a.</i>	<i>S. m.</i>	
C <sub>6</sub> -DBB-C <sub>6</sub>	5000	5000	1250	>8	>8	>32	>40000
C <sub>10</sub> -DBB-C <sub>10</sub>	20.0	4.9	1.2	19	79	321	>385
C <sub>12</sub> -DBB-C <sub>12</sub>	2.4	4.9	0.31	49	24	337	>117

a) MIC steht für die minimal inhibierende Konzentration. Wiederholungsmessungen des MIC resultierten immer im gleichen Wert. Jedoch liegt der wahre MIC zwischen dem angegebenen Wert und dessen Halbierung. b) Die Selektivität S wurde aus dem HC<sub>50</sub>/MIC Verhältnis berechnet. c) Die gemessene Standardabweichung des HC<sub>50</sub> war nie über 15%.

## 6.6 Herstellung von Netzwerken

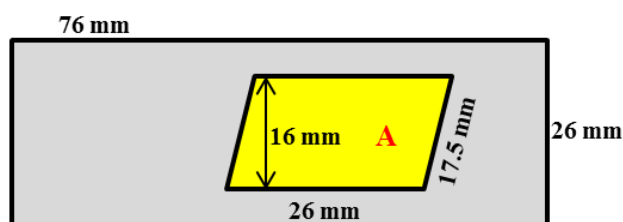
### 6.6.1 Herstellung von Acrylat-Netzwerken auf Glasobjektträgern

Für die Herstellung der Lösungen für Acrylatnetzwerke auf Glasobjektträgern, wurden die Ausgangsstoffe entsprechend **Tabelle 26** nacheinander in einem Zentrifugationsröhrchen eingewogen und homogenisiert. Anschließend wurden je nach Netzwerktyp (Monomerlösung/Wasser, 2/1 und 1/1), die erhaltene Monomerlösung mit bidest. Wasser im Volumenverhältnis von 2 zu 1 oder 1 zu 1 homogen vermischt.

**Tabelle 26: Einwaagen bei der Herstellung von Lösungen für Acrylatnetzwerke, mit 0 wt% (Referenznetzwerk), 2.5 wt% und 5 wt% PBI zur Vernetzung auf Glasobjektträgern.**

Netzwerklösung	0 wt% PBI		2.5 wt% PBI		5 wt% PBI	
	wt%	m [g]	wt%	m [g]	wt%	m [g]
HEA	77.1	3.854	75.1	3.757	73.2	3.659
GDMA	22.0	1.101	21.5	1.073	20.9	1.046
Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat	0.5	0.025	0.5	0.025	0.5	0.025
Campherchinon	0.4	0.020	0.4	0.020	0.4	0.020
PBI	0	0	2.5	0.125	5.0	0.250

Für die Vernetzung der hergestellten Netzwerkösungen, wurden anschließend jeweils 80 µL der Lösung auf eine mit Klebeband umrissene Raute (siehe **Abbildung 60**) auf einem mit 3-(Trimethoxysilyl)propylmethacrylat silanisierten Glasobjektträger gegeben und homogen ausgestrichen. Die Vernetzung der Netzwerke erfolgte in einer Polymerisationskammer (Heraflash von Heraeus) für 4·180 s.



**Abbildung 60: Darstellung der mit Adhäsiv beschichteten Fläche (gelb; A = 416 mm<sup>2</sup>) auf einem Glasobjektträger (hellgrau).**

### 6.6.2 Herstellung von PBI-Netzwerken (PBIN)

Zunächst wurde Tris(2-aminoethyl)amin (TREN) in bidest. Wasser gelöst, um so 5 wt%ige und 10 wt%ige Stammlösungen herzustellen. Die Stammlösung wurde jeweils bei  $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert. Mit dem jeweiligen PBI wurden 40 wt%ige Lösungen in bidest. Wasser hergestellt, welche jeweils am selben Tag direkt zur Herstellung der Netzwerke genutzt wurden. Die beiden Lösungen wurden anschließend mit einem entsprechend angestrebten Verhältnis, für den dazugehörigen Vernetzungsgrad zusammengegeben (die genauen Zusammensetzungen sind in **Tabelle 27** angegeben). Abschließend wurde eine definierte Menge bidest. Wasser hinzugegeben, um einen finalen PBI-Gehalt von 30 wt% in der Lösung zu erhalten. Die erhaltene Lösung wurde auf einem mit Tesa präparierten Objektträger (jeweils  $100\text{ }\mu\text{L}$ , siehe **Abbildung 60**) oder in eine Plastikschaale ( $300\text{ }\mu\text{L}$ ,  $\varnothing = 1.2\text{ cm}$ ) appliziert und mindestens 24 h bei  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  ruhen gelassen. Es wurden trübe, spröde Proben erhalten.

**Tabelle 27: Genaue Zusammensetzungen für die verschiedenen hergestellten PBIN mit ihren jeweilig berechneten molaren  $\text{NH}_2/\text{Br}$ -Endgruppenverhältnis für drei verschiedene PBI. In allen Fällen betrug das verwendete Volumen der PBI-Stammlösung (40 wt%,  $\rho = 1.12\text{ g/mL}$ ) jeweils  $500\text{ }\mu\text{L}$ .<sup>246</sup> Für die Vernetzung von  $\text{PBI}_{5700}$  und  $\text{PBI}_{7000}$  wurde eine 5 wt% TREN-Lösung ( $\rho = 0.98\text{ g/mL}$ ) sowie die 10 wt% TREN-Lösung ( $\delta = 0.98\text{ g/mL}$ ) für  $\text{PBI}_{3100}$  verwendet.**

PBI	V <sub>TREN Lösung</sub> [ $\mu\text{L}$ ]	V <sub>water</sub> [ $\mu\text{L}$ ]	molares $\text{NH}_2/\text{Br}$ Endgruppenverhältnis
$\text{PBI}_{3100}$	73	115	1.02
	82	106	1.14
	93	96	1.29
	101	87	1.41
	110	79	1.53
	120	69	1.67
$\text{PBI}_{5700}$	109	80	1.39
	117	72	1.50
	123	66	1.57
	127	63	1.62
	131	58	1.68
	134	56	1.71
	136	53	1.74
138	52	1.76	
$\text{PBI}_{7000}$	94	94	1.48
	100	89	1.57
	110	79	1.72
	116	73	1.82
	121	68	1.90

### 6.6.3 Herstellung von interpenetrierenden Hydrogelen (IPH)

Die Monomerlösungen (siehe *Tabelle 28*) für interpenetrierende Hydrogele wurden durch homogenes Mischen von 2-Hydroxyethylacrylat (HEA), dem Vernetzer Glyceroldimethacrylat (GDMA), bidest. Wasser, Ethyl-4-(dimethylamino) benzoat und Campherchinon in 50 mL Zentrifugationsröhrchen hergestellt. Das Mischen erfolgte auf einem Vortex-Schüttler oder auf einer Magnetrührplatte unter Lichtausschluss (einwickeln des Röhrchens in Alufolie) nach jeder Chemikalienzugabe, bis eine Lösung erhalten wurde. Die Lösungen wurden unter Lichtausschluss bei 4 °C gelagert. Das jeweilige PBI-Netzwerk (10-100 mg) wurde in ein Schnappdeckelglas oder in eine Petrischale mit Monomerlösung (250-fach des PBIN-Gewichts) gegeben und unter Lichtausschluss für 24 bei 20 °C gelagert. Anschließend wurden die gequollenen Netzwerke aus den Monomerlösungen entnommen, auf dem Netzwerk befindliche Monomerlösung wurde mit einem fusselreien Tuch entfernt, das Netzwerk wurde gewogen, um den PBI-Gehalt zu berechnen, anschließend für 3·180s in einer Polymerisationskammer (Heraflash) polymerisiert und bei Raumtemperatur im Abzug getrocknet. Für die Herstellung der PHEA-Referenznetzwerke wurden die Monomerlösungen direkt in eine Plastikschele (300 µL, Ø = 1.2 cm) appliziert und analog polymerisiert.

$$\text{PBI - Gehalt [wt\%]} = \frac{m_{\text{PBI}}}{m_{\text{gequollenes Netzwerk}} - m_{\text{H}_2\text{O in gequollenen Netzwerk}}}$$

**Tabelle 28: Einwaagen der hergestellten Monomerlösungen, mit verschiedenen Mengen des Vernetzers GDMA.**<sup>246</sup>

Monomerlösung	1 wt% GDMA		2 wt% GDMA		3 wt% GDMA		5 wt% GDMA	
	wt%	m [g]	wt%	m [g]	wt%	m [g]	wt%	m [g]
HEA	98.1	21.582	98.1	21.582	96.1	21.142	94.1	20.702
GDMA	1	0.220	1	0.220	3	0.660	5	1.100
Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat	0.5	0.110	0.5	0.110	0.5	0.110	0.5	0.110
Campherchinon	0.4	0.088	0.4	0.088	0.4	0.088	0.4	0.088
bidest. H <sub>2</sub> O : Monomere + Initiatoren	1 : 1		1 : 1		1 : 1		1 : 1	
bidest. H <sub>2</sub> O	22.000		22.000		22.000		22.000	

Monomerlösung	10 wt% GDMA		15 wt% GDMA		20 wt% GDMA	
	wt%	m [g]	wt%	m [g]	wt%	m [g]
HEA	89.1	19.602	84.1	18.502	79.1	17.402
GDMA	10	2.200	15	3.300	20	4.400
Ethyl-4-(dimethylamino)benzoat	0.5	0.110	0.5	0.110	0.5	0.110
Campherchinon	0.4	0.088	0.4	0.088	0.4	0.088
bidest. H <sub>2</sub> O : Monomere + Initiatoren	1 : 1		1 : 0.75		1 : 0.75	
bidest. H <sub>2</sub> O	22.000		16.500		16.500	



## 7 Literaturverzeichnis

1. Davies, J., Medicine - Bacteria on the rampage. *Nature* **1996**, 383 (6597), 219-220.
2. Cohen, M. L., Changing patterns of infectious disease. *Nature* **2000**, 406 (6797), 762-767.
3. Davies, J.; Davies, D., Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **2010**, 74 (3), 417-433.
4. Chambers, H. F.; DeLeo, F. R., Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. *Nature Reviews: Microbiology* **2009**, 7 (9), 629-641.
5. Viazis, S.; Diez-Gonzalez, F., Chapter one - Enterohemorrhagic Escherichia coli: The Twentieth Century's Emerging Foodborne Pathogen: A Review. In *Advances in Agronomy*, Donald, L. S., Ed. Academic Press: **2011**, pp 1-50.
6. Tew, G. N.; Scott, R. W.; Klein, M. L.; DeGrado, W. F., De Novo Design of Antimicrobial Polymers, Foldamers, and Small Molecules: From Discovery to Practical Applications. *Accounts of Chemical Research* **2009**, 43 (1), 30-39.
7. Timofeeva, L.; Kleshcheva, N., Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2011**, 89 (3), 475-492.
8. Kenawy, E.-R.; Worley, S. D.; Broughton, R., The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State-of-the-Art Review. *Biomacromolecules* **2007**, 8 (5), 1359-1384.
9. Tew, G. N.; Liu, D.; Chen, B.; Doerksen, R. J.; Kaplan, J.; Carroll, P. J.; Klein, M. L.; DeGrado, W. F., De novo design of biomimetic antimicrobial polymers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, 99 (8), 5110-5114.
10. Ikeda, T.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S., Molecular Weight Dependence of Antibacterial Activity in Cationic Disinfectants. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* **1990**, 5 (1), 31-41.
11. Gilbert, P.; Moore, L. E., Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *Journal of Applied Microbiology* **2005**, 99 (4), 703-715.
12. Ikeda, T.; Lee, B.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S., Time-resolved fluorescence anisotropy studies on the interaction of biologically active polycations with phospholipid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1990**, 1021 (1), 56-62.
13. Liu, S.; Ono, R. J.; Wu, H.; Teo, J. Y.; Liang, Z. C.; Xu, K.; Zhang, M.; Zhong, G.; Tan, J. P. K.; Ng, M.; Yang, C.; Chan, J.; Ji, Z.; Bao, C.; Kumar, K.; Gao, S.; Lee, A.; Fevre, M.; Dong, H.; Ying, J. Y.; Li, L.; Fan, W.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y., Highly potent antimicrobial polyionenes with rapid killing kinetics, skin biocompatibility and in vivo bactericidal activity. *Biomaterials* **2017**, 127, 36-48.
14. Rembaum, A., Biological activity of ionene polymers. *Journal of Applied Polymer Science* **1973**, No. 22, 299-317.
15. Xu, X.; Xiao, H.; Ziaee, Z.; Wang, H.; Guan, Y.; Zheng, A., Novel comb-like ionenes with aliphatic side chains: synthesis and antimicrobial properties. *Journal of Materials Science* **2013**, 48 (3), 1162-1171.
16. Kracke, F. Synthese und Charakterisierung von telechelen, antimikrobiellen Polyquats. Diplomarbeit, Technische Universität Dortmund, Dortmund (Germany), **2011**.
17. Strassburg, A.; Kracke, F.; Wenners, J.; Jemeljanova, A.; Kuepper, J.; Petersen, H.; Tiller, J. C., Nontoxic, Hydrophilic Cationic Polymers—Identified as Class of Antimicrobial Polymers. *Macromolecular Bioscience* **2015**, 15 (12), 1710-1723.

18. Ikeda, T.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S., Phase separation in phospholipid bilayers induced by biologically active polycations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1990**, *1026* (1), 105-112.
19. Ikeda, T.; Hirayama, H.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S.; Watanabe, M., Polycationic biocides with pendant active groups: molecular weight dependence of antibacterial activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1986**, *30* (1), 132-136.
20. Wenners, J. Untersuchungen zur Synthese und Charakterisierung von sequentiell aufgebauten Poly-Quats. Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, Dortmund (Germany), **2013**.
21. Magill, S. S.; Edwards, J. R.; Bamberg, W.; Beldavs, Z. G.; Dumyati, G.; Kainer, M. A.; Lynfield, R.; Maloney, M.; McAllister-Hollod, L.; Nadle, J.; Ray, S. M.; Thompson, D. L.; Wilson, L. E.; Fridkin, S. K., Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care-Associated Infections. *New England Journal of Medicine* **2014**, *370* (13), 1198-1208.
22. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) *Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2008. Chapter 2 – Healthcare-associated infections*; ECDC: Stockholm, **2008**; pp 16-38.
23. European Centre for Disease Prevention and Control *Economic evaluations of interventions to prevent healthcare-associated infections*; ECDC: Stockholm, **2017**.
24. Rodríguez-Hernández, J., Antimicrobial/Antifouling Surfaces Obtained by Surface Modification. In *Polymers against Microorganisms: On the Race to Efficient Antimicrobial Materials*, Springer International Publishing: Cham, **2017**, pp 95-123.
25. Campoccia, D.; Montanaro, L.; Arciola, C. R., A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces. *Biomaterials* **2013**, *34* (34), 8533-8554.
26. Campoccia, D.; Montanaro, L.; Speziale, P.; Arciola, C. R., Antibiotic-loaded biomaterials and the risks for the spread of antibiotic resistance following their prophylactic and therapeutic clinical use. *Biomaterials* **2010**, *31* (25), 6363-6377.
27. Tiller, J., Antimicrobial Surfaces. In *Bioactive Surfaces*, Börner, H. G.; Lutz, J.-F., Eds. Springer Berlin Heidelberg: **2011**; Chapter 101, pp 193-217.
28. Tiller, J. C., 21 - Coatings for Prevention or Deactivation of Biological Contamination A2 - Kohli, Rajiv. In *Developments in Surface Contamination and Cleaning*, Mittal, K. L., Ed. William Andrew Publishing: Norwich, NY, **2008**, pp 1013-1065.
29. Siedenbiedel, F.; Tiller, J. C., Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles. *Polymers* **2012**, *4* (1), 46-71.
30. Engler, A. C.; Wiradharma, N.; Ong, Z. Y.; Coady, D. J.; Hedrick, J. L.; Yang, Y.-Y., Emerging trends in macromolecular antimicrobials to fight multi-drug-resistant infections. *Nano Today* **2012**, *7* (3), 201-222.
31. Milović, N. M.; Wang, J.; Lewis, K.; Klibanov, A. M., Immobilized N-alkylated polyethylenimine avidly kills bacteria by rupturing cell membranes with no resistance developed. *Biotechnology and Bioengineering* **2005**, *90* (6), 715-722.
32. Shaffer, M. P.; Belsito, D. V., Allergic contact dermatitis from glutaraldehyde in health-care workers. *Contact Dermatitis* **2000**, *43* (3), 150-156.
33. McBain, A. J.; Rickard, A. H.; Gilbert, P., Possible implications of biocide accumulation in the environment on the prevalence of bacterial antibiotic resistance. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **2002**, *29* (6), 326-330.
34. Department of Health and Human Services *Safety and Effectiveness of Consumer Antiseptics; Topical Antimicrobial Drug Products for Over-the-Counter Human Use. Final rule*; 0097-6326 (Print) 0097-6326; Sep 06, **2016**; pp 61106-30.
35. Klibanov, A. M., Permanently microbicidal materials coatings. *Journal of Materials Chemistry* **2007**, *17* (24), 2479-2482.



36. Sovadinova, I.; Palermo, E. F.; Urban, M.; Mpiga, P.; Caputo, G. A.; Kuroda, K., Activity and Mechanism of Antimicrobial Peptide-Mimetic Amphiphilic Polymethacrylate Derivatives. *Polymers* **2011**, *3* (3), 1512.
37. Chen, A.; Peng, H.; Blakey, I.; Whittaker, A. K., Biocidal Polymers: A Mechanistic Overview. *Polymer Reviews* **2016**, 1-35.
38. Cornell, R. J.; Donaruma, L. G., 2-Methacryloxytropone. Intermediates for the Synthesis of Biologically Active Polymers. *Journal of Medicinal Chemistry* **1965**, *8* (3), 388-390.
39. Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M., Polymeric materials with antimicrobial activity. *Progress in Polymer Science* **2012**, *37* (2), 281-339.
40. Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M., The roadmap of antimicrobial polymeric materials in macromolecular nanotechnology. *European Polymer Journal* **2015**, *65*, 46-62.
41. Li, P.; Li, X.; Saravanan, R.; Li, C. M.; Leong, S. S. J., Antimicrobial macromolecules: synthesis methods and future applications. *RSC Advances* **2012**, *2* (10), 4031-4044.
42. Ganewatta, M. S.; Tang, C., Controlling macromolecular structures towards effective antimicrobial polymers. *Polymer* **2015**, *63*, A1-A29.
43. Jain, A.; Duvvuri, L. S.; Farah, S.; Beyth, N.; Domb, A. J.; Khan, W., Antimicrobial Polymers. *Advanced Healthcare Materials* **2014**, *3* (12), 1969-1985.
44. Takahashi, H.; Palermo, E. F.; Yasuhara, K.; Caputo, G. A.; Kuroda, K., Molecular Design, Structures, and Activity of Antimicrobial Peptide-Mimetic Polymers. *Macromolecular Bioscience* **2013**, *13* (10), 1285-1299.
45. Rodríguez-Hernández, J., *Polymers against Microorganisms: On the Race to Efficient Antimicrobial Materials*. Springer International Publishing: **2017**.
46. Ren, W.; Cheng, W.; Wang, G.; Liu, Y., Developments in antimicrobial polymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2016**, *55* (4), 632-639.
47. Krumm, C.; Tiller, J. C., Chapter 15 Antimicrobial Polymers and Surfaces - Natural Mimics or Surpassing Nature? In *Bio-inspired Polymers*, The Royal Society of Chemistry: **2017**, pp 490-522.
48. Dong, A.; Wang, Y.-J.; Gao, Y.; Gao, T.; Gao, G., Chemical Insights into Antibacterial N-Halamines. *Chemical Reviews* **2017**.
49. Muñoz-Bonilla, A.; Cerrada, M.; Fernández-García, M.; Kenawy, E. R.; Lienkamp, K.; Xiao, H.; Nomiya, K.; Lagaron, J.; Piozzi, A.; Sun, G., *Polymeric Materials with Antimicrobial Activity: From Synthesis to Applications*. Royal Society of Chemistry: **2013**.
50. Dizman, B.; Elasri, M. O.; Mathias, L. J., Synthesis, Characterization, and Antibacterial Activities of Novel Methacrylate Polymers Containing Norfloxacin. *Biomacromolecules* **2005**, *6* (1), 514-520.
51. Tashiro, T., Antibacterial and Bacterium Adsorbing Macromolecules. *Macromolecular Materials and Engineering* **2001**, *286* (2), 63-87.
52. Gabriel, G. J.; Som, A.; Madkour, A. E.; Eren, T.; Tew, G. N., Infectious disease: Connecting innate immunity to biocidal polymers. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2007**, *57* (1-6), 28-64.
53. Rotem, S.; Mor, A., Antimicrobial peptide mimics for improved therapeutic properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **2009**, *1788* (8), 1582-1592.
54. Bieser, A. M.; Thomann, Y.; Tiller, J. C., Contact-Active Antimicrobial and Potentially Self-Polishing Coatings Based on Cellulose. *Macromolecular Bioscience* **2011**, *11* (1), 111-121.
55. Fik, C. P.; Konieczny, S.; Pashley, D. H.; Waschinski, C. J.; Ladisch, R. S.; Salz, U.; Bock, T.; Tiller, J. C., Telechelic Poly(2-oxazoline)s with a Biocidal and a Polymerizable Terminal as

- Collagenase Inhibiting Additive for Long-Term Active Antimicrobial Dental Materials. *Macromolecular Bioscience* **2014**, *14* (11), 1569-1579.
56. Fik, C. P.; Krumm, C.; Muennig, C.; Baur, T. I.; Salz, U.; Bock, T.; Tiller, J. C., Impact of Functional Satellite Groups on the Antimicrobial Activity and Hemocompatibility of Telechelic Poly(2-methyloxazoline)s. *Biomacromolecules* **2011**, *13* (1), 165-172.
57. Krumm, C.; Fik, C. P.; Meuris, M.; Dropalla, G. J.; Geltenpoth, H.; Sickmann, A.; Tiller, J. C., Well-Defined Amphiphilic Poly(2-oxazoline) ABA-Triblock Copolymers and Their Aggregation Behavior in Aqueous Solution. *Macromolecular Rapid Communications* **2012**, *33* (19), 1677-1682.
58. Krumm, C.; Harmuth, S.; Hijazi, M.; Neugebauer, B.; Kampmann, A.-L.; Geltenpoth, H.; Sickmann, A.; Tiller, J. C., Antimicrobial Poly(2-methyloxazoline)s with Bioswitchable Activity through Satellite Group Modification. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53* (15), 3830-3834.
59. Krumm, C.; Harmuth, S.; Hijazi, M.; Neugebauer, B.; Kampmann, A.-L.; Geltenpoth, H.; Sickmann, A.; Tiller, J. C., Biologisch schaltbare antimikrobielle Poly(2-methyloxazoline) auf Grundlage des Satellitengruppeneffekts. *Angewandte Chemie* **2014**, *126* (15), 3908-3913.
60. Krumm, C.; Konieczny, S.; Dropalla, G. J.; Milbradt, M.; Tiller, J. C., Amphiphilic Polymer Conetworks Based on End Group Cross-Linked Poly(2-oxazoline) Homo- and Triblock Copolymers. *Macromolecules* **2013**, *46* (9), 3234-3245.
61. Plothe, R.; Sittko, I.; Lanfer, F.; Fortmann, M.; Roth, M.; Kolbach, V.; Tiller, J. C., Poly(2-ethyloxazoline) as matrix for highly active electrospun enzymes in organic solvents. *Biotechnology and Bioengineering* **2017**, *114* (1), 39-45.
62. Schmidt, M.; Harmuth, S.; Barth, E. R.; Wurm, E.; Fobbe, R.; Sickmann, A.; Krumm, C.; Tiller, J. C., Conjugation of Ciprofloxacin with Poly(2-oxazoline)s and Polyethylene Glycol via End Groups. *Bioconjugate Chemistry* **2015**, *26* (9), 1950-1962.
63. Schmidt, M.; Raidt, T.; Ring, S.; Gielke, S.; Gramse, C.; Wilhelm, S.; Katzenberg, F.; Krumm, C.; Tiller, J. C., Investigations on "near perfect" poly(2-oxazoline) based amphiphilic polymer conetworks with a crystallizable block. *European Polymer Journal* **2017**, *88*, 562-574.
64. Waschinski, C. J.; Barnert, S.; Theobald, A.; Schubert, R.; Kleinschmidt, F.; Hoffmann, A.; Saalwächter, K.; Tiller, J. C., Insights in the Antibacterial Action of Poly(methyloxazoline)s with a Biocidal End Group and Varying Satellite Groups. *Biomacromolecules* **2008**, *9* (7), 1764-1771.
65. Waschinski, C. J.; Herdes, V.; Schueler, F.; Tiller, J. C., Influence of Satellite Groups on Telechelic Antimicrobial Functions of Polyoxazolines. *Macromolecular Bioscience* **2005**, *5* (2), 149-156.
66. Waschinski, C. J.; Tiller, J. C., Poly(oxazoline)s with Telechelic Antimicrobial Functions. *Biomacromolecules* **2004**, *6* (1), 235-243.
67. Krumm, C. Endgruppendedesign von Poly(2-Oxazolin)en für nanostrukturierte Materialien und schaltbare bioaktive Polymere. TU Dortmund, Dortmund, **2014**.
68. King, A.; Chakrabarty, S.; Zhang, W.; Zeng, X.; Ohman, D. E.; Wood, L. F.; Abraham, S.; Rao, R.; Wynne, K. J., High Antimicrobial Effectiveness with Low Hemolytic and Cytotoxic Activity for PEG/Quaternary Copolyoxetanes. *Biomacromolecules* **2014**, *15* (2), 456-467.
69. Lienkamp, K.; Tew, G. N., Synthetic Mimics of Antimicrobial Peptides—A Versatile Ring-Opening Metathesis Polymerization Based Platform for the Synthesis of Selective Antibacterial and Cell-Penetrating Polymers. *Chemistry – A European Journal* **2009**, *15* (44), 11784-11800.

70. Ilker, M. F.; Nüsslein, K.; Tew, G. N.; Coughlin, E. B., Tuning the Hemolytic and Antibacterial Activities of Amphiphilic Polynorbornene Derivatives. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (48), 15870-15875.
71. Xue, Y.; Xiao, H.; Zhang, Y., Antimicrobial Polymeric Materials with Quaternary Ammonium and Phosphonium Salts. *International Journal of Molecular Sciences* **2015**, *16* (2), 3626-3655.
72. Siedenbiedel, F.; Fuchs, A.; Moll, T.; Weide, M.; Breves, R.; Tiller, J. C., Star-Shaped Poly(styrene)-block-Poly(4-vinyl-N-methylpyridiniumiodide) for Semipermanent Antimicrobial Coatings. *Macromolecular Bioscience* **2013**, *13* (10), 1447-1455.
73. Patel, M.; Patel, R.; Chi, W. S.; Kim, J. H.; Sung, J.-S., Antibacterial behaviour of quaternized poly(vinyl chloride)-g-poly(4-vinyl pyridine) graft copolymers. *Chinese Journal of Polymer Science* **2015**, *33* (2), 265-274.
74. Williams, S. R.; Long, T. E., Recent advances in the synthesis and structure–property relationships of ammonium ionenes. *Progress in Polymer Science* **2009**, *34* (8), 762-782.
75. Kelly, A. M.; Kaltenhauser, V.; Mühlbacher, I.; Rametsteiner, K.; Kren, H.; Slugovc, C.; Stelzer, F.; Wiesbrock, F., Poly(2-oxazoline)-derived Contact Biocides: Contributions to the Understanding of Antimicrobial Activity. *Macromolecular Bioscience* **2013**, *13* (1), 116-125.
76. Lin, J.; Qiu, S.; Lewis, K.; Klivanov, A. M., Bactericidal Properties of Flat Surfaces and Nanoparticles Derivatized with Alkylated Polyethylenimines. *Biotechnology Progress* **2002**, *18* (5), 1082-1086.
77. Kanazawa, A.; Ikeda, T.; Endo, T., Antibacterial activity of polymeric sulfonium salts. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1993**, *31* (11), 2873-2876.
78. Kawabata, N.; Nishiguchi, M., Antibacterial activity of soluble pyridinium-type polymers. *Applied and Environmental Microbiology* **1988**, *54* (10), 2532-2535.
79. Ikeda, T.; Tazuke, S.; Suzuki, Y., Biologically active polycations, 4. Synthesis and antimicrobial activity of poly(trialkylvinylbenzylammonium chloride)s. *Die Makromolekulare Chemie* **1984**, *185* (5), 869-876.
80. Allison, B. C.; Applegate, B. M.; Youngblood, J. P., Hemocompatibility of Hydrophilic Antimicrobial Copolymers of Alkylated 4-Vinylpyridine. *Biomacromolecules* **2007**, *8* (10), 2995-2999.
81. Eren, T.; Som, A.; Rennie, J. R.; Nelson, C. F.; Urgina, Y.; Nüsslein, K.; Coughlin, E. B.; Tew, G. N., Antibacterial and Hemolytic Activities of Quaternary Pyridinium Functionalized Polynorbornenes. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2008**, *209* (5), 516-524.
82. Mattheis, C.; Wang, H.; Meister, C.; Agarwal, S., Effect of Guanidinylation on the Properties of Poly(2-aminoethylmethacrylate)-Based Antibacterial Materials. *Macromolecular Bioscience* **2013**, *13* (2), 242-255.
83. Wang, H.; Synatschke, C. V.; Raup, A.; Jerome, V.; Freitag, R.; Agarwal, S., Oligomeric dual functional antibacterial polycaprolactone. *Polymer Chemistry* **2014**, *5* (7), 2453-2460.
84. Locock, K. E. S.; Michl, T. D.; Stevens, N.; Hayball, J. D.; Vasilev, K.; Postma, A.; Griesser, H. J.; Meagher, L.; Haeussler, M., Antimicrobial Polymethacrylates Synthesized as Mimics of Tryptophan-Rich Cationic Peptides. *ACS Macro Letters* **2014**, *3* (4), 319-323.
85. Gabriel, G. J.; Madkour, A. E.; Dabkowski, J. M.; Nelson, C. F.; Nüsslein, K.; Tew, G. N., Synthetic Mimic of Antimicrobial Peptide with Nonmembrane-Disrupting Antibacterial Properties. *Biomacromolecules* **2008**, *9* (11), 2980-2983.
86. Ikeda, T.; Ledwith, A.; Bamford, C. H.; Hann, R. A., Interaction of a polymeric biguanide biocide with phospholipid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1984**, *769* (1), 57-66.

87. Ikeda, T.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S., New polymeric biocides: synthesis and antibacterial activities of polycations with pendant biguanide groups. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1984**, *26* (2), 139-144.
88. Kanazawa, A.; Ikeda, T.; Endo, T., Polymeric phosphonium salts as a novel class of cationic biocides. II. Effects of counter anion and molecular weight on antibacterial activity of polymeric phosphonium salts. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1993**, *31* (6), 1441-1447.
89. Kanazawa, A.; Ikeda, T.; Endo, T., Polymeric phosphonium salts as a novel class of cationic biocides. IV. Synthesis and antibacterial activity of polymers with phosphonium salts in the main chain. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1993**, *31* (12), 3031-3038.
90. Kanazawa, A.; Ikeda, T.; Endo, T., Novel polycationic biocides: Synthesis and antibacterial activity of polymeric phosphonium salts. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1993**, *31* (2), 335-343.
91. Ikeda, T.; Hirayama, H.; Suzuki, K.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S., Biologically active polycations, 6. Polymeric pyridinium salts with well-defined main chain structure. *Die Makromolekulare Chemie* **1986**, *187* (2), 333-340.
92. Ikeda, T.; Tazuke, S.; Watanabe, M., Interaction of biologically active molecules with phospholipid membranes: I. Fluorescence depolarization studies on the effect of polymeric biocide bearing biguanide groups in the main chain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1983**, *735* (3), 380-386.
93. Broxton, P.; Woodcock, P. M.; Gilbert, P., BINDING OF SOME POLYHEXAMETHYLENE BIGUANIDES TO THE CELL-ENVELOPE OF ESCHERICHIA-COLI ATCC 8739. *Microbios* **1984**, *41* (163), 15-22.
94. Kanazawa, A.; Ikeda, T.; Endo, T., A novel approach to mode of action of cationic biocides morphological effect on antibacterial activity. *Journal of Applied Bacteriology* **1995**, *78* (1), 55-60.
95. Tew, G. N.; Clements, D.; Tang, H.; Arnt, L.; Scott, R. W., Antimicrobial activity of an abiotic host defense peptide mimic. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **2006**, *1758* (9), 1387-1392.
96. Palermo, E. F.; Sovadinova, I.; Kuroda, K., Structural Determinants of Antimicrobial Activity and Biocompatibility in Membrane-Disrupting Methacrylamide Random Copolymers. *Biomacromolecules* **2009**, *10* (11), 3098-3107.
97. Chin, J. N.; Rybak, M. J.; Cheung, C. M.; Savage, P. B., Antimicrobial Activities of Ceragenins against Clinical Isolates of Resistant Staphylococcus aureus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2007**, *51* (4), 1268-1273.
98. Sambhy, V.; Peterson, B. R.; Sen, A., Antibacterial and Hemolytic Activities of Pyridinium Polymers as a Function of the Spatial Relationship between the Positive Charge and the Pendant Alkyl Tail. *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47* (7), 1250-1254.
99. Palermo, E. F.; Kuroda, K., Chemical Structure of Cationic Groups in Amphiphilic Polymethacrylates Modulates the Antimicrobial and Hemolytic Activities. *Biomacromolecules* **2009**, *10* (6), 1416-1428.
100. Tejero, R.; Lopez, D.; Lopez-Fabal, F.; Gomez-Garces, J. L.; Fernandez-Garcia, M., Antimicrobial polymethacrylates based on quaternized 1,3-thiazole and 1,2,3-triazole side-chain groups. *Polymer Chemistry* **2015**, *6* (18), 3449-3459.
101. Rembaum, A.; Baumgartner, W.; Eisenberg, A., Aliphatic ionenes. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* **1968**, *6* (3), 159-171.
102. Gibbs, C. F.; Littmann, E. R.; Marvel, C. S., Quaternary Ammonium Salts from Halogenated Alkyl Dimethylamines. II. The Polymerization of Gamma-Halogenopropyl dimethylamines. *Journal of the American Chemical Society* **1933**, *55* (2), 753-757.

103. Rembaum, A.; Noguchi, H., Reactions of N,N,N',N'-Tetramethyl- $\alpha,\iota$ -diaminoalkanes with  $\alpha,\iota$ -Dihaloalkanes. II. x-y Reactions. *Macromolecules* **1972**, *5* (3), 261-269.
104. Zelikin, A. N.; Putnam, D.; Shastri, P.; Langer, R.; Izumrudov, V. A., Aliphatic Ionenenes as Gene Delivery Agents: Elucidation of Structure–Function Relationship through Modification of Charge Density and Polymer Length. *Bioconjugate Chemistry* **2002**, *13* (3), 548-553.
105. Narita, T.; Ohtakeyama, R.; Matsukata, M.; Gong, J. P.; Osada, Y., Kinetic study of cell disruption by ionic polymers with varied charge density. *Colloid and Polymer Science* **2001**, *279* (2), 178-183.
106. Narita, T.; Ohtakeyama, R.; Nishino, M.; Gong, J. P.; Osada, Y., Effects of charge density and hydrophobicity of ionene polymer on cell binding and viability. *Colloid and Polymer Science* **2000**, *278* (9), 884-887.
107. Zheng, A.; Xu, X.; Xiao, H.; Guan, Y.; Li, S.; Wei, D., Preparation of antistatic and antimicrobial polyethylene by incorporating of comb-like ionenes. *Journal of Materials Science* **2012**, *47* (20), 7201-7209.
108. Kanazawa, A.; Ikeda, T.; Endo, T., Synthesis and antimicrobial activity of dimethyl- and trimethyl-substituted phosphonium salts with alkyl chains of various lengths. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1994**, *38* (5), 945-952.
109. Mayr, J.; Bachl, J.; Schlossmann, J.; Díaz, D., Antimicrobial and Hemolytic Studies of a Series of Polycations Bearing Quaternary Ammonium Moieties: Structural and Topological Effects. *International Journal of Molecular Sciences* **2017**, *18* (2), 303.
110. Mattheis, C.; Zheng, M.; Agarwal, S., Closing One of the Last Gaps in Polyionene Compositions: Alkylxyethylammonium Ionenes as Fast-Acting Biocides. *Macromolecular Bioscience* **2012**, *12* (3), 341-349.
111. Kuepper, J. Synthese und Charakterisierung antimikrobieller, makromerer Vernetzer auf Basis von Polyquads. Diplomarbeit, Technische Universität Dortmund, Dortmund (Germany), **2011**.
112. Fortuniak, W.; Mizerska, U.; Chojnowski, J.; Basinska, T.; Slomkowski, S.; Chehimi, M.; Konopacka, A.; Turecka, K.; Werel, W., Polysiloxanes With Quaternary Ammonium Salt Biocidal Functions and Their Behavior When Incorporated Into a Silicone Elastomer Network. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* **2011**, *21* (3), 576-589.
113. Tejero, R.; Gutiérrez, B.; López, D.; López-Fabal, F.; Gómez-Garcés, J. L.; Fernández-García, M., Copolymers of acrylonitrile with quaternizable thiazole and triazole side-chain methacrylates as potent antimicrobial and hemocompatible systems. *Acta Biomaterialia* **2015**, *25*, 86-96.
114. Jennings, M. C.; Buttaró, B. A.; Minbiolé, K. P. C.; Wuest, W. M., Bioorganic Investigation of Multicationic Antimicrobials to Combat QAC-Resistant Staphylococcus aureus. *ACS Infectious Diseases* **2015**, *1* (7), 304-309.
115. Chen, Z.; Sun, Y., N-Halamine-Based Antimicrobial Additives for Polymers: Preparation, Characterization and Antimicrobial Activity. *Industrial & engineering chemistry research* **2006**, *45* (8), 2634-2640.
116. Walsh, S. E.; Maillard, J. Y.; Russell, A. D.; Catrenich, C. E.; Charbonneau, D. L.; Bartolo, R. G., Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology* **2003**, *94* (2), 240-247.
117. Avery, C. W.; Som, A.; Xu, Y.; Tew, G. N.; Chen, Z., Dependence of Antimicrobial Selectivity and Potency on Oligomer Structure Investigated Using Substrate Supported Lipid Bilayers and Sum Frequency Generation Vibrational Spectroscopy. *Analytical Chemistry* **2009**, *81* (20), 8365-8372.
118. European centre for Disease Prevention and Control (ECDC) *Annual Epidemiological Report 2013*; 19.12.2013, **2013**.

119. Mermel, L. A., PREvention of intravascular catheter-related infections. *Annals of Internal Medicine* **2000**, *132* (5), 391-402.
120. Vasilev, K.; Cook, J.; Griesser, H. J., Antibacterial surfaces for biomedical devices. *Expert Review of Medical Devices* **2009**, *6* (5), 553-567.
121. Landini, P.; Antoniani, D.; Burgess, J. G.; Nijland, R., Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2010**, *86* (3), 813-823.
122. Mah, T.-F.; Pitts, B.; Pellock, B.; Walker, G. C.; Stewart, P. S.; O'Toole, G. A., A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance. *Nature* **2003**, *426* (6964), 306-310.
123. Tenke, P.; Riedl, C. R.; Jones, G. L.; Williams, G. J.; Stickler, D.; Nagy, E., Bacterial biofilm formation on urologic devices and heparin coating as preventive strategy. *International Journal of Antimicrobial Agents* **2004**, *23*, Supplement 1, 67-74.
124. Humphries, M.; Nemcek, J.; Cantwell, J. B.; Gerrard, J. J., The use of graft copolymers to inhibit the adhesion of bacteria to solid surfaces. *FEMS Microbiology Letters* **1987**, *45* (5), 297-304.
125. Razatos, A.; Ong, Y.-L.; Boulay, F.; Elbert, D. L.; Hubbell, J. A.; Sharma, M. M.; Georgiou, G., Force Measurements between Bacteria and Poly(ethylene glycol)-Coated Surfaces. *Langmuir* **2000**, *16* (24), 9155-9158.
126. Jansen, B.; Kohnen, W., Prevention of biofilm formation by polymer modification. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **1995**, *15* (4), 391-6.
127. Pratt-Terpstra, I. H.; Weerkamp, A. H.; Busscher, H. J., Adhesion of Oral Streptococci from a Flowing Suspension to Uncoated and Albumin-coated Surfaces. *Microbiology* **1987**, *133* (11), 3199-3206.
128. Rauner, N. Funktionale anorganisch/organische Hybridmaterialien für ultrasteife Hydrogele und antimikrobielle Lotusoberflächen. Dissertation, Tu Dortmund, Dortmund, **2017**.
129. Thorpe, A. A.; Peters, V.; Smith, J. R.; Nevell, T. G.; Tsibouklis, J., Poly(methylpropenoxyfluoroalkylsiloxane)s: a class of fluoropolymers capable of inhibiting bacterial adhesion onto surfaces. *Journal of Fluorine Chemistry* **2000**, *104* (1), 37-45.
130. Yoshino, N.; Teranaka, T., Synthesis of silane coupling agents containing fluorocarbon chain and applications to dentistry: Plaque-controlling surface modifiers. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **1997**, *8* (8), 623-653.
131. Park, K. D.; Kim, Y. S.; Han, D. K.; Kim, Y. H.; Lee, E. H. B.; Suh, H.; Choi, K. S., Bacterial adhesion on PEG modified polyurethane surfaces. *Biomaterials* **1998**, *19* (7), 851-859.
132. Tiller, J. C.; Bonner, G.; Pan, L.-C.; Klibanov, A. M., Improving biomaterial properties of collagen films by chemical modification. *Biotechnology and Bioengineering* **2001**, *73* (3), 246-252.
133. Grivet, M.; Morrier, J. J.; Benay, G.; Barsotti, O., Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. *Journal of materials science. Materials in medicine* **2000**, *11* (10), 637-42.
134. Gittens, R. A.; Scheideler, L.; Rupp, F.; Hyzy, S. L.; Geis-Gerstorfer, J.; Schwartz, Z.; Boyan, B. D., A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects. *Acta Biomaterialia* **2014**, *10* (7), 2907-2918.
135. Alves, N. M.; Pashkuleva, I.; Reis, R. L.; Mano, J. F., Controlling Cell Behavior Through the Design of Polymer Surfaces. *Small* **2010**, *6* (20), 2208-2220.
136. Rodríguez-Hernández, J., Bacterial Infections: Few Concepts. In *Polymers against Microorganisms: On the Race to Efficient Antimicrobial Materials*, Springer International Publishing: Cham, **2017**, pp 13-37.

137. An, Y. H.; Friedman, R. J., Laboratory methods for studies of bacterial adhesion. *Journal of Microbiological Methods* **1997**, *30* (2), 141-152.
138. Kristinsson, K. G.; Jansen, B.; Treitz, U.; Schumacher-Perdreau, F.; Peters, G.; Pulverer, G., Antimicrobial Activity of Polymers Coated with Iodine-Complexed Polyvinylpyrrolidone. *Journal of Biomaterials Applications* **1991**, *5* (3), 173-184.
139. Knetsch, M. L. W.; Koole, L. H., New Strategies in the Development of Antimicrobial Coatings: The Example of Increasing Usage of Silver and Silver Nanoparticles. *Polymers* **2011**, *3* (1), 340.
140. Ho, C. H.; Odermatt, E. K.; Berndt, I.; Tiller, J. C., Long-term active antimicrobial coatings for surgical sutures based on silver nanoparticles and hyperbranched polylysine. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* **2013**, *24* (13), 1589-600.
141. Ho, C. H.; Tobis, J.; Sprich, C.; Thomann, R.; Tiller, J. C., Nanoseparated polymeric networks with multiple antimicrobial properties. *Advanced Materials* **2004**, *16* (12), 957-961.
142. Ren, X.; Kou, L.; Kocer, H. B.; Zhu, C.; Worley, S. D.; Broughton, R. M.; Huang, T. S., Antimicrobial coating of an N-halamine biocidal monomer on cotton fibers via admicellar polymerization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2008**, *317* (1-3), 711-716.
143. Kugel, A. J.; Jarabek, L. E.; Daniels, J. W.; Vander Wal, L. J.; Ebert, S. M.; Jepperson, M. J.; Staflieni, S. J.; Pieper, R. J.; Webster, D. C.; Bahr, J.; Chisholm, B. J., Combinatorial materials research applied to the development of new surface coatings XII: Novel, environmentally friendly antimicrobial coatings derived from biocide-functional acrylic polyols and isocyanates. *Journal of Coatings Technology and Research* **2009**, *6* (1), 107-121.
144. Gozzelino, G.; Dell'Aquila, G. A.; Tobar, D. R., Polymer networks with antibacterial activity by UV photopolymerization. *Journal of Applied Polymer Science* **2009**, *112* (4), 2334-2342.
145. Nablo, B. J.; Schoenfisch, M. H., Antibacterial properties of nitric oxide-releasing sol-gels. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2003**, *67A* (4), 1276-1283.
146. Lavery, G.; Gorman, S. P.; Gilmore, B. F., Antimicrobial peptide incorporated poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels for the prevention of Staphylococcus epidermidis-associated biomaterial infections. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2012**, *100A* (7), 1803-1814.
147. Paillot, P.; Jegat, C.; Becquart, F.; Taha, M., Effects of antimicrobial agents on the thermal and mechanical properties of acrylate hydrogel matrices. *Journal of Applied Polymer Science* **2016**, *133* (23), 43501.
148. Zhu, C.; Zhao, J.; Kempe, K.; Wilson, P.; Wang, J.; Velkov, T.; Li, J.; Davis, T. P.; Whittaker, M. R.; Haddleton, D. M., A Hydrogel-Based Localized Release of Colistin for Antimicrobial Treatment of Burn Wound Infection. *Macromolecular Bioscience* **2016**, *17* (2), 1600320.
149. Stenger, M.; Klein, K.; Grønnemose, R. B.; Klitgaard, J. K.; Kolmos, H. J.; Lindholt, J. S.; Alm, M.; Thomsen, P.; Andersen, T. E., Co-release of dicloxacillin and thioridazine from catheter material containing an interpenetrating polymer network for inhibiting device-associated Staphylococcus aureus infection. *Journal of Controlled Release* **2016**, *241*, 125-134.
150. Lagarón, J. M.; Ocio, M. J.; López-Rubio, A., Antimicrobial Packaging Polymers. A General Introduction. In *Antimicrobial Polymers*, John Wiley & Sons, Inc.: **2011**, pp 1-22.
151. Ulery, B. D.; Nair, L. S.; Laurencin, C. T., Biomedical Applications of Biodegradable Polymers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **2011**, *49* (12), 832-864.
152. Fonseca, A. C.; Gil, M. H.; Simões, P. N., Biodegradable poly(ester amide)s – A remarkable opportunity for the biomedical area: Review on the synthesis, characterization and applications. *Progress in Polymer Science* **2014**, *39* (7), 1291-1311.

153. Du, H.; Wang, Y.; Yao, X.; Luo, Q.; Zhu, W.; Li, X.; Shen, Z., Injectable cationic hydrogels with high antibacterial activity and low toxicity. *Polymer Chemistry* **2016**, 7 (36), 5620-5624.
154. Madhusudana Rao, K.; Krishna Rao, K. S. V.; Ramanjaneyulu, G.; Chowdoji Rao, K.; Subha, M. C. S.; Ha, C.-S., Biodegradable sodium alginate-based semi-interpenetrating polymer network hydrogels for antibacterial application. *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials* **2014**, 102 (9), 3196-3206.
155. Lee, A. L. Z.; Ng, V. W. L.; Wang, W.; Hedrick, J. L.; Yang, Y. Y., Block copolymer mixtures as antimicrobial hydrogels for biofilm eradication. *Biomaterials* **2013**, 34 (38), 10278-10286.
156. Zumbuehl, A.; Ferreira, L.; Kuhn, D.; Astashkina, A.; Long, L.; Yeo, Y.; Iaconis, T.; Ghannoum, M.; Fink, G. R.; Langer, R.; Kohane, D. S., Antifungal hydrogels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Early Edition* **2007**, 104 (32), 12994-12998.
157. Zhang, C.; Ying, Z.; Luo, Q.; Du, H.; Wang, Y.; Zhang, K.; Yan, S.; Li, X.; Shen, Z.; Zhu, W., Poly(hexamethylene guanidine)-based hydrogels with long lasting antimicrobial activity and low toxicity. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2017**, 55 (12), 2027-2035.
158. Krumm, C.; Tiller, J. C., Kontaktaktiv oder durch Biozide. *Nachrichten aus der Chemie* **2014**, 62 (10), 984-987.
159. Nadochenko, V.; Denisov, N.; Sarkisov, O.; Gumy, D.; Pulgarin, C.; Kiwi, J., Laser kinetic spectroscopy of the interfacial charge transfer between membrane cell walls of E. coli and TiO<sub>2</sub>. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2006**, 181 (2-3), 401-407.
160. Noimark, S.; Dunnill, C. W.; Parkin, I. P., Shining light on materials — A self-sterilising revolution. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2013**, 65 (4), 570-580.
161. Phong, A. T.; Thomas, J. W., Antimicrobial selenium nanoparticle coatings on polymeric medical devices. *Nanotechnology* **2013**, 24 (15), 155101.
162. Vartiainen, J.; Rättö, M.; Paulussen, S., Antimicrobial activity of glucose oxidase-immobilized plasma-activated polypropylene films. *Packaging Technology and Science* **2005**, 18 (5), 243-251.
163. White, D. G.; Zhao, S.; Simjee, S.; Wagner, D. D.; McDermott, P. F., Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes and Infection* **2002**, 4 (4), 405-412.
164. Tiller, J. C.; Liao, C.-J.; Lewis, K.; Klibanov, A. M., Designing surfaces that kill bacteria on contact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Early Edition* **2001**, 98 (11), 5981-5985.
165. Madkour, A. E.; Dabkowski, J. M.; Nüsslein, K.; Tew, G. N., Fast Disinfecting Antimicrobial Surfaces. *Langmuir* **2009**, 25 (2), 1060-1067.
166. Huang, J.; Koepsel, R. R.; Murata, H.; Wu, W.; Lee, S. B.; Kowalewski, T.; Russell, A. J.; Matyjaszewski, K., Nonleaching Antibacterial Glass Surfaces via “Grafting Onto”: The Effect of the Number of Quaternary Ammonium Groups on Biocidal Activity. *Langmuir* **2008**, 24 (13), 6785-6795.
167. Malshe, P.; Mazloupour, M.; El-Shafei, A.; Hauser, P., Functional Military Textile: Plasma-Induced Graft Polymerization of DADMAC for Antimicrobial Treatment on Nylon-Cotton Blend Fabric. *Plasma Chemistry & Plasma Processing* **2012**, 32 (4), 833-843.
168. Pasquier, N.; Keul, H.; Heine, E.; Moeller, M., From Multifunctionalized Poly(ethylene imine)s toward Antimicrobial Coatings. *Biomacromolecules* **2007**, 8 (9), 2874-2882.
169. Pfaffenroth, C.; Winkel, A.; Dempwolf, W.; Gamble, L. J.; Castner, D. G.; Stiesch, M.; Menzel, H., Self-Assembled Antimicrobial and biocompatible copolymer films on Titanium. *Macromolecular Bioscience* **2011**, 11 (11), 1515-1525.



170. Han, H.; Wu, J.; Avery, C. W.; Mizutani, M.; Jiang, X.; Kamigaito, M.; Chen, Z.; Xi, C.; Kuroda, K., Immobilization of Amphiphilic Polycations by Catechol Functionality for Antimicrobial Coatings. *Langmuir* **2011**, *27* (7), 4010-4019.
171. Park, D.; Wang, J.; Klibanov, A. M., One-Step, Painting-Like Coating Procedures To Make Surfaces Highly and Permanently Bactericidal. *Biotechnology Progress* **2006**, *22* (2), 584-589.
172. Fuchs, A. D.; Tiller, J. C., Kontaktaktive antimikrobielle Beschichtungen aus wässrigen Suspensionen. *Angewandte Chemie* **2006**, *118* (40), 6911-6914.
173. Mi, L.; Jiang, S., Zwitterionische Polymere mit antimikrobiellen und Nonfouling-Eigenschaften. *Angewandte Chemie* **2014**, *126* (7), 1774-1782.
174. Kaur, R.; Liu, S., Antibacterial surface design – Contact kill. *Progress in Surface Science* **2016**, *91* (3), 136-153.
175. Ferreira, L.; Zumbuehl, A., Non-leaching surfaces capable of killing microorganisms on contact. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, *19* (42), 7796-7806.
176. Mohorčič, M.; Jerman, I.; Zorko, M.; Butinar, L.; Orel, B.; Jerala, R.; Friedrich, J., Surface with antimicrobial activity obtained through silane coating with covalently bound polymyxin B. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **2010**, *21* (10), 2775-2782.
177. Bieser, A. M.; Tiller, J. C., Mechanistic Considerations on Contact-Active Antimicrobial Surfaces with Controlled Functional Group Densities. *Macromolecular Bioscience* **2011**, *11* (4), 526-534.
178. Raafat, D.; von Barga, K.; Haas, A.; Sahl, H.-G., Insights into the Mode of Action of Chitosan as an Antibacterial Compound. *Applied and Environmental Microbiology* **2008**, *74* (12), 3764-3773.
179. Asri, L. A. T. W.; Crismaru, M.; Roest, S.; Chen, Y.; Ivashenko, O.; Rudolf, P.; Tiller, J. C.; van der Mei, H. C.; Loontjens, T. J. A.; Busscher, H. J., A Shape-Adaptive, Antibacterial-Coating of Immobilized Quaternary-Ammonium Compounds Tethered on Hyperbranched Polyurea and its Mechanism of Action. *Advanced Functional Materials* **2014**, *24* (3), 346-355.
180. Denyer, S. P.; Baird, R. M., *Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals and Medical Devices, Second Edition*. CRC Press: **2006**.
181. Liu, S.-y.; Tonggu, L.; Niu, L.-n.; Gong, S.-q.; Fan, B.; Wang, L.; Zhao, J.-h.; Huang, C.; Pashley, D. H.; Tay, F. R., Antimicrobial activity of a quaternary ammonium methacryloxy silicate-containing acrylic resin: a randomised clinical trial. *Scientific Reports* **2016**, *6*, 21882.
182. Lino, M. M.; Paulo, C. S. O.; Vale, A. C.; Vaz, M. F.; Ferreira, L. S., Antifungal activity of dental resins containing amphotericin B-conjugated nanoparticles. *Dental Materials* **2013**, *29* (10), e252-e262.
183. Yue, J.; Zhao, P.; Gerasimov, J. Y.; van de Lagemaat, M.; Grotenhuis, A.; Rustema-Abbing, M.; van der Mei, H. C.; Busscher, H. J.; Herrmann, A.; Ren, Y., 3D-Printable Antimicrobial Composite Resins. *Advanced Functional Materials* **2015**, *25* (43), 6756-6767.
184. Illergård, J.; Wågberg, L.; Ek, M., Contact-active antibacterial multilayers on fibres: a step towards understanding the antibacterial mechanism by increasing the fibre charge. *Cellulose (Dordrecht, Netherlands)* **2015**, *22* (3), 2023-2034.
185. Su, L.; Yu, Y.; Zhao, Y.; Liang, F.; Zhang, X., Strong Antibacterial Polydopamine Coatings Prepared by a Shaking-assisted Method. *Scientific Reports* **2016**, *6*, 24420.
186. Zhang, Q.; Liu, H.; Chen, X.; Zhan, X.; Chen, F., Preparation, surface properties, and antibacterial activity of a poly(dimethyl siloxane) network containing a quaternary ammonium salt side chain. *Journal of Applied Polymer Science* **2015**, *132* (14), 41725/1 - 41725/8.
187. Bruenke, J.; Roschke, I.; Agarwal, S.; Riemann, T.; Greiner, A., Quantitative Comparison of the Antimicrobial Efficiency of Leaching versus Nonleaching Polymer Materials. *Macromolecular Bioscience* **2016**, *16* (5), 647-654.

188. Guo, J.; Xu, Q.; Zheng, Z.; Zhou, S.; Mao, H.; Wang, B.; Yan, F., Intrinsically Antibacterial Poly(ionic liquid) Membranes: The Synergistic Effect of Anions. *ACS Macro Letters* **2015**, *4* (10), 1094-1098.
189. Abid, C. K. V. Z.; Chattopadhyay, S.; Mazumdar, N.; Singh, H., Synthesis and characterization of quaternary ammonium PEGDA dendritic copolymer networks for water disinfection. *Journal of Applied Polymer Science* **2010**, *116* (3), 1640-1649.
190. Roland, C. M., Interpenetrating Polymer Networks (IPN): Structure and Mechanical Behavior. In *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*, Kobayashi, S.; Müllen, K., Eds. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, **2013**, pp 1-9.
191. Dragan, E. S., Advances in interpenetrating polymer network hydrogels and their applications. *Pure & Applied Chemistry* **2014**, *86* (11), 1707-1721.
192. Dragan, E. S., Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review. *Chemical Engineering Journal* **2014**, *243* (0), 572-590.
193. Fan, C.; Zhang, C.; Liao, L.; Li, S.; Gan, W.; Zhou, J.; Wang, D.-A.; Liu, L., Preparation and characterization of double macromolecular network (DMMN) hydrogels based on hyaluronan and high molecular weight poly(ethylene glycol). *Journal of Materials Chemistry B* **2015**, *3* (32), 6618-6625.
194. Murugesh Shivashankar, B. K. M., A Review on Interpenetrating Polymer Network. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2012**, *4* (5).
195. Chen, Q.; Chen, H.; Zhu, L.; Zheng, J., Fundamentals of double network hydrogels. *Journal of Materials Chemistry B: Materials for Biology and Medicine* **2015**, *3* (18), 3654-3676.
196. Vermonden, T.; Censi, R.; Hennink, W. E., Hydrogels for Protein Delivery. *Chemical Reviews* **2012**, *112* (5), 2853-2888.
197. Du, X.; Zhou, J.; Shi, J.; Xu, B., Supramolecular Hydrogelators and Hydrogels: From Soft Matter to Molecular Biomaterials. *Chemical Reviews* **2015**, *115* (24), 13165-13307.
198. Peppas, N. A.; Hoffman, A. S., Chapter I.2.5 - Hydrogels. In *Biomaterials Science (Third Edition)*, Lemons, B. D. R. S. H. J. S. E., Ed. Academic Press: **2013**, pp 166-179.
199. Haque, M. A.; Kurokawa, T.; Gong, J. P., Super tough double network hydrogels and their application as biomaterials. *Polymer* **2012**, *53* (9), 1805-1822.
200. Peak, C.; Wilker, J.; Schmidt, G., A review on tough and sticky hydrogels. *Colloid and Polymer Science* **2013**, *291* (9), 2031-2047.
201. Mizuta, R.; Taguchi, T., Enhanced Sealing by Hydrophobic Modification of Alaska Pollock-Derived Gelatin-Based Surgical Sealants for the Treatment of Pulmonary Air Leaks. *Macromolecular Bioscience* **2016**, *17* (4), 1600349
202. Duarte, A. P.; Coelho, J. F.; Bordado, J. C.; Cidade, M. T.; Gil, M. H., Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast. *Progress in Polymer Science* **2012**, *37* (8), 1031-1050.
203. Dhivya, S.; Padma, V. V.; Santhini, E., Wound dressings – a review. *BioMedicine* **2015**, *5* (4), 24-28.
204. Deligkaris, K.; Tadele, T. S.; Olthuis, W.; van den Berg, A., Hydrogel-based devices for biomedical applications. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, *147* (2), 765-774.
205. Costa, A. M. S.; Mano, J. F., Extremely strong and tough hydrogels as prospective candidates for tissue repair – A review. *European Polymer Journal* **2015**, *72*, 344-364.
206. Cabral, J. D., Antimicrobial Polymeric Hydrogels. In *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials*, Kalia, S., Ed. Springer International Publishing: Cham, **2016**, pp 153-170.

207. Rodríguez-Hernández, J., Antimicrobial Hydrogels. In *Polymers against Microorganisms: On the Race to Efficient Antimicrobial Materials*, Springer International Publishing: Cham, **2017**, pp 179-204.
208. Ng, V. W. L.; Chan, J. M. W.; Sardon, H.; Ono, R. J.; García, J. M.; Yang, Y. Y.; Hedrick, J. L., Antimicrobial hydrogels: A new weapon in the arsenal against multidrug-resistant infections. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2014**, *78*, 46-62.
209. Malmsten, M., Antimicrobial and antiviral hydrogels. *Soft Matter* **2011**, *7* (19), 8725-8736.
210. Liu, S. Q.; Yang, C.; Huang, Y.; Ding, X.; Li, Y.; Fan, W. M.; Hedrick, J. L.; Yang, Y.-Y., Antimicrobial and Antifouling Hydrogels Formed In Situ from Polycarbonate and Poly(ethylene glycol) via Michael Addition. *Advanced Materials* **2012**, *24* (48), 6484-6489.
211. Salick, D. A.; Pochan, D. J.; Schneider, J. P., Design of an Injectable  $\beta$ -Hairpin Peptide Hydrogel That Kills Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Advanced Materials* **2009**, *21* (41), 4120-4123.
212. Salick, D. A.; Kretsinger, J. K.; Pochan, D. J.; Schneider, J. P., Inherent Antibacterial Activity of a Peptide-Based  $\beta$ -Hairpin Hydrogel. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129* (47), 14793-14799.
213. Giano, M. C.; Ibrahim, Z.; Medina, S. H.; Sarhane, K. A.; Christensen, J. M.; Yamada, Y.; Brandacher, G.; Schneider, J. P., Injectable bioadhesive hydrogels with innate antibacterial properties. *Nature Communications* **2014**, *5*, 4095.
214. E2149-13a, A., Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions. *ASTM International, West Conshohocken, PA* **2013**.
215. Document, J., Film adherence method, Z2801. *Japan Standard Association, Tokyp, Japan* **2000**.
216. Tilt, N.; Hamilton, M. A., Repeatability and reproducibility of germicide tests: a literature review. *Journal of AOAC International* **1999**, *82* (2), 384-9.
217. Haldar, J.; Weight, A. K.; Klibanov, A. M., Preparation, application and testing of permanent antibacterial and antiviral coatings. *Nature Protocols* **2007**, *2* (10), 2412-2417.
218. Tiller, J. C.; Lee, S. B.; Lewis, K.; Klibanov, A. M., Polymer surfaces derivatized with poly(vinyl-N-hexylpyridinium) kill airborne and waterborne bacteria. *Biotechnology and Bioengineering* **2002**, *79* (4), 465-471.
219. Jemeljanova, A. Synthese und Charakterisierung Endgruppen-funktionalisierter Poly-Quats. Bachelorarbeit, TU Dortmund, Dortmund (Germany), **2013**.
220. Petersen, H. Synthese und Charakterisierung beidseitig Alkyl-funktionalisierter Poly-Quats. Wahlpflichtpraktikum, TU Dortmund, Dortmund (Germany), **2014**.
221. Noguchi, H.; Rembaum, A., Ionene polymers. II. Formation of cyclic and linear compounds or polymers from N,N,N',N'-tetramethyl- $\alpha,\omega$ -diaminoalkanes and  $\alpha,\omega$ -dibromoalkanes. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* **1969**, *7* (5), 383-394.
222. Rembaum, A.; Singer, S.; Keyzer, H., Ionene polymers. III. Dicationic crosslinking agents (1). *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters* **1969**, *7* (5), 395-402.
223. Lehman, M. R.; Thompson, C. D.; Marvel, C. S., Quaternary Ammonium Salts from Halogenated Alkyl Dimethylamines. III. Omega-Bromo-Heptyl-, -Octyl-, -Nonyl- and -Decyl-dimethylamines. *Journal of the American Chemical Society* **1933**, *55* (5), 1977-1981.
224. Wang, J.; Meyer, W. H.; Wegner, G., On the polymerization of N,N,N',N'-tetramethyl- $\alpha,\omega$ -alkanediamines with dibromoalkanes—an in-situ NMR study. *Macromolecular Chemistry and Physics* **1994**, *195* (5), 1777-1795.

225. Fawcett, A. H.; Mee, R. A. W.; McBride, F. V., A Monte-Carlo study of ring formation during step-growth polymerization in three dimensions. *Macromolecular Theory and Simulations* **1993**, *2* (1), 91-94.
226. Hünig, S.; Baron, W., Abbau Quartärer Ammoniumsalze mit Äthanolamin, I. *Chemische Berichte* **1957**, *90* (3), 395-402.
227. Ruckenstein, E.; Chen, X., Covalent Cross-Linking of Polymers through Ionene Formation and Their Thermal De-Cross-Linking. *Macromolecules* **2000**, *33* (24), 8992-9001.
228. Charlier, P.; Jérôme, R.; Teyssié, P.; Proud'Homme, R. E., Thermal stability of modified telechelic polystyrenes. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **1993**, *31* (1), 129-134.
229. Lambert, R. J. W.; Pearson, J., Susceptibility testing: accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. *Journal of Applied Microbiology* **2000**, *88* (5), 784-790.
230. Black, J. W.; Jennings, M. C.; Azarewicz, J.; Paniak, T. J.; Grenier, M. C.; Wuest, W. M.; Minbiole, K. P. C., TMEDA-derived biscationic amphiphiles: An economical preparation of potent antibacterial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2014**, *24* (1), 99-102.
231. Laatiris, A.; El Achouri, M.; Rosa Infante, M.; Bensouda, Y., Antibacterial activity, structure and CMC relationships of alkanediyl  $\alpha,\omega$ -bis(dimethylammonium bromide) surfactants. *Microbiological Research* **2008**, *163* (6), 645-650.
232. Paniak, T. J.; Jennings, M. C.; Shanahan, P. C.; Joyce, M. D.; Santiago, C. N.; Wuest, W. M.; Minbiole, K. P. C., The antimicrobial activity of mono-, bis-, tris-, and tetracationic amphiphiles derived from simple polyamine platforms. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2014**, *24* (24), 5824-5828.
233. Jennings, M. C.; Ator, L. E.; Paniak, T. J.; Minbiole, K. P. C.; Wuest, W. M., Biofilm-Eradicating Properties of Quaternary Ammonium Amphiphiles: Simple Mimics of Antimicrobial Peptides. *ChemBioChem* **2014**, *15* (15), 2211-2215.
234. Jennings, M. C.; Minbiole, K. P. C.; Wuest, W. M., Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance. *ACS Infectious Diseases* **2015**, *1* (7), 288-303.
235. Timofeeva, L. M.; Kleshcheva, N. A.; Moroz, A. F.; Didenko, L. V., Secondary and Tertiary Polydiallylammonium Salts: Novel Polymers with High Antimicrobial Activity. *Biomacromolecules* **2009**, *10* (11), 2976-2986.
236. Engler, A. C.; Tan, J. P. K.; Ong, Z. Y.; Coady, D. J.; Ng, V. W. L.; Yang, Y. Y.; Hedrick, J. L., Antimicrobial Polycarbonates: Investigating the Impact of Balancing Charge and Hydrophobicity Using a Same-Centered Polymer Approach. *Biomacromolecules* **2013**, *14* (12), 4331-4339.
237. Kuroda, K.; DeGrado, W. F., Amphiphilic Polymethacrylate Derivatives as Antimicrobial Agents. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (12), 4128-4129.
238. Lienkamp, K.; Madkour, A. E.; Musante, A.; Nelson, C. F.; Nüsslein, K.; Tew, G. N., Antimicrobial Polymers Prepared by ROMP with Unprecedented Selectivity: A Molecular Construction Kit Approach. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (30), 9836-9843.
239. Kuroda, K.; Caputo, G. A.; DeGrado, W. F., The Role of Hydrophobicity in the Antimicrobial and Hemolytic Activities of Polymethacrylate Derivatives. *Chemistry – A European Journal* **2009**, *15* (5), 1123-1133.
240. Takahashi, H.; Nadres, E. T.; Kuroda, K., Cationic Amphiphilic Polymers with Antimicrobial Activity for Oral Care Applications: Eradication of *S. mutans* Biofilm. *Biomacromolecules* **2017**, *18* (1), 257-265.

241. Petranowitsch, J. Antimikrobielle Netzwerke mit polyquartären Ammoniumverbindungen. Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, Dortmund (Germany), **2014**.
242. Paetzold, F. Polyquartäre Ammoniumverbindungen für antimikrobielle Netzwerke. Wahlpflichtpraktikum, TU Dortmund, Dortmund (Germany), **2016**.
243. Menshutkin, N., Beiträge zur Kenntnis der Affinitätskoeffizienten der Alkylhalogenide und der organischen Chemie. *Zeitschrift für Physikalische Chemie* **1890**, *1* (5), 589.
244. Abboud, J.-u. M.; Notario, R.; Bertrán, J.; Solà, M., One Century of Physical Organic Chemistry: The Menshutkin Reaction. In *Progress in Physical Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc.: **2007**, pp 1-182.
245. Schwertfeger, N. Sequentielle Synthese antimikrobieller Polymere. Masterarbeit, Technische Universität Dortmund, Dortmund (Germany), **2015**.
246. Strassburg, A.; Petranowitsch, J.; Paetzold, F.; Krumm, C.; Peter, E.; Meuris, M.; Köller, M.; Tiller, J. C., Cross-Linking of a Hydrophilic, Antimicrobial Polycation toward a Fast-Swelling, Antimicrobial Superabsorber and Interpenetrating Hydrogel Networks with Long Lasting Antimicrobial Properties. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2017**, *9* (42), 36573-36582.
247. Herrmann, N. Synthese und Charakterisierung von Netzwerken aus polyquartären Ammoniumverbindungen. Wahlpflichtpraktikum, TU Dortmund, Dortmund (Germany), **2015**.
248. Giele, T. Synthese und Charakterisierung von polyquartären Ammoniumverbindungen, sowie Herstellung von Netzwerken. Wahlpflichtpraktikum, TU Dortmund, Dortmund (Germany), **2015**.
249. Waschinski, C. J.; Zimmermann, J.; Salz, U.; Hutzler, R.; Sadowski, G.; Tiller, J. C., Design of Contact-Active Antimicrobial Acrylate-Based Materials Using Biocidal Macromers. *Advanced Materials* **2008**, *20* (1), 104-108.
250. Lin-Vien, D.; Colthup, N. B.; Fateley, W. G.; Grasselli, J. G., *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*. Elsevier Science: **1991**.
251. Hanselmann, R. Roempp Online: interpenetrierende polymere Netzwerke. <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-09-00993#Literatur> (accessed 26.07.2017).
252. Williams, S. R.; Barta, Z.; Ramirez, S. M.; Long, T. E., Synthesis of 12,12-Ammonium Ionenes with Functionality for Chain Extension and Cross-Linking via UV Irradiation. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2009**, *210* (7), 555-564.
253. Ramirez, S. M.; Layman, J. M.; Long, T. E., Protonatable Ionenes for Nucleic Acid Complexation. *Macromolecular Bioscience* **2009**, *9* (11), 1127-1134.
254. Lakouraj, M. M.; Soleimani, M.; Hasantabar, V., Synthesis and physical properties of interpenetrating network of poly (acrylamide-co-2,4-ionene) hydrogels. *World Applied Sciences Journal* **2013**, *21* (2), 250-259.
255. Bachl, J.; Zanuy, D.; López-Pérez, D. E.; Revilla-López, G.; Cativiela, C.; Alemán, C.; Díaz, D. D., Synergistic Computational-Experimental Approach to Improve Ionene Polymer-Based Functional Hydrogels. *Advanced Functional Materials* **2014**, *24* (31), 4893-4904.
256. Misawa, Y.; Koumura, N.; Matsumoto, H.; Tamaoki, N.; Yoshida, M., Hydrogels Based on Surfactant-Free Ionene Polymers with N,N'-(p-Phenylene)dibenzamide Linkages. *Macromolecules* **2008**, *41* (22), 8841-8846.
257. Tsutsui, T.; Tanaka, R.; Tanaka, T., Dynamic mechanical properties of some novel ionene polymers. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition* **1975**, *13* (11), 2091-2102.
258. Tsutsui, T.; Tanaka, R.; Tanaka, T., Mechanical relaxations in some ionene polymers. I. Effect of Ion concentration. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition* **1976**, *14* (12), 2259-2271.



275. Refojo, M. F.; Leong, F. L., Poly(methyl acrylate-co-hydroxyethyl acrylate) hydrogel implant material of strength and softness. *Journal of Biomedical Materials Research* **1981**, *15* (4), 497-509.
276. Kamoun, E. A.; Winkel, A.; Eisenburger, M.; Menzel, H., Carboxylated camphorquinone as visible-light photoinitiator for biomedical application: Synthesis, characterization, and application. *Arabian Journal of Chemistry* **2016**, *9* (5), 745-754.
277. Li, J.; Illeperuma, W. R. K.; Suo, Z.; Vlassak, J. J., Hybrid Hydrogels with Extremely High Stiffness and Toughness. *ACS Macro Letters* **2014**, *3* (6), 520-523.
278. Lau, H. K.; Kiick, K. L., Opportunities for Multicomponent Hybrid Hydrogels in Biomedical Applications. *Biomacromolecules* **2014**, *16* (1), 28-42.
279. Myung, D.; Koh, W.; Ko, J.; Hu, Y.; Carrasco, M.; Noolandi, J.; Ta, C. N.; Frank, C. W., Biomimetic strain hardening in interpenetrating polymer network hydrogels. *Polymer* **2007**, *48* (18), 5376-5387.
280. Rauner, N.; Meuris, M.; Zoric, M.; Tiller, J. C., Enzymatic mineralization generates ultrastiff and tough hydrogels with tunable mechanics. *Nature* **2017**, *543* (7645), 407-410.
281. Andreopoulos, A. G., Properties of poly(2-hydroxyethyl acrylate) networks. *Biomaterials* **1989**, *10* (2), 101-104.
282. Guo, X.; Zhang, M.; Cui, C.; Hou, J.; Li, Y., Efficient Polymer Solar Cells Based on Poly(3-hexylthiophene) and Indene-C60 Bisadduct Fabricated with Non-halogenated Solvents. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2014**, *6* (11), 8190-8198.
283. Waenkaew, P.; Taranekar, P.; Jiang, G.; Huang, C. Y.; Fulghum, T.; Patton, D.; Jayarathna, L.; Phanichphant, S.; Advincula, R. C., Nanostructured Interpenetrating Polymer Network (IPN) Precursor Ultrathin Films. *Macromolecular Chemistry and Physics* **2011**, *212* (10), 1039-1049.
284. Fang, C.; Toh, X. N.; Yao, Q.; Julius, D.; Hong, L.; Lee, J. Y., Semi-interpenetrating polymer network proton exchange membranes with narrow and well-connected hydrophilic channels. *Journal of Power Sources* **2013**, *226*, 289-298.
285. Tironi, C. N.; Graf, R.; Lieberwirth, I.; Klapper, M.; Müllen, K., Synthesis and Selective Loading of Polyhydroxyethyl Methacrylate-I-Polysulfone Amphiphilic Polymer Conetworks. *ACS Macro Letters* **2015**, *4* (11), 1302-1306.
286. Bruns, N.; Tiller, J. C., Nanophasic Amphiphilic Conetworks with a Fluorophilic Phase. *Macromolecules* **2006**, *39* (13), 4386-4394.
287. Thomann, R.; Ivan, B.; Erdodi, G.; Domjan, A.; Scherble, J.; Mulhaupt, R., Nanostructured morphology of polymer co-networks: resolving the controversy between AFM and TEM images for disordered nanophase separated multicomponent polymers. *American Chemical Society, Division of Polymer Chemistry* **2007**, *48* (2), 515-516.
288. An, Y. H.; Friedman, R. J., Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research* **1998**, *43* (3), 338-348.
289. An, Y. H.; Friedman, R. J., *Handbook of Bacterial Adhesion: Principles, Methods, and Applications*. Humana Press: **2000**.
290. Ribeiro, M.; Monteiro, F. J.; Ferraz, M. P., Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions. *Biomatter* **2012**, *2* (4), 176-194.
291. Moreau-Marquis, S.; Stanton, B. A.; O'Toole, G. A., Pseudomonas aeruginosa biofilm formation in the cystic fibrosis airway. A short review. *Pulmonary pharmacology & therapeutics* **2008**, *21* (4), 595-599.

292. Singh, B.; Dhiman, A., Design of Acacia Gum–Carbopol–Cross-Linked-Polyvinylimidazole Hydrogel Wound Dressings for Antibiotic/Anesthetic Drug Delivery. *Industrial & engineering chemistry research* **2016**, *55* (34), 9176-9188.
293. Veiga, A. S.; Sinthuvanich, C.; Gaspar, D.; Franquelim, H. G.; Castanho, M. A. R. B.; Schneider, J. P., Arginine-rich self-assembling peptides as potent antibacterial gels. *Biomaterials* **2012**, *33* (35), 8907-8916.
294. Tomić, S. L.; Jovašević, J. S.; Filipović, J. M., Hemocompatibility, swelling and thermal properties of hydrogels based on 2-hydroxyethyl acrylate, itaconic acid and poly(ethylene glycol) dimethacrylate. *Polymer Bulletin* **2013**, *70* (10), 2895-2909.
295. Zaik, M.; Peter, E.; Koeller, M., Kooperation zur biologischen Charakterisierung von Hydrogelen. Berufsgenossenschaftliches Universitätsklinikum Bergmannsheil, Bochum: **2016-2017**.
296. LaDow, J. E.; Warnock, D. C.; Hamill, K. M.; Simmons, K. L.; Davis, R. W.; Schwantes, C. R.; Flaherty, D. C.; Willcox, J. A. L.; Wilson-Henjum, K.; Caran, K. L.; Minbiole, K. P. C.; Seifert, K., Bicephalic amphiphile architecture affects antibacterial activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46* (9), 4219-4226.



## 8 Lebenslauf

### PERSÖNLICHE DATEN

---

Arne Straßburg

Geboren am 07.03.1983 in Hoya (Weser), Deutschland

Deutsche Staatsbürgerschaft

Ledig

### BILDUNG

---

03.2013–  
11.2016 **Wissenschaftlicher Mitarbeiter** am Lehrstuhl für Biomaterialien und Polymerwissenschaften an der TU Dortmund, Dortmund.

Promotion zum Thema:

*„Synthese und Charakterisierung neuartiger antimikrobieller Polymere“*

10.2011–  
01.2013 **Masterstudiengang „Chemie“** an der Universität Bremen

Masterarbeit zum Thema:

*„Synthese und Charakterisierung polyverzweigter, teilkristalliner Polyole und ihre Eigenschaften auf hochvernetzte Epoxidpolymere“* am Fraunhofer IFAM, Bremen

Abschluss: Master of Science in Chemie

09.2010–  
10.2011 Masterstudiengang „Materialwissenschaften, Mineralogie, Chemie und Physik“ an der Universität Bremen

10.2007–  
09.2010 **Bachelorstudiengang „Chemie“** an der Universität Bremen

Abschluss: Bachelor of Science Chemie

08.2004–  
06.2007 **Ausbildung zum Chemielaboranten** am Fraunhofer Institut für Fertigungstechnik und Angewandte Materialforschung (IFAM), Bremen.

Abschluss: Chemielaborant

08.2000–  
07.2004 Domgymnasium, Verden, Abschluss: **Abitur**

08.1995–  
07.2000 Realschule, Hoya, Abschluss: Erweiterter Sekundarabschluss I

08.1993–  
07.1995 Orientierungsstufe, Hoya

08.1989–  
07.1993 Grundschule, Eystrup



## 9 Anhang

### 9.1 Daten-Tabellen

#### 9.1.1 Daten Tabellen der PBI aus Polyaddition

**Tabelle 29: Antimikrobielle Aktivität in Form des MIC gegenüber den Bakterienstämmen *E. coli* (*E.c.*), *S. aureus* (*S.a.*), *P. aeruginosa* (*P.a.*), *S. mutans* (*S.m.*) und *S. epidermidis* (*S.e.*) sowie der Hämokompatibilität ( $HC_{50}$ ) gegenüber roten Schweineblutzellen für die synthetisierten PBI mit beidseitigen Brom (Br-PBI-Br) oder Methacrylat (MAA-PBI-MAA) Endgruppen.**

Polymer	MIC [ $\mu\text{g/mL}$ ] <sup>a)</sup>					$HC_{50}$ [ $\mu\text{g/mL}$ ] <sup>b)</sup>
	<i>E.c.</i>	<i>S.a.</i>	<i>P.a.</i>	<i>S.m.</i>	<i>S.e.</i>	
Br-(PBI <sub>5500</sub> )-Br	39.1 ± 0.2	19.5 ± 0.1		9.8 ± 0.1		>40100
Br-(PBI <sub>8000</sub> )-Br	39.1 ± 0.3	39.1 ± 0.2		9.8 ± 0.1		>40050
Br-(PBI <sub>13800</sub> )-Br	39.1 ± 0.2	39.1 ± 0.2		19.5 ± 0.1		>40005
MAA-(PBI <sub>5700</sub> )-MAA	156.3 ± 1.1	78.1 ± 0.6		19.5 ± 0.1		>40000
MAA-(PBI <sub>9200</sub> )-MAA	78.1 ± 0.6	39.1 ± 0.3		9.8 ± 0.1		>39950
Br-(PBI <sub>3100</sub> )-Br	39.1 ± 0.0	65.1 ± 22.5	29.5 ± 12.9	14.6 ± 8.4	4.9 ± 0.0	>54850
Br-(PBI <sub>5700</sub> )-Br	52.1 ± 22.5	68.4 ± 19.4	29.2 ± 13.5	14.7 ± 5.6	5.0 ± 0.2	>51800
Br-(PBI <sub>7000</sub> )-Br	58.6 ± 27.6	65.1 ± 22.5	39.5 ± 0.3	16.3 ± 5.6	5.7 ± 3.7	>52000

a) Die Werte wurden mindestens doppelt bestimmt und der Fehler wird in Form der Standardabweichung angegeben. Jedoch liegt der wahre MIC zwischen dem angegebenen Wert und der halben Konzentration. b) Die Lyse der roten Schweineblutzellen war bei allen angegebenen Polymerkonzentrationen <1%.

**Tabelle 30: Berechnete Selektivitäten der synthetisierten PBI mit beidseitigen Brom (Br-PBI-Br) oder Methacrylat (MAA-PBI-MAA) Endgruppen.**

Polymer	Selektivität ( $HC_{50}/MIC$ ) <sup>a)</sup>				
	<i>E.c.</i>	<i>S.a.</i>	<i>P.a.</i>	<i>S.m.</i>	<i>S.e.</i>
Br-(PBI <sub>5500</sub> )-Br	>1026	>2056		>4092	
Br-(PBI <sub>8000</sub> )-Br	>1024	>1024		>4087	
Br-(PBI <sub>13800</sub> )-Br	>1023	>1023		>2052	
MAA-(PBI <sub>5700</sub> )-MAA	>256	>512		>2051	
MAA-(PBI <sub>9200</sub> )-MAA	>512	>1022		>4077	
Br-(PBI <sub>3100</sub> )-Br	>1403	>843	>1857	>3757	>11186
Br-(PBI <sub>5700</sub> )-Br	>994	>747	>1774	>3525	>10319
Br-(PBI <sub>7000</sub> )-Br	>887	>799	>1318	>3190	>9091

a) Die Selektivität S wurde aus dem  $HC_{50}/MIC$  Verhältnis berechnet.

## 9.1.2 Tabellen der PBIN

**Tabelle 31: Quellgrade eines PBI<sub>7000</sub>-Netzwerkes mit einem molaren NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis von 1.51 nach verschiedenen Tagen als Vernetzungsdauer.**

Netzwerk mit PBI <sub>7000</sub>		
NH <sub>2</sub> /Br <sup>a)</sup>	Vernetzungsdauer [d]	Quellgrad in H <sub>2</sub> O (2 h)
1.51	1	70.0 ± 1.6
	2	70.0 ± 2.0
	3	71.5 ± 1.1
	4	71.5 ± 1.5
	∅	70.6 ± 1.7

a) Molares Verhältnis der NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppen.

**Tabelle 32: Quellgrade unterschiedlicher PBIN mit verschiedenen molaren NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnissen der Polymere Br-PBI<sub>3100</sub>-Br, Br-PBI<sub>5700</sub>-Br und Br-PBI<sub>7000</sub>-Br nach 2 h in bidest. Wasser. Zudem ist der Quellgrad von PBIN<sub>5700</sub> in einer wässrigen HEA-Monomerlösung mit 1 wt% GDMA als Vernetzer nach 24 h und auf dessen Basis, der berechnete Anteil von PBI im IPH, angegeben.<sup>246</sup>**

Netzwerke mit Br-PBI <sub>3100</sub> -Br		Netzwerke mit Br-PBI <sub>7000</sub> -Br		Netzwerke mit Br-PBI <sub>5700</sub> -Br				
NH <sub>2</sub> /Br <sup>a)</sup>	Q <sub>m</sub> <sup>b)</sup> in H <sub>2</sub> O (2 h)	NH <sub>2</sub> /Br <sup>a)</sup>	Q <sub>m</sub> <sup>b)</sup> in H <sub>2</sub> O (2 h)	NH <sub>2</sub> /Br <sup>a)</sup>	Q <sub>m</sub> <sup>b)</sup> in H <sub>2</sub> O (2 h)	Gelgehalt <sup>c)</sup> [wt%]	Q <sub>m</sub> <sup>b)</sup> in Monomerlösung <sup>d)</sup> (24 h)	Anteil an PBI im IPH [wt%] <sup>e)</sup>
1.02	58.9 ± 5.3	1.48	134.2 ± 8.2	1.39	74.2 ± 1.6			
1.14	45.5 ± 1.1	1.51	70.8 ± 2.6	1.50	40.3 ± 1.5	74.6 ± 1.2	25.6 ± 0.9	7.8 ± 0.3
1.29	20.4 ± 2.0	1.57	58.2 ± 1.8	1.57	51.8 ± 0.7	70.7 ± 0.6	32.1 ± 0.7	6.2 ± 0.1
1.41	29.9 ± 1.0	1.72	68.9 ± 2.4	1.62	65.8 ± 2.5	67.0 ± 1.4	43.8 ± 0.8	4.6 ± 0.1
1.53	58.3 ± 3.1	1.82	95.4 ± 4.5	1.68	91.2 ± 0.5	67.3 ± 1.8	56.9 ± 2.1	3.5 ± 0.1
1.67	116.7 ± 6.8	1.90	135.0 ± 11.9	1.70	119.7 ± 5.5	68.2 ± 2.3	74.5 ± 3.4	2.7 ± 0.2
		2.04	177.3 ± 27.3	1.74	133.8 ± 4.1	62.1 ± 3.4	80.6 ± 2.5	2.5 ± 0.1
				1.76	173.5 ± 6.8			

a) Molares Verhältnis der NH<sub>2</sub>/Br Endgruppen zueinander. b) Massebezogener Quellgrad Q<sub>m</sub> als Verhältnis des Ausgangsgewichts und des Gewichts der gequollenen Probe. Die Messungen wurden als dreifach-Bestimmung durchgeführt und der Fehler stellt die Standardabweichung dar; c) Zur Bestimmung des Gelgehaltes wurden die Netzwerke jeweils 5-Waschzyklen unterzogen. Der Gelgehalt ergibt sich als Quotient vom Gewicht des getrockneten Netzwerkes nach der Quellung zum trockenen PBI vor Beginn der gesamten Prozedur; d) Als Monomerlösung wurde eine wässrige HEA-Lösung, mit 1 wt% GDMA als Vernetzer sowie Photoinitiatoren eingesetzt (Details, siehe **Tabelle 28**; Seite 145) e) Der Anteil an PBI im IPH wurde aus dem Quellgrad nach 24 h vor der Photovernetzung berechnet.

## 9.1.3 Abbildungen und Tabellen der IPH

**Tabelle 33: Optisches Erscheinungsbild und massebezogener Quellgrad ( $Q_m$ ) nach 72 h in Wasser für PHEA-Netzwerke mit verschiedenen GDMA-Vernetzer-Gehalten (Detaillierte Zusammensetzung siehe Tabelle 28; Seite 145).**

Netzwerk	GDMA <sup>a)</sup> [wt%]	$Q_m$ in bidest. H <sub>2</sub> O	Material trocken	Material gequollen
PHEA <sub>(1)</sub>	1	5.6 ± 0.1	transparent	klar transparent
PHEA <sub>(2)</sub>	2	4.4 ± 0.2	transparent	klar transparent
PHEA <sub>(3)</sub>	3	3.9 ± 0.1	transparent	klar transparent
PHEA <sub>(5)</sub>	5	3.2 ± 0.1	transparent	klar transparent
PHEA <sub>(10)</sub>	10	2.7 ± 0.2	transparent	opak
PHEA <sub>(15)</sub>	15	2.2 ± 0.1	transparent, mit leichter Trübung	weiß opak
PHEA <sub>(20)</sub>	20	2.0 ± 0.1	opak	weiß opak

a) Massebezogener Gehalt des Vernetzers (GDMA) in Bezug auf HEA.

**Tabelle 34: Gelgehalt und Quellgrades in bidest. Wasser nach 72 h für die Netzwerke PHEA, IPH<sub>1.74</sub> und IPH<sub>1.50</sub> mit 1 wt%, 3 wt% und 5 wt% GDMA als Vernetzer. Zudem wurden durch mechanische Messungen das E-Modul (1 Hz) mittels DMA, die maximale Zugspannung ( $\sigma_{max}$ ) mittels Zugprüfung und die Zugdehnung bei  $\sigma_{max}$  mittels Zugprüfung für die Netzwerke PHEA, IPH<sub>1.74</sub> und IPH<sub>1.50</sub> mit 1 wt%, 3 wt% und 5 wt% GDMA als Vernetzer ermittelt.<sup>246</sup>**

GDMA [wt%]	Netzwerk	Quellgrad $Q_m$ <sup>a)</sup>	Gelgehalt <sup>b)</sup> [wt%]	E-Modul <sup>c)</sup> bei 1 Hz [MPa]	maximale Zugspannung <sup>c)</sup> $\sigma_{max}$ [MPa]	Zugdehnung <sup>c)</sup> bei $\sigma_{max}$ [%]
1	PHEA <sub>(1)</sub>	5.6 ± 0.1	86 ± 1	0.64 ± 0.01	0.29 ± 0.01	463 ± 70
1	IPN <sub>1.74(1)</sub>	5.6 ± 0.2	88 ± 1	0.96 ± 0.19	0.29 ± 0.06	474 ± 55
1	IPN <sub>1.50(1)</sub>	7.3 ± 0.2	88 ± 1	0.93 ± 0.14	0.38 ± 0.03	432 ± 40
3	PHEA <sub>(3)</sub>	3.9 ± 0.1	92 ± 1	0.94 ± 0.02	0.28 ± 0.04	243 ± 57
3	IPN <sub>1.74(3)</sub>	3.9 ± 0.1	91 ± 2	1.28 ± 0.16	0.38 ± 0.05	235 ± 16
3	IPN <sub>1.50(3)</sub>	5.3 ± 0.2	93 ± 1	1.01 ± 0.01	0.42 ± 0.01	211 ± 9
5	PHEA <sub>(5)</sub>	3.2 ± 0.1	93 ± 1	0.89 ± 0.11	0.35 ± 0.03	192 ± 5
5	IPN <sub>1.74(5)</sub>	3.4 ± 0.1	93 ± 1	0.98 ± 0.13	0.39 ± 0.01	180 ± 9
5	IPN <sub>1.50(5)</sub>	4.0 ± 0.1	92 ± 1	1.34 ± 0.16	0.42 ± 0.00	172 ± 12

a) Massebezogener Quellgrad  $Q_m$  als Verhältnis des Ausgangsgewichts und des Gewichts der gequollenen Probe. Die Messungen wurden als dreifach-Bestimmung durchgeführt und der Fehler stellt die Standardabweichung dar; b) Zur Bestimmung des Gelgehaltes wurden die Netzwerke jeweils 5-Waschzyklen unterzogen. Der Gelgehalt ergibt sich als Quotient vom Gewicht des getrockneten Netzwerkes nach der Quellung zum trockenen PBI vor Beginn der gesamten Prozedur; c) Die Messungen der Netzwerke erfolgten im trocknen (nicht gequollenen) Zustand und wurden als dreifach-Bestimmung durchgeführt. Der Fehler stellt die Standardabweichung dar.

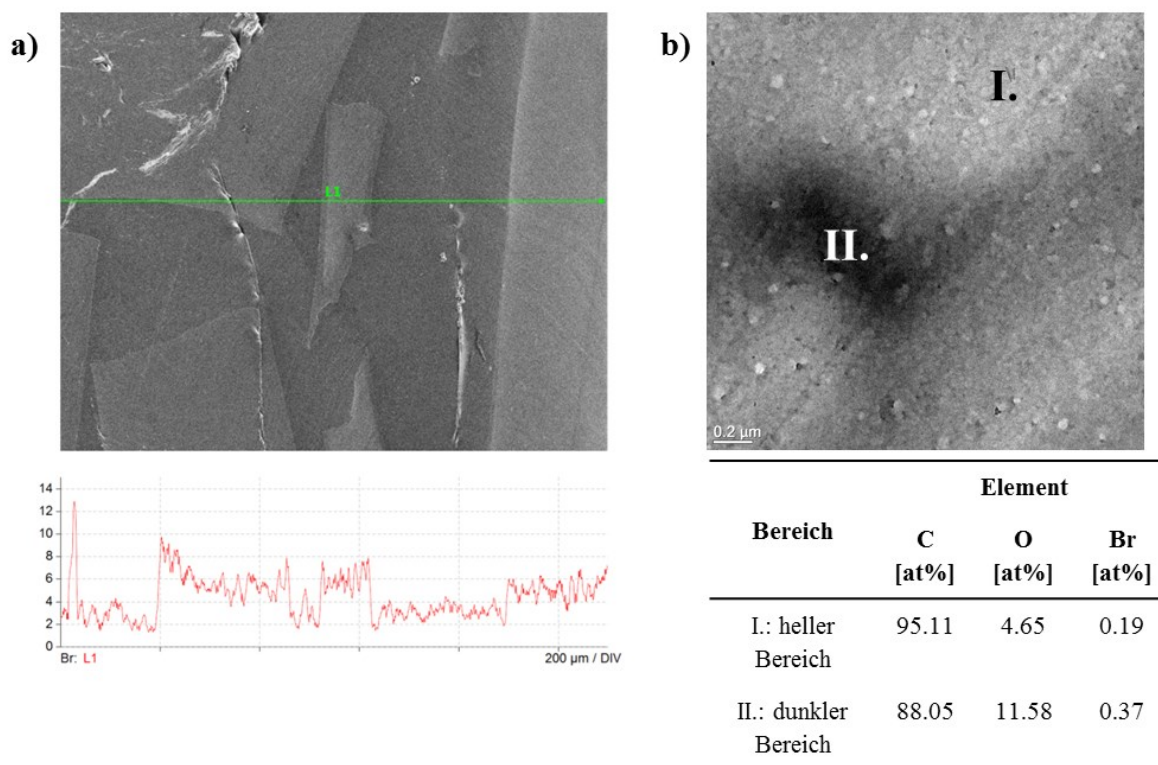




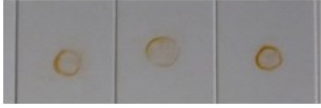



Abbildung 61: a) REM-Aufnahme inklusive EDX Linescan für Brom, für ein in Stücke zerkleinertes  $\text{IPH}_{1.50(1)}$ -Netzwerk (helle Bereiche), welches in ein reines  $\text{PHEA}_{(1)}$ -Netzwerk (dunkle Bereiche) eingebettet ist. b) TEM-Aufnahme und EDX-Elementaranalyse des hellen sowie dunklen Bereichs, eines  $\text{IPH}_{1.50(1)}$ -Netzwerkes nach 7 Tagen Waschung.

Tabelle 35: Standardelementaranalyse mit REM-EDX an trockenen  $\text{IPH}_{1.74(1)}$  und  $\text{IPH}_{1.50(1)}$  nach 7 Tagen Waschung in Wasser. Außerdem ist das berechnete, molare Verhältnis von HEA- und PBI-Einheiten sowie der PBI-Gehalt im IPH angegeben.<sup>246</sup>

Netzwerk	REM-EDX <sup>a)</sup>			molares Verhältnis <sup>b)</sup>		PBI <sup>c)</sup> im IPH [wt.%]
	C [at.%]	O [at.%]	Br [at.%]	HEA [mol%]	PBI [mol%]	
$\text{IPH}_{1.74(1)}$	64.41	35.47	0.12	99.5	0.5	1.4
$\text{IPH}_{1.50(1)}$	64.82	34.68	0.50	98.0	2.0	5.6

a) Wiederholungen der Messungen der Standardelementaranalyse ergaben stets den gleichen Wert, b) Das molare Verhältnis von HEA- und PBI-Einheiten wurde basierend auf dem Brom zu Kohlenstoff Verhältnis berechnet; c) Der PBI-Gehalt wurde basierend auf molaren Verhältnis der PBI- und HEA-Einheiten berechnet.

**Tabelle 36: Konzentrationen verschiedener PBI<sub>5700</sub>-Lösungen in bidest. Wasser und deren mittels UV/Vis bei 501 nm (25 °C) gemessenen Extinktionen, nach Durchführung der in Abbildung 49a (Seite 94) und Abschnitt 6.3.1 (Seite 121) beschriebenen Prozedur.<sup>246</sup> Ergänzend sind Fotos der Rückstände mit ihrer Bewertung (✓ = rot, erkennbarer Rückstand; X = keiner erkennbarer roter Rückstand) vor dem Lösen mit CTAC dargestellt.**

<b>c (PBI<sub>5700</sub>) [µg/mL]</b>	<b>Extinktion bei 501 nm <sup>a)</sup></b>	<b>Foto der Rückstände vor lösen mit CTAC</b>	
781	1.2290 ± 0.0490		✓
391	0.5586 ± 0.0441		✓
195	0.1856 ± 0.0217		✓
98	0.0362 ± 0.0038		✓
49	0.0059 ± 0.0010		✓
24	0.0029 ± 0.0002		X

a) Alle Messungen wurden mindestens als dreifach-Bestimmung durchgeführt und der Fehler ist in Form der Standardabweichung angegeben.

**Tabelle 37: Ermittelte Konzentrationen an PBI im Waschwasser (40 mL je Reihe) des jeweiligen Tages der Netzwerke IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> (Probe/Wasser = 1/24) für Waschungen bei 37 °C. Die Proben wurden zuvor in die für antimikrobielle Tests verwendete Größe zurechtgeschnitten. Der Wechsel des Wassers erfolgte täglich, im 24 h Takt. Die Konzentrationen wurden nach der in Abbildung 49a (Seite 94) und Abschnitt 6.3.1 (Seite 121) Prozedur ermittelt.<sup>246</sup>**

Netzwerk m <sub>IPH</sub> [mg]	IPH <sub>1.74(1)</sub>		IPH <sub>1.50(1)</sub>			
	1650		1650			
	Tag	c <sub>PBI</sub> im Waschwasser [µg/mL] <sup>a)</sup>	Tag	c <sub>PBI</sub> im Waschwasser [µg/mL] <sup>a)</sup>	Tag	c <sub>PBI</sub> im Waschwasser [µg/mL] <sup>a)</sup>
	1	160.0	1	160.0	15	5.0
	2	40.0	2	60.0	16	5.0
	3	20.0	3	30.0	17	5.0
	4	5.0	4	20.0	18	5.0
	5	2.5	5	15.0	19	5.0
	6	2.5	6	10.0	20	5.0
	7	< 2.5	7	7.5	21	5.0
	8	< 2.5	8	5.0	22	5.0
	9	< 2.5	9	5.0	23	5.0
	10	< 2.5	10	5.0	24	5.0
	11	< 2.5	11	5.0	25	5.0
	12	< 2.5	12	5.0	26	5.0
			13	5.0	27	5.0
			14	5.0		

a) Alle Messungen wurden mindestens als dreifach-Bestimmung durchgeführt.



**Tabelle 38: Aus den ermittelten Waschwasserkonzentrationen der bei 37 °C gewaschenen IPH<sub>1.50(1)</sub> Netzwerke berechneten Massen an PBI im Waschwasser und der PBI-Gehalte im IPH.**

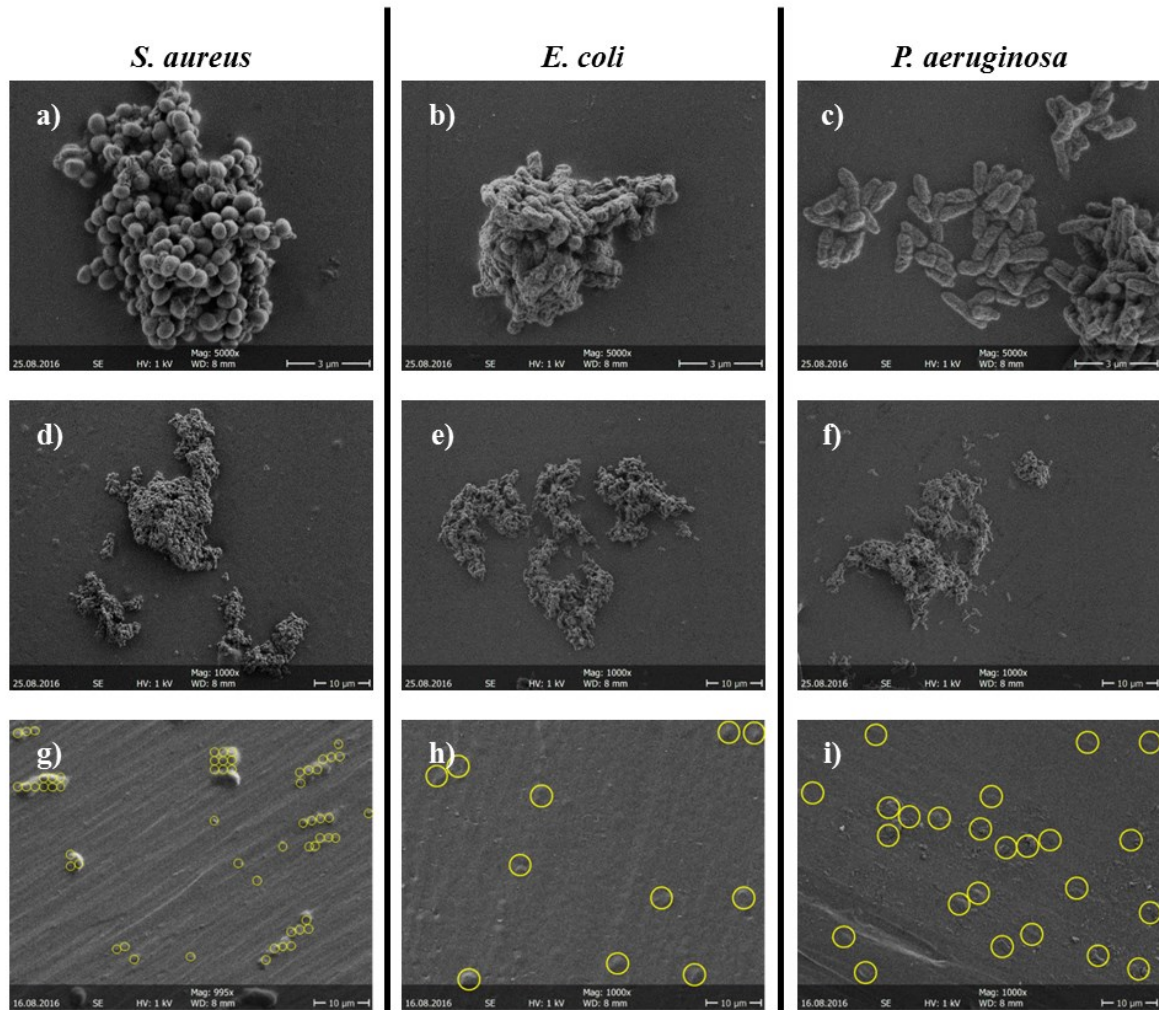
Netzwerk m <sub>IPH</sub> [mg]	IPH <sub>1.50(1)</sub> 1650 (→ 91 mg PBI)					
	Tag	m <sub>PBI</sub> im Waschwasser [mg] <sup>a)</sup>	PBI im IPH [wt%] <sup>b)</sup>	Tag	m <sub>PBI</sub> im Waschwasser [mg] <sup>a)</sup>	PBI im IPH [wt%] <sup>b)</sup>
	0	-	5.50	14	0.2	4.68
	1	6.4	5.11	15	0.2	4.67
	2	2.4	4.97	16	0.2	4.66
	3	1.2	4.90	17	0.2	4.65
	4	0.8	4.85	18	0.2	4.64
	5	0.6	4.81	19	0.2	4.62
	6	0.4	4.79	20	0.2	4.61
	7	0.3	4.77	21	0.2	4.60
	8	0.2	4.76	22	0.2	4.59
	9	0.2	4.74	23	0.2	4.58
	10	0.2	4.73	24	0.2	4.56
	11	0.2	4.72	25	0.2	4.55
	12	0.2	4.71	26	0.2	4.54
	13	0.2	4.70	27	0.2	4.53

a) Aus der PBI-Konzentration berechnete Masse ( $m_{\text{PBI}} = c_{\text{PBI in Waschwasser}} \cdot V_{\text{Waschwasser}}$ ) an PBI im Waschwasser; b) Berechneter Gehalt an PBI im IPH, basierend auf dem Ausgangsgehalt und berechneten Masseverlust an PBI durch die Waschung.

**Tabelle 39: Ermittlung der Bakterienbeladung auf der jeweiligen Netzwerkoberfläche durch Auszählung der Bakterien in REM-Aufnahmen und der Aufnahmen mittels Laser-Scanning-Mikroskop (LSM) nach Anfärbung mit Live/Dead-Kit (Syto/PI). Die Aufnahmen erfolgten für die Beladung der Netzwerke mit jeweils  $2 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup> aus PBS für verschiedene Waschzyklen und verschiedene Bakterienstämme (*S. aureus* (*S.a.*), *E. coli* (*E.c.*), *P. aeruginosa* (*P.a.*)).**

Netzwerk	Waschzyklen <sup>a)</sup>	Bakterienstamm	REM <sup>b)</sup> [Zellen/cm <sup>2</sup> ]	LSM Syto-Mode <sup>c)</sup> [Zellen/cm <sup>2</sup> ]	LSM PI-Mode <sup>d)</sup> [Zellen/cm <sup>2</sup> ]
PHEA <sub>(1)</sub> <sup>e)</sup>	0	<i>E.c.</i>	$9.8 \cdot 10^5$	-	-
	6	<i>E.c.</i>	$4.4 \cdot 10^5$	$8.5 \cdot 10^4$	$8.5 \cdot 10^4$
	0	<i>S.a.</i>	$2.5 \cdot 10^6$	-	-
	6	<i>S.a.</i>	$2.0 \cdot 10^6$	$1.2 \cdot 10^5$	$1.6 \cdot 10^4$
	0	<i>P.a.</i>	$5.5 \cdot 10^5$	-	-
	20	<i>P.a.</i>	$5.1 \cdot 10^5$	-	-
IPH <sub>1,50(1)</sub> <sup>f)</sup>	0	<i>E.c.</i>	$5.3 \cdot 10^5$	-	-
	6	<i>E.c.</i>	$2.1 \cdot 10^5$	$4.4 \cdot 10^5$	$3.2 \cdot 10^5$
	0	<i>S.a.</i>	$3.5 \cdot 10^6$	-	-
	6	<i>S.a.</i>	$1.0 \cdot 10^6$	$5.9 \cdot 10^4$	$6.9 \cdot 10^4$
	0	<i>P.a.</i>	$8.3 \cdot 10^5$	-	-
	9	<i>P.a.</i>	$2.0 \cdot 10^5$	-	-
	20	<i>P.a.</i>	$7.4 \cdot 10^4$	-	-

a) Nach der Applikation der Bakteriensuspension auf den Netzwerken sowie der Adhärerung der Bakterien, wurden die Proben analog zu Prozedur in Abbildung 53 (Seite 102) präpariert, durch 10-maliges wippen mit gefolgtm Nährboullionwechsel (15 mL) je Waschzyklus behandelt; b) Die Berechnung erfolgte aus dem Quotienten der ausgezählten Bakterien und der dazugehörigen ausgezählten Fläche; c) SYTO färbt alle lebenden und toten Bakterien an; d) PI (Propidiumiodid) färbt ausschließlich tote Bakterien an; Für die Untersuchungen wurden ungewaschene PHEA Netzwerke verwendet; f) Für die Untersuchungen wurden 7 Tage bei Raumtemperatur gewaschene und anschließend getrocknete IPH<sub>1,50(1)</sub> eingesetzt.



**Abbildung 62:** Typische REM-Aufnahmen von auf IPH<sub>1,74(1)</sub>-Netzwerken mit Glutaraldehyd präparierten Bakterien (a-f) und auf PHEA nach der regulären Applizierung für eine antimikrobielle Untersuchung adhärierten Bakterien (g-i) für verschiedene Bakterienstämme (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*); In g-i, kennzeichnen die gelben Kreise einzelne Bakterien bzw. Bakterianhäufungen.

**Tabelle 40: Ermittlung der Bakterienbeladung auf der jeweiligen Netzwerkoberfläche durch Auszählung der Bakterien in REM-Aufnahmen, nach Beladung der Netzwerke mit jeweils  $2 \cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup> aus PBS für verschiedene Bakterienwaschzyklen und verschiedene Bakterienstämme (*S. aureus* (*S.a.*), *E. coli* (*E.c.*), *P. aeruginosa* (*P.a.*)).**

Netzwerk	Bakterienwaschzyklus <sup>a)</sup>	Bakterienstamm	ausgezählte Zellen <sup>b)</sup>	ausgezählte Fläche [cm <sup>2</sup> ]	Zellen/cm <sup>2</sup> <sup>c)</sup>	Reduktion auf [%] <sup>d)</sup>
PHEA (ungewaschen)	0	<i>E.c.</i>	205	0.00021	$9.76 \cdot 10^5$	
	6	<i>E.c.</i>	92	0.00021	$4.38 \cdot 10^5$	44.9
	0	<i>S.a.</i>	519	0.00021	$2.47 \cdot 10^6$	
	6	<i>S.a.</i>	418	0.00021	$1.99 \cdot 10^6$	80.5
	0	<i>P.a.</i>	154	0.00028	$5.50 \cdot 10^5$	
	20	<i>P.a.</i>	126	0.00025	$5.14 \cdot 10^5$	93.5
IPH <sub>1.50(1)</sub> (7 Tage bei RT gewaschen)	0	<i>E.c.</i>	184	0.00035	$5.26 \cdot 10^5$	
	6	<i>E.c.</i>	73	0.00035	$2.09 \cdot 10^5$	39.7
	0	<i>S.a.</i>	1224	0.00035	$3.50 \cdot 10^6$	
	6	<i>S.a.</i>	358	0.00035	$1.02 \cdot 10^6$	29.5
	0	<i>P.a.</i>	290	0.00035	$8.29 \cdot 10^5$	
	9	<i>P.a.</i>	71	0.00035	$2.03 \cdot 10^5$	24.5
	20	<i>P.a.</i>	31	0.00042	$7.38 \cdot 10^4$	8.9

a) Nach der Applikation der Bakteriensuspension auf den Netzwerken sowie der Adhärenz der Bakterien, wurden die Proben analog zu Prozedur in Abbildung 53 (Seite 102) präpariert, durch 10-maliges Wippen mit gefolgttem Nährbouillonwechsel (15 mL) je Waschzyklus behandelt; b) Die Auszählung der Bakterien erfolgte in mindestens 6 REM-Aufnahmen je Probe; c) Die Fläche der ausgezählten REM-Aufnahmen wurde aufaddiert; c) Die Berechnung erfolgte aus dem Quotienten der ausgezählten Bakterien und der dazugehörigen ausgezählten Fläche; d) Angegeben ist die Reduktion der Bakterienbeladung [Zellen/cm<sup>2</sup>] des x-ten Bakterienwaschzyklus gegenüber der Bakterienbeladung des 0-ten Bakterienwaschzyklus.

**Tabelle 41: Bakterienreduktion von adhärenz Bakterien auf in Wasser gewaschenen IPH<sub>1.74(1)</sub> (12 Tage bei 37 °C) und IPH<sub>1.50(1)</sub> (27 Tage bei 37 °C) nach 3 h Inkubation bei 37 °C für *E. coli*, *S. aureus* und *P. aeruginosa*. Die Bakterienanzahl auf PHEA<sub>(1)</sub> als Referenz waren folgende: *E. coli* in PBS ( $3. \pm 2.0$ ) $\cdot 10^5$  Zellen/cm<sup>2</sup>, *S. aureus* in PBS ( $5.3 \pm 0.9$ ) $\cdot 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup>, *P. aeruginosa* in PBS ( $7.5 \pm 9.0$ ) $\cdot 10^6$  Zellen/cm<sup>2</sup> und *S. aureus* in RPMI, ( $2.7 \pm 2.3$ ) $\cdot 10^5$  Zellen/cm<sup>2</sup>.<sup>246</sup>**

Netzwerk	Bakterienreduktion [ $\log_{10}$ cfu/mL] <sup>a)</sup>			
	<i>E. coli</i> in PBS <sup>b)</sup>	<i>S. aureus</i> in PBS <sup>b)</sup>	<i>P. aeruginosa</i> in PBS <sup>b)</sup>	<i>S. aureus</i> in RPMI <sup>c)</sup>
IPN <sub>1.74(1)</sub>	$5.3 \pm 0.1$	$4.7 \pm 0.1$	$4.1 \pm 0.3$	$3.5 \pm 0.3$
IPN <sub>1.50(1)</sub>	$5.3 \pm 0.1$	$4.7 \pm 0.1$	$6.6 \pm 0.6$	$5.2 \pm 0.2$

a) Das jeweilige Netzwerk wurde jeweils in 1 mL Bakteriensuspension ( $10^5$  Zellen/mL) im angegebenen Inkubationsmedium (PBS oder RPMI) für 3 h bei 37 °C inkubiert, 3 mal mit 1 mL PBS gewaschen, in 2 ml frischen PBS für 5-10 s im Ultraschallbad behandelt, der Überstand ausplattiert und nach der Inkubation bei 37 °C über Nacht wurden die koloniebildenden Einheiten ausgezählt. Die log Reduktion der jeweiligen Proben wurde in Bezug auf analog behandelte PHEA als Referenz berechnet. Alle Messungen erfolgten mindestens in Doppel-Bestimmung und die Fehler stellen die Standardabweichung dar; b) Der pH-Wert des PBS betrug 7.0; c) Die Behandlung fand analog zu den Proben in PBS statt, jedoch fand die Quellung und Inkubation abweichend in RPMI 1640 mit 10 % FCS als Medium statt.

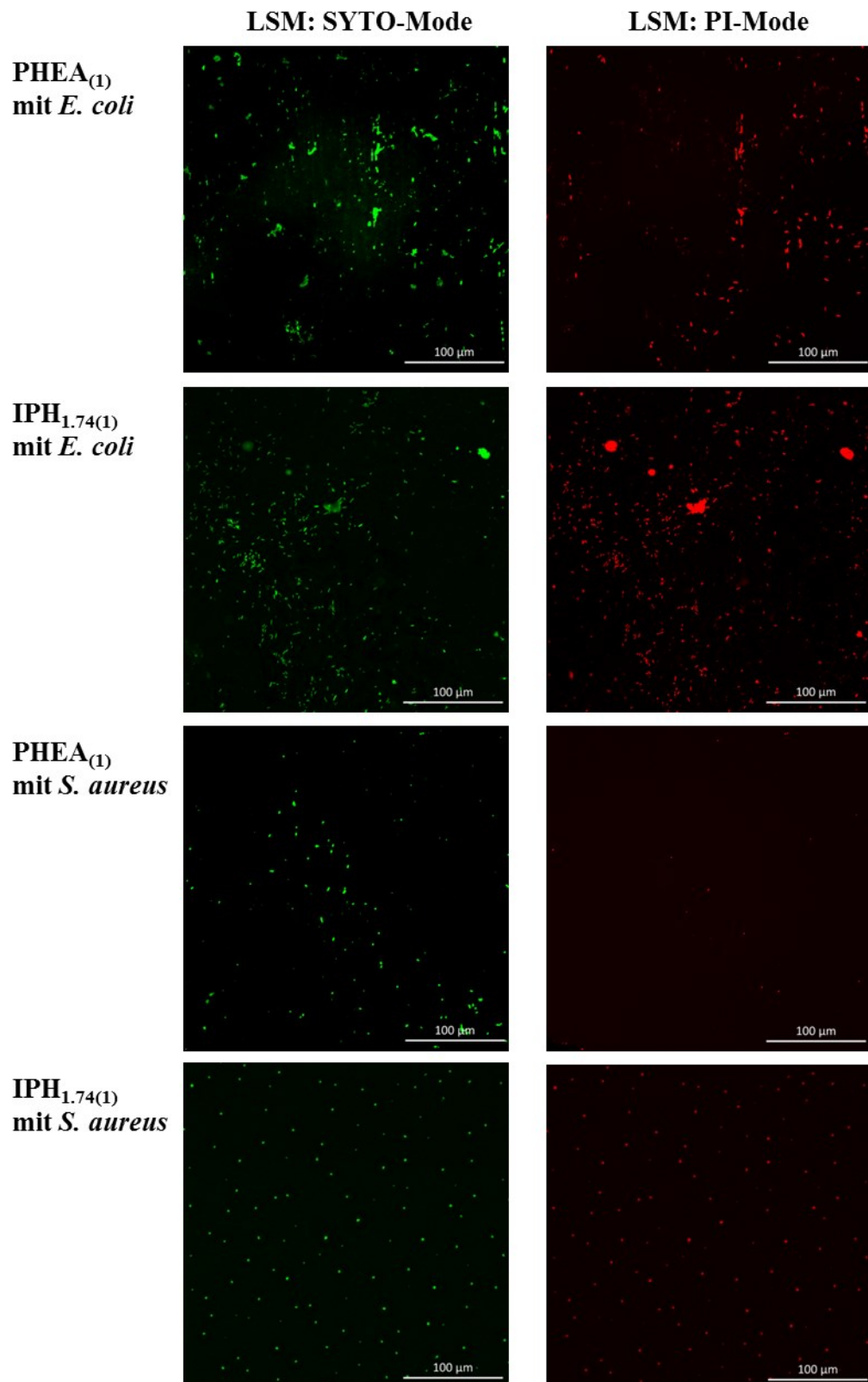


Abbildung 63: Exemplarische Aufnahmen der Analysen mit dem Live/Dead-Kit angefärbten Netzwerke mittels Laser-Scanning-Mikroskop (LSM) im SYTO- und PI-Mode, am Beispiel von PHEA<sub>(1)</sub> und IPH<sub>1,74(1)</sub> nach 6 Waschzyklen für die Bakterienstämme *E. coli* oder *S. aureus*.

**Tabelle 42: Hämokompatibilität der gequollenen Netzwerke PHEA<sub>(1)</sub>, IPH<sub>1.74(1)</sub> und IPH<sub>1.50(1)</sub> gegenüber roten Schweineblutzellen nach 1 h bzw. 3 h Inkubationszeit sowie der CPD-Lösungen, worin die Netzwerke zuvor 64 h gequollen wurden (inkl. Quellgrad), nach jeweils 1 h Inkubationszeit.<sup>246</sup>**

Netzwerk	Q <sub>m</sub> nach 64 h in CPD <sup>a)</sup>	RBC Lyse [%] <sup>b)</sup>	
		Lösung der 64 h Quellung (1 h Inkubation)	Netzwerk (3 h Inkubation)
PHEA <sub>(1)</sub>	3.44 ± 0.06	0.48 ± 0.05	1.03 ± 0.15
IPH <sub>1.74(1)</sub>	3.67 ± 0.08	0.39 ± 0.01	0.75 ± 0.09
IPH <sub>1.50(1)</sub>	3.88 ± 0.03	0.37 ± 0.00	0.88 ± 0.37
PBIN <sub>5700</sub> <sup>c)</sup>	7.47 ± 0.25	0.86 ± 0.01	0.95 ± 0.16

a) Massebezogener Quellgrad Q<sub>m</sub> als Verhältnis des Ausgangsgewichts und des Gewichts der gequollenen Probe. Die Messungen wurden als Doppelbestimmung durchgeführt und der Fehler stellt die Standardabweichung dar. b) Angegeben ist der Grad die lysierten roten Schweineblutzellen nach einer Inkubationszeit von 1 h bzw. 3 h bei 37 °C und CPD-Puffer. Das Gewicht der eingesetzten ungequollenen Netzwerke lag bei 50 mg; Das molare NH<sub>2</sub>/Br-Endgruppenverhältnis betrug 1.50 und das Probengewicht lag bei 13 mg.

## 9.2 $^1\text{H}$ -NMR-Spektren

### 9.2.1 $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von PBI-Spezies durch sequentielle Monomerzugabe

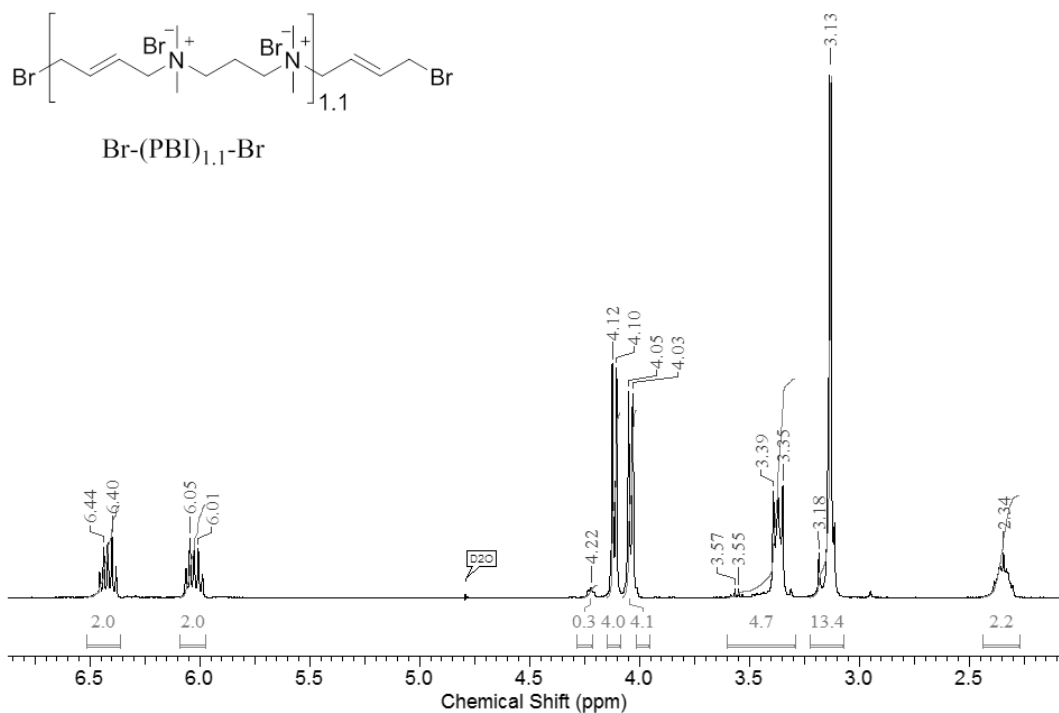


Abbildung 64:  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von  $\text{Br}-(\text{PBI})_{1,1}-\text{Br}$ . 1. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von TMPDA in  $\text{D}_2\text{O}$ .

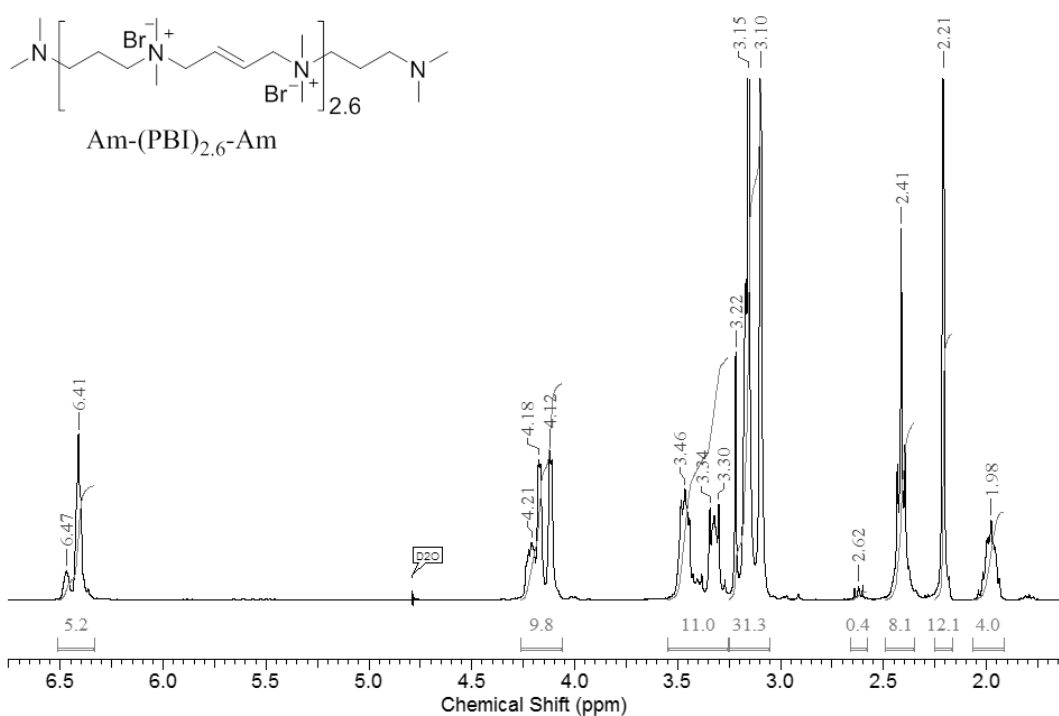


Abbildung 65:  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von  $\text{Am}-(\text{PBI})_{2,6}-\text{Am}$ . 2. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von TMPDA in  $\text{D}_2\text{O}$ .

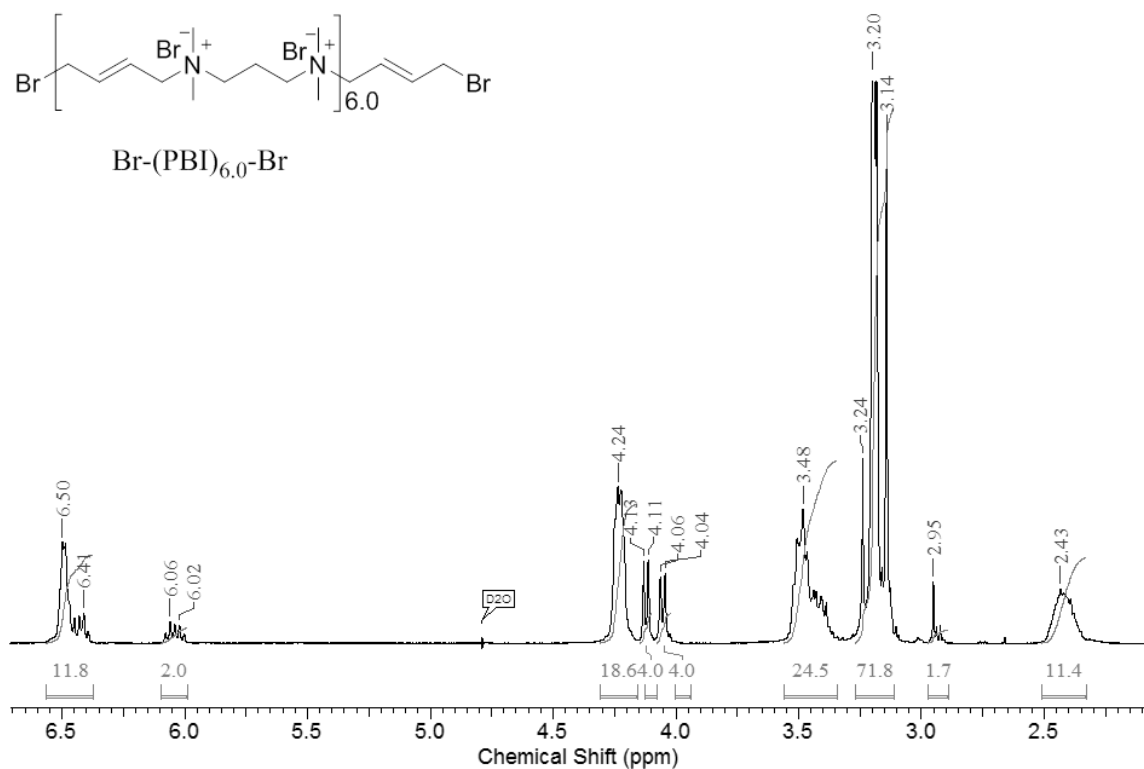


Abbildung 66: <sup>1</sup>H-NMR Spektrum von Br-(PBI)<sub>6.0</sub>-Br. 3. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von TMPDA in D<sub>2</sub>O.

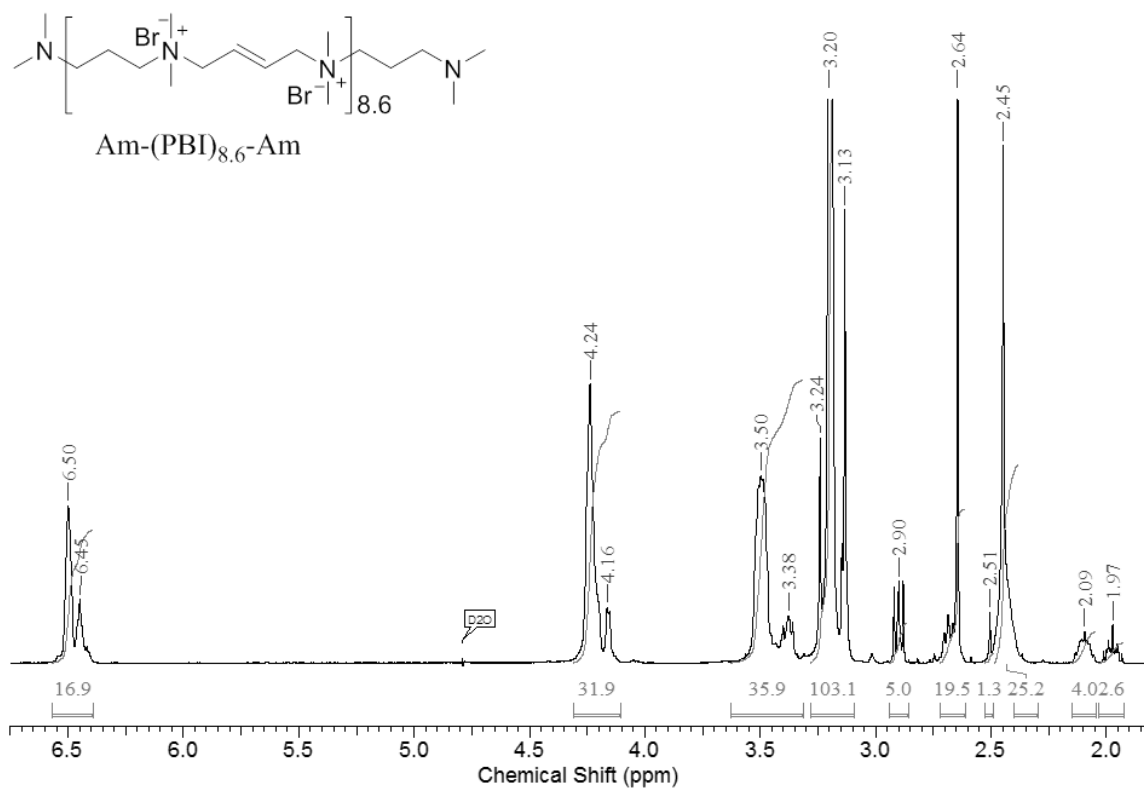


Abbildung 67: <sup>1</sup>H-NMR Spektrum von Am-(PBI)<sub>8.6</sub>-Am. 4. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von TMPDA in D<sub>2</sub>O.



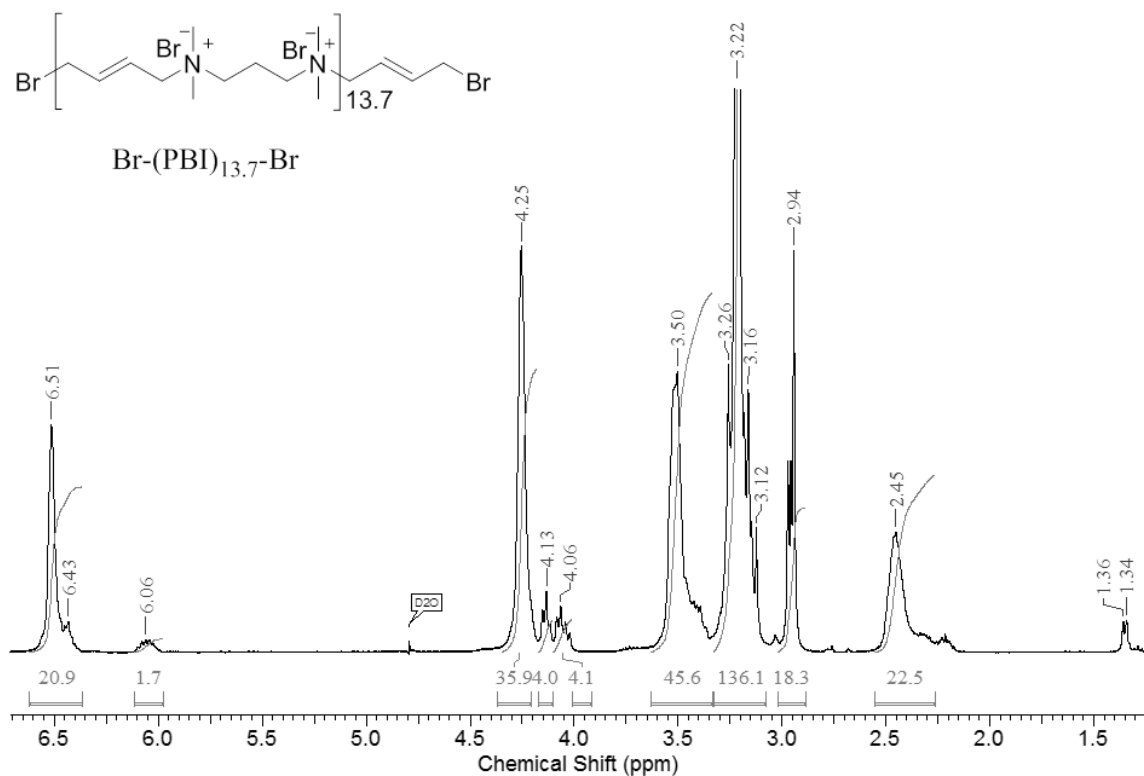


Abbildung 68:  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von  $\text{Br}-(\text{PBI})_{13.7}-\text{Br}$ . 5. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von TMPDA in  $\text{D}_2\text{O}$ .

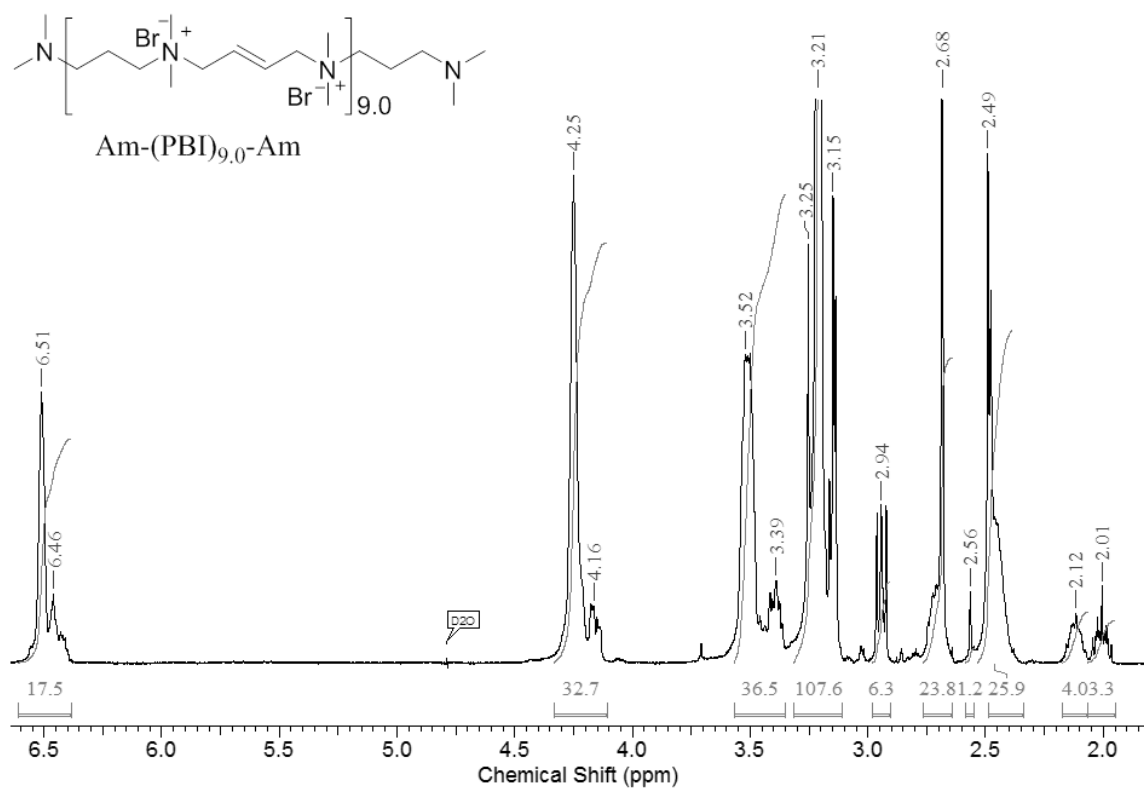


Abbildung 69:  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von  $\text{Am}-(\text{PBI})_{9.0}-\text{Am}$ . 6. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von TMPDA in  $\text{D}_2\text{O}$ .

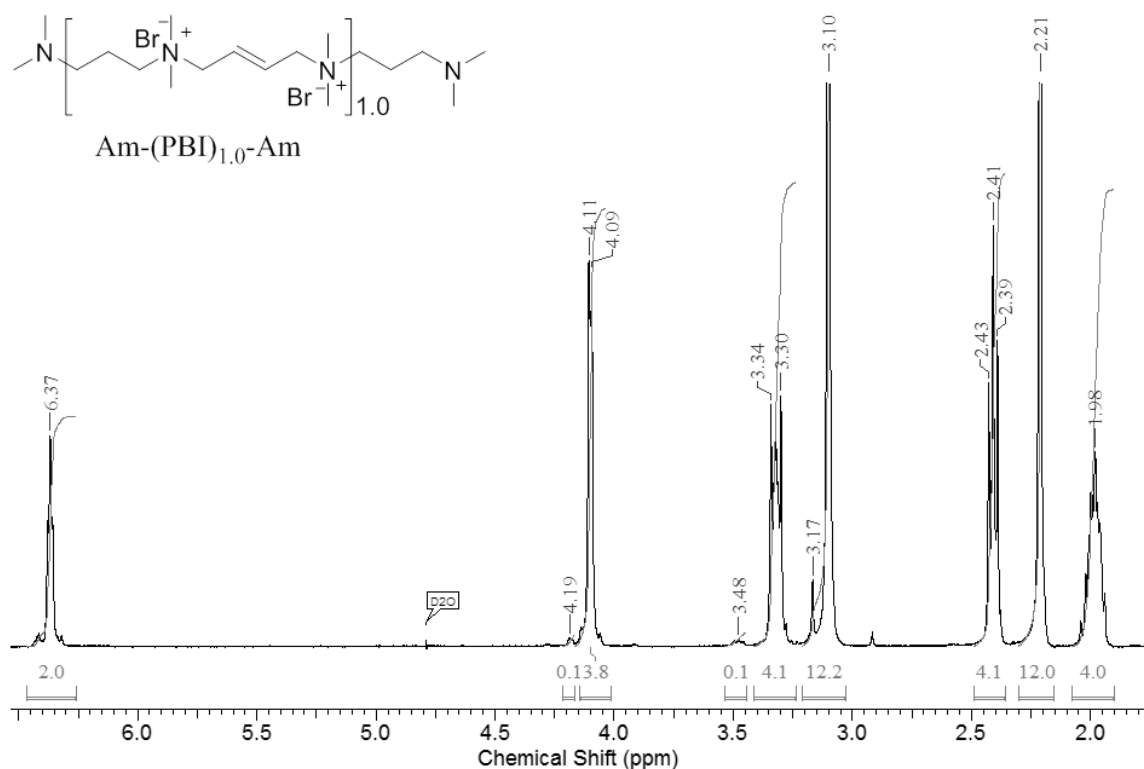


Abbildung 70:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Am-(PBI)}_{1.0}\text{-Am}$ . 1. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$ .

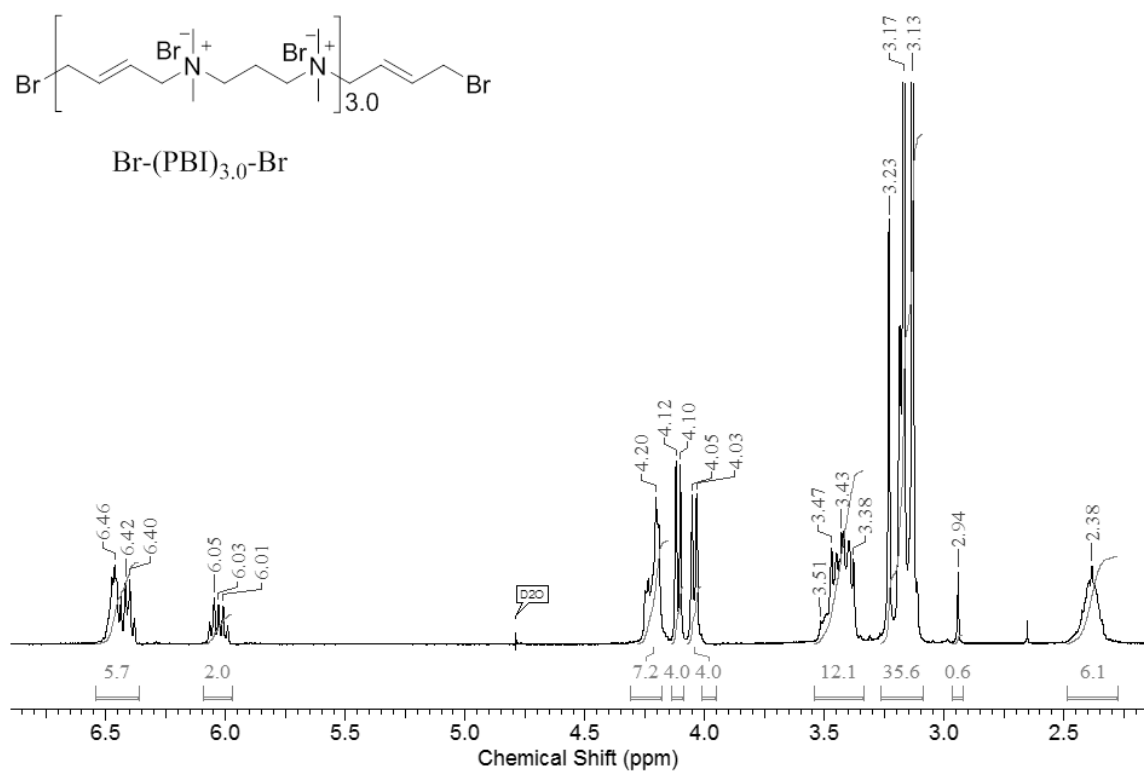


Abbildung 71:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Br-(PBI)}_{3.0}\text{-Br}$ . 2. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$

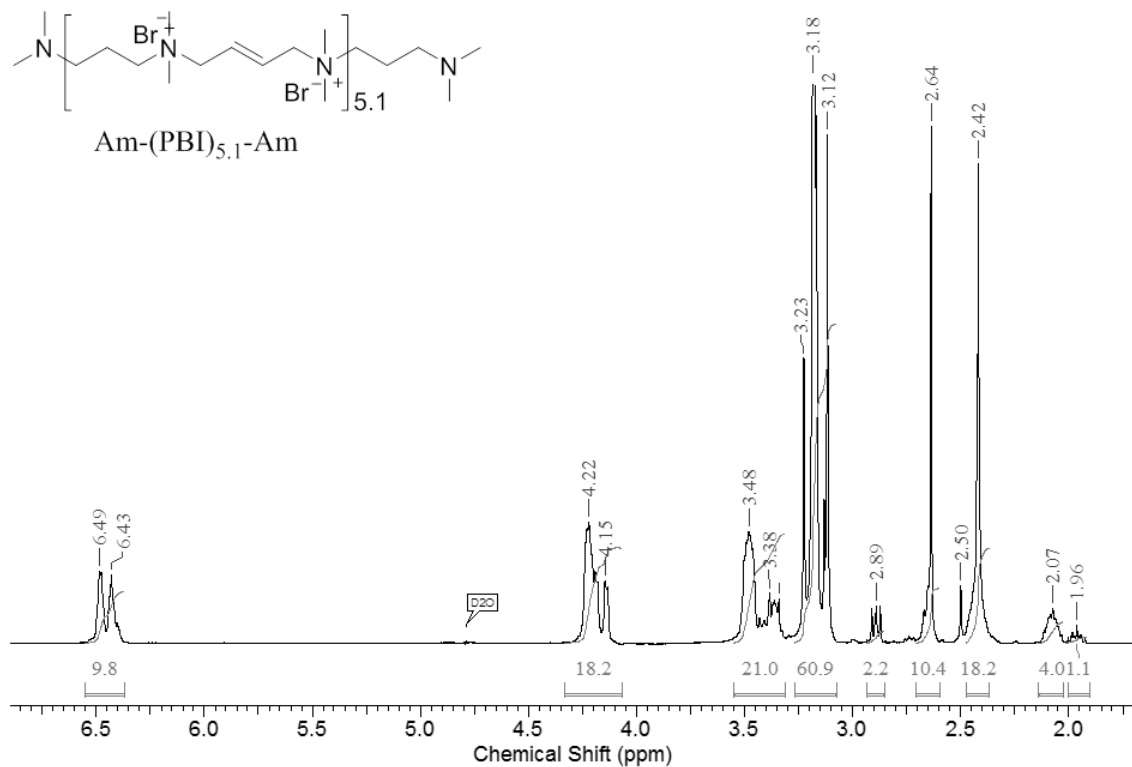


Abbildung 72:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Am-(PBI)}_{5,1}\text{-Am}$ . 3. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$ .

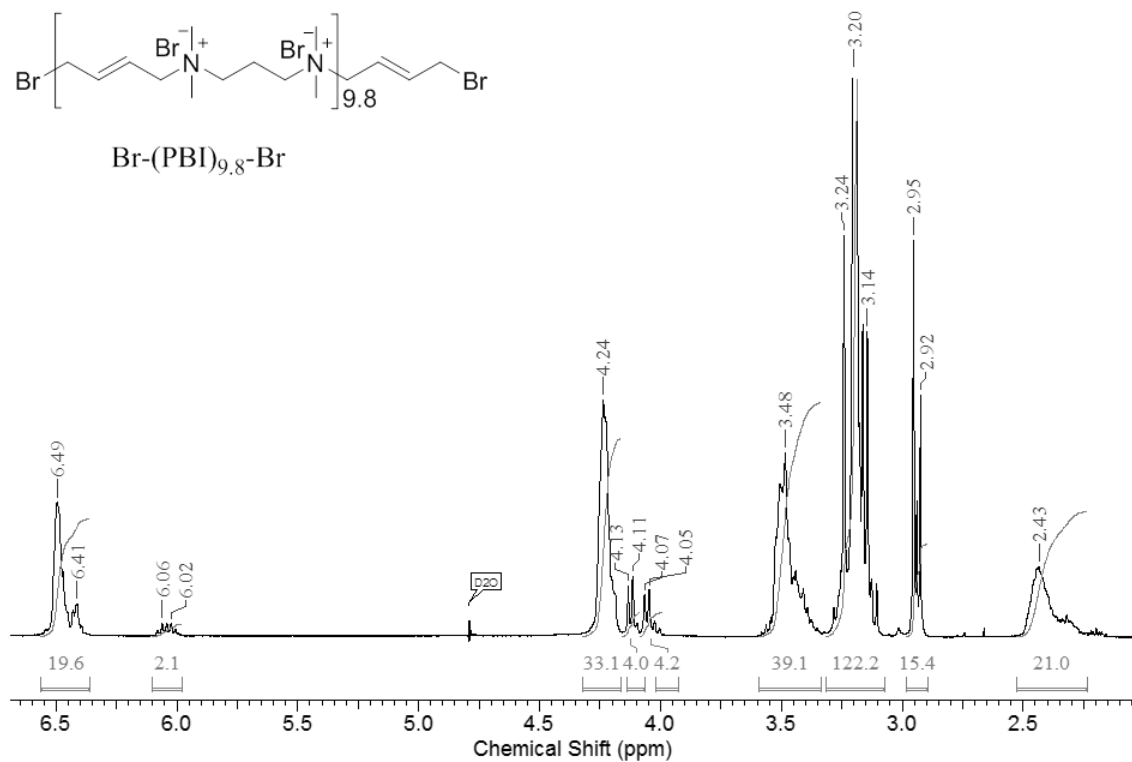


Abbildung 73:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Br-(PBI)}_{9,8}\text{-Br}$ . 4. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$ .

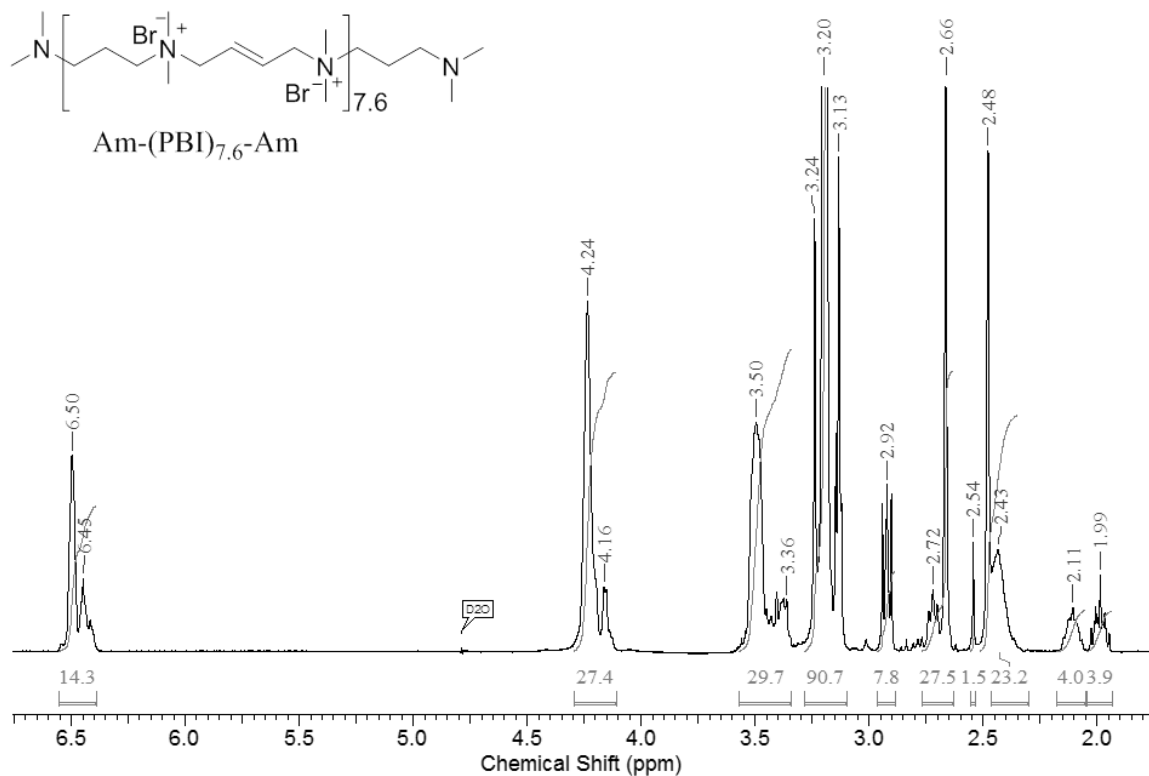


Abbildung 74:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Am-(PBI)}_{7.6}\text{-Am}$ . 5. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$ .

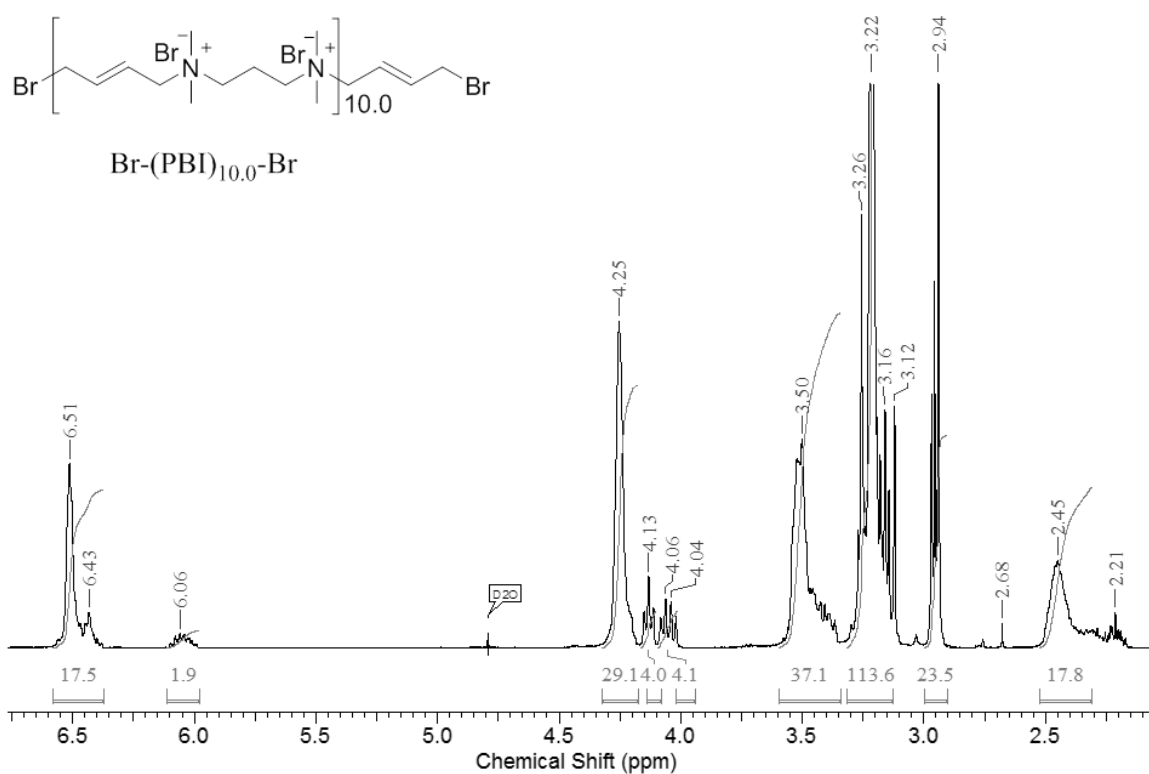


Abbildung 75:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Br-(PBI)}_{10.0}\text{-Br}$ . 6. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$ .

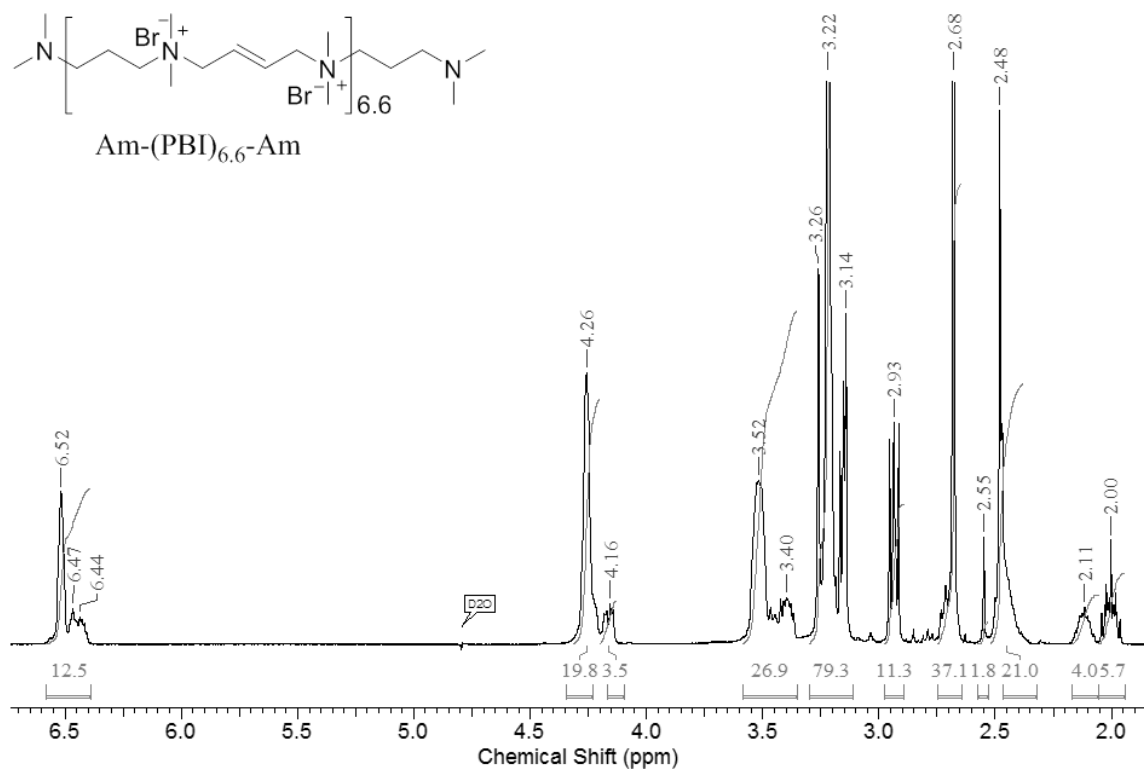


Abbildung 76:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Am-(PBI)}_{6.6}\text{-Am}$ . 7. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$ .

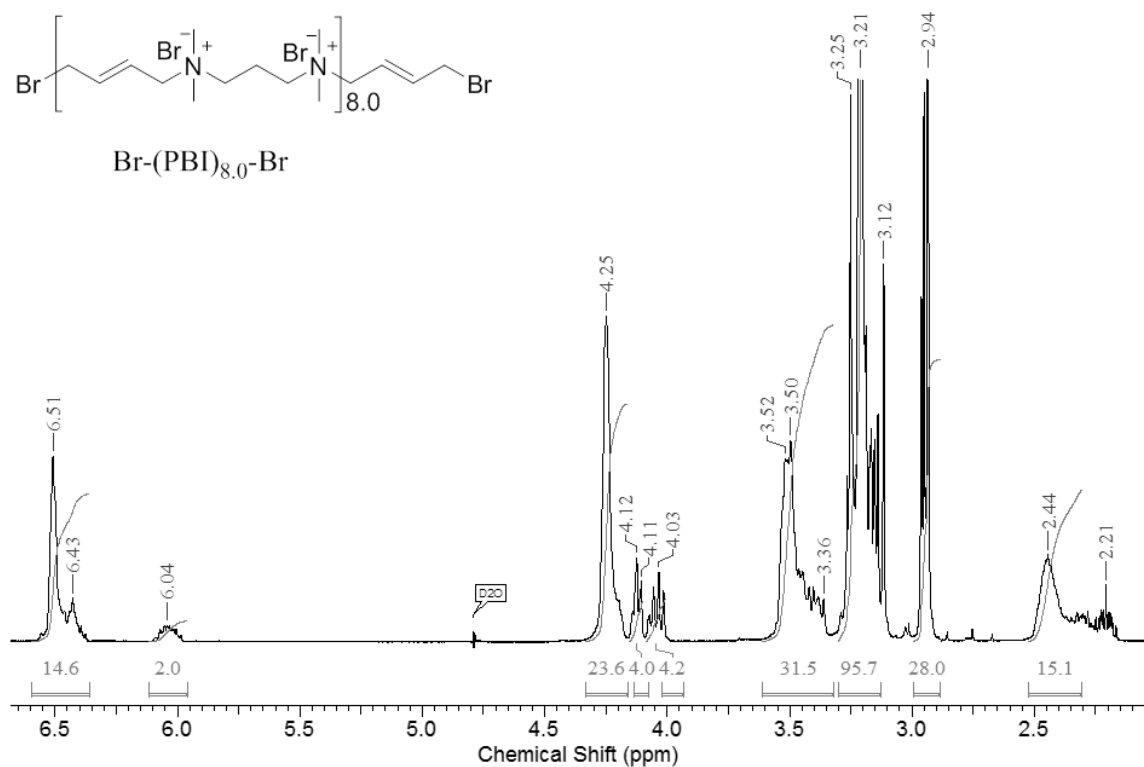


Abbildung 77:  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von  $\text{Br-(PBI)}_{8.0}\text{-Br}$ . 8. Synthesestufe der beidseitigen Monomeraddition ausgehend von DBB in  $\text{D}_2\text{O}$ .

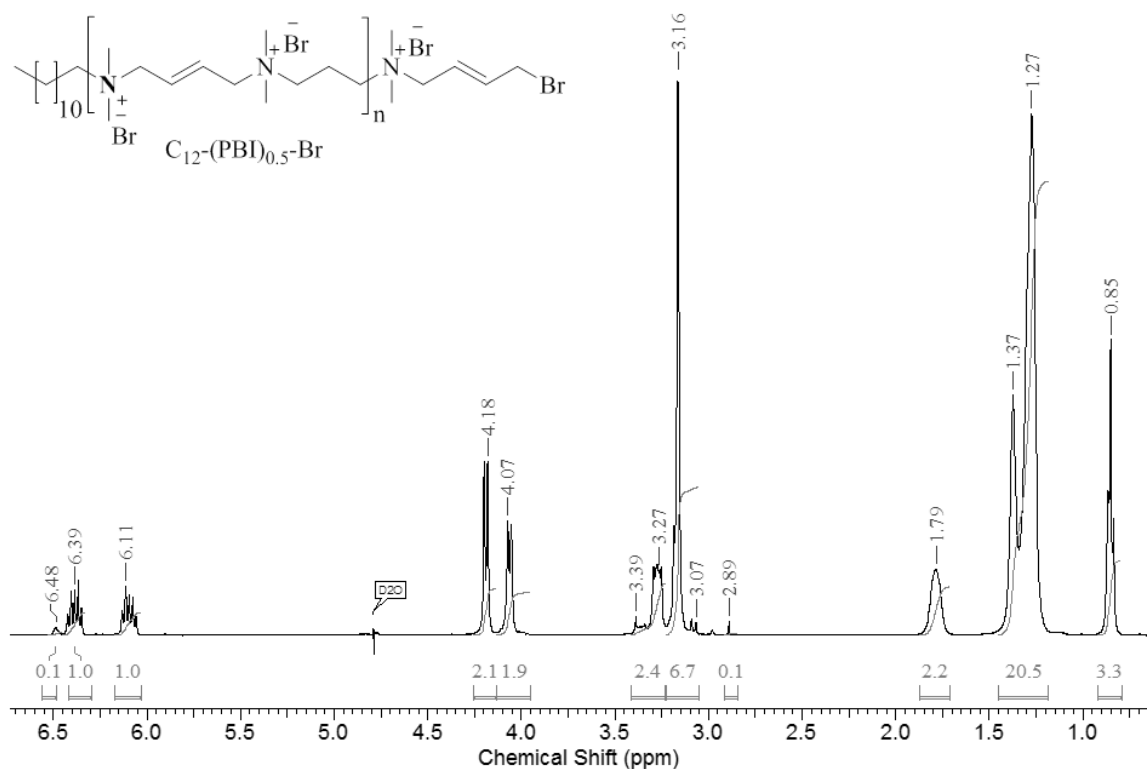


Abbildung 78:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{0.5}-Br$ . 1. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

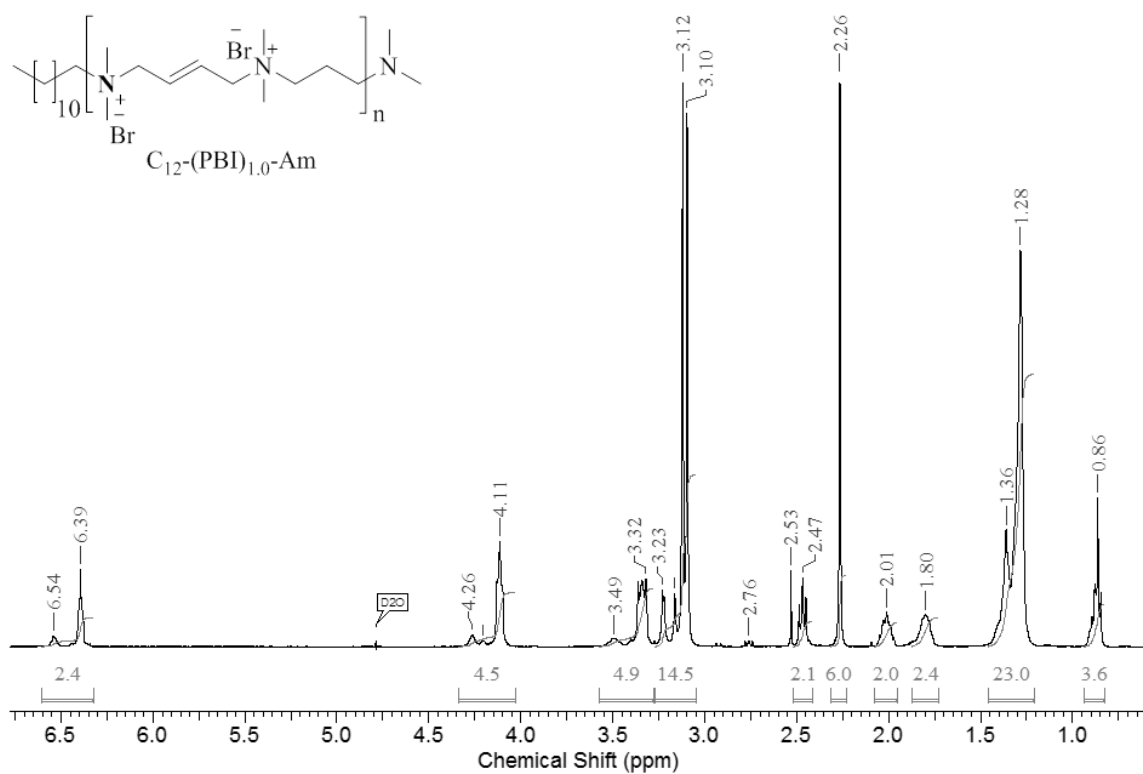


Abbildung 79:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{1.0}-Am$ . 2. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

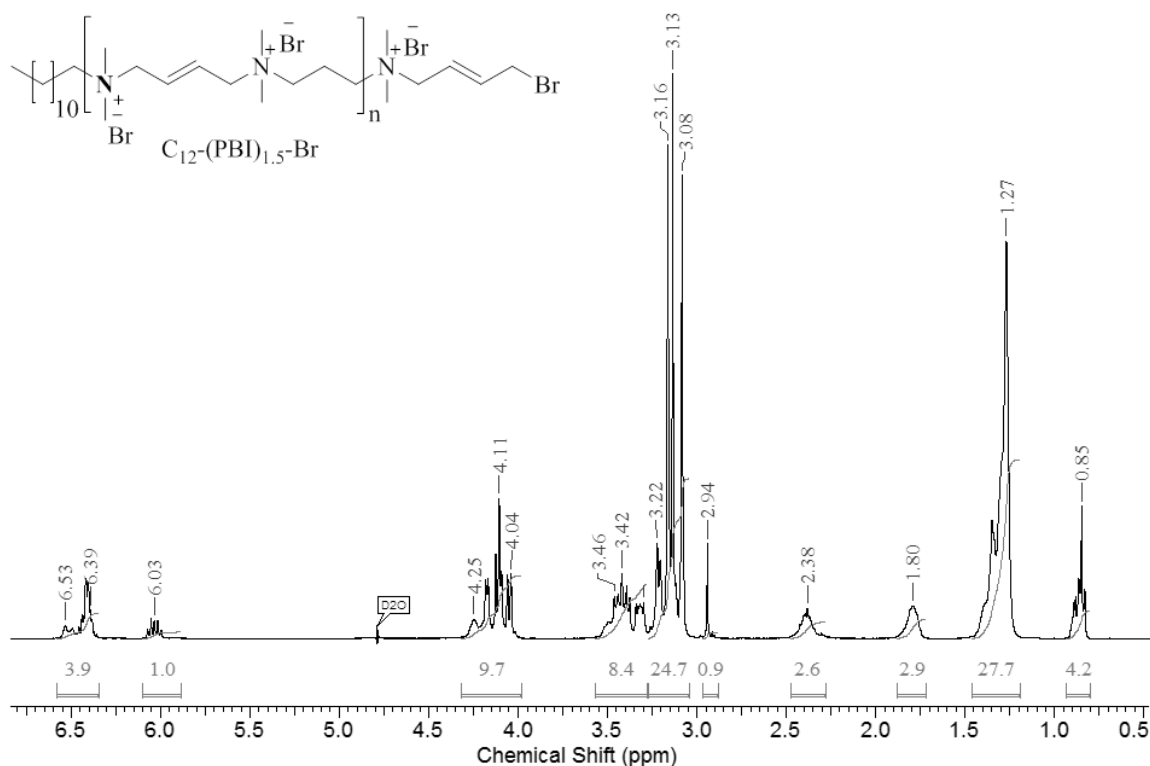


Abbildung 80:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{1.5}-Br$ . 3. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

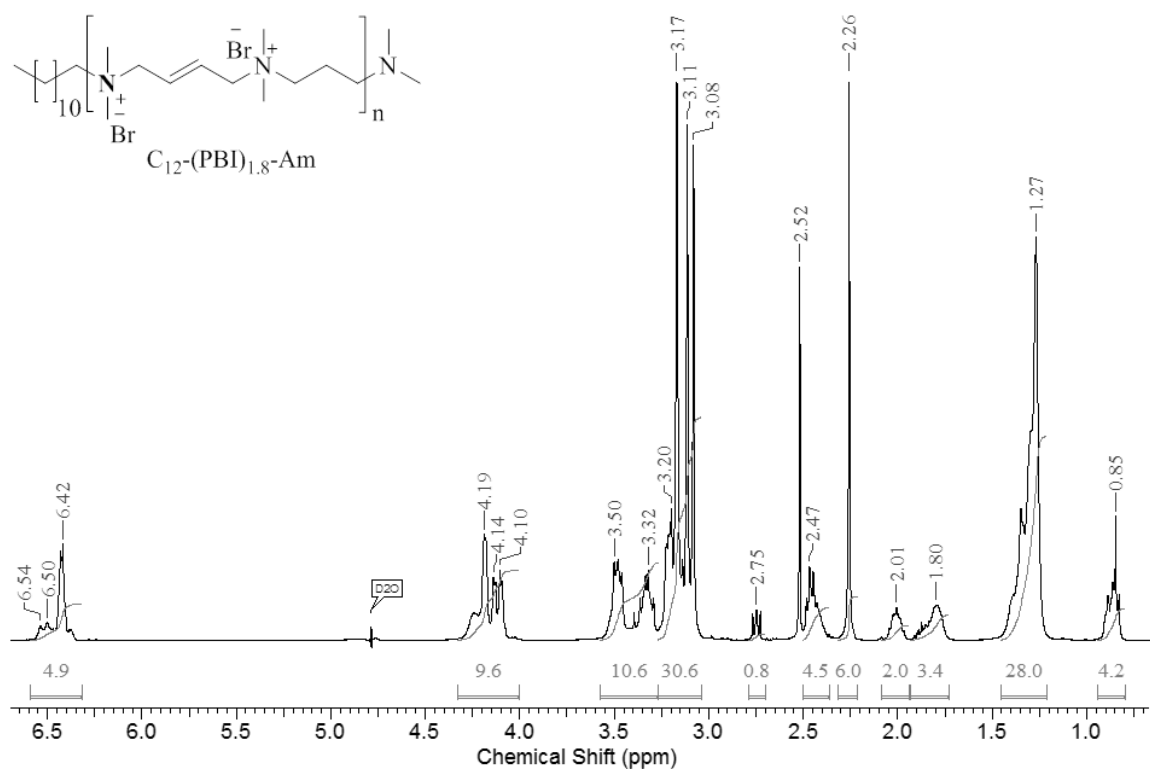


Abbildung 81:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{1.8}-Am$ . 4. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

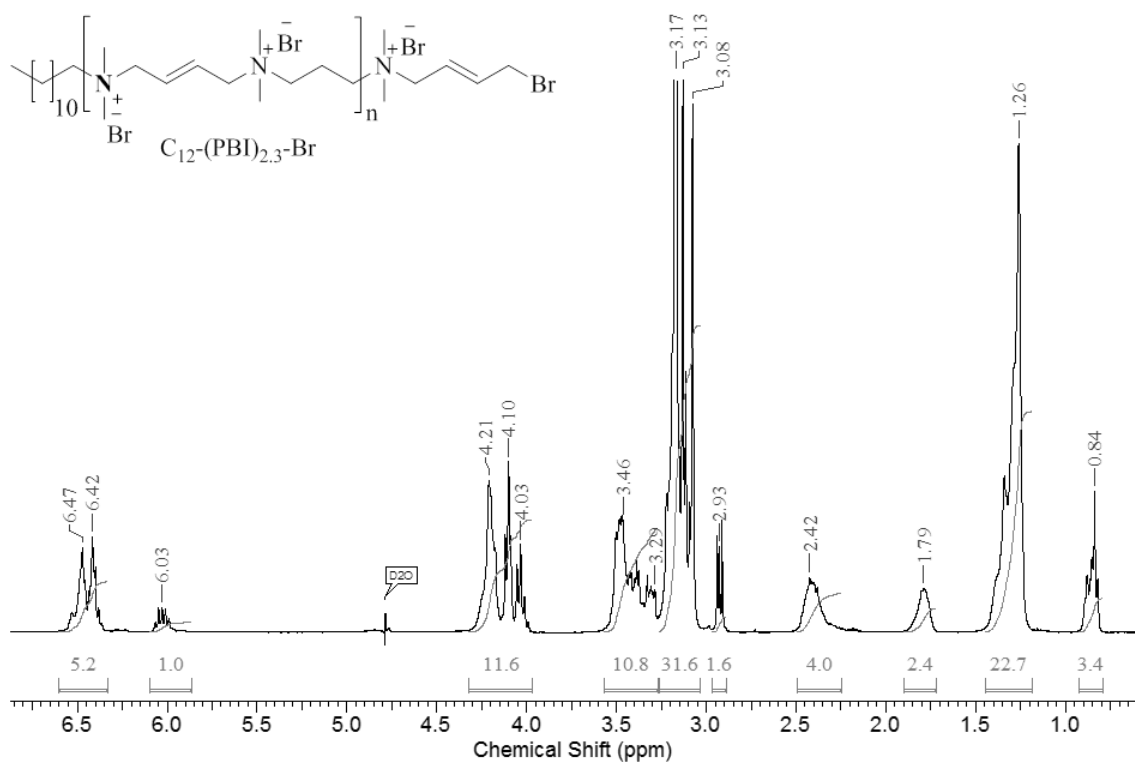


Abbildung 82:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{2,3}-Br$ . 5. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

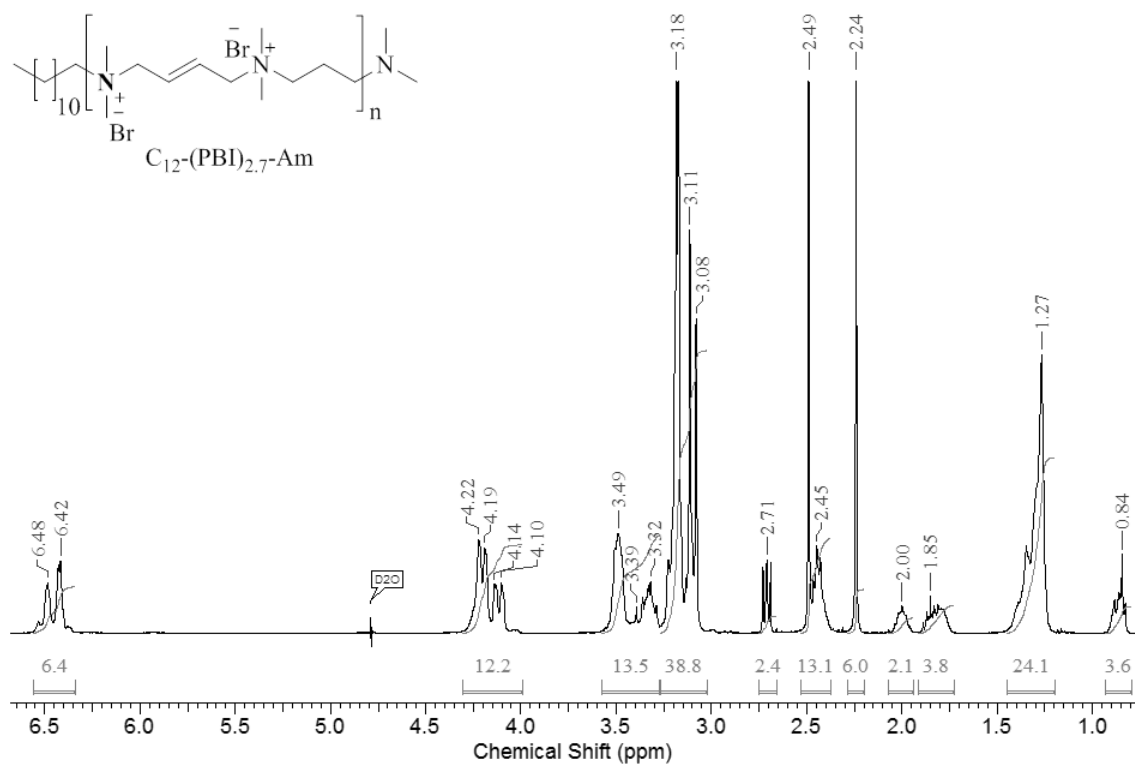


Abbildung 83:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{2,7}-Am$ . 6. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.



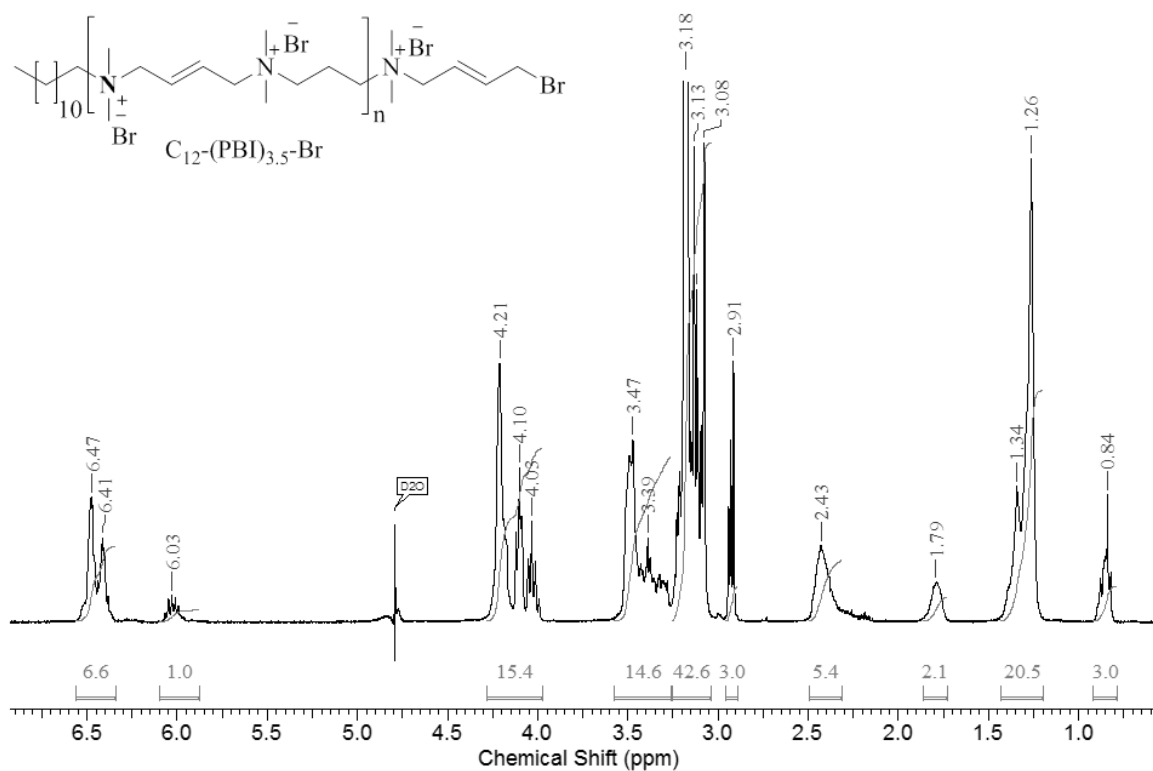


Abbildung 84:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{3.5}-Br$ . 7. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

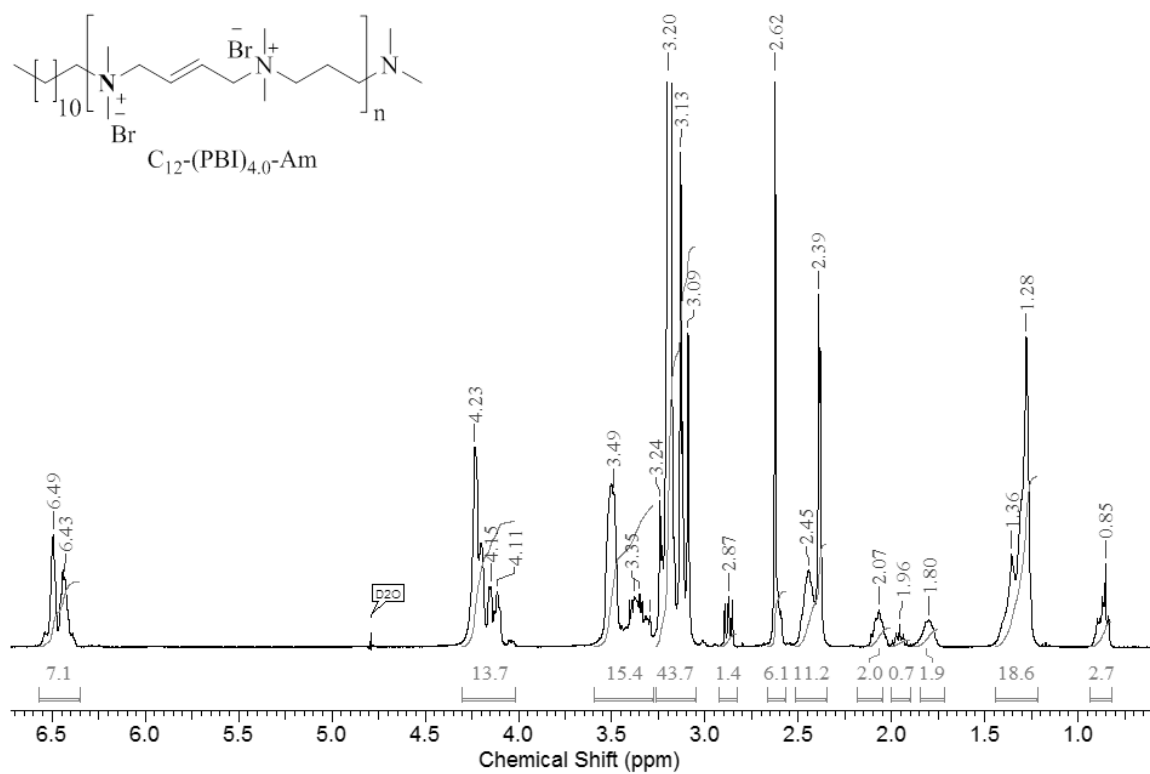


Abbildung 85:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{4.0}-Am$ . 8. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

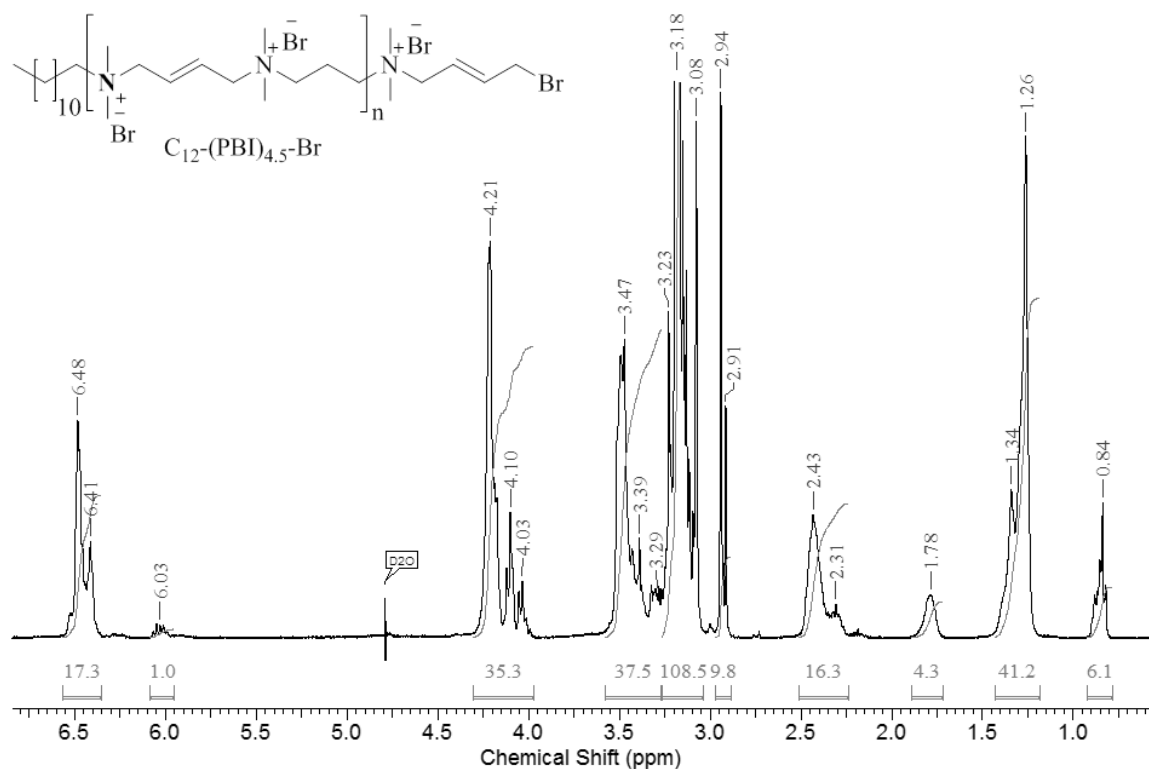


Abbildung 86:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{4.5}-Br$ . 9. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

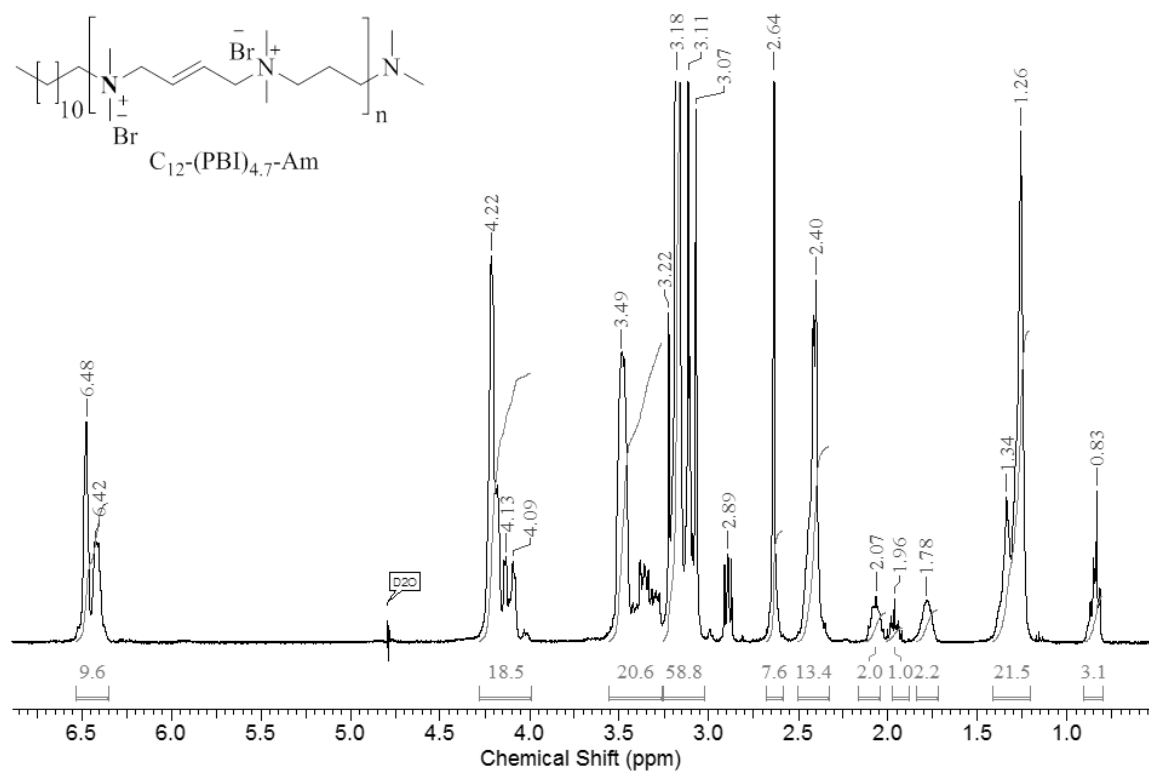


Abbildung 87:  $^1H$ -NMR Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{4.7}-Am$ . 10. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

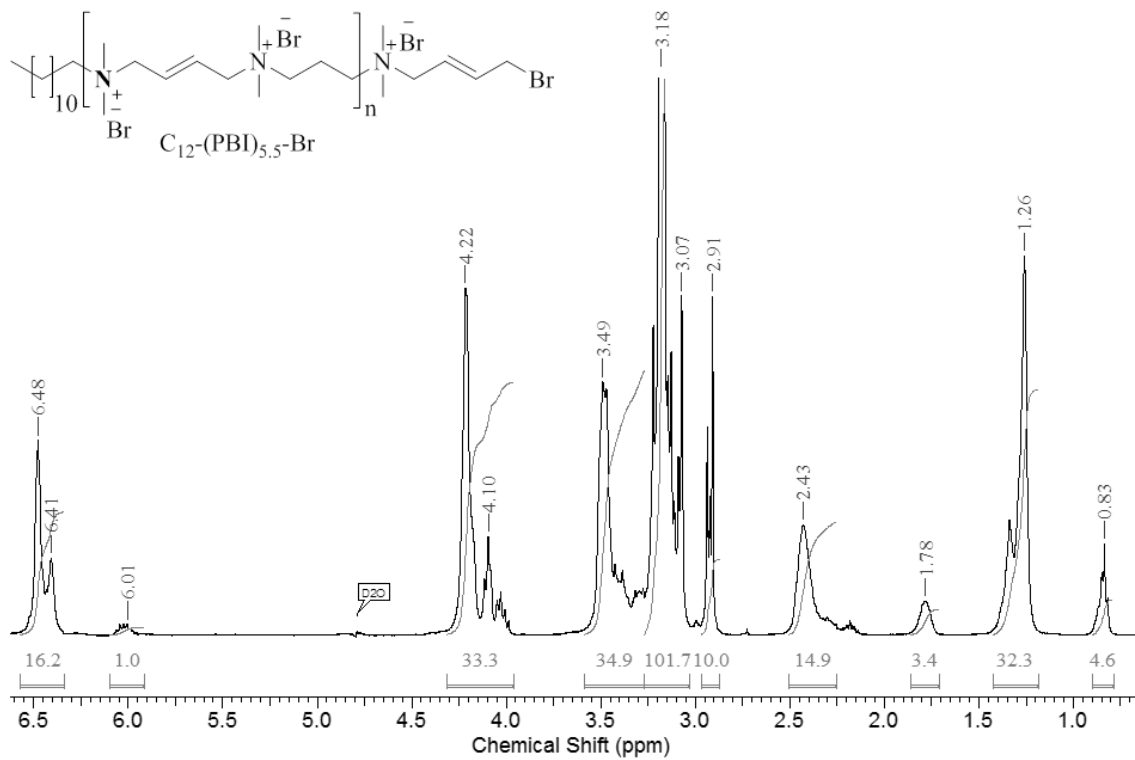


Abbildung 88:  $^1H-NMR$  Spektrum in  $D_2O$  von  $C_{12}-(PBI)_{5,5}-Br$ . 11. Synthesestufe der einseitigen Monomeraddition ausgehend von DDA.

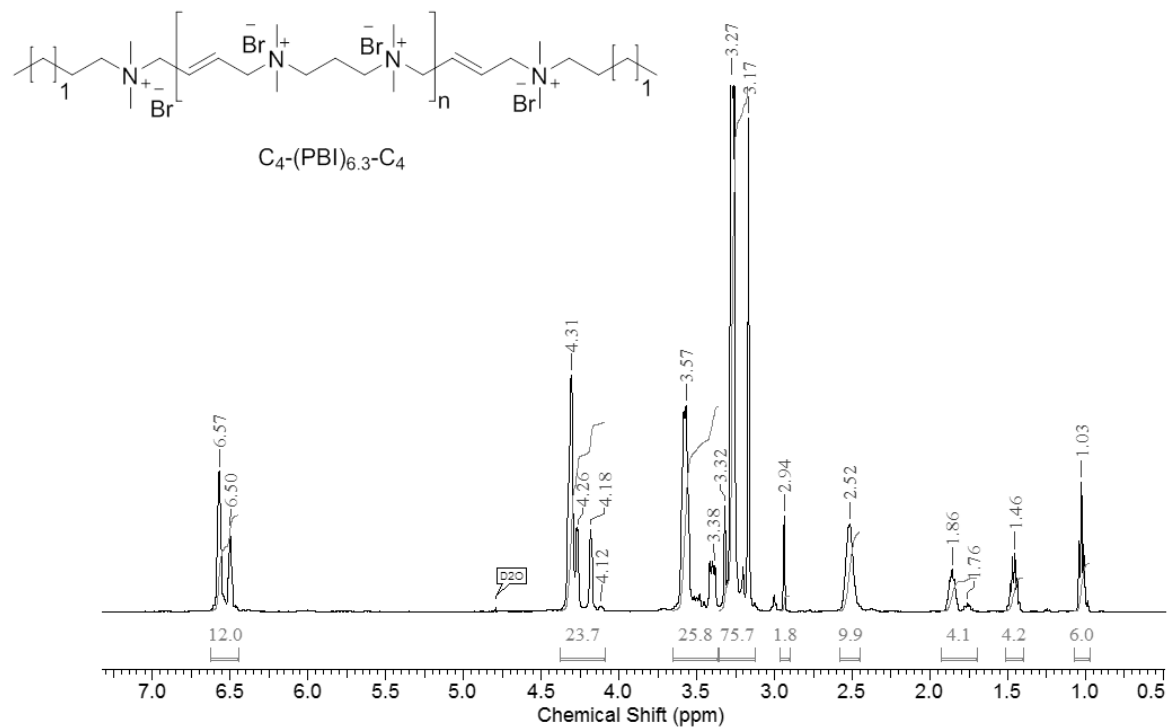


Abbildung 89:  $^1H$ -NMR Spektrum von  $C_4-(PBI)_{6,3}-C_4$  nach beidseitiger Modifizierung von  $Br-(PBI)_{6,0}-Br$  mit  $N,N$ -Dimethylbutylamin in  $D_2O$ .

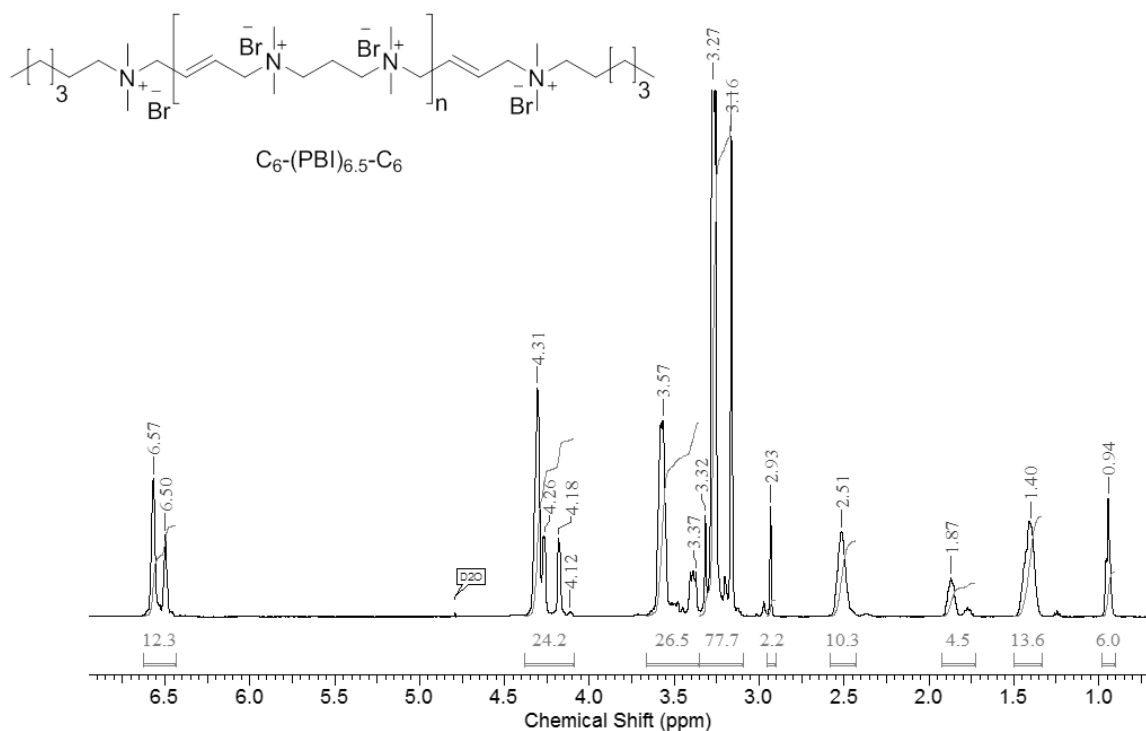


Abbildung 90:  $^1H$ -NMR Spektrum von  $C_6-(PBI)_{6,5}-C_6$  nach beidseitiger Modifizierung von  $Br-(PBI)_{6,0}-Br$  mit  $N,N$ -Dimethylhexylamin in  $D_2O$ .

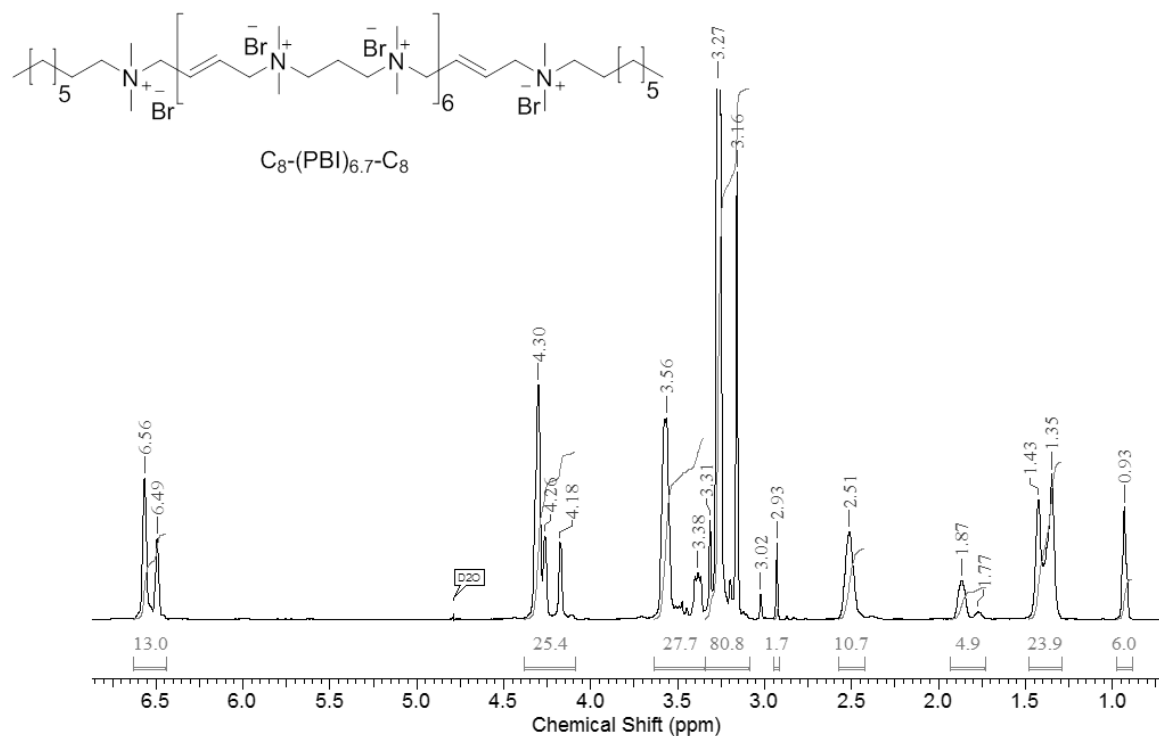


Abbildung 91:  $^1H$ -NMR Spektrum von  $C_8-(PBI)_{6.7}-C_8$  nach beidseitiger Modifizierung von  $Br-(PBI)_{6.0}-Br$  mit  $N,N$ -Dimethyloctylamin in  $D_2O$ .

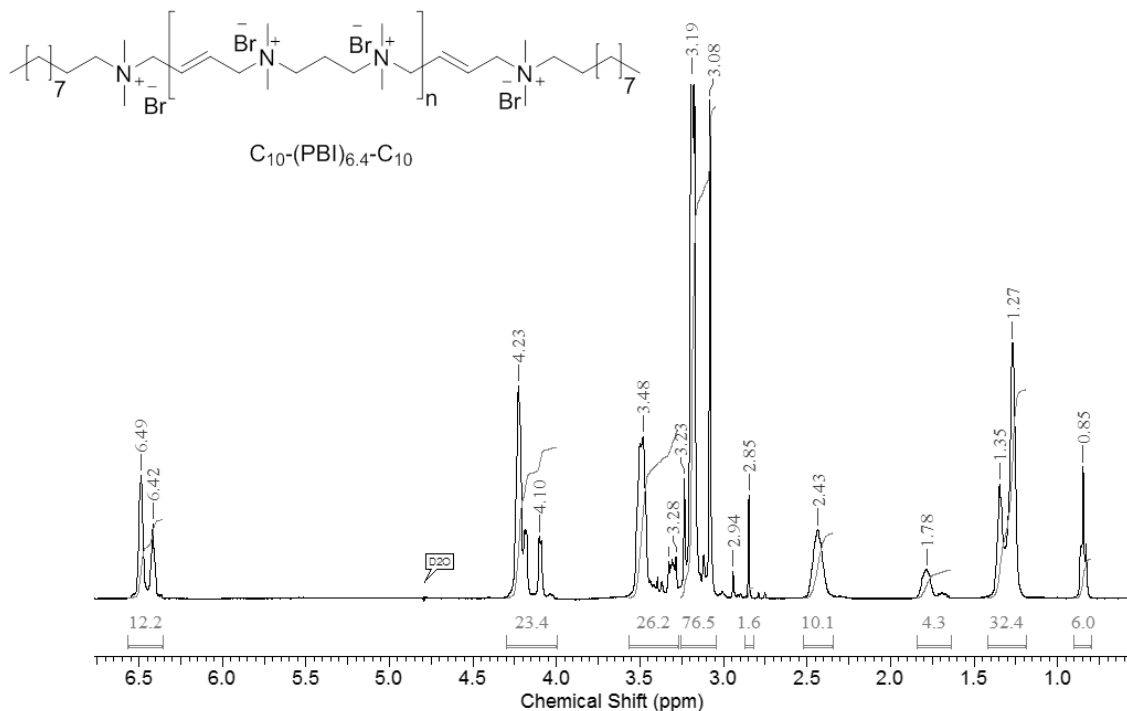


Abbildung 92:  $^1H$ -NMR Spektrum von  $C_{10}-(PBI)_{6.4}-C_{10}$  nach beidseitiger Modifizierung von  $Br-(PBI)_{6.0}-Br$  mit  $N,N$ -Dimethyldeylamin in  $D_2O$ .

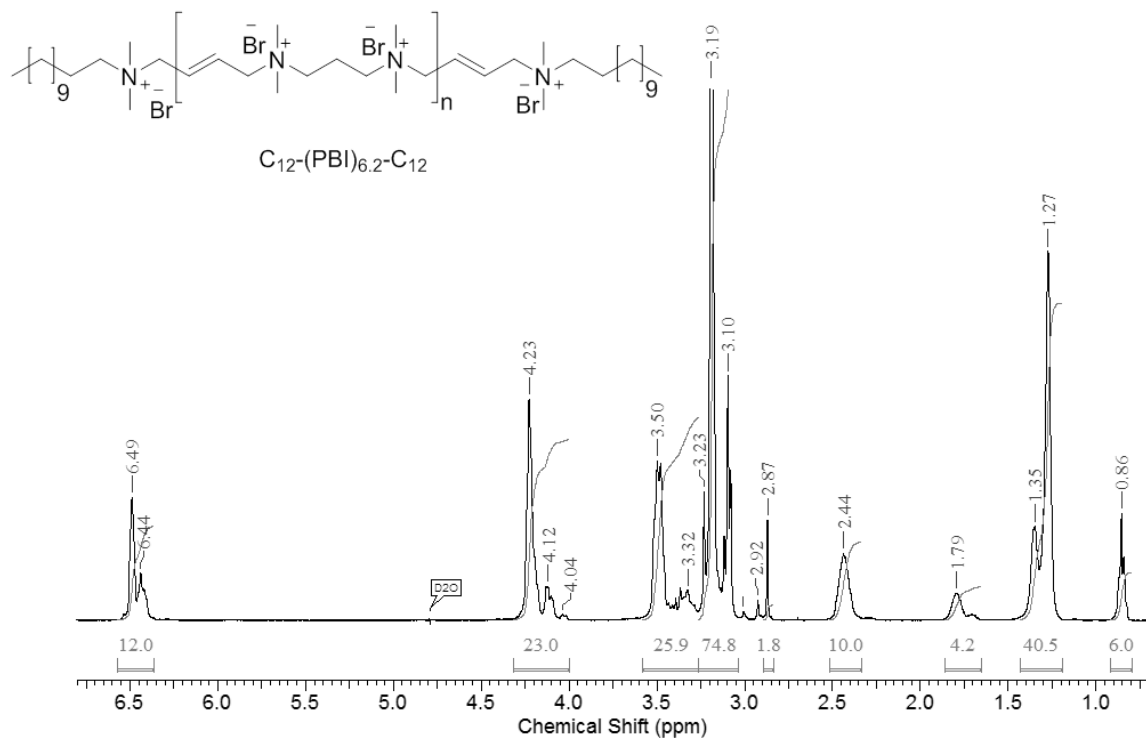


Abbildung 93:  $^1H$ -NMR Spektrum von  $C_{12}-(PBI)_{6.2}-C_{12}$  nach beidseitiger Modifizierung von  $Br-(PBI)_{6.0}-Br$  mit  $N,N$ -Dimethyldodecylamin in  $D_2O$ .

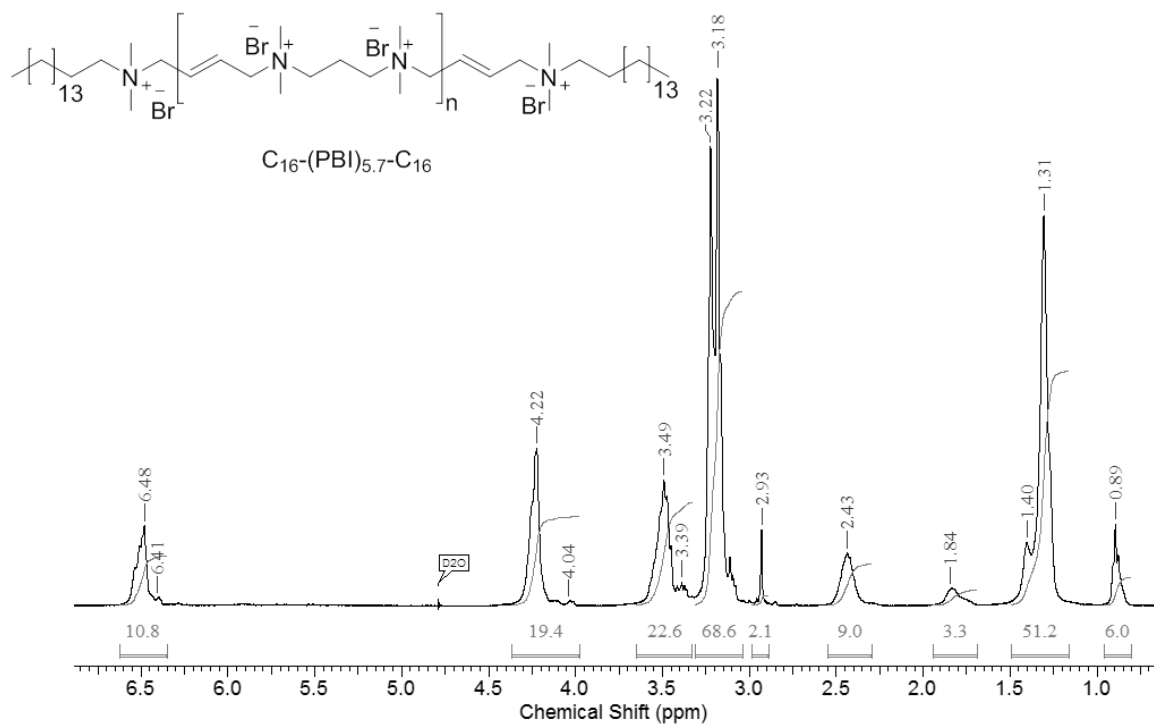
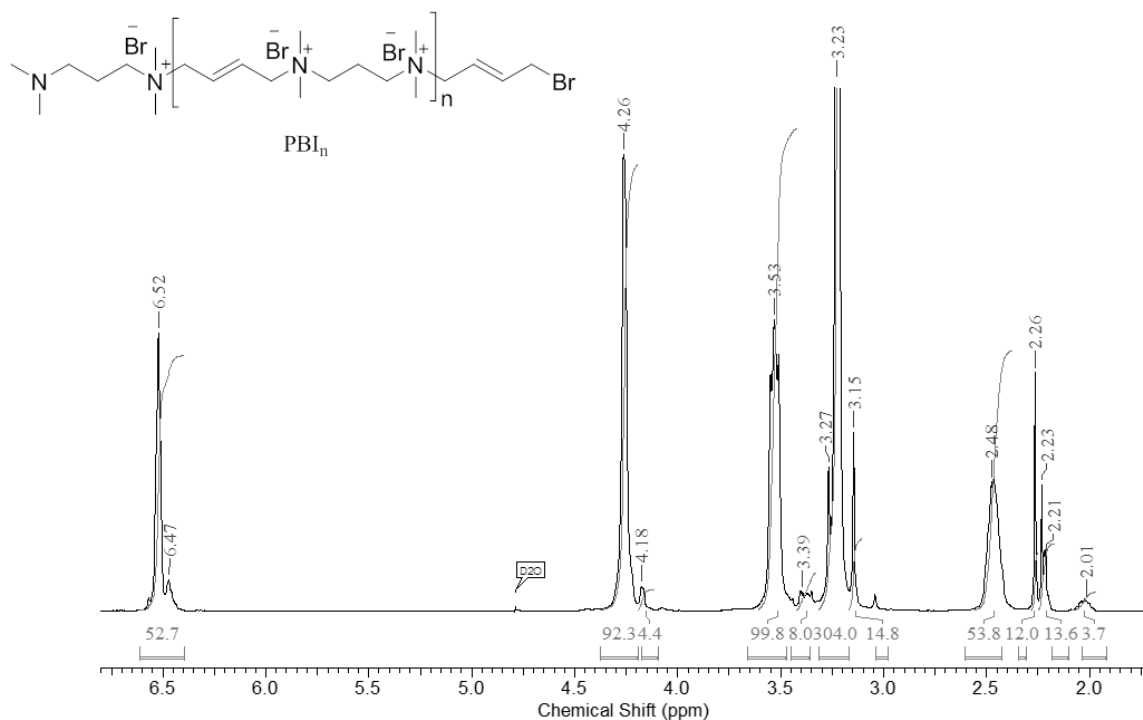
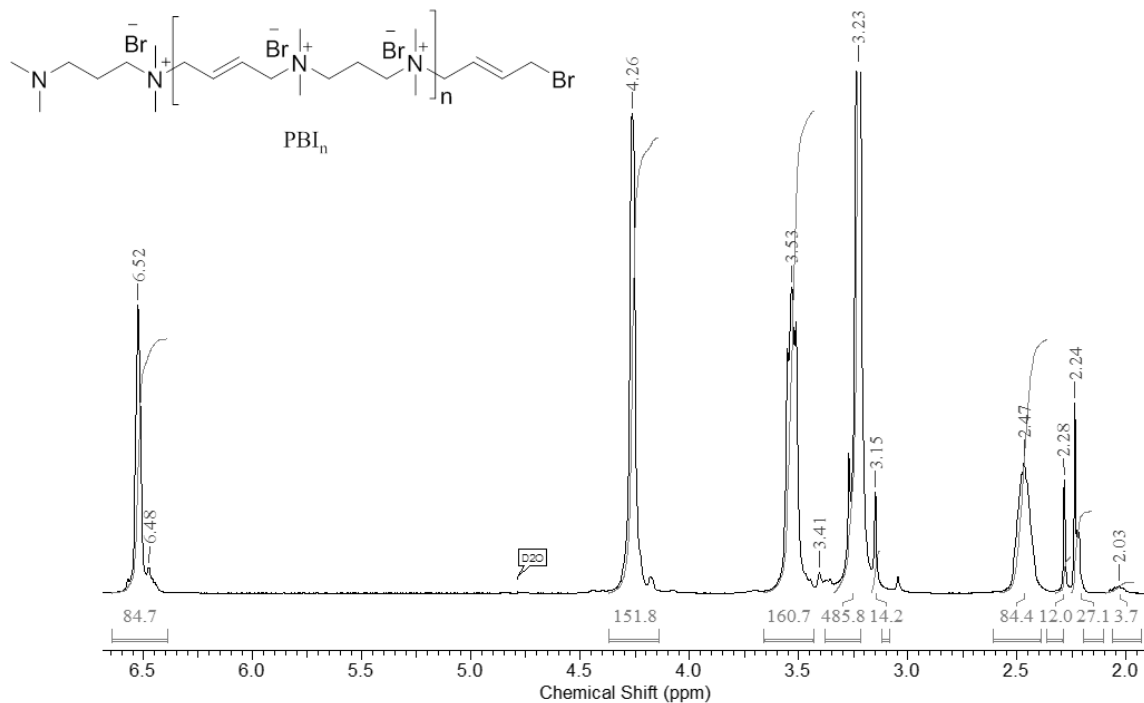


Abbildung 94:  $^1H$ -NMR Spektrum von  $C_{16}-(PBI)_{5.7}-C_{16}$  nach beidseitiger Modifizierung von  $Br-(PBI)_{6.0}-Br$  mit  $N,N$ -Dimethylhexadecylamin in  $D_2O$ .

9.2.2  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von 3,4en-Iononen durch PolyadditionAbbildung 95:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von PBI-2 in  $\text{D}_2\text{O}$ .Abbildung 96:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von PBI-3 in  $\text{D}_2\text{O}$ .

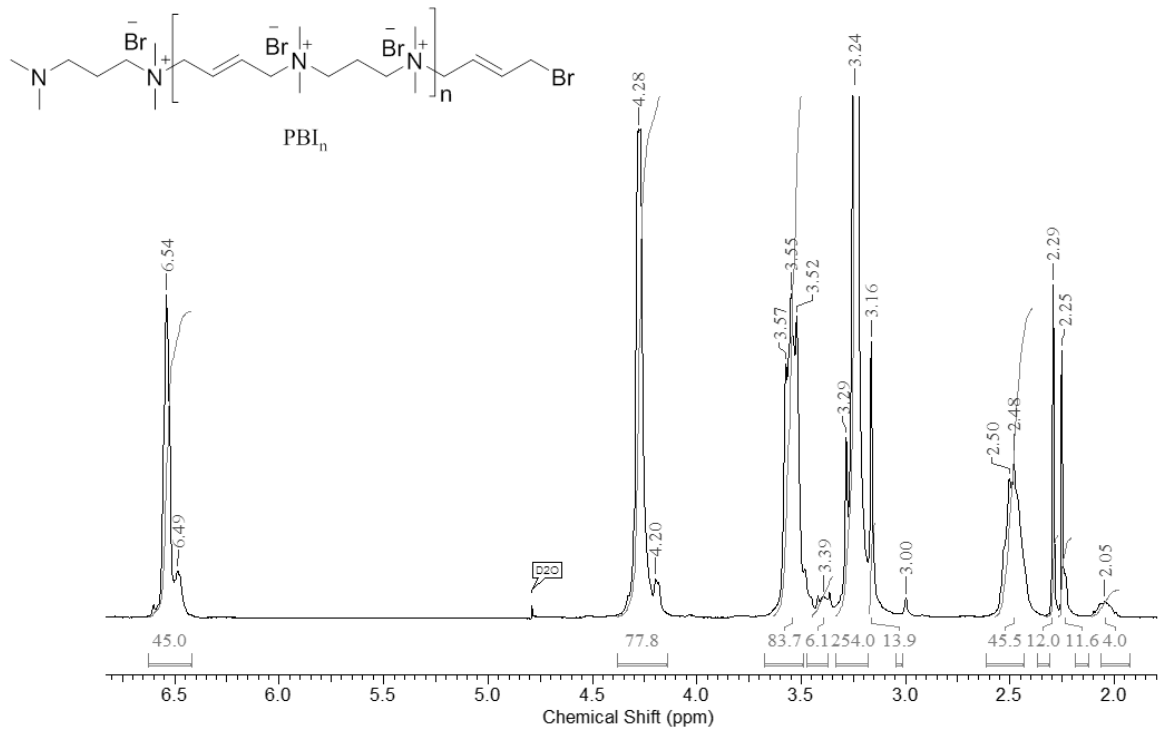


Abbildung 97: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von PBI-4 in D<sub>2</sub>O.

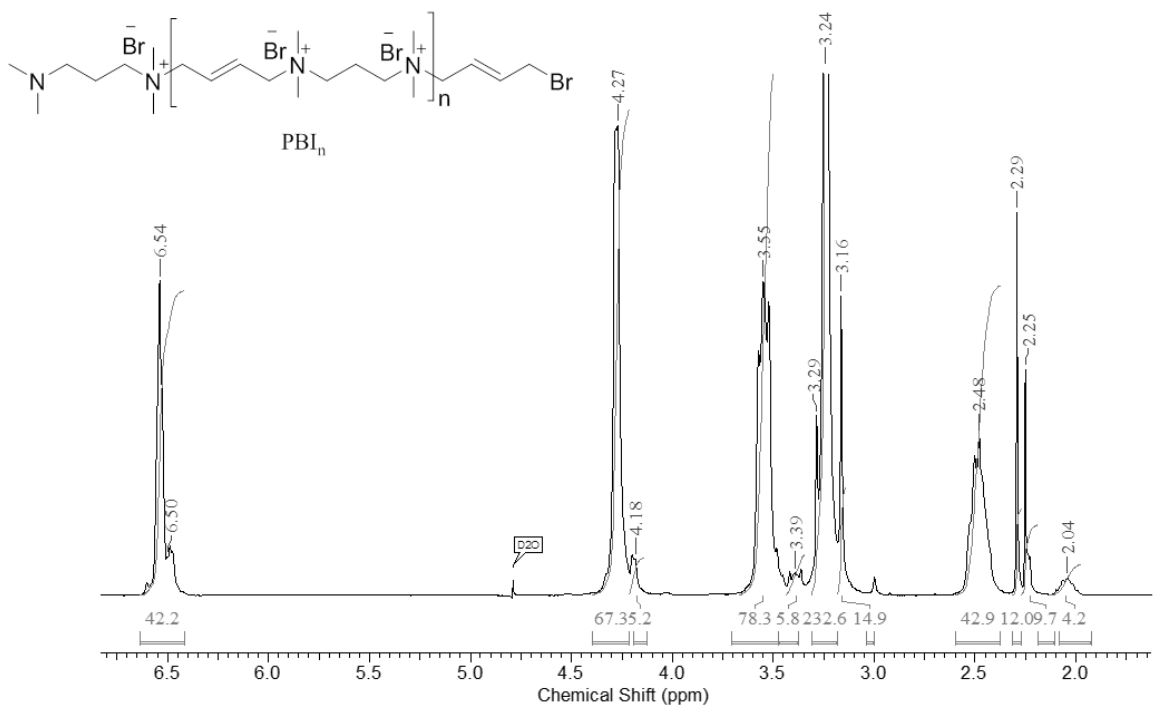


Abbildung 98: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von PBI-5 in D<sub>2</sub>O.



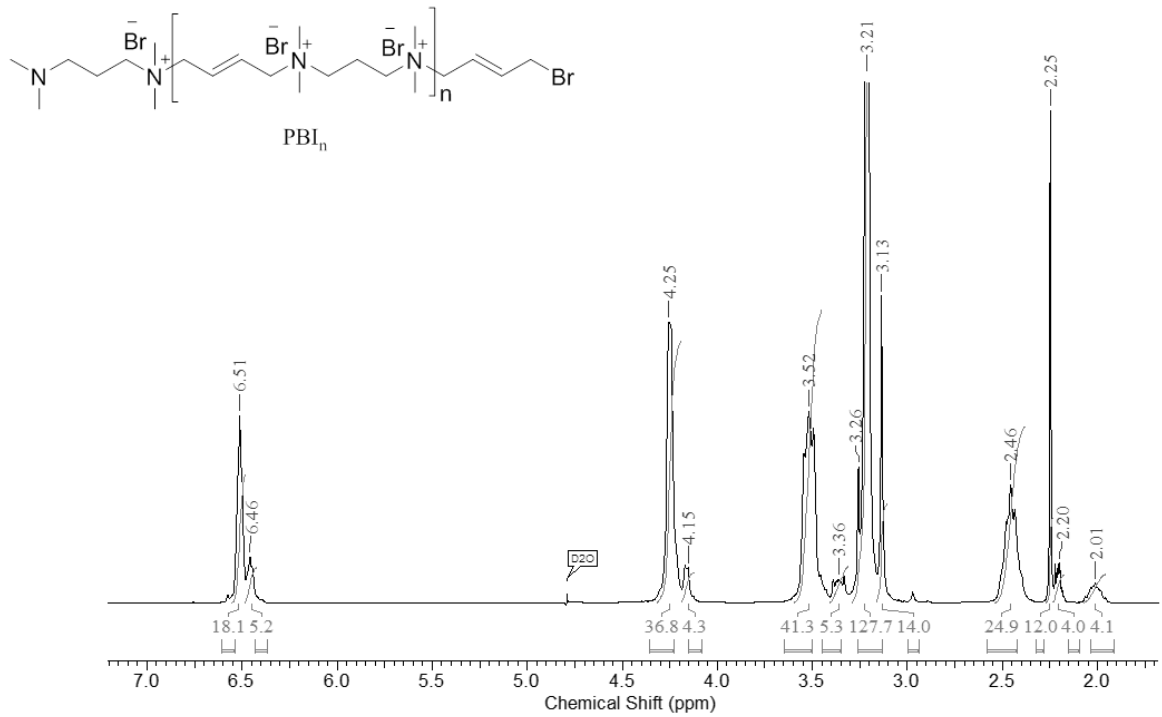


Abbildung 99: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von PBI-6 in D<sub>2</sub>O.

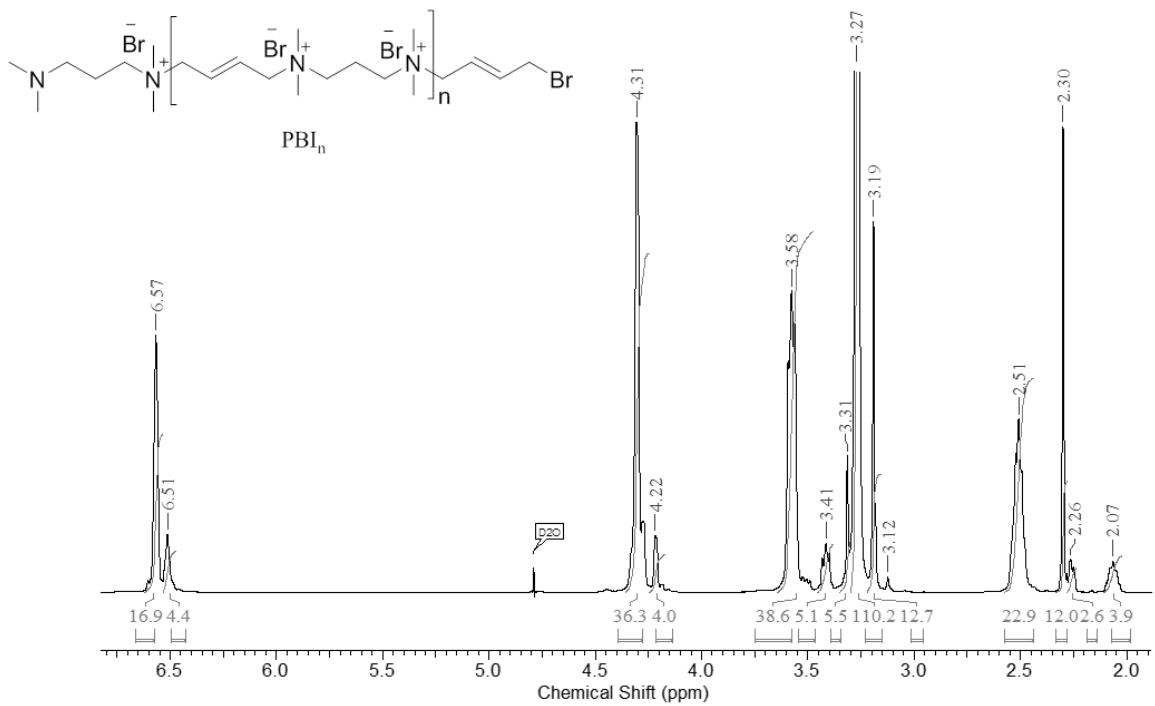


Abbildung 100: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von PBI-7 in D<sub>2</sub>O.

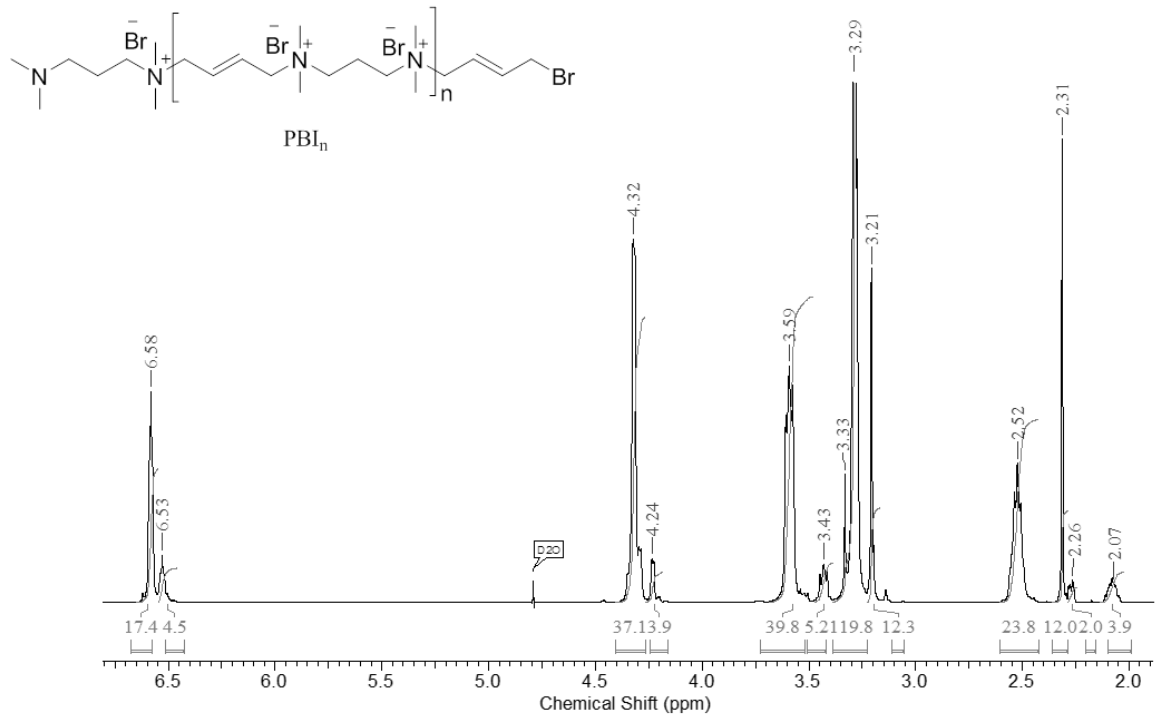


Abbildung 101: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von PBI-8 in D<sub>2</sub>O.

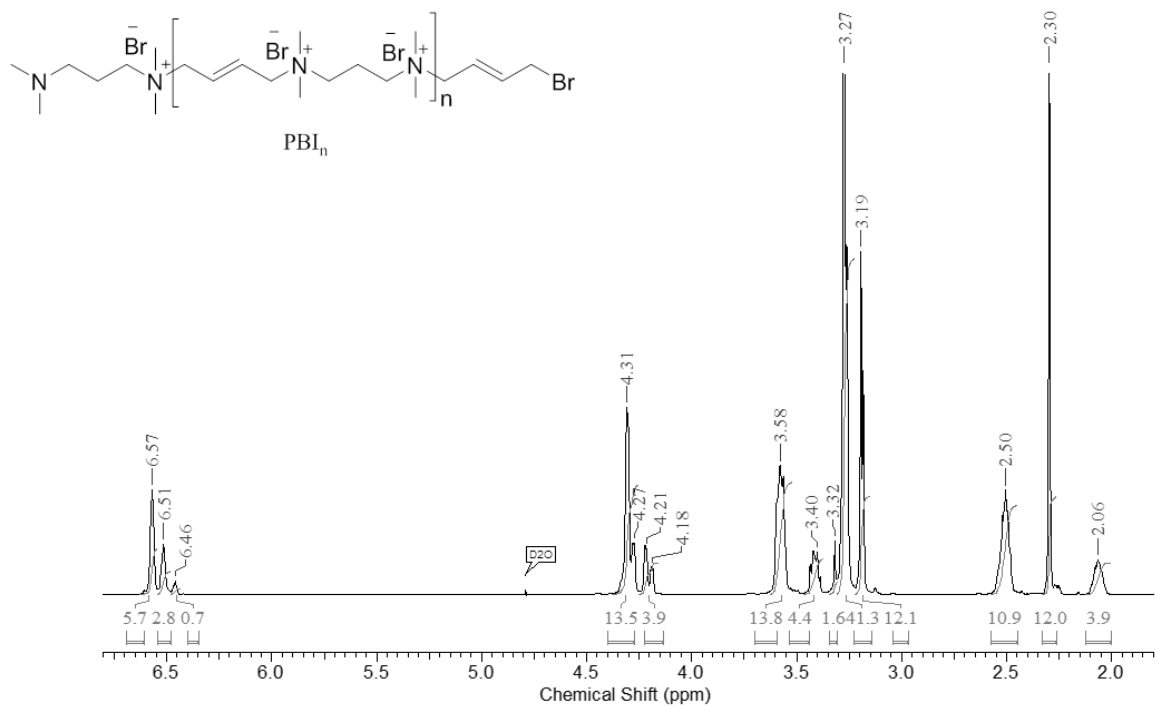
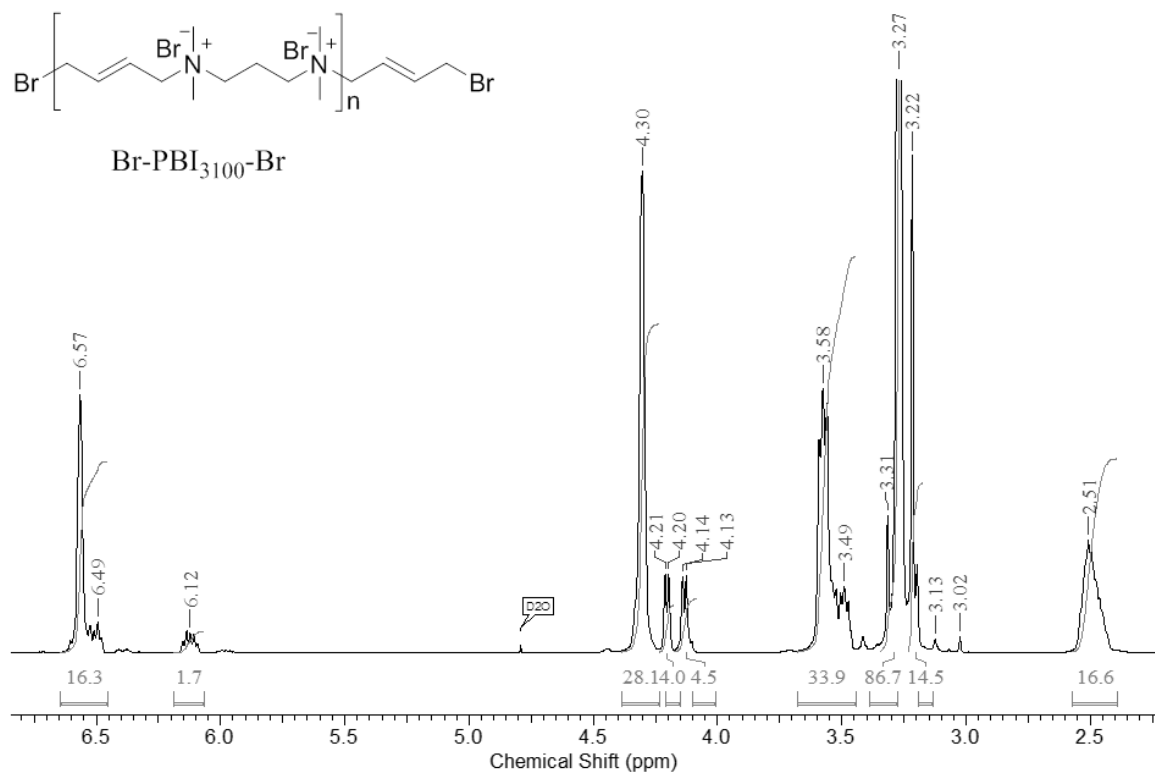
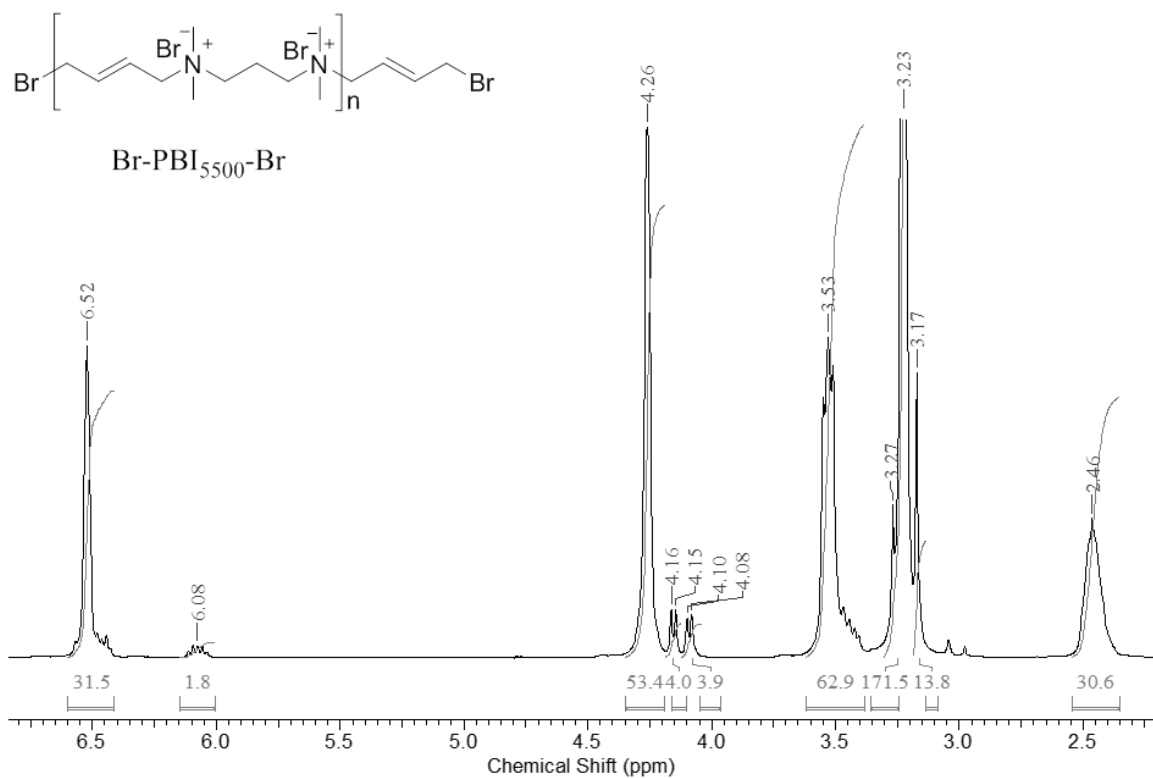
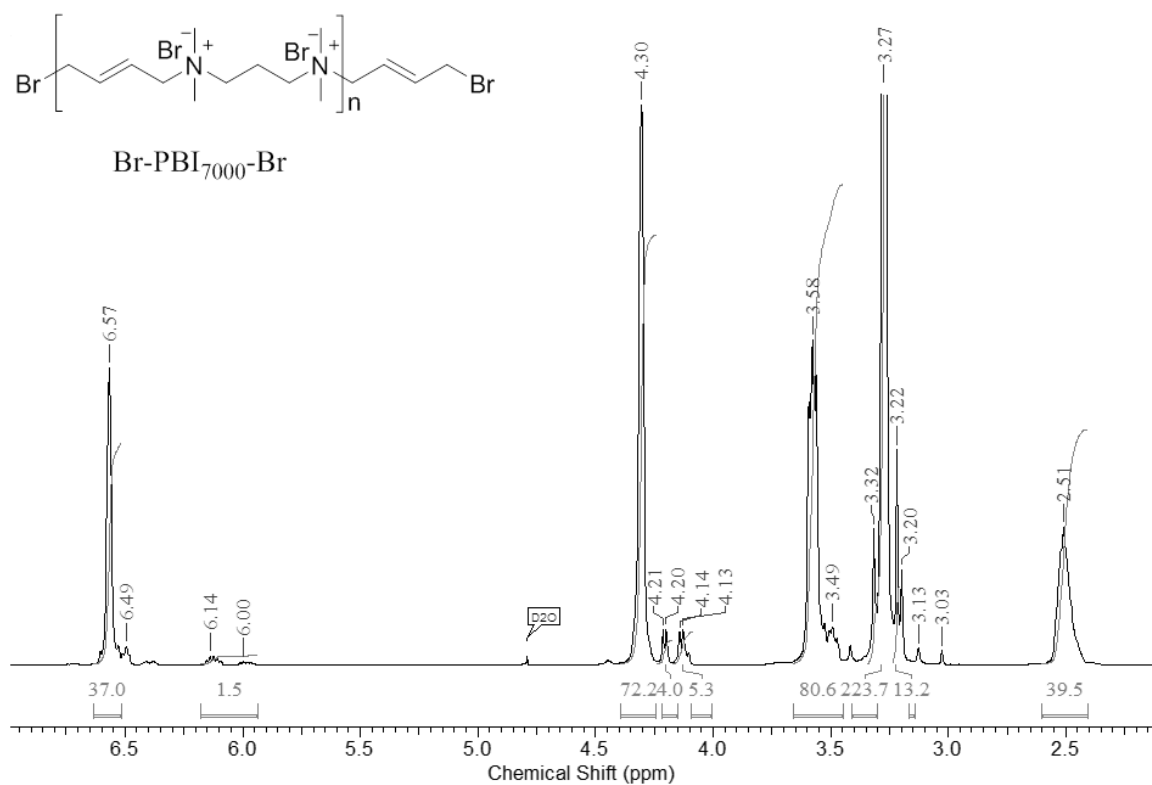
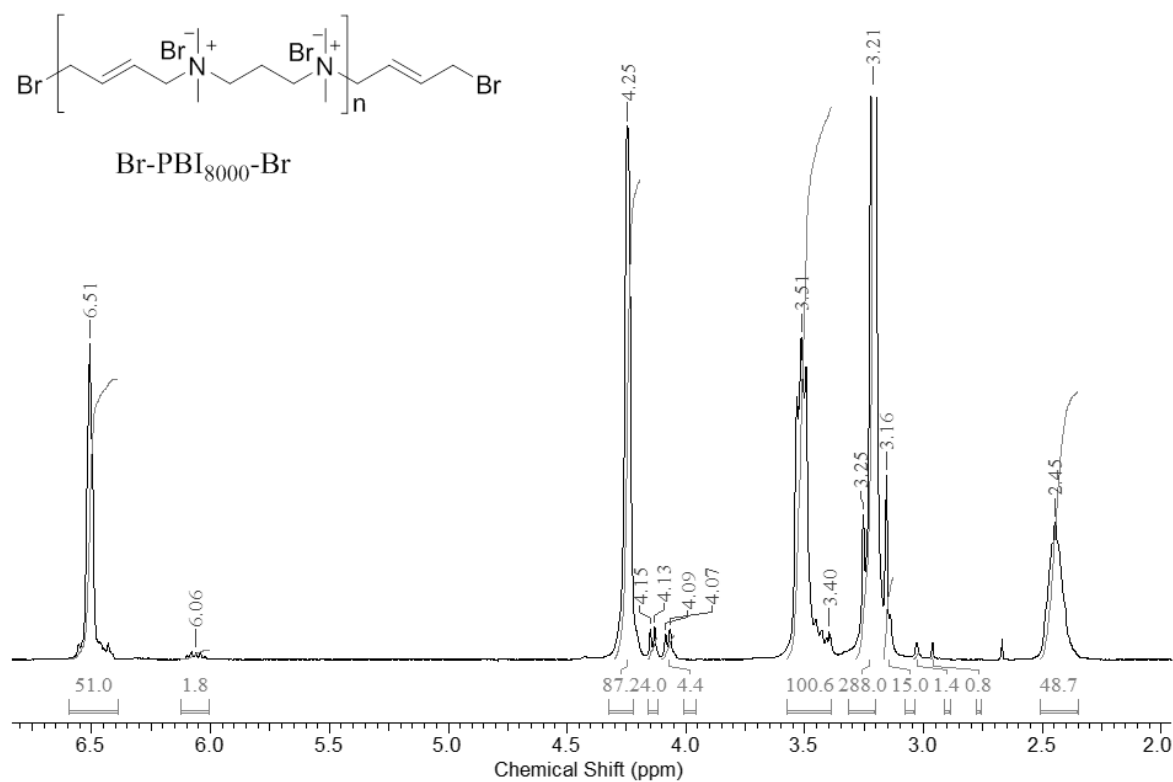


Abbildung 102: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von PBI-9 in D<sub>2</sub>O.

9.2.3  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von  $\text{PBI}_n$  mit DBB-Endgruppen-ModifizierungAbbildung 103:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von  $\text{Br-PBI}_{3100}\text{-Br}$  in  $\text{D}_2\text{O}$ .Abbildung 104:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von  $\text{Br-PBI}_{5500}\text{-Br}$  in  $\text{D}_2\text{O}$ .

Abbildung 105: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Br-PBI<sub>7000</sub>-Br in D<sub>2</sub>O.Abbildung 106: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Br-PBI<sub>8000</sub>-Br in D<sub>2</sub>O.

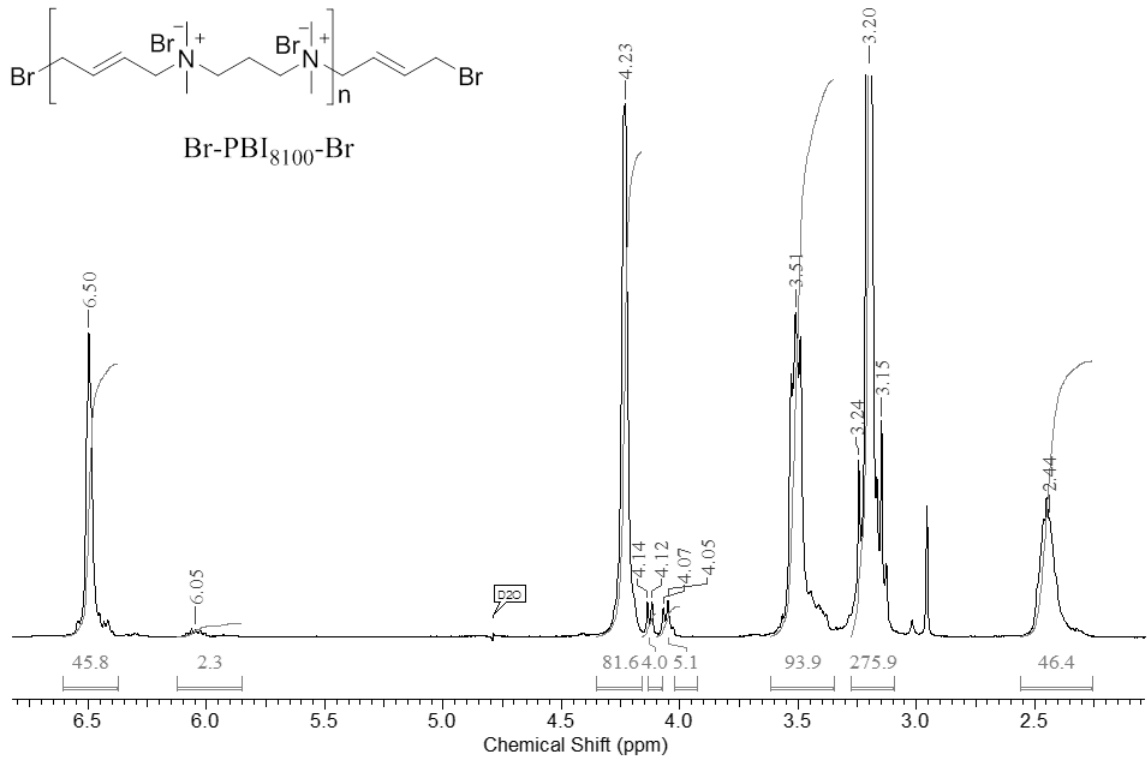


Abbildung 107: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Br-PBI<sub>8100</sub>-Br in D<sub>2</sub>O.

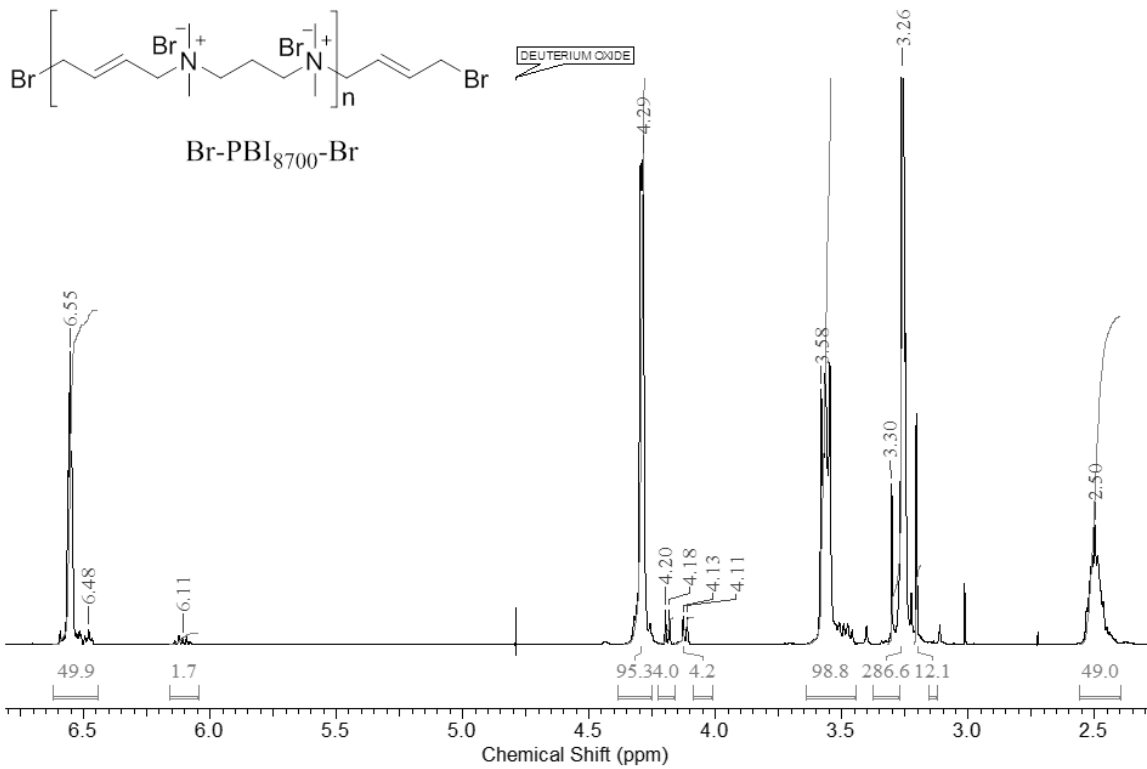


Abbildung 108: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Br-PBI<sub>8600</sub>-Br in D<sub>2</sub>O.

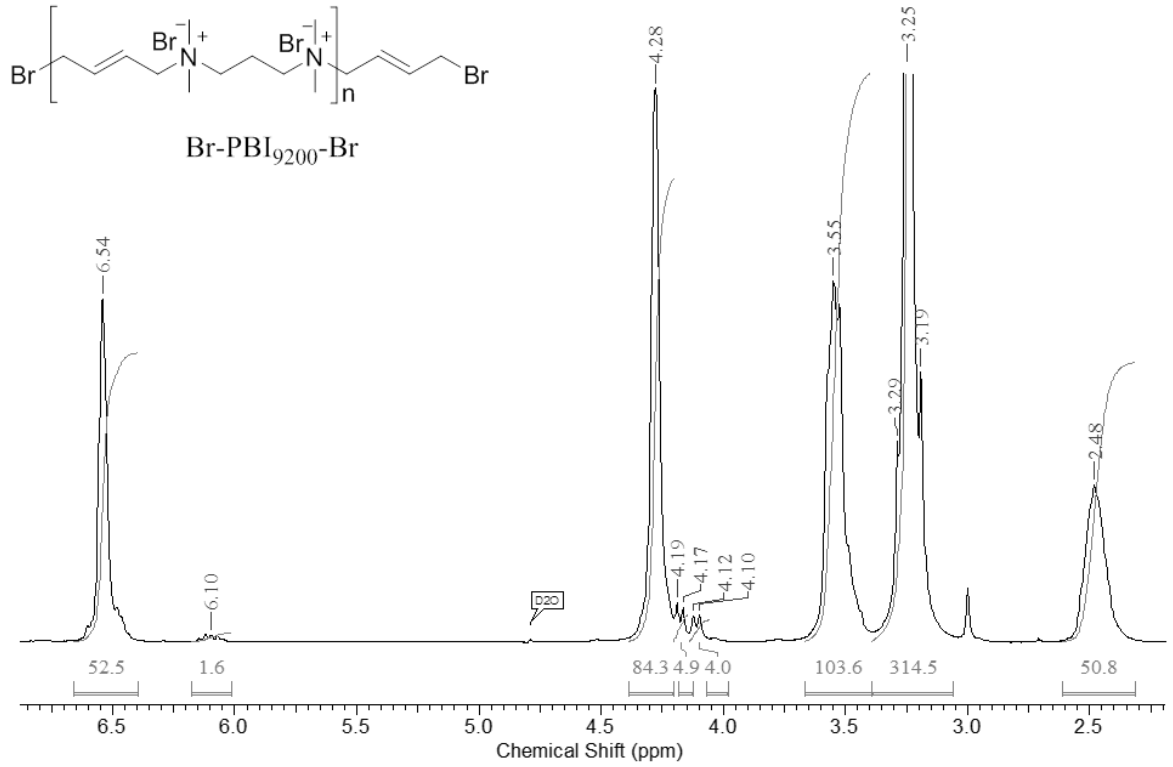


Abbildung 109: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Br-PBI<sub>9200</sub>-Br in D<sub>2</sub>O.

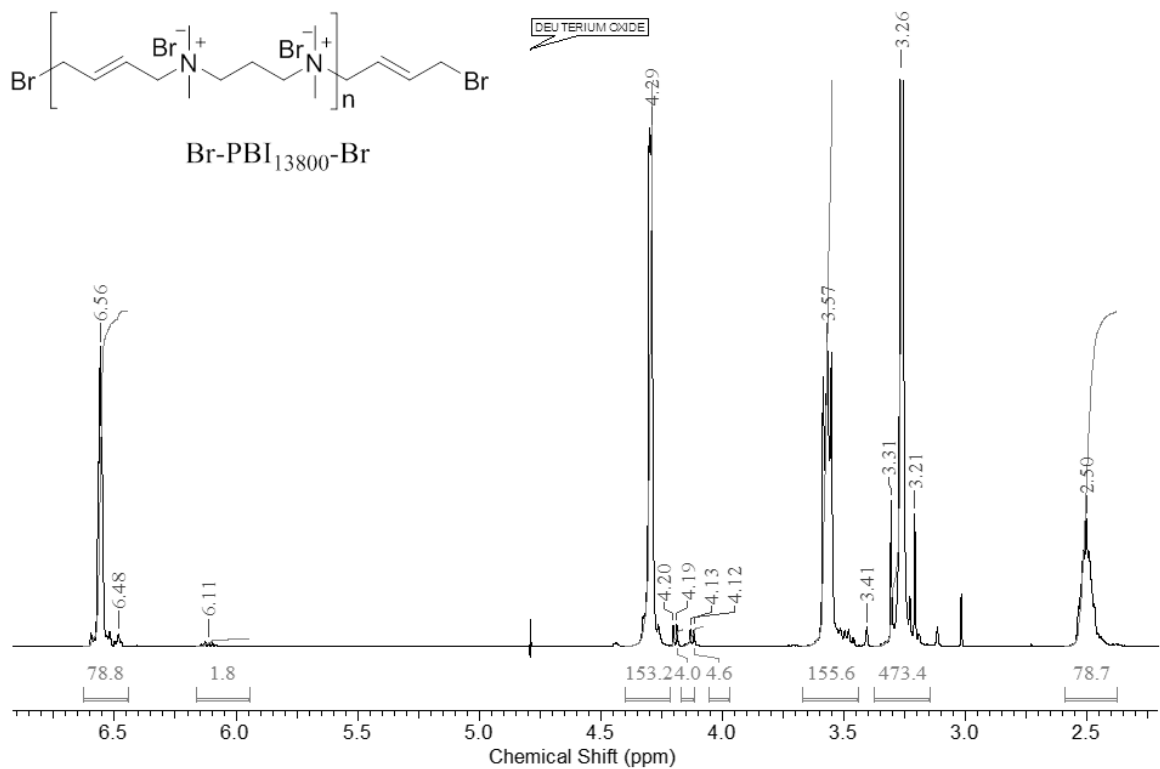
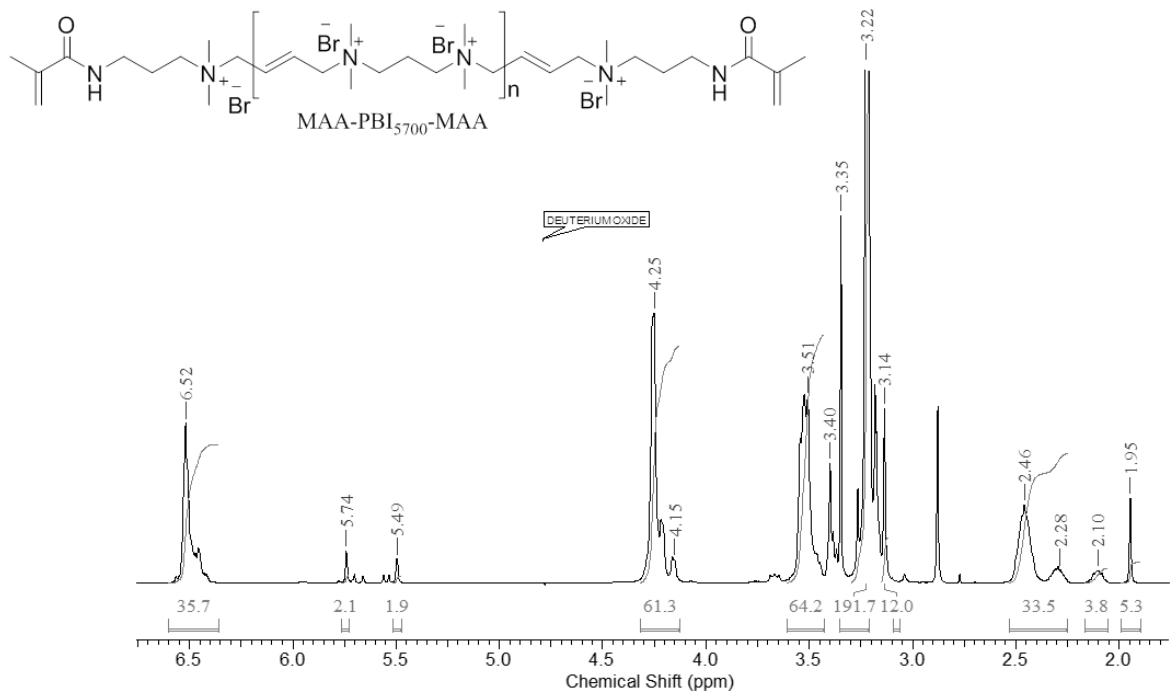
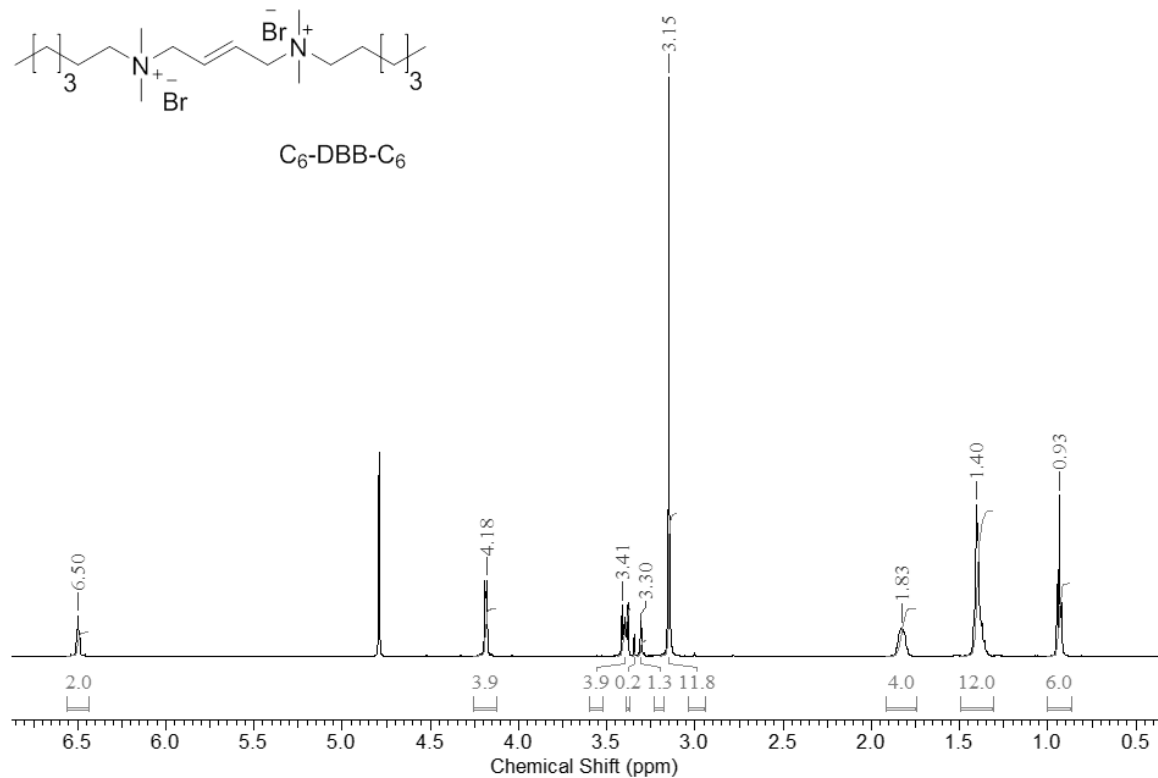
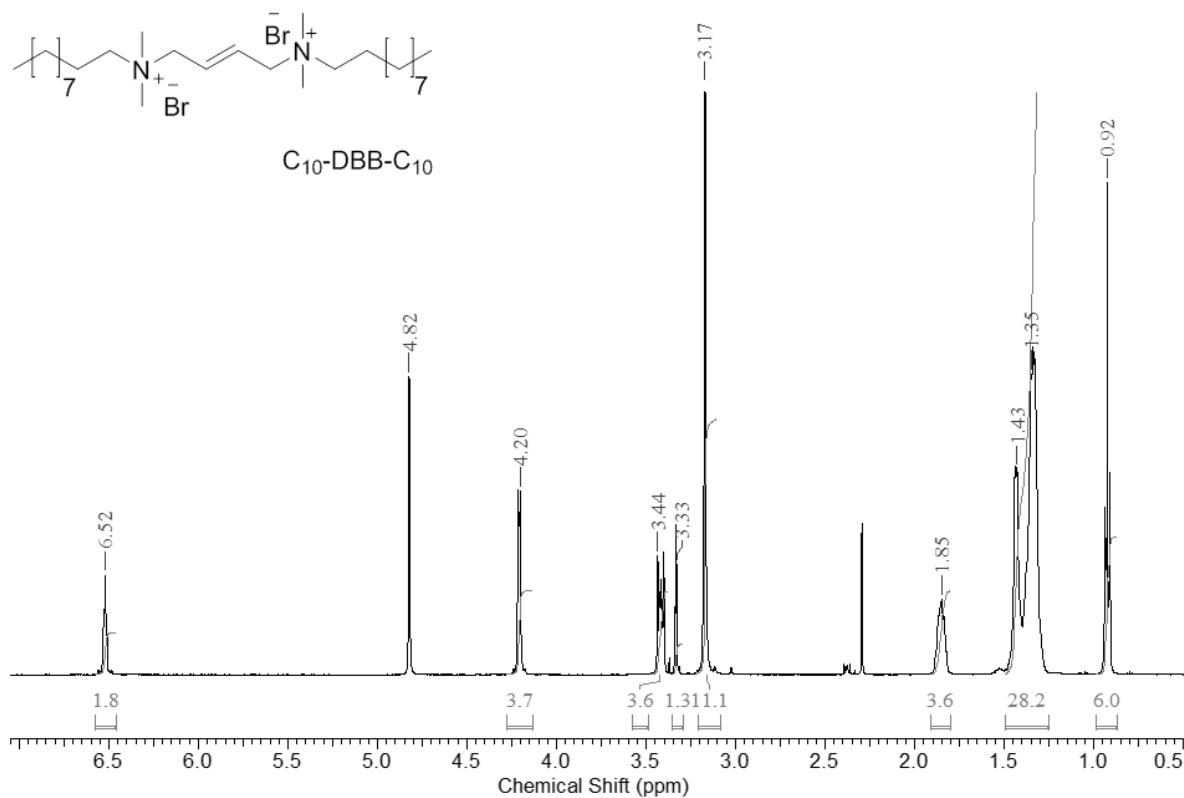


Abbildung 110: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Br-PBI<sub>13800</sub>-Br in D<sub>2</sub>O.

9.2.4  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von PBI-Spezies mit DMAP-MAA-ModifizierungAbbildung 111:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von MAA-PBI<sub>5700</sub>-MAA in  $\text{D}_2\text{O}$ .

9.2.5  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren Alkyl-terminierter DBB-SpeziesAbbildung 112:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von  $\text{C}_6\text{-DBB-C}_6$  in  $\text{D}_2\text{O}$ .Abbildung 113:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von  $\text{C}_{10}\text{-DBB-C}_{10}$  in  $\text{D}_2\text{O}$ .



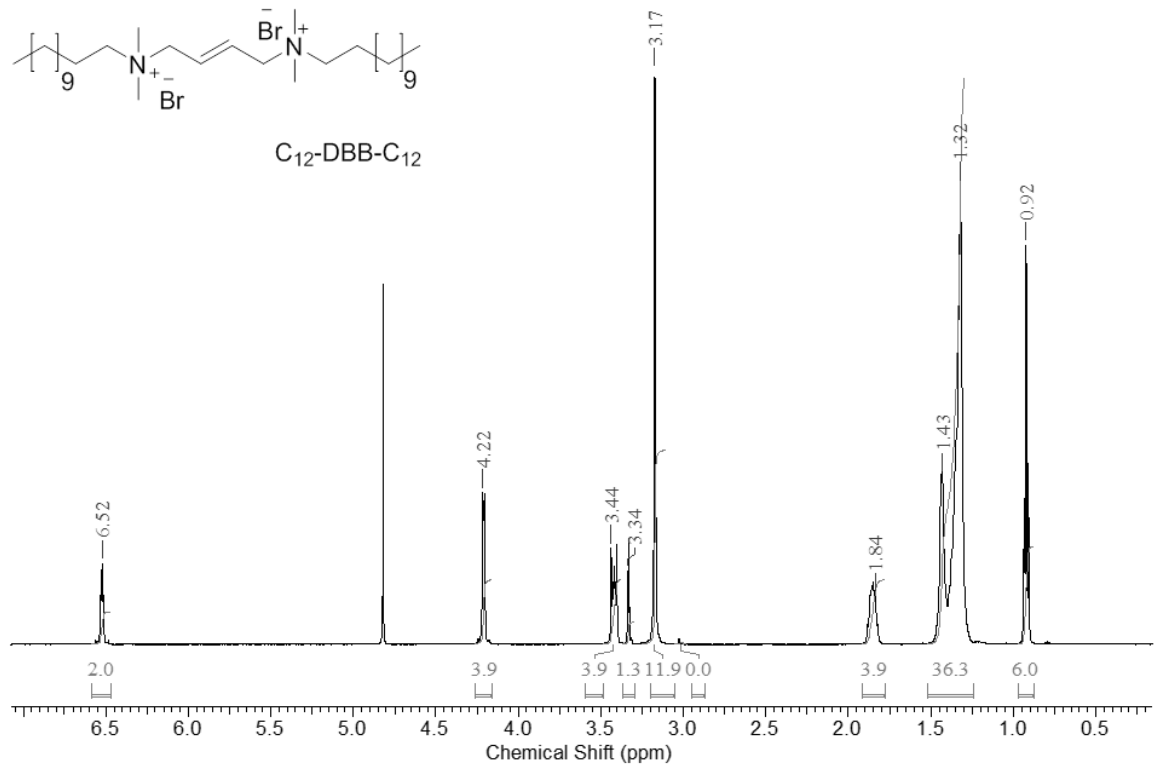


Abbildung 114:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von  $C_{12}$ -DBB- $C_{12}$  in  $\text{D}_2\text{O}$ .