



Elisabeth Kreuzwiesner

**Entwicklung von compoundierbaren Kontaktbioziden auf
Basis aminfunktionalisierter Polymere**

Dissertation

PhD Thesis

Zur Erlangung des akademischen Grades einer

Doktorin der Technischen Wissenschaften

eingereicht an der

Technischen Universität Graz

Betreuer: Univ.-Doz. Dipl. Ing. Dr. techn. Christian Slugovc

Institut für chemische Technologie von Materialien (ICTM)

Graz, im Juni 2010



Die vorliegende Dissertation wurde größtenteils im Rahmen des Kplus-Projektes „Polymer surfaces with antimicrobial properties“ (Projektnummer: II-2.3) sowie des COMET-Projektes „Biocidal Polymers“ [NACHFOLGEPROJEKT: Juli-Dezember 2009] am Polymer Competence Center Leoben GmbH im Rahmen des Kompetenzzentren Programms Kplus des Bundesministeriums für Verkehr, Innovation und Technologie unter Beteiligung der Technischen Universität Graz (Institut für Chemische Technologie von Materialien) und der Ke Kelit Kunststoffwerk GmbH erstellt und mit Mitteln des Bundes und der Länder Steiermark und Oberösterreich gefördert.

Weitere finanzielle Unterstützung dieser Dissertation wurde von der Europäischen Kommission im Rahmen des EU-Projektes Biosurf (Projektnummer 7) zur Verfügung gestellt.

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die Dissertation selbständig verfasst, andere als die angegeben Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und mich auch sonst keiner unerlaubten Hilfe bedient habe,

dass ich diese Dissertation bisher weder im In- noch im Ausland in irgendeiner Form als Prüfungsarbeit vorgelegt habe,

dass diese Arbeit mit der vom Begutachter beurteilten Arbeit übereinstimmt.

Datum

Unterschrift

Danksagung

Meine Dissertation entstand am Institut für Chemische Technologie von Materialien an der Technischen Universität Graz unter der Leitung von Univ.-Doz. Dipl.-Ing. Dr.techn. Christian Slugovc und Vizerektor Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Franz Stelzer. Für die Anregungen, Erklärungen und das Vertrauen in mich gebührt ihnen mein besonderer Dank.

Weiters möchte ich mich auch besonders bei Dipl.-Chem. Univ. Dr.rer.nat. Frank Wiesbrock sowie DI Dr. Nadja Noormofidi für die fachliche Unterstützung und aufschlussreiche Diskussionen bedanken.

Ebenso möchte ich meinen Arbeitskollegen, im Besonderen Kathrin Bohnemann, Christina Lexer, Barbara Rupp, Julia Kienberger und Olivia Moser für das gute Arbeitsklima und die Freundschaft, arbeitstechnische Hinweise und die Unterstützung bei den Synthesearbeiten Dank aussprechen.

Bedanken möchte ich mich auch bei Ao.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Robert Saf, Karin Bartl, Dr. Petra Kaschnitz, Dr. Inge Mühlbacher, Dr. Thomas Luxbacher, Josefine Hobisch und Univ.-Doz. Dipl.-Ing. Dr.techn. Gregor Trimmel für MALDI-TOF MS Messungen, GPC- Analysen, Thermoanalysen, ζ -Potential-, Kontaktwinkel- und NMR-Messungen.

Bei KeKelit Kunststoffwerk GmbH möchte ich mich für die finanzielle Hilfestellung bedanken, die dieses Projekt ermöglicht haben. Im Besonderen bedanke ich mich bei Herrn Ing. Karl Rametsteiner für die Betreuung des Projektes.

Dank gebührt ebenso dem Polymer Competence Center Leoben und der Europäischen Kommission (EU-Projekt „Biosurf“) für die finanzielle Unterstützung, welche die vorliegende Arbeit erst möglich gemacht hat.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Eltern, meinen Geschwistern und Markus Schlacher für die mentale Unterstützung, ihre Liebe, ihr Vertrauen und die Möglichkeit meinen Weg zu gehen, bedanken.

Das Geheimnis des Erfolges
ist die Beständigkeit der Ziele

(Benjamin Disraeli)

KURZFASSUNG

Mikrobizide Kontamination stellt eines der schwerwiegendsten Probleme in den unterschiedlichsten Bereichen, wie medizinische Geräte, Wasserrohrsysteme und ganz allgemein, im täglichen Lebensbereich, dar. Um diese Probleme zu lösen, wurden biozide Polymere eingesetzt. Dieser Ansatz reduziert ein Auswaschen von toxischen Verbindungen, was bei niedermolekularen Verbindungen bekanntlich auftritt. Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet erlangten in den letzten Jahren aus gesundheitlichen und umweltbedingten Gründen großes Interesse.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden aminfunktionalisierte Polymere mit antimikrobieller Aktivität synthetisiert und analysiert. Dafür wurden eine Reihe an mono- und difunktionalisierten Norbornen-basierenden Monomeren mit Amin- sowie Dodecylgruppen in der Seitenkette hergestellt. Die statistischen Copolymere wurden durch eine ringöffnende Metathesepolymerisation (ROMP) dargestellt. Die biozide Aktivität dieser Copolymere wurde gemäß dem Japanischen Industriestandard (JIS) Z2801 beurteilt. Dabei konnte gegen *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* und *A. niger* eine biozide Wirksamkeit, gegen *C. albicans* und *P. aeruginosa* eine mikrobiostatische Aktivität festgestellt werden. Darüber hinaus zeigte das aktivste Copolymer aus dieser Serie keine Cytotoxizität nach ISO 10993-5, wodurch Anwendungen im medizinischen und Lebensmittelbereich möglich sind.

Der zweite Teil dieser Dissertation handelt von der Herstellung biozider Compounds mit Polyethylen (PE) oder Polypropylen (PP). Ein Ansatz war die Modifizierung von PE durch Zugabe des wirksamsten, monofunktionalisierten ROM-Polymers. Nachfolgende Tests in Anlehnung an den JIS ergaben mikrobiostatisches Verhalten. Weiters wurde das kommerziell erhältliche biozide Chitosan in PE eingemischt und dessen antimikrobielle Aktivität getestet.

Durch Verwendung der kationisch ringöffnenden Polymerisation (CROP) wurden Stickstoff-funktionalisierte Polymere in der Mikrowelle synthetisiert und mit PP compoundingiert. Die Analyse der Blendoberfläche zeigte Änderungen der Polarität, was eine mögliche biozide Wirkung annehmen ließ. Bei diesen Blends wurden beachtliche biozide Aktivitäten gegen *L. monocytogenes*, *S. aureus* und *E. coli* erzielt.

ABSTRACT

Microbiocidal contaminations remain one of the most serious problems in a variety of fields, such as medical devices, water pipe systems and in general, every day life areas. To overcome these problems, biocide polymers are applied. This approach minimizes the leaching of toxic agents that is known to occur with low molecular weight biocides. Research work focusing on this topic has gained significant interest in the last decades due to health and environmental issues.

This doctoral thesis deals with the synthesis and characterization of amino-functionalized polymers which exhibit antimicrobial efficiency. To achieve this, a series of mono- and di-functionalized norbornene type monomers that carry amine- as well as dodecyl-groups were established. Ring opening metathesis polymerization (ROMP) was used to prepare random copolymers. Their contact biocidal potential was evaluated according to the Japanese Industry standard (JIS) Z2801. Microbiocidal activity of selected polymer films against *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* and *A. niger* was proven, while microbistatic behavior versus *C. albicans* and *P. aeruginosa* was observed. Moreover, the most potent copolymer revealed no cytotoxicity according to ISO 10993-5, rendering a biocidal polymer with potential applications in mammalian- and in particular human-related medicinal and nutritional fields.

The second part of this thesis is aiming at antimicrobial polyethylene (PE) or polypropylene (PP) compounds. One approach was the modification of PE by adding the previously best performing mono-functionalized ROM-polymer. Subsequent assays subjected to JIS indicated microbistatic behaviour. Moreover the commercial available biocide Chitosan was compounded in PE and the antimicrobial performance against *S. aureus* was investigated.

Further nitrogen-bearing polymers were prepared from cationic ring-opening polymerization (CROP) under microwave irradiation and compounded with PP. Surface characterizations of the blends showed changes in polarity, which led to the assumption of a possible biocide activity. Remarkable biocide potency of these blends towards *L. monocytogenes*, *S. aureus* and *E. coli* was obtained.

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
2	<u>BEKANNTE SACHVERHALTE</u>	3
2.1	AUFBAU DER BAKTERIENZELLE	3
2.1.1	ZELLWAND	4
2.1.2	CYTOPLASMAMEMBRAN	5
2.2	BAKTERIENSTÄMME	6
2.2.1	ESCHERICCHIA COLI	6
2.2.2	PSEUDOMONAS AERUGINOSA	7
2.2.3	STAPHYLOCOCCUS AUREUS	7
2.2.4	LISTERIA MONOCYTOGENES	8
2.3	PILZE	8
2.3.1	ASPERGILLUS NIGER	9
2.3.2	CANDIDA ALBICANS	10
2.4	ANTIMIKROBIELLE WIRKSTOFFE	10
2.4.1	WIRKSAMKEIT VON MIKROBIZIDEN	11
2.4.2	ÜBERSICHT DER VERSCHIEDENEN SUBSTANZKLASSEN	11
2.5	BIOZIDE POLYMERE	15
2.5.1	ÜBERSICHT DER POLYMEREN BIOZIDE	16
2.5.2	BIOPOLYMERE	23
2.5.3	CHITOSAN	24
2.6	DIELS ALDER CYCLOADDITION	25
2.7	OLEFINMETATHESE	26
2.7.1	ARTEN DER METATHESE	27
2.8	CROP (CATIONIC RING-OPENING POLYMERIZATION)	32
2.9	MIKROWELLE	34
2.10	POLYMERVERARBEITUNG	36
2.10.1	EXTRUSION	36
2.10.2	SPRITZGUSS	36
2.10.3	VAKUUMPLATTENPRESSE	37
2.11	OBERFLÄCHENWECHSELWIRKUNGEN	38

2.11.1	KONTAKTWINKELMESSUNGEN.....	39
2.11.2	OBERFLÄCHENERGIE	40
2.11.3	ζ-POTENTIAL	41
2.12	TRANSMISSIONSELEKTRONENMIKROSKOPIE	43
2.12.1	AUFBAU	43
2.12.2	FUNKTIONSWEISE DES TEM	44
2.12.3	DIE PROBENAUFBEREITUNG.....	45
2.13	BESTIMMUNG DER MIKROBIZIDEN WIRKSAMKEIT	47
2.13.1	AGARDIFFUSIONSTEST	47
2.13.2	FILM ADHERENCE METHOD VON OBERFLÄCHEN	48
2.14	CYTOTOXIZITÄT.....	48
3	<u>ERGEBNISSE UND DISKUSSION</u>	49
3.1	AMIN-FUNKTIONALISIERTE POLYNORBORNENE.....	49
3.1.1	EINLEITUNG.....	49
3.1.2	SYNTHESE DER MONOMERE UND STATISTISCHEN COPOLYMERE	50
3.1.3	GPC-, NMR- UND DSC-ANALYSEN DER ERHALTENEN COPOLYMERE.....	52
3.1.4	BESTIMMUNG DER OBERFLÄCHENERGIE DER POLYMERE.....	55
3.1.5	MIKROBIZIDE AKTIVITÄT NACH JIS Z2801:2000.....	56
3.1.6	CYTOTOXIZITÄT	61
3.1.7	ZUSAMMENFASSUNG.....	62
3.2	DIFUNKTIONELLE NORBORNENE	63
3.2.1	EINLEITUNG.....	63
3.2.2	SYNTHESE	63
3.2.3	GPC-, NMR-, STA- UND DSC-ANALYSEN DER COPOLYMERE POLY(5 _x -CO-6 _{600-x}).....	65
3.2.4	MIKROBIZIDE TESTS	66
3.2.5	ZUSAMMENFASSUNG.....	67
3.3	AMIN-FUNKTIONALISIERTE PE-COMPOUNDS.....	69
3.3.1	EINLEITUNG.....	69
3.3.2	HERSTELLUNG DER POLYMERCOMPOUNDS	69
3.3.3	MIGRATIONSUNTERSUCHUNGEN	70
3.3.4	MIKROBIZIDE TESTS DER COMPOUNDS	71
3.3.5	TEM-UNTERSUCHUNGEN.....	73

3.3.6	ZUSAMMENFASSUNG.....	74
3.4	HERSTELLUNG VON POLYMERCOMPOUNDS MIT CHITOSAN.....	76
3.4.1	TEMPERATURSTABILITÄTSUNTERSUCHUNGEN VON CHITOSAN	76
3.4.2	HERSTELLUNG DER CHITOSAN-COMPOUNDS	77
3.4.3	BESTIMMUNG DER OBERFLÄCHENEIGENSCHAFTEN DER COMPOUNDS	77
3.4.4	MIKROBIZIDER TEST	79
3.4.5	ZUSAMMENFASSUNG.....	80
3.5	POLYAMINE	82
3.5.1	EINLEITUNG.....	82
3.5.2	SYNTHESE DER POLYAMINE	82
3.5.3	STA-MESSUNGEN VON PA.1HCL UND PA.....	84
3.5.4	HERSTELLUNG DER COMPOUNDS	85
3.5.5	HERSTELLUNG VON POLYMERCOMPOUNDS BEIM TCKT	87
3.5.6	ZUSAMMENFASSUNG.....	97
4	<u>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....</u>	98
5	<u>EXPERIMENTELLER TEIL.....</u>	101
5.1	ANALYSEMETHODEN	101
5.1.1	INFRAROTSPEKTROSKOPIE	101
5.1.2	NMR-SPEKTROSKOPIE.....	101
5.1.3	STA (SIMULTANE THERMOANALYSE)	101
5.1.4	DSC (DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY)	102
5.1.5	ANTIMIKROBIELLE BESTIMMUNG.....	102
5.1.6	ELEMENTANALYSEN	102
5.1.7	KONTAKTWINKELMESSUNGEN	103
5.1.8	GPC- MESSUNGEN	103
5.1.9	ELEKTROKINETISCHE MESSUNGEN	104
5.1.10	COMPOUNDER	104
5.1.11	SPRITZGUSS.....	105
5.1.12	VAKUUMPLATTENPRESSE.....	105
5.1.13	MIKROWELLENREAKTOR AP SYNTHOS 3000 – FIRMA ANTON PAAR	106
5.1.14	MIKROWELLENREAKTOR BIOTAGE INITIATOR™	107
5.1.15	VERWENDETE CHEMIKALIEN	107

5.1.16	DARSTELLUNG VON G3 (H ₂ IMES)(PYRIDINE) ₂ RUCL ₂ (=CHPH).....	107
5.1.17	SYNTHESE MO (1): MISCHUNG VON <i>EXO,ENDO</i> -BICYCLO[2.2.1]HEPT-5-EN-2-CARBONSÄURE(2-TERTBUTYLAMINO-ETHYL)ESTER	108
5.1.18	SYNTHESE MO (2): MISCHUNG VON <i>EXO,ENDO</i> -BICYCLO[2.2.1]HEPT-5-EN-2-CARBONSÄUREDODECYLESTER.....	109
5.1.19	SYNTHESE MO (3): MISCHUNG VON <i>EXO,ENDO</i> -BICYCLO[2.2.1]HEPT-5-EN-2-CARBONSÄUREHEXYLESTER	110
5.1.20	SYNTHESE MO (5): MISCHUNG VON <i>EXO,ENDO</i> -BICYCLO[2.2.1]HEPT-5-EN-2,3-DICARBONSÄURE-(2-TERTBUTYLAMINOETHYL)ESTER	111
5.1.21	SYNTHESE VON MO (6): MISCHUNG VON <i>EXO,ENDO</i> -BICYCLO[2.2.1]HEPT-5-EN-2,3-DICARBONSÄUREDODECYLESTER.....	112
5.1.22	ALLGEMEINE POLYMERSYNTHESE FÜR POLY(1), POLY(1 _x -CO-2 _{600-x}), POLY(1 _x -CO-3 _{600-x}), POLY(4), POLY(5 _x -CO-6 _{600-x})	113
5.1.23	SYNTHESE VON POLY(2-ETHYL-2-OXAZOLIN).....	118
5.1.24	SYNTHESE VON POLYAMIN-HYDROCHLORID (PA·1HCL)/ POLYAMIN (PA).....	119
6	<u>APPENDIX.....</u>	120

1 Einleitung

Mikroorganismen sind kleine Lebewesen, zu denen Bakterien, Pilze, Algen und Protozoen zählen. Im Laufe eines Lebens werden Menschen ständig mit diesen mikroskopisch kleinen Lebewesen auf unterschiedliche Art und Weise konfrontiert. Bei vielen Vorgängen, wie beispielsweise der Gärung, der Reifung von Käse aber auch im menschlichen Körper, ist ihre Anwesenheit lebenswichtig und erwünscht. Ebenso werden in der Biotechnologie viele Impfstoffe, Arzneimittel, Lebensmittelzusatzstoffe, Vitamine und Aminosäuren durch den Einsatz verschiedener Mikroorganismen hergestellt. Teilweise können Mikroorganismen jedoch zu unangenehmen Folgen führen. So kann es aufgrund der Kontamination durch Mikroorganismen auf Materialien in feuchter Umgebung zu einem Absetzen an Mikroben kommen. Dies führt zu nachhaltigen Problemen wie Biofouling (ungewünschte Anlagerung von Mikroorganismen), Beschädigungen von Materialien, Infektionen durch pathogene Mikroorganismen in der Medizin (Implantate, Zahnmedizin, Krankenhausinterieur), Verderb von Lebensmitteln und vielen weiteren unerwünschten und manchmal auch lebensgefährlichen Folgen. Erst kürzlich kam es in Österreich und Deutschland zu tragischen Todesfällen durch „invasive Listeriose“, welche durch Listerien im Käse hervorgerufen wurden.

Um diese unerwünschten Mikroorganismen und die möglichen Konsequenzen zu beseitigen, stehen verschiedenste Möglichkeiten (Sterilisation, Pasteurisieren, Konservierungsmittel, Desinfektionsmittel) zur Verfügung. Die Nachteile dieser Methoden liegen sehr häufig in den Nebenwirkungen, wie Geschmacks- und Geruchsveränderung von Lebensmitteln, Rückstände der Desinfektionsmittel, Unverträglichkeiten von Konservierungsmitteln und vieles mehr.

Aus diesem Grund geht man dazu über, neue Materialien zur Lösung dieser Probleme zu entwickeln. Dabei werden unterschiedliche Strategien verfolgt, die das Auftreten von biologischen Kontaminationen verhindern. Eine Strategie ist die Synthese von hochmolekularen Verbindungen, die eine Vielzahl an Vorteilen gegenüber niedermolekularen Wirksubstanzen aufweisen. Zu diesen Vorteilen zählen unter anderem das Ausbleiben von Rückstandstoxizitäten und Löslichkeiten, wodurch im Idealfall eine Freisetzung des Wirkstoffs verhindert wird. Moderne Konzepte haben das Ziel, umweltverträgliche Biozide zu verwenden, indem sie diese so immobilisieren, dass sie Mikroorganismen nur bei Kontakt töten. Dadurch werden keine toxischen Substanzen an die Umwelt abgegeben und zuvor genannte Nebenwirkungen vermieden.

Um diesen Ansprüchen gerecht zu werden, wurde am Institut für chemische Technologie von Materialien (ICTM) in den letzten Jahren intensive Forschung auf dem Gebiet der kontaktaktiven, bioziden Polymere betrieben. Dabei wurden verschiedenste Modellpolymere entwickelt und mikrobiziden Tests unterzogen. Die Ergebnisse dieser Arbeiten (Publikationen und Patent) dienen als Ausgangspunkt für die hier präsentierten Untersuchungen und Entwicklungen.

Ziel dieser Dissertation war es, die zuvor in meiner bereits durchgeführten Diplomarbeit getesteten bioziden Polymere zu optimieren und weiteren Tests bzw. Analysen zu unterziehen. Weiters wurden völlig neue antimikrobielle Polymersysteme auf Polyamin-Basis hergestellt, die anschließend mit kommerziellen Polymeren compoundiert wurden. Ein weiterer Teil beschreibt die Compoundierung von einem in der Industrie bereits als Biozid eingesetztem Biopolymer in Polyethylen.

2 Bekannte Sachverhalte

2.1 Aufbau der Bakterienzelle

Bakterien (altgriechisch bakterion – Stab)¹ sind Einzeller und gehören zu den Prokaryonten, da sie keinen echten Zellkern besitzen. Dadurch liegt die DNA frei im Cytoplasma, im Nukleotid, vor. Bakterien haben eine Größe von 0,3 bis 3 μm , sind um das Hundertfache kleiner als Eukaryonten² und gehören somit zu den mikroskopisch kleinen Organismen.³

Bakterien bestehen aus einer Zellwand, Cytoplasma mit Cytoplasmamembran und Ribosomen. Die DNA befindet sich als in sich geschlossenes Molekül im Cytoplasma, welches von der Cytoplasmamembran umhüllt wird. Die Zellwand umgibt die Cytoplasmamembran. Abbildung 1 zeigt den schematischen Aufbau einer Bakterienzelle.

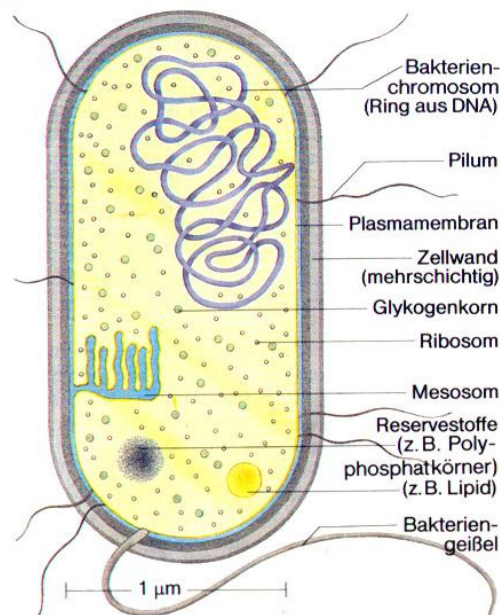


Abbildung 1: Aufbau der Bakterienzelle⁴

¹ Koolmann, J.; Röhm, K.H. *Taschenatlas der Biochemie*, 3.Auflage Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, **2003**

² Steinbüchel, A.; Oppermann-Sanio, F.B. *Mikrobiologisches Praktikum*, Springer, **2003**

³ Diplomarbeit Gstrein, X. *Neue antimikrobielle Polymere durch ringöffnende Metathesepolymerisation*, TU Graz, **2005**

⁴ Quelle der Abbildung:

<http://www.cfreier.de/Hausaufgaben/Biologie/Evolutionstheorien/Zelltypen/Bakterienzelle.JPG>

2.1.1 Zellwand

Die Zellwand umgibt die Cytoplasmamembran und hat dadurch eine Stütz- bzw. Schutzfunktion. Mittels eines Färbeverfahrens nach Gram kann zwischen Gram-positiven und Gram-negativen Zellwänden differenziert werden. In beiden Fällen beruht die Festigkeit der Zellwandtypen auf dem Mauerwerk des Peptidoglycan (Murein), welches aus vielen Glycanketten, die durch Peptidbindungen vernetzt sind, besteht. Die Unterschiede in der Struktur dieser beiden Bakterienarten sind in Abbildung 2 graphisch dargestellt.

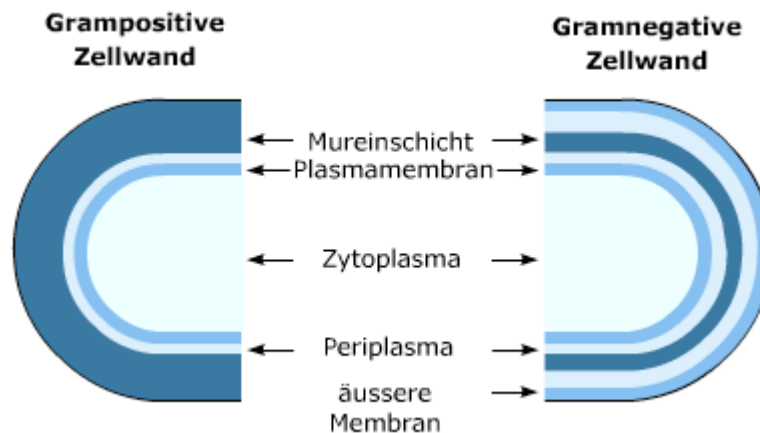


Abbildung 2: Unterschied zwischen Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien⁵

2.1.1.1 Zellwand Gram-positiver Bakterien

Die Zellwand von Gram-positiven Bakterien ist dickwandig und besteht aus vielen Mureinschichten. Darüber hinaus enthalten Gram-positive Bakterien Teichonsäure, welche kovalent im Peptidoglycan verankert ist. Teichonsäure besteht aus Robitol-Phosphat-Polymeren und Glycerol-Phosphat-Polymeren, die kettenartig nach außen stehen. Weiters ist zwischen Plasmamembran und Zellwand-Peptidoglycan ein enger periplasmatischer Spalt, der mit Periplasma gefüllt ist.

2.1.1.2 Zellwand Gram-negativer Bakterien

Im Gegensatz dazu sind Zellwände Gram-negativer Bakterien vergleichsweise dünn, das heißt, sie besitzen eine dünnschichtige Peptidoglycan-Struktur, welche in ein periplasmati-

⁵ Quelle der Abbildung: http://www.pharmawiki.ch/wiki/media/Gramfaerbung_1.png

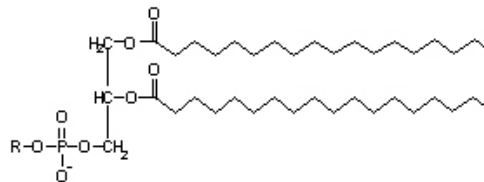
ches Gel eingebettet ist. Das Periplasma ist durch eine äußere Membran, eine biologische Membran, peripher begrenzt. Diese äußere Membran weist drei Teilkomponenten an Polysacchariden auf, wovon eines das Lipid A ist, das als Endotoxin bezeichnet wird. Lipid A dient als Virulenzfaktor aller Gram-negativer Bakterien.

2.1.2 Cytoplasmamembran

Die Cytoplasmamembran besteht aus einer Lipid-Doppelschicht, ist semipermeabel und regelt den Stoffeintritt und -austritt. In die Lipid-Doppelschicht sind Proteine und Glycoproteine eingelagert, die verschiedene Funktionen besitzen. Die Lipide, Phospholipide und Triglyceride bestehen aus hydrophilen „Köpfen“, die nach außen, und hydrophoben Enden, die nach innen ragen. ⁶ (Lipide siehe Abbildung 3)

Phosphoglycerolipide

R = Ethanolamin, Cholin, Serin, Lecithin



Glycoglycerolipide

R = Glucose, Galactose u.a.

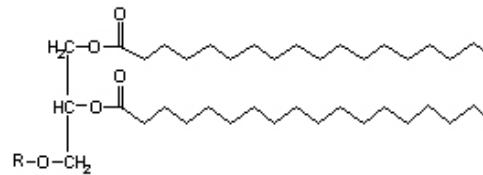


Abbildung 3: Lipide der Cytoplasmamembran

In diese Doppelschicht sind integrale Membranproteine eingelagert, periphere Proteine sind an die Membran geheftet. Sie fungieren als Enzym- und Transportproteine, das heißt, die Membran hat wichtige Stoffwechselfunktionen und kontrolliert den Stoffeintritt und -austritt. Wird diese Membran zerstört, kommt es zum Austritt von intrazellulären Bestandteilen und schlussendlich zur Lyse der Zelle.

⁶ Diplomarbeit Seyfriedsberger, G. *Polymeroberflächen mit antimikrobiellen Eigenschaften*, TU Graz, **2004**

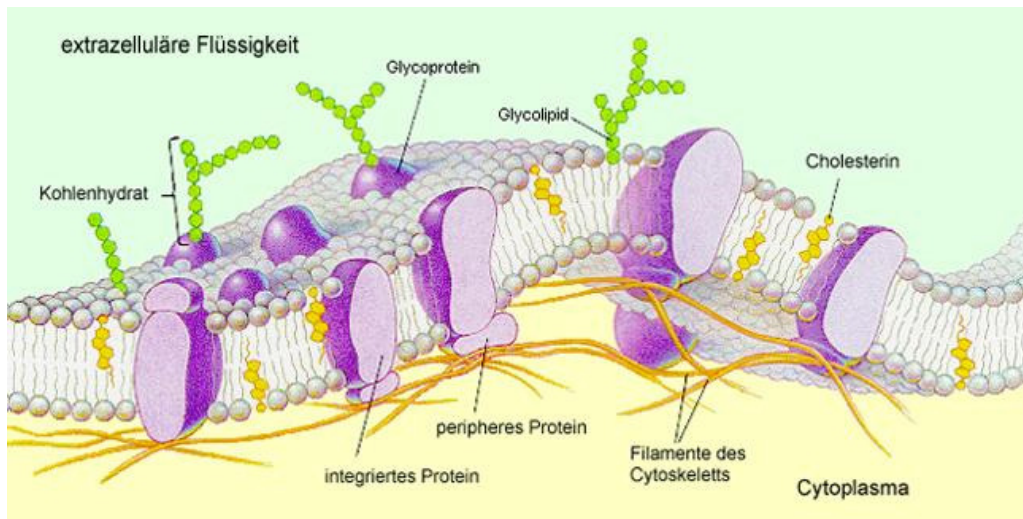


Abbildung 4: Cytoplasmamembran⁷

2.2 Bakterienstämme

2.2.1 Escherichia coli

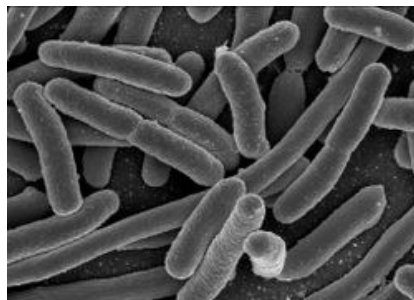


Abbildung 5: Escherichia coli⁸

Abbildung 5 zeigt *Escherichia coli* (*E. coli*), ein Gram-negatives, säurebildendes, stäbchenförmiges Colibakterium, welches im tierischen und menschlichen Darm vorkommt. Dieses Bakterium gehört zu den Enterobacteriaceae (griech. „enteron“: Darm) und ist der am besten untersuchte Organismus der Welt. Wird *E. coli* außerhalb des Darms verschleppt, können diese Bakterien Infektionen hervorrufen, wie Harnwegsinfekte, Peritonitis (nach Operationen im Bauchraum), Meningitis bei Neugeborenen (Infektion während der Geburt) und andere.⁹

⁷ Quelle der Abbildung: <http://www.biokurs.de/skripten/bilder/membr3.jpg>

⁸ Quelle der Abbildung:

http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:EscherichiaColi_NIAID.jpg&filetimestamp=20050410214037

⁹ Hayhurst, C. *E.Coli*; The Rose Publishing Group, **2003**

2.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

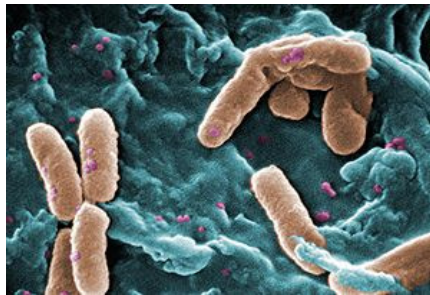


Abbildung 6: *Pseudomonas aeruginosa*¹⁰

Die Bakterienart *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ist ein Gram-negatives, oxidasepositives Stäbchen der Gattung *Pseudomonas* und weltweit sehr verbreitet. Das Bakterium ist ein Krankenhauskeim, der durch seinen Stoffwechsel und seine Zellmembranstruktur Mehrfachresistenzen gegenüber Antibiotika aufweist.¹¹ Eine Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* kann Lungenentzündungen, Wundinfektionen und Blutvergiftungen hervorrufen. Bei gesunden Menschen kommt es jedoch selten zu Erkrankungen durch das Bakterium.

2.2.3 *Staphylococcus aureus*

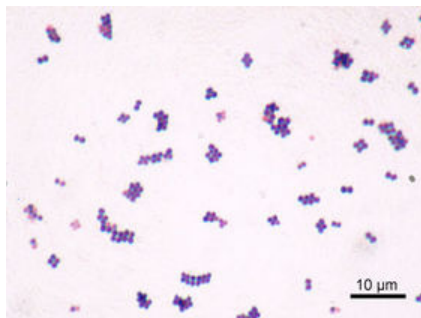


Abbildung 7: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

Dieses Gram-positive Bakterium ist sehr verbreitet und kommt bei vielen Menschen auf der Haut und in den oberen Atemwegen vor, jedoch meistens ohne dort Krankheitssymptome auszulösen. Bei einem angegriffenen Immunsystem oder durch günstige Bedingungen bekommt der Keim Gelegenheit zu Entzündungen zu führen. Dadurch entstehen Erkrankungen wie Lungenentzündung, Meningitis und Endokarditis. *S. aureus* stellt durch Resistenzen gegenüber mehreren Antibiotika eine Gefahr dar.¹²

¹⁰ Quelle der Abbildung:

<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Pseudomonas.jpg&filetimestamp=20080531062431>

¹¹ Stover, C.K. *Nature* **2000**, 406, 959-964.

¹² De la Maza, L.M. *Color Atlas of Medical Bacteriology*, ASM Press, **2004**

2.2.4 *Listeria monocytogenes*

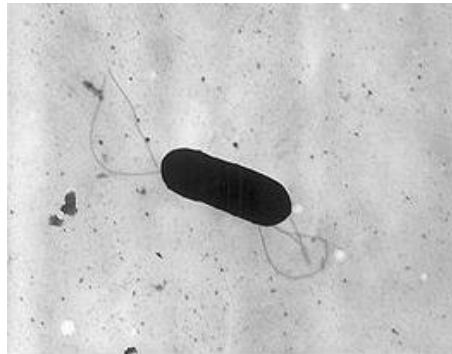


Abbildung 8: *Listeria monocytogenes*¹³

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) ist ein Gram-positives, nicht-sporenbildendes, stäbchenförmiges und aufgrund von Flagellen bewegliches Bakterium. Weiters ist es fakultativ anaerob, was bedeutet, dass es auch unter Sauerstoffabschluss wächst. *Listeria monocytogenes* ist äußerst kälteresistent und vermehrt sich auch noch bei Kühlschranktemperatur. Darüber hinaus ist es bis zu einem pH-Wert von 4.5 Säuren gegenüber resistent. Dieses Bakterium verursacht bei Mensch und Tier eine Reihe an Erkrankungen, die als Listeriose bezeichnet werden. *Listeria monocytogenes* lassen sich im Boden, in Gewässern, auf Pflanzen und in anderen Lebensräumen nachweisen. Weiters sind diese in der Lage, auf vielen verschiedenen Oberflächen Biofilme auszubilden.¹⁴

2.3 Pilze

Pilze gehören zu den Eukaryonten, deren Zellen Mitochondrien und ein Zellskelett enthalten. Sie bilden neben Tieren und Pflanzen ein eigenständiges Reich, zu dem sowohl Einzeller, wie die Backhefe, als auch Vielzeller, wie die Schimmelpilze und die Speisepilze, gehören. Die Vermehrung der Pilze findet ungeschlechtlich durch Sporen und vegetativ durch Ausbreitung ihrer manchmal sehr langlebigen Myzelien oder Mykorrhizen statt.¹⁵

¹³ Quelle der Abbildung:

http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Listeria_monocytogenes_PHIL_2287_lores.jpg&filetimestamp=20060418184312

¹⁴ Hamon, M.; Bierne, H.; Cossart, P. *Nature Reviews. Microbiology* **2006**, *4*, 423-434.

¹⁵ Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W.; Blackwell, M. *Introductory Mycology*, John Wiley and Sons, **1996**

Die Zellwand von Pilzen besitzt auch hier wie bei den Bakterien wichtige Aufgaben: sie schützt die Zelle vor Änderungen des osmotischen Drucks und anderen Umwelteinflüssen. Auch hier ist die Zellwand die Zielscheibe für den Angriff von Mikrobiziden.¹⁶

2.3.1 *Aspergillus niger*

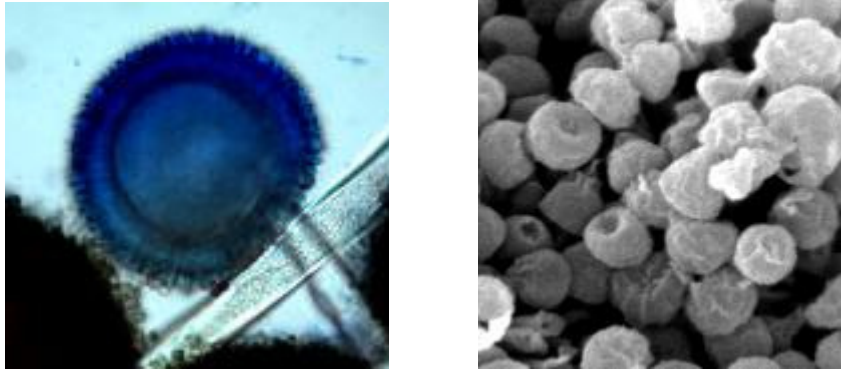


Abbildung 9: das linke Bild zeigt *Aspergillus niger* im Lichtmikroskop bei 400-facher Vergrößerung, das rechte die Sporen im REM bei 10.000-facher Vergrößerung¹⁷

Aspergillus niger (*A. niger*) ist ein Schimmelpilz der Gattung *Aspergillus*. Der Name kommt von seinen dunklen, fast schwarzen Sporen (siehe Abbildung 9). Dieser Schimmelpilz ist ein weit verbreiteter Lebensmittelverderber und kann auch Materialien wie Papier, Packstoffe, Leder, Farben, Kunststoffe und optische Gläser zerstören.¹⁸

Die durch *Aspergillus niger* hervorgerufenen Krankheiten umfassen neben Allergien auch Infektionen und Entzündungen. *Aspergillus niger* hat aber auch eine nutzbringende Eigenschaft. Durch diesen Schimmelpilz können organische Säuren wie Zitronensäure und Weinsäure großtechnisch hergestellt werden.

¹⁶ Bowman, M.S.; Free, S.J. *Bioessays* **2006**, *28*, 799-808.

¹⁷ Quelle der Abbildung: http://www.schimmel-schimmelpilze.de/images/aspergillus_niger_01_400x.jpg

¹⁸ Hof, H. *Pharmazie in unserer Zeit* **2003**, *32*, 96-103.

2.3.2 *Candida albicans*

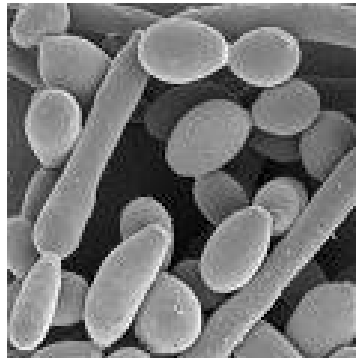


Abbildung 10: *Candida albicans*¹⁹

Dieser Pilz gehört zur Gruppe der Candida, die wiederum den Hefepilzen zuzuordnen sind. *Candida albicans* (*C. albicans*) ist der häufigste Erreger der Candidose und kann bei Menschen auf den Schleimhäuten von Mund und Rachen, im Genitalbereich (Soor), im Verdauungstrakt, aber auch bei gesunden Menschen gefunden werden.

Candida bildet unterschiedliche Wachstumsformen aus, wobei die Bildung von Pseudomyzelien und von echten Hyphen typisch für *Candida albicans* ist.²⁰

2.4 Antimikrobielle Wirkstoffe^{21,22}

Antimikrobielle Wirkstoffe oder Mikrobizide (auch Biozide) sind Substanzen, die Mikroorganismen, wie Bakterien, Pilze abtöten. Mikrobizide sind in vielen Systemen, wie Farben, Lacken, Reinigungsmitteln, Shampoos und Kosmetika, notwendige Inhaltsstoffe, um eine lange Haltbarkeit und eine gute Produktqualität zu gewährleisten. Diese antimikrobiellen Wirkstoffe lassen sich in verschiedene Substanzklassen einteilen. Eine gute Übersicht dazu liefern die Werke von W. Paulus²¹ und S.S. Block²², in denen die verschiedenen bioziden Substanzen und ihre Wirkungsweise erklärt werden.

¹⁹ Quelle der Abbildung: http://www.chuv.ch/imul/imu_collaborations_euresfun_candida_albicans.gif

²⁰ Nielsen, K.; Heitman, J. *Advances in genetics* **2007**, *57*, 143-73.

²¹ Paulus, W. *Microbicides for the protection of materials*, Chapman & Hall: London – Glasgow – New York – Melbourne – Madras, **1993**

²² Block, S.S. *Desinfection, Sterilization and Preservation*, Lea & Febiger, Philadelphia, **1983**

2.4.1 Wirksamkeit von Mikrobiziden

Bei Mikrobiziden unterscheidet man grundsätzlich zwischen membran- und elektrophilaktiven Wirkstoffen:

Alkohole, Säuren, Phenolderivate, Carbanilid und Salicylanilid, Dibenzamidine und oberflächenaktive Wirkstoffe zählen zu den membranaktiven Mikrobiziden. Diese wirken durch folgenden Mechanismus:

Die Cytoplasmamembran ist semipermeabel, eine Eigenschaft, die das Passieren von wichtigen Stoffen in und aus der Zelle kontrolliert. Wenn membranaktive Stoffe diese Membran belegen, wird diese Eigenschaft zerstört und es kommt so zum Ausströmen von intrazellulären Bestandteilen und zur Zerstörung der Zelle.

Zu den elektrophilaktiven Substanzen gehören Aldehyde, Substanzen mit einer aktiven Halogengruppe in der α -Position, Mikrobizide mit einer aktiven N-S-Bindung und Organometallverbindungen. Die Wirkungsweise dieser Wirkstoffe ist wie folgt:

Elektrophilaktive Wirkstoffe besitzen elektrophile Gruppen, die mit den nukleophilen Gruppen der Zelle, wie zum Beispiel Amin-, Thiol- und Amidgruppen von Aminosäuren, Proteinen oder Enzymen, in Wechselwirkung treten. Dadurch werden wichtige Stoffwechselforgänge der Zelle gestört, es kommt dann in weiterer Folge zu einer Inaktivierung des Wirkstoffs. Durch die Deaktivierung dieser elektrophilaktiven Mikrobizide ergibt sich ein entscheidender Unterschied zu membranaktiven Wirkstoffen, welche nicht deaktiviert werden und aufgrund dessen für weitere antimikrobielle Tätigkeiten zur Verfügung stehen und langlebig sind.

Die Wirksamkeit der unterschiedlichen Substanzklassen wird auch von Faktoren wie Temperatur, pH- Wert, Art und Konzentration des Wirkstoffs und Kontaktzeit beeinflusst.

2.4.2 Übersicht der verschiedenen Substanzklassen

2.4.2.1 Alkohole

Beispiele für Alkohole sind Ethanol, Isopropanol und n-Propanol, die ab einer Konzentration von 60-70% zu einer Abtötung von Bakterien führen. Sie werden als Desinfektionsmittel bei Händen, aber auch im kosmetischen, pharmazeutischen und klinischen Bereich angewendet. Die Wirkungsweise von Alkoholen basiert auf der Adsorption an die Cytoplasmamembran und der daraus resultierenden Denaturierung der Membranproteine, welche für wichtige Stoffwechselforgänge zuständig sind.

2.4.2.2 Aldehyde

Formaldehyd und Glutaraldehyd (Dialdehyd) sind sehr häufig eingesetzte Mikrobizide und gehören zu den elektrophilaktiven Wirkstoffen. Aufgrund ihres hautreizenden Potentials gelten diese im pharmazeutischen und kosmetischen Bereich als problematisch, weswegen immer häufiger darauf verzichtet wird.

2.4.2.3 Phenole

Wie in 2.4.1 erwähnt, gehören Phenole zu den membranaktiven Wirkstoffen. Sie belegen die Zellwand, attackieren und durchdringen diese. Halogenierte oder Alkyl- und Arylphenole haben als Biozid eine größere Bedeutung, da sie geringere Toxizität und höhere Wirksamkeit als Phenol aufweisen.^{23,24} Das Anwendungsgebiet der Phenolderivate ist breit gefächert.

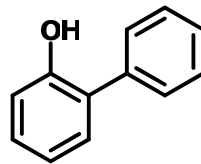


Abbildung 11: o-Phenyl-phenol (OPP)

Triclosan (siehe Abbildung 12) wird ebenfalls als Mikrobizid verwendet. Es steht jedoch unter Verdacht, Krebs auszulösen.²⁵

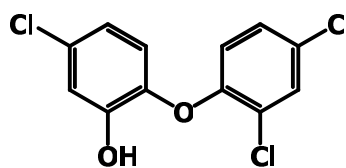


Abbildung 12: Triclosan

²³ Bean, S.; Haydn, D.G. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1967**, *19*, 197-204.

²⁴ Kassem, T.; Habib, O.; Hussein, M.; Eissa, A. *Hungar. J. Ind. Chem.* **1983**, *11*, 157-162.

²⁵ Adolfsson-Erici, M.; Pettersson, M.; Parkkonen, J.; Sturve, J. *Organohalogen Cpd* **2000**, *45*, 83-86.

2.4.2.4 Säuren

Auch organische und anorganische Säuren finden Einsatz als antimikrobielle Wirkstoffe. Besondere Bedeutung haben Ameisen- und Essigsäure. Vertreter der anorganischen Säuren sind Borsäure, schwefelige Säure und vor allem Natriumhydroxid.

2.4.2.5 Oberflächenaktive Substanzen - Tenside

James (1965) definierte oberflächenaktive Substanzen als Moleküle mit zwei verschiedenen Elementen, einem hydrophoben und einem hydrophilen Element. Abhängig von der Ladung der hydrophilen Gruppe klassifiziert man diese in anionische, kationische, amphotere und nichtionische Verbindungen. Anionische und nichtionische Verbindungen besitzen keine Bedeutung als Mikrobizide, kationisch quaternäre Ammoniumverbindungen (QAV) hingegen schon. Ein Beispiel für eine QAV als Mikrobizid ist Benzalkoniumchlorid (siehe Abbildung 13). In niedriger Konzentration wirkt Benzalkoniumchlorid bakteriostatisch (Wachstum der Bakterien wird gehemmt), in höherer Konzentration kommt es zu einer bakteriziden Wirkung.²⁶

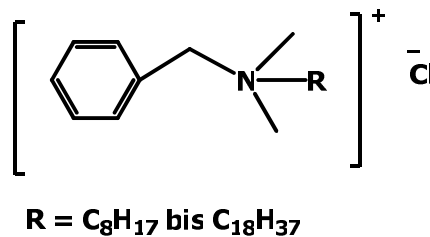


Abbildung 13: Benzalkoniumchlorid als Beispiel für QAV

2.4.2.6 Biguanide

Weitere Beispiele für kationische Mikrobizide sind Guanidine und Biguanidine, wie Chlorhexidin, welches für Mundspülungen²⁷, als Konservierungsmittel, in Deodorants und als Antiseptikum verwendet wird. Erst in höheren Konzentrationen von Chlorhexidin kommt es zu einer bakteriziden Wirkung.

²⁶ Kampf, G. *Hände-Hygiene im Gesundheitswesen*, Springer Verlag, **2003**

²⁷ Sekino, S.; Ramberg, P.; Uzel, N.; Socransky, S.; Lindhe, J. *Journal of Clinical Periodontology* **2003**, *30*, 919-925.

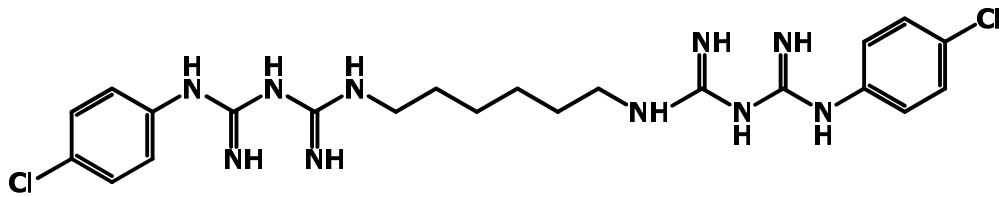


Abbildung 14: Chlorhexidin

2.4.2.7 Organometallverbindungen

Organometallverbindungen sind eine sehr potente Wirkstoffklasse. Metalle wie Quecksilber, Zinn, Kupfer und Silber kommen hier am häufigsten zum Einsatz. Tributylzinnverbindungen (TBT, Abbildung 15) wurden früher als antimikrobielle Komponenten in selbst reinigenden Oberflächen verwendet. Diese so genannten Anti-Fouling Anstriche sind zwar hochwirksame Biozide, sie besitzen jedoch so starke toxische Auswirkungen auf die Umwelt, dass diese Lacke seit 2003 nicht mehr zugelassen sind.^{28,29}

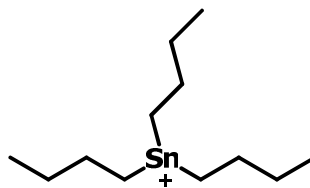


Abbildung 15: Tributylzinn (TBT)

Für die Umwelt weniger belastend als Zinnverbindungen und als antimikrobiell sehr wirksame Substanz erweist sich Silber, welches sehr häufig zur Wasserdesinfektion verwendet wird.³⁰ Dabei wird Silber in Zeolithe eingelagert, um eine kontrollierte Abgabe des Silbers an die Umwelt zu gewährleisten.

²⁸ Tiller, J. *Nachrichten aus der Chemie* **2007**, 55, 499-502.

²⁹ Breitscheidel, B.; Hartmut, H. BASF Aktiengesellschaft DE19916562, **1999**

³⁰ Ratte, H.T. *Silberverbindungen*, Springer Verlag, **1998**

2.5 Biozide Polymere

Die in herkömmlichen Desinfektionsmitteln vorkommenden antimikrobiellen Wirkstoffe besitzen eher geringes Molekulargewicht, wodurch die Anwendung teilweise zu Problemen führt. Zum einen können Bakterien Resistenzen gegenüber niedermolekularen Bioziden bilden. In diesem Fall wird das Biozid, bevor es antimikrobiell wirksam werden kann, durch die „microbial multidrug resistance pump“ (MDR) aus der Bakterienzelle gespült.³¹ Zum anderen tritt bei niedermolekularen Verbindungen das Problem der Rückstandstoxizität auf. Diese führt zu nachhaltigen Problemen in der Umwelt, die beispielsweise zu krebserregenden Verbindungen mit Wasser führen.

Aus diesem Grund ist man dazu übergegangen, Biozide mit einem höheren Molekulargewicht, Polymere, herzustellen. Diese sind im Gegensatz zu niedermolekularen Verbindungen nicht flüchtig oder löslich, chemisch stabil und weisen eine höhere Lebensdauer auf als niedermolekulare Verbindungen. Resistenzen von Bakterien gegenüber polymeren Wirkstoffen sind nicht bekannt.³¹

Angesichts dieser entscheidenden Vorteile hochmolekularer Verbindungen ist die Herstellung und Optimierung von bioziden Polymeren ein aktuelles Forschungsthema in der Chemie. Vor allem das breit gefächerte Einsatzgebiet dieser bioziden Materialien (es umfasst medizinischen Applikationen, Implantate, als auch Verwendungen im gesamten Verpackungsbereich³², Wasserrohre, Baustoffe etc.), steigert das Interesse, sich mit diesem aktuellen Themengebiet zu beschäftigen.

³¹ Tegos, G; Stermitz, F.R.; Olga Lomovskaya, O.; Kim Lewis, K. *American Society for Microbiology* **2002**, *46*, 3133-3141.

³² Quintavalla, S.; Vicini, L. *Meat Science* **2002**, *62*, 373-380.



Abbildung 16: Beispiele für Anwendungsgebiete biozider Polymere (von li. nach re. Lebensmittelverpackungen, Kniegelenk, Miniskusimplantat) ^{33,34,35}

2.5.1 Übersicht der polymeren Biozide ³⁶

Biozide auf Polymerbasis können auf unterschiedliche Weise wirken. Die meisten davon werden durch in Abbildung 17 ³⁷ dargestellte Konzepte realisiert:

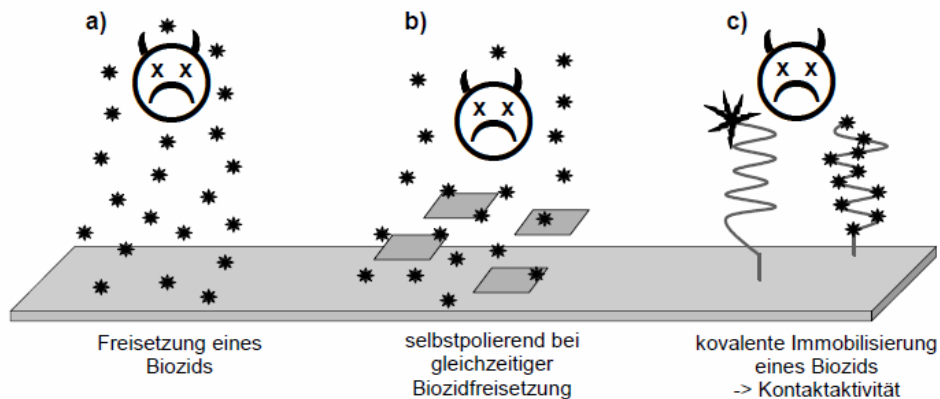


Abbildung 17: Cartoon zu bakteriziden Materialmodifikationen

³³ Quellen der Abbildung: http://www.ormocer.de/fhg/Images/o3_2a_tcm262-55813.jpg

³⁴ Quelle der Abbildung:

http://www.n24.de/media/import/dpainfoline/dpainfoline_20081125_14/671_19647422originallarge-4-3-800-46-0-2500-1838.jpg

³⁵ Quelle der Abbildung: http://www.zimmergermany.de/nachrichten/bilder/knie_mit_implantat.jpg

³⁶ Appendini, P.; Hotchkiss, J.H. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **2002**, *3*, 113-126.

³⁷ Dissertation Ch. Waschinski Synthese, *Charakterisierung und Untersuchung der Wirksamkeitsparameter bakterizider Poly(opxazoline) und damit modifizierter Polymernetzwerke*, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, **2007**

Die erfolgreichste, kommerzielle Anwendung sind Biozide wie Sauerstoff- oder Feuchtigkeitsabsorber, die direkt ins Verpackungsmaterial inkludiert werden. Auch Ethanol dampfbildner werden als Biozid in Verpackungen eingesetzt. Dabei soll der gebildete Alkoholdampf Mikroorganismen abtöten [Abbildung 17 **a**].

Biozide Polymere können aber auch durch Einarbeiten von Silber oder Kupfer in Polymerblends generiert werden. Beispiele dafür sind mit Ag-Zeolithen versetzte Polymere wie Polyethylen oder Polypropylen. Diese Polymere geben in kontinuierlichen Abständen Wirkstoff an die Umgebung ab. Anwendungsgebiete sind beispielsweise Kühlschränke [[Abbildung 17 **b**]].

Eine weitere Möglichkeit in der Synthese von polymeren Bioziden ist die Beschichtung der Polymeroberfläche mit Wirkstoffen. Dies kann mit Hilfe von verschiedenen Methoden, wie etwa Surface-Grafting oder Immobilisierung durch Bindung, verwirklicht werden. Bei der Bindungsbildung werden Funktionalitäten an beiden Seiten, dem Polymer und der bioziden Spezies, ausgenützt, um eine geeignete Vernetzung zu generieren [[Abbildung 17 **c**]].

Darüber hinaus gibt es Polymere, die von Natur aus mikrobizide Eigenschaften aufweisen. Darunter fallen zum Beispiel Biopolymere wie Chitosan, welches in Kapitel 2.5.2 näher erläutert wird.

Zur Theorie der Wirkungsweise dieser Polymere werden verschiedene Modelle diskutiert, wie zum Beispiel das barrel-stave Modell, das Toroid Modell und der Carpet Mechanismus.^{38,39,40} In allen drei Modellen wird von einer elektrostatischen Wechselwirkung zwischen den negativ geladenen Phospholipiden der Membran und den positiv geladenen mikrobiziden Polymercompounds gesprochen. Eine exzellente und detaillierte Beschreibung dieser Modelle lieferten Brogden et al. in einem Review.⁴¹

In den nachstehenden Abbildungen sieht man die wahrscheinliche Wirkungsweise, ausgelöst durch die elektrostatische Wechselwirkung zwischen dem polymeren Wirkstoff und der Cytoplasmamembran der Mikroorganismen.⁴²

³⁸ Pasquier, N.; Keul, H.; Heine, E.; Moeller, M. *Macromol.Biosci.* **2008**, *8*, 903-915.

³⁹ Toke, O.; Cegelski, L.; Schaefer, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, *1758*, 1314-1329.

⁴⁰ Sato, H.; Feix, J.B. *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, *1758*, 1245-1256.

⁴¹ Brogden, K.A. *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, *3*, 238-250.

⁴² Ikeda, T. *CRC Press* **1991**, *42*, 743-746.

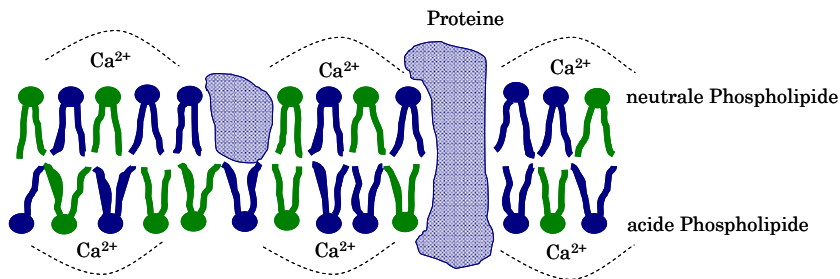


Abbildung 18: Cytoplasmamembran von Bakterien entsprechend dem Fluid Mosaic Modell, stabilisiert durch Calcium-Ionen und verteilte Phospholipide

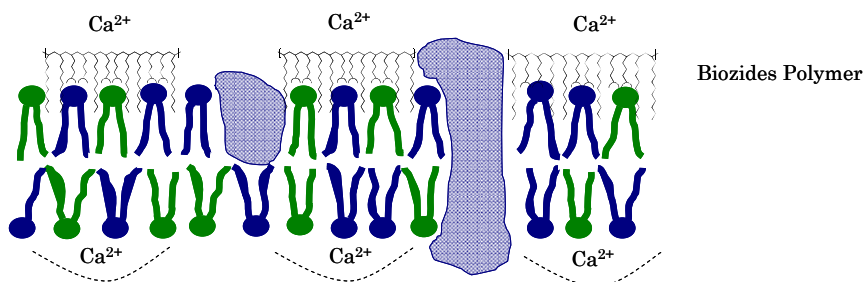


Abbildung 19: Verdrängung von gebundenem Calcium und Anbinden von PHMB an die Phospholipide

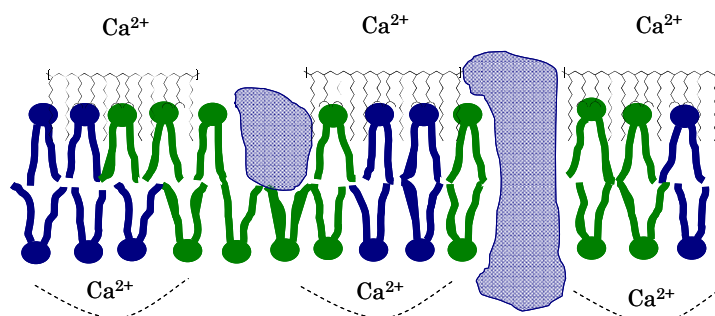


Abbildung 20: PHMB-induzierte Phasenseparation von geladenen und ungeladenen Lipiden

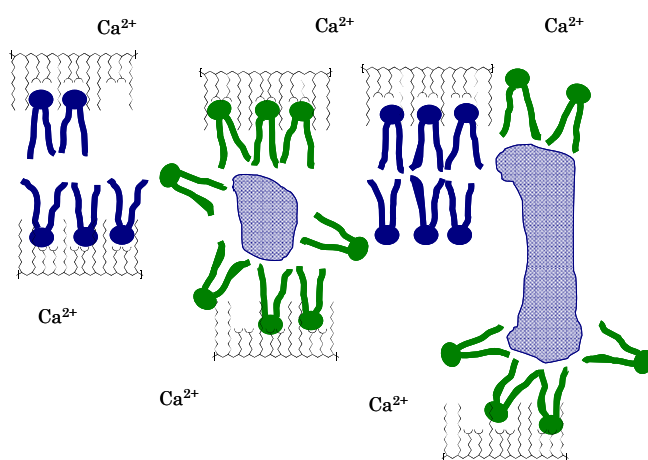


Abbildung 21: Zerfall der Cytoplasmamembran, hervorgerufen durch die Phasenseparation

Eine gute Übersicht geben Kenawy et al.⁴³ in einem Artikel über biozide Polymere, in dem angeführt wird, dass ein ideales biozides Polymer (1) leicht und günstig zu synthetisieren, (2) langzeitstabil und (3) nicht löslich in Wasser sein soll. Weiters soll dieses Biozid (4) keine toxischen Komponenten besitzen und/oder freisetzen, (5) keine toxischen Auswirkungen bei der Verarbeitung und (6) ein breites Wirkungsspektrum bei kurzen Kontaktzeiten aufweisen. Um biozide Polymere ihrer Anwendung entsprechend optimieren zu können, müssen Faktoren wie Ladung, passende Hydrophilie/Hydrophobie oder Molekulargewicht der Anwendung entsprechend generiert und optimiert werden. Im Folgenden werden diese etwas näher erläutert und erklärt:

Molekulargewicht

Die biozide Aktivität nimmt mit steigendem Molekulargewicht zu. Bei sehr langen Ketten kann es jedoch auch wieder zu einer Abnahme der Aktivität kommen. Experimentelle Untersuchungen dahingehend wurden von Ilker et al. an amphiphilen kationischen Polynorborenderivaten durchgeführt.^{44,45,46}

Sterische Effekte

Effekt der Spacer-Länge und der Alkylkette: Um eine optimale Wechselwirkung zwischen Polymer und Cytoplasmamembran zu gewährleisten, müssen Spacer-Länge und Alkylkette auf das jeweilige Konzept/Biozid abgestimmt werden.⁴⁷ Zu lange Seitenketten könnten eine sterische Abschirmung und eine damit verbundene, geringere biozide Wirksamkeit begünstigen.

Effekt der Amphiphilie

Wie aus der Literatur bekannt, ist es notwendig, einen Kompromiss zwischen hydrophilen und lipophilen Eigenschaften des bioziden Polymers zu finden. Grund dafür ist die Amphiphilie der Cytoplasmamembran. Um die Wechselwirkung zwischen Biozid und Mikroben zu steigern, wird das Polymer durch geeignete Spacer und Seitenketten funktionalisiert.⁴³

⁴³ Kenawy, E.-R.; Worley, S.D.; Broughton *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1359-1384.

⁴⁴ Ilker, M.F.; Nüsslein, K.; Tew, G.N.; Coughlin, E.B. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15870-15875.

⁴⁵ Ikeda, T.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S. *Antimicrob. Agents Chemother* **1984**, *26*, 139-144.

⁴⁶ Ikeda, T.; Hirayama, H.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S.; Watanabe, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1986**, *30*, 132-136.

⁴⁷ Ikeda, T.; Hirayama, H.; Suzuki, K.; Yamaguchi, H.; Tazuke, S. *Makromol. Chem.* **1986**, *187*, 333-340.

Ladung

In zahlreichen wissenschaftlichen Arbeiten wurde nachgewiesen, dass die Ladung die Wirksamkeit von antimikrobiellen Polymeren beeinflusst. Die positive Ladung ist ein wichtiger Gesichtspunkt, um biologische Aktivität zu erhalten. Lienkamp und Tew beschreiben diesen Einfluss.⁴⁸ Zusammenfassend lässt sich mit Sicherheit sagen, dass die Anwesenheit einer Ladung die Anziehung zwischen Bakterien und Polymer deutlich erhöht und damit die Wirkung verbessert. Auch die Quantität spielt hier eine entscheidende Rolle.

Diese Faktoren sind nur einige unter vielen. Je nach Polymerarchitektur werden unterschiedliche Parameter die Eigenschaften und damit auch die Wirksamkeiten prägen. Zurzeit ist der Mechanismus der Wechselwirkungen zwischen Membran und Polymer noch nicht vollständig geklärt, wodurch es auch nicht möglich ist, eine Wirksamkeit für biozide Polymere vorherzusagen.

2.5.1.1 Kontaktbiozide auf Polymerbasis

Eine schon zuvor erwähnte Möglichkeit der Erzeugung (siehe 2.5.1) von polymeren Bioziden ist die Synthese von kontaktaktiven Wirkstoffen. Diese haben im Vergleich zu anderen polymeren Wirkstoffen den Vorteil, dass keine Kontamination der Umgebung durch Freisetzung des Biozids stattfindet. Genau aus demselben Grund ist auch ein Verbrauch des Wirkstoffs nicht möglich.⁴⁹

Kontaktbiozide wurden beispielsweise von J.C.Tiller et al. synthetisiert.^{28,50} Dafür wurde Poly-4-vinyl-N-hexylpyridinium auf Glasobjektträger gepropft. Ohne dabei Biozid freizusetzen, wurden gute antibakterielle Aktivitäten gegen *S. aureus*, *E. coli* und *Pseudomonas aeruginosa* erreicht. Quartäre Polyethylenimine und Polyacrylate zeigten ebenfalls antibakterielle Wirkung.

Nicholas Pasquier et al. generierten ebenfalls antimikrobielle Wirkstoffe mit amphiphilen Eigenschaften. Ausgehend von Polyethylenimin wurden kationisch, amphiphile Polymere mit bioziden Eigenschaften generiert. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der kationischen Gruppen im Polymer ausschlaggebend für die antibakterielle Aktivität ist. Weiters kamen sie zum Ergebnis, dass Alkylketten (14 oder 16 C-Atome) in der Seitenkette nicht aktiver sind als Ketten mit 12 Kohlenstoffatomen.

⁴⁸ Lienkamp, K.; Tew, G.N. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11784-11800.

⁴⁹ Waschinski, C.J.; Salz, U.; Zimmermann, J.; Tiller, J.C. *Polymer Preprints* **2006**, *47(2)*, 13-14.

⁵⁰ Tiller, J.C.; Liao, C.-J.; Lewis, K.; Klivanov, A.M. *PNAS* **2001**, *98(11)*, 5981-5985.

2006 haben Jayanta Haldar et al.⁵¹ Polymere, wie N,N-dodecyl-methylpolyethylenimin und andere protonierte und deprotonierte Polyamine, entwickelt. Diese Polymere töteten mit einer Wirksamkeit von 100 % den Influenza Virus innerhalb von wenigen Minuten ab. Herausragende Resultate wurden auch bei den Bakterien *E. coli* und *S. aureus* erzielt, welche innerhalb kurzer Zeit getötet werden konnten.

El-Refaie Kenawy et al.⁵² synthetisierten ein vernetztes Copolymer, aufgebaut aus Vinylbenzylchlorid und 2-Chloroethylvinylether oder Methylmethacrylat. Als Crosslinker wurde Divinylbenzen verwendet. Das Copolymer wurde durch Quarternisierung mit Triphenylphosphin und Triethylamin modifiziert. Die daraus entstandenen Copolymere wurden auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit gegen verschiedene Mikroorganismen (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum* und *Candida albicans*) getestet, wobei sie gute antimikrobielle Aktivitäten aufwiesen.

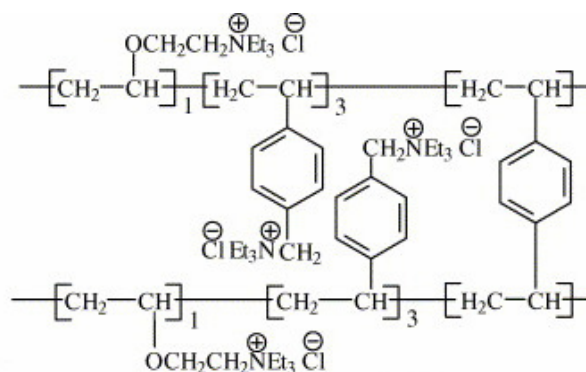


Abbildung 22: Copolymer von El-Refaie Kenawy et al. mit antimikrobieller Aktivität⁵³

Die Arbeitsgruppe von Gregory N. Tew synthetisierte eine Reihe an potenten Polymeren durch Verwendung von ringöffnender Metathesepolymerisation (ROMP).^{54,55,56,57,58} Karen

⁵¹ Haldar, J.; An, D.; Alvarez de Cienfuegos, L.; Chen, J.; Klibanov, A. M. *PNAS* **2006**, *103*(47),17667-17671.

⁵² Kenawy, E.-R.; Abdel-Hay, F. I.; El-Magd, A. A.; Mahmoud, Y. *Reactive and Functional Polymers* **2004**, *66*(4), 419-429 .

⁵³ Quelle der Abbildung: siehe ⁵²

⁵⁴ Colak, S.; Nelson, C.F.; Nüsslein, K.; Tew, G.N. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 353-359.

⁵⁵ Sterling, F.A.; Lienkamp, K.; Madkour, A.E.; Tew, G.N. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 6672-6676.

⁵⁶ Al-Badri, Z. M.; Som, A.; Lyon, S.; Nelson, C. F.; Nüsslein, K.; Tew, G. N. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2805-2810.

⁵⁷ Gabriel, G. J.; Maegerlein, J. A.; Nelson, C. F.; Dabkowski, J. M.; Eren, T.; Nüsslein, K.; Tew, G. N. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 433-439.

⁵⁸ Lienkamp, K.; Tew, G.N. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11784-11800.

Lienkamp⁵⁹ et al. entwickelten eine Bibliothek von amphiphilen, antibakteriellen Polymeren und Copolymeren (siehe Abbildung 23). Dabei wurde unter anderem gezeigt, dass das Molekulargewicht maßgebend für die Aktivität dieser Polymere ist.

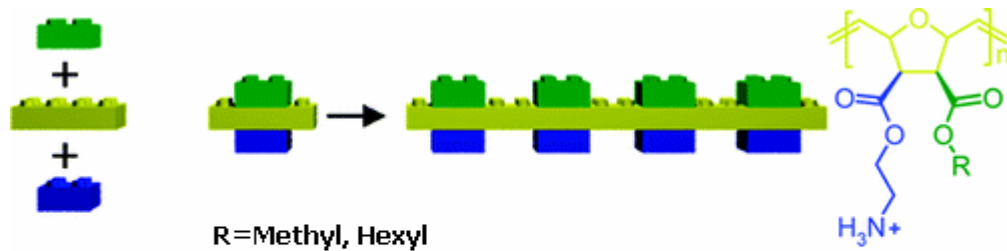


Abbildung 23: ROMP synthetisiertes amphiphiles Polymer⁶⁰

G. Seyfriedsberger et al.⁶¹ stellten ein Polymerblend aus 2-tert-Butylaminoethylmethacrylat her. Polymere dieser Art wurden von der Firma Degussa-Creavis als bakterizide Wirkstoffe vorgestellt (Amina T100).^{62,63} Amina T100 wurde mit LLDPE (low linear density polyethylene) zu 1,5, 3 und 5wt% bei 215°C compoundiert. Die antibakterielle Messung dieser Compounds ergab gute biozide Wirksamkeit gegen *S. aureus* und *E. coli*, wobei die Wirksamkeit gegen *E. coli* geringer war als gegen *S. aureus*.

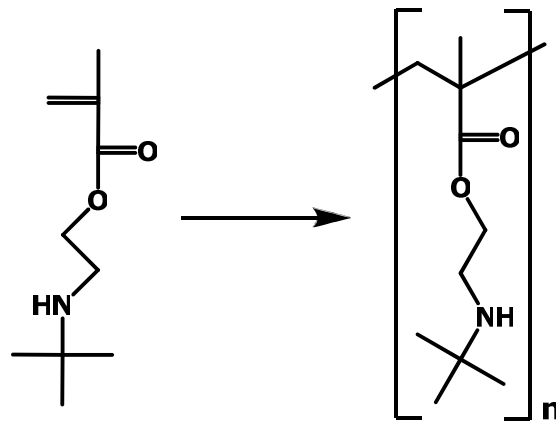


Abbildung 24: 2-tert-Butylaminoethylmethacrylat (poly(2-tert-butylaminoethyl)methacrylate)

⁵⁹ Lienkamp, K.; Madkour, A.E.; Musante, A.; Nelson, C.F.; Nüsslein, K.; Tew, N.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9836-9843.

⁶⁰ Quelle der Abbildung: siehe ⁵⁹

⁶¹ Seyfriedsberger, G.; Rametsteiner, K.; Kern, W. *Eur. Polym. J.* **2006**, *42*(12), 3383-3389.

⁶² Ottersbach, P.; Sosna, F. *F. Patent* No. DE10022453, **2001**

⁶³ Ottersbach, P.; Kossmann, B. *GIT Labor Fachzeitschrift* **2002**, *46*(4), 452-460.

Amina T100 ist in Wasser unlöslich, löst sich jedoch in den meisten organischen Lösungsmitteln. Das Polymer wird vom Hersteller als Kontaktbiozid beschrieben, wobei der Wirkungsmechanismus auch hier nicht vollständig geklärt ist. Man vermutet, dass eine Teilprotonierung der Seitenkette zur antibakteriellen Wirkung führt.

Jérôme et al. compoundingen 10wt% Amina T100 ebenfalls in Polyethylen mittels Extruder bei 140°C. Die antibakteriellen Tests gegen E. coli zeigten eine gute Wirksamkeit des Polymers.⁶⁴

2.5.2 Biopolymere⁶⁵

Biopolymere sind Polymere, die in der Natur vorkommen. Beispiele dafür sind Proteine, Peptide, Nucleinsäuren, Polysaccharide, Lipide, Polyglucosamine, etc. Biokunststoffe werden zu Formteilen und Folien verarbeitet und dienen als Material für Verpackungen und medizinische Applikationen. Aufgrund ihrer biologischen Abbaubarkeit rücken Biopolymere immer mehr in das Licht des Forschungsinteresses. Diese biologisch abbaubaren Polymere kann man in folgende Gruppen unterteilen:

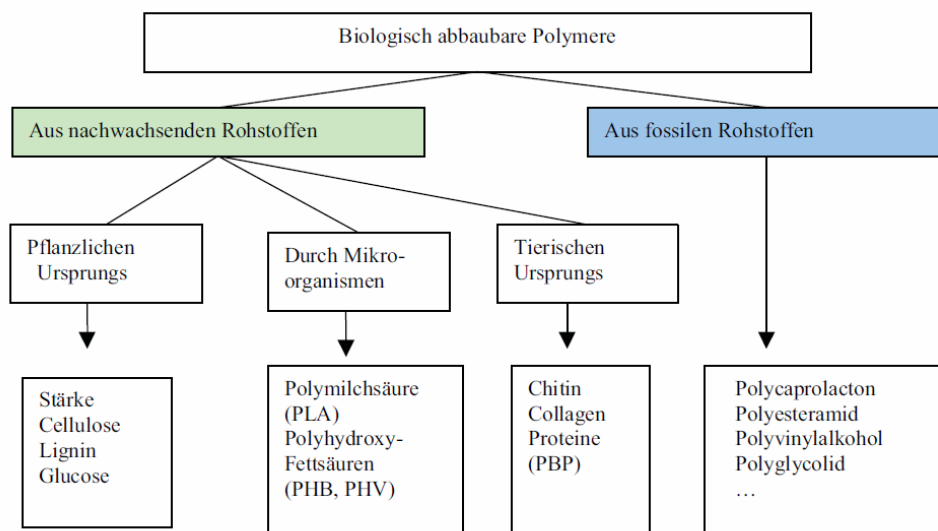


Abbildung 25: Übersicht über biologisch abbaubare Polymere⁶⁶

⁶⁴ Lenoir, S.; Pagnouille, M.; Galleni, P.; Compere, P.; Jérôme R.; Detrembleur, S. *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 2291-2296.

⁶⁵ Endres, H.J.; Siebert-Raths, A. *Technische Biopolymere*, Hanser-Verlag, München, **2009**

2.5.3 Chitosan⁶⁷

Chitosan ist ein kostengünstiger, effektiver und antibakterieller Wirkstoff, der aus Chitin gewonnen werden kann. Chitin gehört zu den Polysacchariden und kommt sowohl bei Weich- und Gliedertieren als auch bei Pilzen vor. Die Synthese erfolgt durch Deacetylierung des Chitins mittels 40-50% Alkalilösung bei 100-160°C (siehe Abbildung 26). Chitosan besteht aus β -1,4-glykosidisch verknüpften N-Acetylglucosaminresten und ist ein farbloser, amorpher, zäher Stoff.

Chitosan wird im Textilbereich, in der Medizin, in der Kosmetik und Pharmakologie, aber auch in Nahrungsergänzungsmitteln als Fettblocker eingesetzt.

Genauere Anwendungsbereiche und Wirkungsweisen von Chitosan und dessen Derivaten kann man in einem Übersichtsartikel von Entsar I. Rabae et. al. nachlesen.⁶⁸

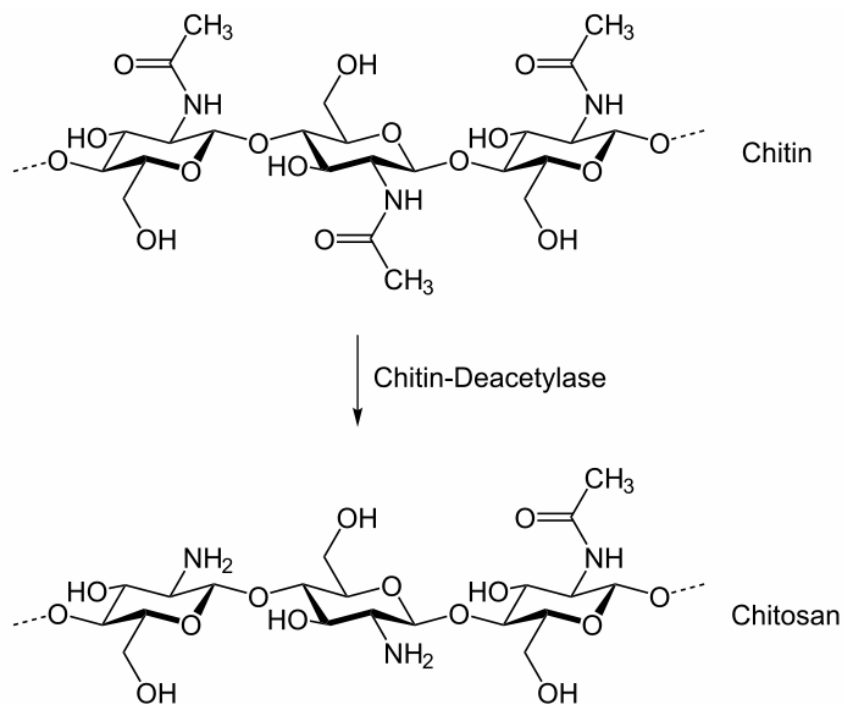


Abbildung 26: Chitosan-Syntheseweg⁶⁹

⁶⁶ Quelle der Abbildung: http://www.nachhaltigwirtschaften.at/nw_pdf/0614_nachwachsende_biopolymere.pdf

⁶⁷ Enescu, D. *Roumanian Biotechnological Letters* **2008**, *13*, 4037-4048.

⁶⁸ Rabae, E.I.; Badawy, M.E.-T.; Stevens, C.V.; Smaghe, G.; Steurbaut, W. *Biomacromolecules* **2003**, *4*(6), 1457-1465.

⁶⁹ Quelle der Abbildung: <http://de.wikipedia.org/wiki/Chitosan>

2.6 Diels Alder Cycloaddition

Diels Alder Reaktionen sind ein Spezialfall der allgemeineren Klasse von Cycloadditionsreaktionen von π - Systemen. Es ist eine [4+2]-Cycloaddition, weil ein vieratomiges π -System mit einem zweiatomigen π -System reagiert. Diese Reaktion ist besonders bedeutend, weil zwei neue Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen erzeugt werden. Dabei reagiert ein konjugiertes Dien mit einer Verbindung, die eine C=C-Bindung enthält. Die letzte Verbindung wird als Dienophil („Doppelbindungsliebend“) bezeichnet.

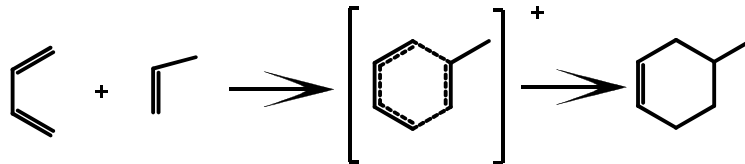


Abbildung 27: Allgemeine Diels Alder Reaktion mit cyclischem Übergangszustand und Bildung der neuen Doppelbindung

Die Reaktivität dieses Dienophils wird durch elektronenziehende Gruppen erhöht. Elektronenziehende Gruppen sind zum Beispiel Carbonylgruppen oder Nitrilgruppen, welche der olefinischen Doppelbindung Elektronen entziehen und dadurch die Reaktion in Gang setzen. Handelt es sich um cyclische Diene, wie beispielsweise Cyclopentadien so ist das Produkt der Diels Alder Reaktion eine verbrückte bicyclische Verbindung. Für diese verbrückten Verbindungen existieren 2 Formen der Produkte, weil der Substituent der Doppelbindung von der Doppelbindung weg (*exo*-Form) oder zur Doppelbindung hin zeigen kann (*endo*-Form). Das *endo*-Produkt bildet sich schneller, was auf sterische und elektronische Einflüsse zurückzuführen ist.

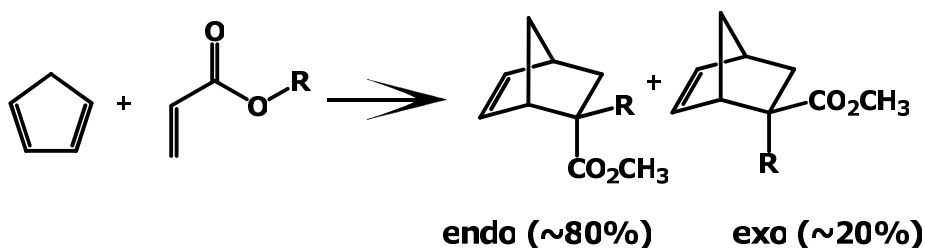


Abbildung 28: Diels Alder Reaktion von cyclischen Verbindungen und Bildung von bicyclischen Produkten

2.7 Olefinmetathese

Anfang der fünfziger Jahre beschäftigten sich Karl Ziegler und Giulio Natta sehr eingehend mit der Schnittstelle zwischen metallorganischer und makromolekularer Chemie. Diesen Arbeiten ist eine bis dahin unbekannte Reaktion zu verdanken, die Olefin-Metathese.

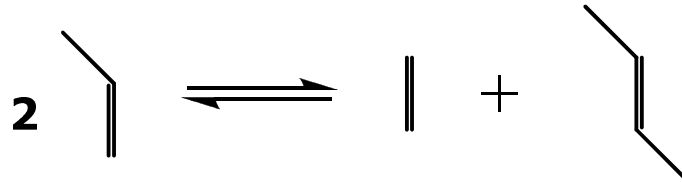


Abbildung 29: Olefin-Metathese

Diese Olefin-Metathese wurde erstmals in Form einer ringöffnenden Metathese-Polymerisation (ROMP) bei Norbornen beobachtet. Im Gegensatz zu anderen Polymerisationsarten (radikalische, anionische, kationische oder Ziegler-Natta-Polymerisationen) bleibt die Gesamtzahl an Doppelbindungen erhalten.

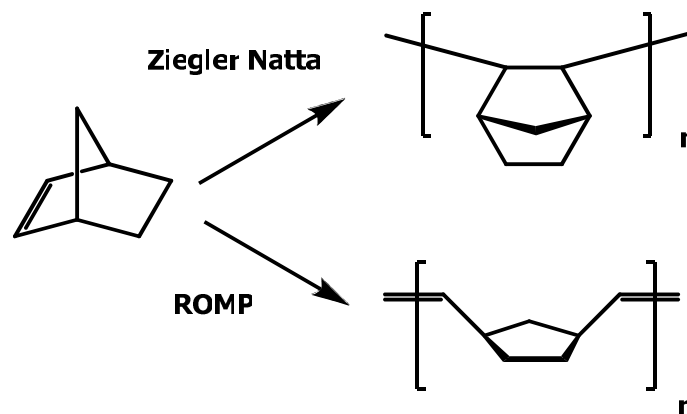


Abbildung 30: Polymerisation von Norbornen nach Ziegler-Natta und mittels ROMP

Wie in Abbildung 31 ersichtlich, lagert sich in der ersten Stufe das Alken an die Doppelbindung des Metallderivates an und es kommt zu einer Zwischenstufe, in der sich ein Cyclobutadien bildet. In der Folge kommt es zum Bindungsbruch und zur Bildung einer neuen Doppelbindung. Der letzte Schritt ist ein irreversibler Schritt.⁷⁰

⁷⁰Phillips, A.J.; Abell, A.D. *Aldrichimica Acta* **1999**, 32(3), 75-90.

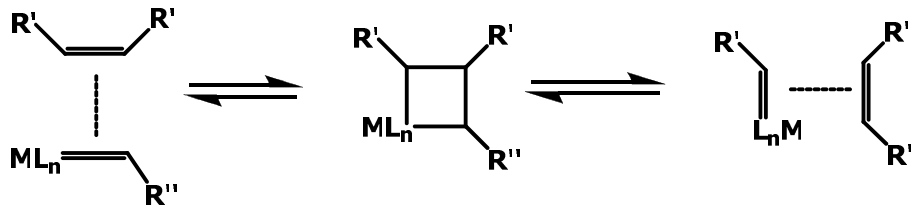


Abbildung 31: schematische Darstellung des Metathese-Mechanismus

2.7.1 Arten der Metathese

Man kann die Olefin-Metathese in verschiedene Arten unterteilen, wozu die Ringöffnende Metathese-Polymerisation (ROMP), die Ringschluss-Metathese (RCM), die acyclische Dienmetathese-Polymerisation (ADMET), die Ringöffnende Metathese (ROM) und die Cross Metathese (CM) gehören.

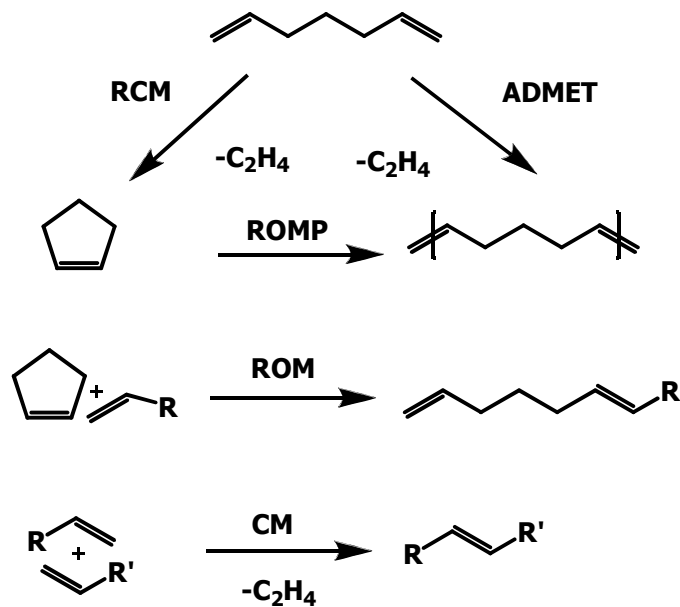


Abbildung 32: Olefin Metathese- Reaktionen

2.7.1.1 RCM - Ringschlussreaktion

Die Ringschlussmetathese hat in der organischen Chemie große Bedeutung für die Bildung von Ringsystemen, wobei bevorzugt Sechsringe gebildet werden.⁷¹ Bei der Wahl der richtigen Reaktionsbedingungen können jedoch auch andere Ringe gebildet werden.

2.7.1.2 ADMET - Acyclische Dienmetathese-Polymerisation

Diese intermolekulare Reaktion ist eine Kondensation terminaler Diene, die hochwertige Polymere mit vielseitig einsetzbaren Reaktionen hervorbringt.⁷² Dabei wird als Endprodukt Ethen frei, womit das Gleichgewicht in Richtung des Polymers verschoben wird. Ethen ist bei Raumtemperatur ein Gas und lässt sich aus diesem Grund sehr einfach vom Reaktionsgemisch entfernen.

2.7.1.3 CM - Cross-Metathese

Bei dieser Art der Metathese handelt es sich um eine katalysierte Addition von zwei Alkenen. Auch hier kommt es zu Bildung von Ethen als Coprodukt.

2.7.1.4 ROMP - Ringöffnende Metathesepolymerisation⁷³

ROMP von Olefinen hat sich als eine sehr wichtige, leistungsstarke Methode in der Synthese von Polymeren entwickelt. Die treibende Kraft der ROM-Polymerisation ist der Verlust an Ringspannung, weshalb sich auch der Ring mit der größten Ringspannung öffnet. Dabei werden cyclische Alkene unter Erhalt der Doppelbindungen geöffnet und in ein Polymer umgewandelt. Dies resultiert in Doppelbindungen in der Hauptkette und dadurch zu Möglichkeiten der Variation in der Polymerarchitektur. Eine weitere Besonderheit von ROMP-Polymeren ist die Tatsache, dass es eine lebende Polymerisation ist. Diese zeichnet sich nach Verbrauch des Monomers durch ein aktives Kettenende aus. Es findet also im Idealfall keine Übertragungs- oder Abbruchreaktion statt. Durch die genannten Vorteile dieser Polymerisationstechnik ist es möglich, unterschiedlichste Polymere verschiedener Eigenschaften zu synthetisieren, was zum Beispiel auch die Synthese von Blockcopolymeren ermöglicht.

⁷¹ Khosravi, E. *Ring opening metathesis polymerisation and related chemistry*, Springer, **2002**

⁷² Solmaz, K.; Cemil, A.; Bülent, D.; İmamoglu, Y. *Journal of Molecular Catalysis A* **2006**, 254(1-2), 186-191.

⁷³ Bielawski, C.W.; Grubbs, R.H. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, 32, 1-29.

2.7.1.4.1 Monomere für ROMP

Es gibt eine große Bandbreite an einsetzbaren Monomeren, wobei die meisten Monomere cyclische Olefine sind, die eine hohe Ringspannung aufweisen. Aufgrund des niedrigen Preises und der hohen Ringspannung sind Norbornene sehr häufig eingesetzte Monomere in der ROMP. Als eines der ersten hergestellten ROM-Polymere⁷⁴ ist das Einsatzgebiet von Polynorbornenen sehr breit gefächert. Es reicht von Materialien für elektrochemisch basierende Diagnostik über Chromophore für Leuchtdioden bis hin zu Dentalmaterialien, Flüssigkristallen⁷⁵ und vielen mehr.

Norbornenderivate können mittels Diels-Alder Reaktionen ([4+2]-Cycloaddition, siehe 2.6) aus Cyclopentadien und einem Dienophil synthetisiert werden. Durch die Wahl des geeigneten Dienophils können verschiedenste Seitenketten und dadurch unterschiedliche Eigenschaften am Norbornen implementiert werden. Es gibt jedoch auch eine Reihe an kommerziell erhältlichen, substituierten Norbornenen. Abbildung 33 zeigt verschiedene Norbornen-Architekturen.

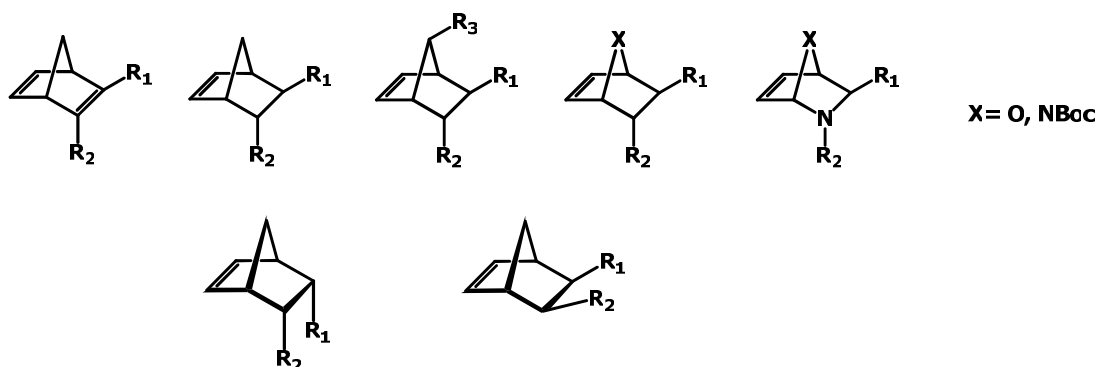


Abbildung 33: verschiedene Norbornenderivate

2.7.1.4.2 Initiatoren für ROMP

Die Fortschritte in ROMP können auf herausragende Arbeiten einer Vielzahl von Wissenschaftlern zurückgeführt werden. Erste Initiatoren basierend auf Wolfram oder Molybdän wurden von Schrock et. al. eingeführt.^{76,77} Diese Initiatoren zeigen jedoch einerseits eingeschränkte Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen andererseits hohe Sensitivität in Hinblick auf protische Lösungsmittel und Luft. Diese Einschränkungen konnten durch die Einföh-

⁷⁴ Trimmer, M.S. *Commercial Application of Ruthenium Olefin Metathesis Catalysts in Polymer Synthesis*, chap. 3.12 in vol.3 of *Handbook of Metathesis*, ed. Grubbs, R.H., Wiley-VCH, Weinheim, **2003**

⁷⁵ Myles, A.J.; Zhang, Z.; Liu, G.; Branda, N.R. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2749-2751.

⁷⁶ Schrock, R.R.; Hoveyda, A.H. *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4740-4782.

⁷⁷ Schrock, R.R.; Hoveyda, A.H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4592-4633.

rung der Ruthenium-basierenden Katalysatoren abgebaut werden. Erste repräsentative und heute kommerziell erhältliche Initiatoren waren die von Grubbs et al., die 1st Generation (**G1**, (PCy₃)₂(Cl)₂Ru=CH(Ph)).⁷⁸ Ein analoger Komplex ist der sogenannte Neolyst **M1**, der einen Indenyliden-Liganden statt eines Benzyliden-Liganden (**M1**, (PCy₃)₂(Cl)₂Ru(3-phenylindenylid-1-en)) aufweist.⁷⁹ Diese 1st Generation weist jedoch verglichen mit den Schrock-Komplexen eine geringere Aktivität auf. Die daraus entwickelte sogenannte 2nd Generation sind Initiatoren, die ein N-heterozyklisches Carben (NHC) statt eines der Phosphin-Liganden besitzen. Der am häufigsten verwendete NHC-Ligand ist der H₂IMes (N,N-bis(mesityl)-4,5-dihydro-imidazol-2-ylidene)- Typ. Zwei verschiedene Typen dieser 2nd Generation sind der „Super-Grubbs“ Katalysator (**G2**, (H₂IMes)(PCy₃)(Cl)₂Ru=CH(Ph))⁸⁰ und das Indenyliden-Analog (**M2**, (H₂IMes)(PCy₃)(Cl)₂Ru(3-phenylindenylid-1-ene))⁸¹. Nachteil dieser 2nd Generation von Grubbs und Neolyst ist die unvollständige Initiation, was in hohen Polydispersitätsindizes und breiten Molekulargewichtsverteilungen resultiert. Auch die Gewährleistung einer lebenden Polymerisation ist bei Anwendung dieser Initiatoren meist nicht vollständig gegeben. Entscheidende Entwicklungen für die lebende Polymerisation ergaben sich durch die Einführung einer dritten, Phosphin-freien Generation, der 3rd Generation (**G3**, (H₂IMes)(pyridine)₂(Cl)₂Ru=CH(Ph)⁸²; **M31**, (H₂IMes)(pyridine)(Cl)₂Ru(3-phenylindenylid-1-ene)⁸³). Durch die Einführung der 3rd Generation wurden schnelle Initiierung, hohe Aktivität, Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen, Sauerstoffstabilität und lebende Polymerisation gewährleistet.^{84,85} Die Strukturunterschiede der verschiedenen Generationen sind in Abbildung 34 und Abbildung 35 ersichtlich.

⁷⁸ Schwab, P.; France, M. B.; Ziller, J. W.; Grubbs, R. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 2039.

⁷⁹ Jafapour, L.; Schanz, H. J.; Stevens, E. D.; Nolan, S. P. *Organometallics* **1999**, *18*, 5187-5190.

⁸⁰ Scholl, M.; Trnka, T. M.; Morgan, J. P.; Grubbs, R. H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2247-2250.

⁸¹ Fürstner, A.; Thiel, O. R.; Ackermann, L.; Schanz, H.-J.; Nolan, S. P. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2204-2207.

⁸² Slugovc, C.; Demel, S.; Stelzer, F. *Chem. Commun.* **2002**, 2572-2573.

⁸³ Burtscher, D.; Lexer, C.; Mereiter, K.; Winde, R.; Karch, R.; Slugovc, C. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 4630-4635.

⁸⁴ Love, J.A.; Morgan, J.P.; Trnka, T.M.; Grubbs, R.H. *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4207-4209.

⁸⁵ Love, J.A.; Morgan, J.P.; Trnka, T.M.; Grubbs, R.H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4035-4037.

Die ROMP von Olefinen wird von einer Reihe von Faktoren beeinflusst. Dazu zählen Temperatur, Lösungsmittel und der geeignete Initiator, aber auch Reaktionszeit und Additive sind potentielle Reaktionsbeeinflusser. Slugovc⁸⁷ erklärt in einem Übersichtsartikel die Einflüsse durch die zuvor genannten Parameter. Dadurch ist es möglich, maßgeschneiderte Reaktionen für verschiedene Monomere durchzuführen, um die gewünschten Polymere zu erhalten.

2.8 CROP (cationic ring-opening polymerization)

Die CROP gehört ebenfalls zur Gruppe der ringöffnenden Polymerisationen und ist eine Form der Additions-Polymerisationen, wobei das reaktive Zentrum der Propagierungskette ein Carbokation ist. Auch diese Polymerisationsmethode weist den entscheidenden Vorteil einer lebenden Polymerisation auf.

Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet begannen bereits 1966⁸⁸ und führten zu einer Reihe von viel versprechenden Einsatzmöglichkeiten, wie Hydrogele, Lebensmittelzusatzstoffe und einigen pharmazeutische Anwendungen.

Ein typisches Beispiel einer CROP ist die Polymerisation von 2-Oxazolin, was durch Einsatz eines kationischen Initiators polymerisiert werden kann. Die Polymerisation dieser Iminether ist eine thermodynamisch favorisierte Isomerisierung der Imingruppe zum Amid.

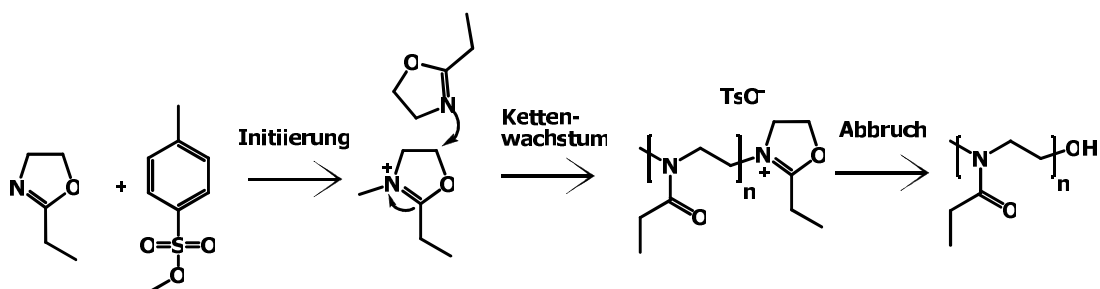


Abbildung 37: CROP von 2-Ethyl-2-oxazolin (Monomer) mit Methyltosylat als Initiator

Die Besonderheit dieser Polymerisationsart ist der lebende Charakter, was die Synthese von Blockcopolymeren auch in diesem Fall ermöglicht. Als Terminierungsreagenz wird zum Beispiel Wasser verwendet.⁸⁹

⁸⁷ Slugovc, C. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25*, 1283-1297.

⁸⁸ Tomalia, D.A.; Sheetz, D.P. *J. Polym. Sci.* **1966**, *4*, 2253-2265.

⁸⁹ Wiesbrock, F.; Hoogenboom, R.; Abeln, C.H.; Schubert, U.S. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25*, 1895-1899.

Um Reaktionszeiten von mehreren Tagen herabzusetzen, führten Wiesbrock et. al. mikrowellenunterstützte CROP durch. Das Resultat war eine Reaktionsbeschleunigung um etwa den Faktor 350. Abbildung 38 zeigt einen deutlichen Trend in der Zunahme von Mikrowellenpolymerisationen. Ein Übersichtsartikel von Wiesbrock et al.⁹⁰ illustriert das stetig zunehmende Interesse von Polymerisationen mit Hilfe von Mikrowellen.

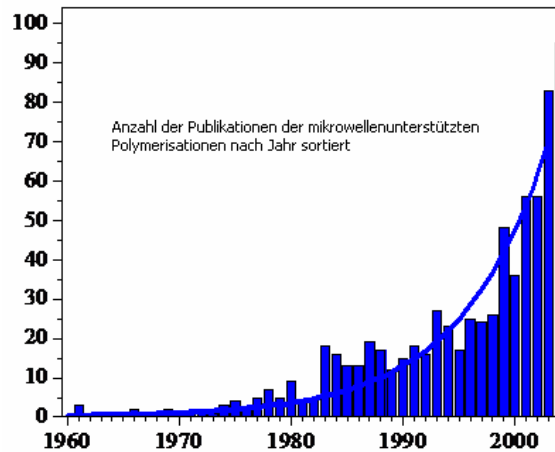


Abbildung 38: Anzahl der Mikrowellen-Polymerisations Publikationen sortiert nach Jahr⁹¹

Kurzum können aus Oxazolinen mittels CROP Polyamide hergestellt werden. Diese ergeben durch Säurebehandlung und anschließender basischer Deprotonierung Polyamine, welche als polymere Biozide Anwendung finden. Abbildung 39 zeigt die Reaktionsgleichung zur Synthese von Polyaminen.

⁹⁰ Wiesbrock, F.; Hoogenboom, R.; Schubert, U.S. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25*, 1739-1764.

⁹¹ Quelle der Abbildung: siehe ⁹⁰

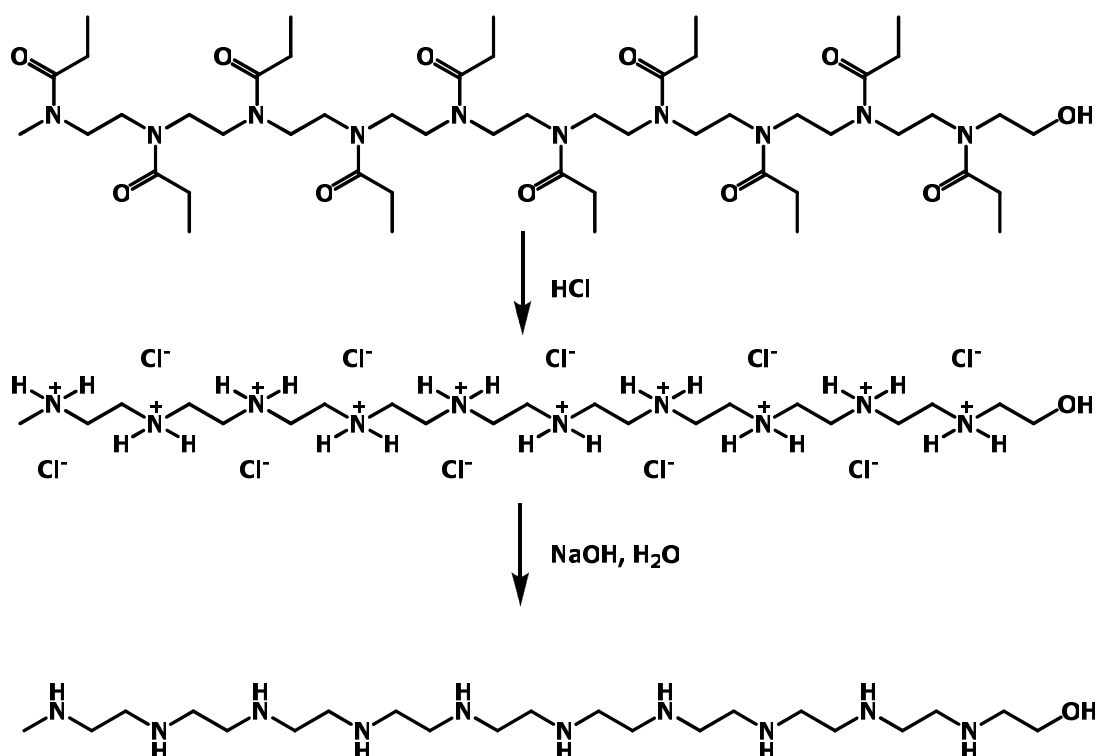


Abbildung 39: Deamidisierung und Deprotonierung zur Synthese von Polyaminen

2.9 Mikrowelle⁹²

Die Verwendung von Mikrowellen in der Chemie hat in den letzten Jahren immer größer werdende Aufmerksamkeit erlangt. Dabei wird die Wechselwirkung zwischen Chemikalien und Mikrowellen ausgenutzt. Mikrowellen sind elektromagnetische Wellen, deren Wellenlänge zwischen 1 m und 1 mm liegt, was einem Frequenzbereich von ungefähr 300 MHz bis 300 GHz entspricht. Abbildung 40 zeigt einen Überblick des elektromagnetischen Spektrums.

⁹² Tierney, J.P.; Lidström, P. *Microwave Assisted Organic Synthesis*; Blackwell Publishing Ltd, Oxford, **2007**

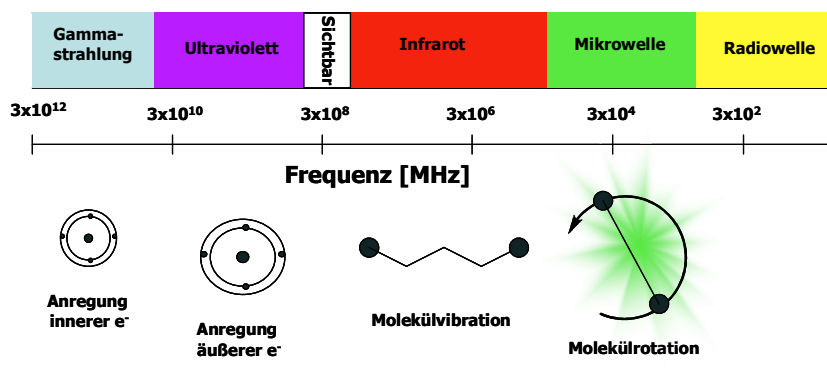


Abbildung 40: elektromagnetisches Spektrum

Mikrowellen eignen sich aufgrund ihrer Energie besonders zum Anregen von Dipol- und Multipolschwingungen von Molekülen. Man kann diesen Effekt anhand von Wassermolekülen sehr gut erklären. Dabei versucht der Dipol der Wassermoleküle sich laufend nach dem elektromagnetischen Feld auszurichten. Als dielektrischer Verlust entsteht dabei Wärme. Daraus lässt sich erkennen, dass polare Reaktanden in der Lösung notwendig sind. Nur so lässt sich Wärme erzeugen. Ein entscheidender Vorteil der Mikrowellenchemie gegenüber den herkömmlichen Verfahren ist, dass man Chemikalien direkt erwärmen kann. Dadurch ergeben sich keine Energieverluste durch Erwärmen der Reaktionsgefäße (siehe Abbildung 41) und so sind geringe Reaktionszeiten aufgrund optimaler Energieeintragung und Energieaufnahme möglich. Weiters ergeben sich dabei auch Sicherheitsvorteile, da man die Energiezufuhr sehr schnell regeln und stoppen kann. Geräte für Mikrowellen für das Labor sind anspruchsvoller als der Mikrowellenherd aus dem Haushalt und führen dementsprechend zu relativ hohen Anschaffungskosten.

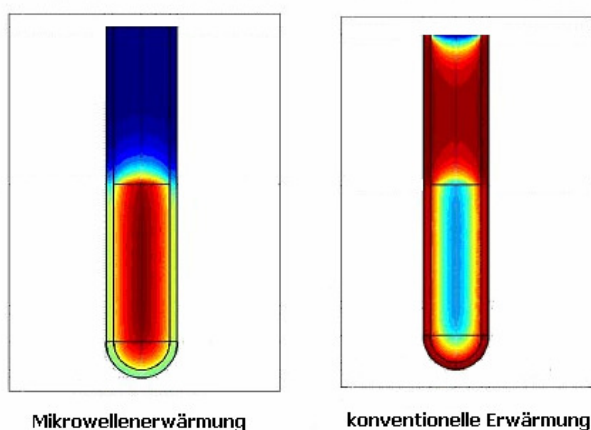


Abbildung 41: Unterschied in der Erwärmung mit der Mikrowelle und durch herkömmliche Methoden⁹³

⁹³ Quelle der Abbildung: <http://www.biotage.com/graphics/5735.jpg>

2.10 Polymerverarbeitung

2.10.1 Extrusion

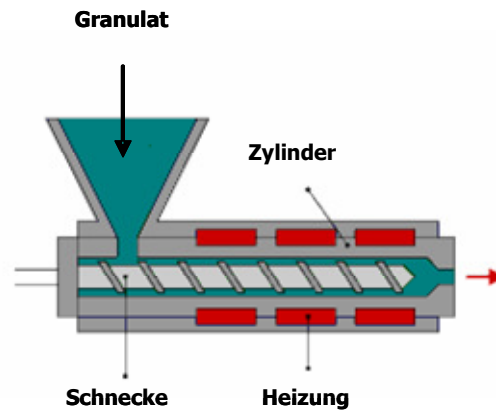


Abbildung 42: Aufbau eines Einschneckenextruders ⁹⁴

In der polymerverarbeitenden Industrie finden Extruder sehr häufig Anwendung. Typische Anwendungsbereiche sind die Herstellung von Rohren, Platten, Folien aber auch die Ummantelung von Beschichtungen.

Bei der Extrusion (lateinisch *extrudere* = hinausstoßen) werden Polymere durch einen Extruder (auch Schneckenpresse genannt) mittels Heizung und innerer Reibung aufgeschmolzen und homogenisiert. Grundsätzlich ähnelt das Arbeitsprinzip einem Fleischwolf. Das Polymer oder Polymermischungen werden meist als Granulat oder Pulver zugeführt und anschließend homogenisiert. Der Extruder besteht aus mehreren Einheiten, wobei die Schnecken eine Vielzahl von Aufgaben erfüllen und somit das Kernstück sind. Zu den Aufgaben gehören Einziehen, Fördern, Aufschmelzen und Homogenisieren. Man unterteilt Extruder in Einschnecken- und Doppelschneckenextruder. Der Vorteil des Doppelschneckenextruders ist, dass dieser das Material mechanisch nicht so beansprucht und Zusätze leichter eincompoundiert werden können.

2.10.2 Spritzguss ⁹⁵

Um die Schmelze nach Verlassen des Extruders in Form und Abmessung zu fixieren, stellt das Spritzgussverfahren das wichtigste Verfahren dar. Abbildung 43 zeigt einen Überblick

⁹⁴ Quelle der Abbildung: http://www.rose-plastic.de/uploads/pics/spritzguss_1.gif

⁹⁵ Hofmann, W. *Rubber Technology Handbook*, Hanser Publisher, **1989**

dieses Formgebungsverfahrens. Zunächst wird die Formmasse zwischen der Schneckenspitze und einer mechanisch oder thermisch verschlossenen Düse am vorderen Zylinderende gesammelt. Wenn das geforderte Volumen der Formmasse gesammelt ist, beginnt der Einspritzvorgang. Nachdem die Werkzeughöhle gefüllt ist, kühlt die Formmasse ab und erstarrt. Während des Abkühlens und des Auswerfens des gebildeten Formteils schmilzt und homogenisiert die Schnecke bereits wieder das Materialvolumen für den nächsten Zyklus.

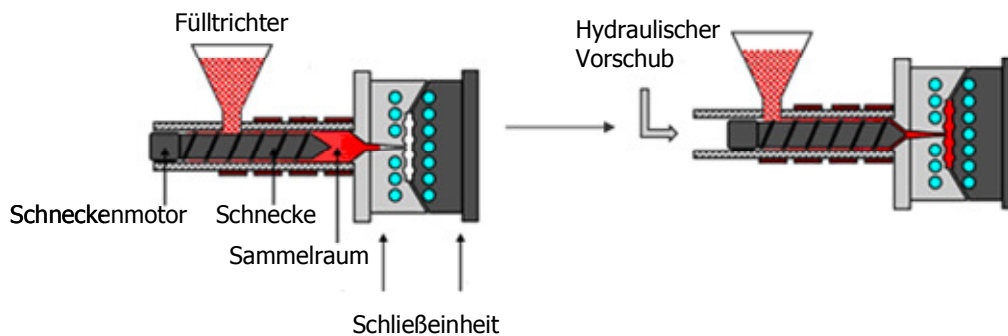


Abbildung 43: Spritzgussprozess⁹⁶

Der Hohlraum, die Kavität, des Werkzeugs bestimmt die Form und die Oberflächenstruktur des fertigen Teils. Dabei kann die Oberfläche des Bauteiles nahezu frei gewählt werden. Es können glatte Oberflächen für optische Anwendungen, Narbungen, aber auch Muster hergestellt werden. Es sind heute Werkstücke von wenigen Zehntel Gramm bis in den zweistelligen Kilogrammereich mittels Spritzguss herstellbar.

Das Spritzgussverfahren eignet sich insbesondere für die Produktion großer Stückzahlen, denn allein die Kosten für die Spritzguss-Formen machen einen erheblichen Teil der notwendigen Investitionen aus. Auch bei einfachen Werkzeugen rechnet sich die Anschaffung erst ab der Herstellung von mehreren tausend Teilen.

2.10.3 Vakuumplattenpresse

Plattenpressen mit Heizplatten werden zur Herstellung von Polymerplatten genutzt, wobei das Polymer als Pulver oder Granulat in eine Form gepresst wird. In solchen Plattenpressen benötigt man Heizplatten, beheizbare Pressplatten, die beim Verpressen des Werkstückes die erforderliche Prozesswärme mit ausreichend gleichmäßiger Temperatur- und Druckvertei-

⁹⁶ Quelle der Abbildung: <http://www.chemie-am-auto.de/kunststoffe/spritzgiessen.gif>

lung auf das Werkstück übertragen. Um mögliche Luftpneinschlüsse zu entfernen, wird mit Hilfe einer Pumpe ein Vakuum aufgebaut.



Abbildung 44: Vakumplattenpresse

2.11 Oberflächenwechselwirkungen

Wenn man neue Materialien entwickelt, ist es sehr entscheidend, die Oberflächeneigenschaften vor deren Anwendung zu testen. Oft entscheidet sich erst durch diese Ergebnisse, ob ein Produkt für diese Anwendung geeignet ist oder nicht. Durch die unterschiedliche Oberflächenbeschaffenheiten von Stoffen entstehen verschiedene, charakteristische Eigenschaften. Von großer praktischer Bedeutung (Löten, Kleben, die Adhäsion von Zellen etc) ist die Benetzbarkeit der Oberfläche. Diese lässt sich mit Hilfe von Kontaktwinkelmessungen verdeutlichen. Abbildung 45 zeigt den Unterschied in der Benetzung von Oberflächen. Im linken Bild ist der Kontaktwinkel geringer als im rechten Bild, was durch Polaritätsunterschiede zwischen Oberfläche und Flüssigkeit zustande kommt.

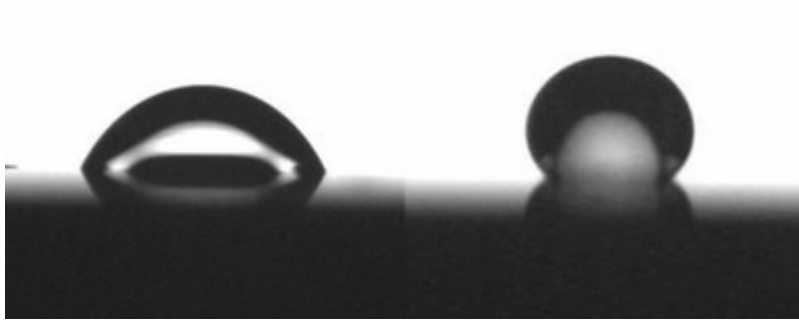


Abbildung 45: Kontaktwinkel bei unterschiedlicher Benetzung

2.11.1 Kontaktwinkelmessungen

Um die Oberflächenenergie von Polymeren bestimmen zu können, verwendet man Testflüssigkeiten, deren Oberflächenspannung bekannt ist und die als Tropfen auf den Festkörper aufgebracht werden. Der Winkel, den die an die Tropfenoberfläche geneigte Tangente mit der Polymeroberfläche bildet, ist der Kontaktwinkel θ .

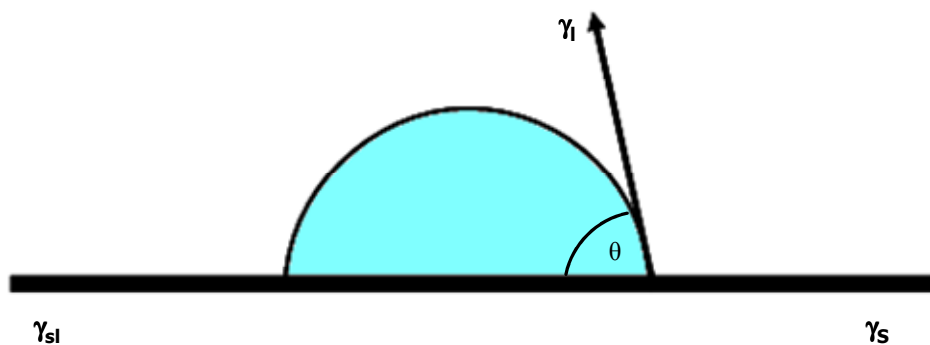


Abbildung 46: graphische Darstellung des Kontaktwinkels θ

Die Grenzflächenspannung zwischen Festkörper und Flüssigkeit γ_{sl} wird durch die Gleichung von Young beschrieben:

Formel 1: Gleichung von Young

$$\gamma_{sl} = \gamma_s - \gamma_l \cdot \cos\theta$$

γ_s ... Festkörperoberflächenspannung [$\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$]

γ_l ... Flüssigkeitsoberflächenspannung [$\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$]

γ_{sl} ... Grenzflächenspannung fest/flüssig [$\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$]

θ ... Kontaktwinkel [$^\circ$]

Damit ein Kontaktwinkel gemessen werden kann, muss die Oberflächenspannung der Tropfenflüssigkeit größer als die Oberflächenspannung des Festkörpers sein. Ansonsten würde eine vollständige Benetzung der Oberfläche stattfinden und der Kontaktwinkel θ wäre 0° . Daraus würde sich ebenfalls eine Oberflächenspannung gleich 0 errechnen.

Der Kontaktwinkel kann mit Hilfe von mehreren Methoden bestimmt werden. Eine Möglichkeit ist die Bestimmung des Kontaktwinkels des liegenden Tropfens, bei der ein Tropfen einer Flüssigkeit mit bekannter Oberflächenspannung auf eine Testoberfläche gebracht wird. Dabei muss beachtet werden, dass sich der Winkel des Tropfens durch Verdunstung ändert.

2.11.2 Oberflächenenergie

2.11.2.1 Oberflächenenergie nach Fowkes

Die Grenzflächenenergie kann in einen polaren γ^p und einen dispersen γ^d Anteil aufgeteilt werden.

Formel 2: Berechnung des dispersen und polaren Anteils

$$\gamma_s = \gamma_s^d + \gamma_s^p \quad \text{bzw.} \quad \gamma_l = \gamma_l^d + \gamma_l^p$$

Disperse Wechselwirkungen werden durch London-Kräfte beschrieben. Diese gelten für Moleküle, die Punktladungen, aber kein Dipolmoment, und eine Gesamtladung besitzen. Diese Wechselwirkung tritt zwischen allen Molekülen ein und ist proportional zu r^{-6} .⁹⁷

⁹⁷ Atkins, P.W. *Physical Chemistry*, Oxford University Press, **2000**

Polare Wechselwirkungen sind Wechselwirkungen der Art Dipol – Dipol, Dipol – induzierter Dipol und Wasserstoffbrückenbindungen.

Wenn man die polaren Wechselwirkungsterme vernachlässigt, so erhält man den Sonderfall der Fowkes Gleichung. Diese Vernachlässigung ist nur bei der Materialpaarung polar/unpolar und unpolar/polar möglich. Bei den meisten Materialien sind jedoch polare Bindungsanteile vorhanden, wobei der polare Anteil der größte Faktor sein kann.

Formel 3: Formel zur Berechnung des dispersen Anteils

$$\gamma_{s1} = \gamma_s + \gamma_1 - 2\sqrt{\gamma_s^d * \gamma_1^d}$$

2.11.2.2 Oberflächenenergie nach Owens-Wendt⁹⁸

Bei dieser Methode zur Berechnung der Oberflächenenergie sind zwei Flüssigkeiten auf ein und derselben Oberfläche nötig. Neben dem dispersen Anteil wird auch der polare Anteil berücksichtigt.

Formel 4: Berechnung der Oberflächenenergie nach Owens-Wendt

$$\gamma_{s1} = \gamma_s + \gamma_1 - 2\sqrt{\gamma_s^d * \gamma_1^d} - 2\sqrt{\gamma_s^p * \gamma_1^p}$$

2.11.3 ζ -Potential

Das ζ -Potential ist eine Kenngröße für ein Feststoff-Elektrolyt-Paar und hängt vom pH-Wert, dem Elektrolyten und dessen Konzentration sowie von den Oberflächeneigenschaften des Feststoffes ab. Bei Polymeren mit geladenen Gruppen gibt es einen pH-Wert, bei dem das ζ -Potential gleich null wird. Diesen pH-Wert bezeichnet man als den isoelektrischen Punkt (IEP). Saure Gruppen haben einen IEP bei niedrigem pH-Wert und basische Gruppen bei hohem pH-Wert.

⁹⁸ Owens, D.K.; Wendt, R.C. *J. Appl. Polym. Sci.* **1969**, *13*, 1741-1747.

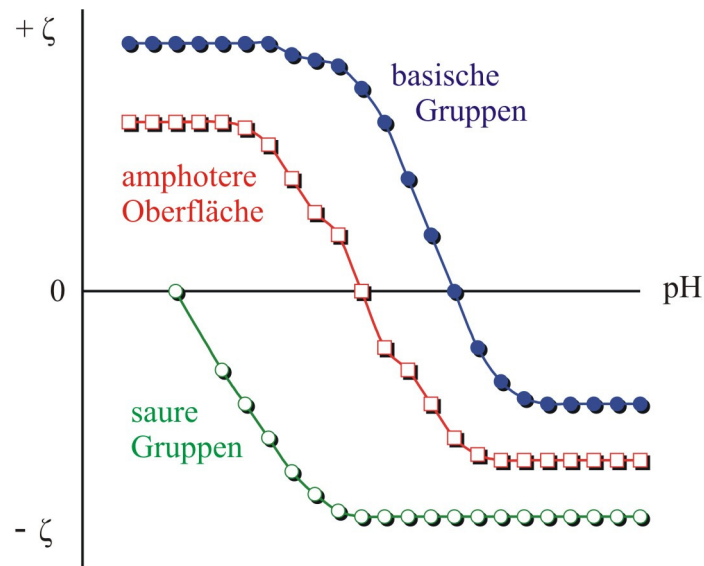


Abbildung 47: Darstellung des ζ -Potentials in Abhängigkeit vom pH-Wert⁹⁹

Bei nichtpolaren Oberflächen ohne dissoziierbare Gruppen ist der Verlauf des ζ -Potentials mit dem pH-Wert linear, weil er dann nur durch die Anlagerung von Ionen an die Oberfläche bestimmt wird.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, das ζ -Potential an Festkörpern zu bestimmen. In der Fasermesszelle werden faserförmige Proben, Granulat oder Pulver in einer permeablen Schicht angeordnet und mit der Flüssigkeit während der Messung durchströmt. Der Unterschied der Drücke der Probe wird durch die Packungsdichte bestimmt.

In den Messzellen für Feststoffe mit planaren Oberflächen wird zwischen 2 gegenüberliegenden Probenflächen ein Kanal eingerichtet. Die Flüssigkeit strömt während der Messung durch diesen Kanal, erzeugt ein Druckgefälle und es entsteht durch die Ladungsverschiebung an der Grenzfläche Feststoff/Flüssigkeit ein Strömungspotential. In der Klammermesszelle ist die Kanalhöhe durch eine Distanzfolie vorgegeben, in der Stempelmesszelle wird der Spalt kontinuierlich eingestellt. Dadurch können Oberflächeneigenschaften von rauen Proben, aber auch starkes Quellverhalten und deutliche Porosität untersucht werden.¹⁰⁰

⁹⁹ Quelle der Abbildung: siehe ¹⁰⁸

¹⁰⁰ Luxbacher, T. *ζ -Potential als Indikator für Oberflächeneigenschaften*, Anton Paar, **2007**

<http://www.laborpraxis.vogel.de/analytik/titration/elektroden/articles/105140/>, gelesen am 8.1.2010

2.12 Transmissionselektronenmikroskopie

Das Transmissionselektronenmikroskop (TEM) ist ein Elektronenmikroskop, welches das Innere oder die Oberfläche einer Probe mit Elektronen abbilden kann.

Da schnelle Elektronen eine sehr viel kleinere Wellenlänge als sichtbares Licht haben, kann mit einem Elektronenmikroskop eine deutlich höhere Auflösung (derzeit etwa 0,1 nm) erreicht werden als mit einem Lichtmikroskop (etwa 200 nm). Bei optischen Mikroskopen erreicht die Auflösung tatsächlich nahezu die von der Lichtwellenlänge gesetzte physikalische Grenze.

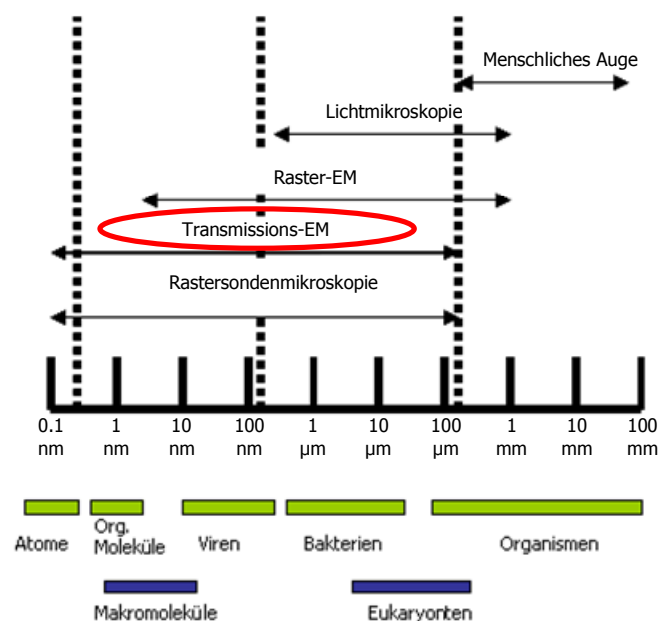


Abbildung 48 zeigt den Einsatzbereich des TEM (0,2 nm oder 2 Å) im Vergleich zu anderen Methoden. Das TEM besitzt ein 100 bis 1000x größeres AV als das LIM – bedingt durch die Verwendung von Elektronenstrahlen anstelle von Lichtstrahlen.

2.12.1 Aufbau

Die Hauptbestandteile eines Elektronenmikroskops sind:

- Die Elektronenkanone: Sie erzeugt die freien Elektronen in einer Elektronenquelle. Diese werden in Richtung einer ringförmig um die Strahlachse liegenden Anode beschleunigt. Zwischen Anode und Kathode liegt eine Hochspannung.

- Elektronenlinsen: Diese Elektronenlinsen lenken die Flugbahnen der Elektronen ab. Elektronenlinsen haben die gleiche Funktion wie Glaslinsen im Lichtmikroskop. Neben Linsen kommen wie beim Lichtmikroskop auch Blenden zum Einsatz.
- Das Vakuumsystem: Das System sorgt dafür, dass die Elektronenquelle effizienter arbeiten kann und die Elektronen auf ihrem Weg nicht durch Kollision mit Gasmolekülen oder Schwebeteilchen (Staub) behindert werden.
- Die Probenhalterung: Die Halterung garantiert eine stabile Lage der Probe. Aber auch Verschiebung, Drehung, Verkippung, Heizung, Kühlung, Dehnung können erwünscht sein, um eine gute Auflösung zu erhalten.
- Detektoren: Die Detektoren registrieren Elektronen und sekundäre Signale und wandeln diese in Bilder um.

2.12.2 Funktionsweise des TEM

Damit die Elektronen das Objekt durchstrahlen können, muss dieses entsprechend dünn sein, wobei die sinnvolle Objektdicke von wenigen Nanometern bis zu einigen Mikrometern reichen kann. Die von der Elektronenquelle gelieferten Elektronen werden vom Kondensoren-Linsensystem so abgelenkt, dass sie den zu beobachtenden Objektabschnitt gleichmäßig ausleuchten und alle annähernd parallel zueinander auf das Objekt einfallen. In der zu untersuchenden Probe werden die Elektronen gestreut, das heißt, ihre Bewegungsrichtung wird geändert. Dabei verlieren sie auch Bewegungsenergie (inelastische Streuung). Elektronen, die das Objekt unter demselben Winkel verlassen, werden in der hinteren Brennebene der Objektivlinse in einem Punkt fokussiert. Man kann nun mit einer Blende (Objektivblende beziehungsweise Kontrastblende) nur die Elektronen passieren lassen, die nicht gestreut wurden. Da Atome mit höherer Ordnungszahl und dickere Objektbereiche stärker streuen, wird der entstehende Kontrast Massendickenkontrast genannt. Der Kontrast kristalliner Materialien wird als Beugungskontrast bezeichnet. Damit lässt sich hervorragend die Realstruktur von Festkörpern untersuchen.

Das Projektiv-Linsensystem wirft das vom Objektiv-Linsensystem erzeugte erste Zwischenbild vergrößert auf einen Detektor. Dabei kommt beispielsweise ein Leuchtschirm zur direkten Beobachtung zum Einsatz. Zur Aufzeichnung des Bildes verwendet man fotografische Filme oder Platten aber auch CCD-Kameras. Durch eine Änderung des Projektivlinsensystems kann statt des Zwischenbildes auch die Fokusebene der Objektivlinse vergrößert abgebildet werden. Dadurch erhält man ein Elektronenbeugungsbild, womit sich die Kristallstruktur der Probe bestimmen lässt.

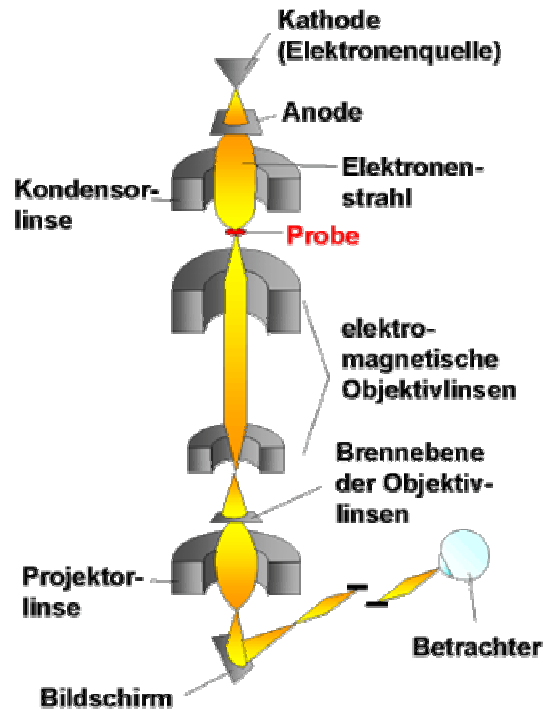


Abbildung 49: schematischer Aufbau eines TEM¹⁰¹

2.12.3 Die Probenaufbereitung

Proben, die mittels TEM analysiert werden, müssen wie schon zuvor erwähnt, sehr dünn sein um Informationen zu liefern. Dazu sind insgesamt 4 Schritte notwendig. Der erste Schritt ist das Trimmen der Probe, wobei die Probe mit einem Ultratrim oder einer Trimmerklinge zugespitzt wird. Danach werden von der Probe ultradünne Schnitte angefertigt, indem die Spitze des Probenblocks über die keilförmige Kante eines Glas- oder Diamantmessers des Ultramikrotoms bewegt wird. Diese Ultradünnschnitte werden von der Wasseroberfläche direkt oder mit einer Öse auf Trägernetzchen übertragen und nach der Kontrastierung im TEM betrachtet. Bei Polymeren erfolgt die Kontrastierung in der Regel mit OsO_4 oder RuO_4 (siehe Abbildung 51).

¹⁰¹ Quelle der Abbildung: <http://www.fzd.de/db/PicOri?pOid=23345>

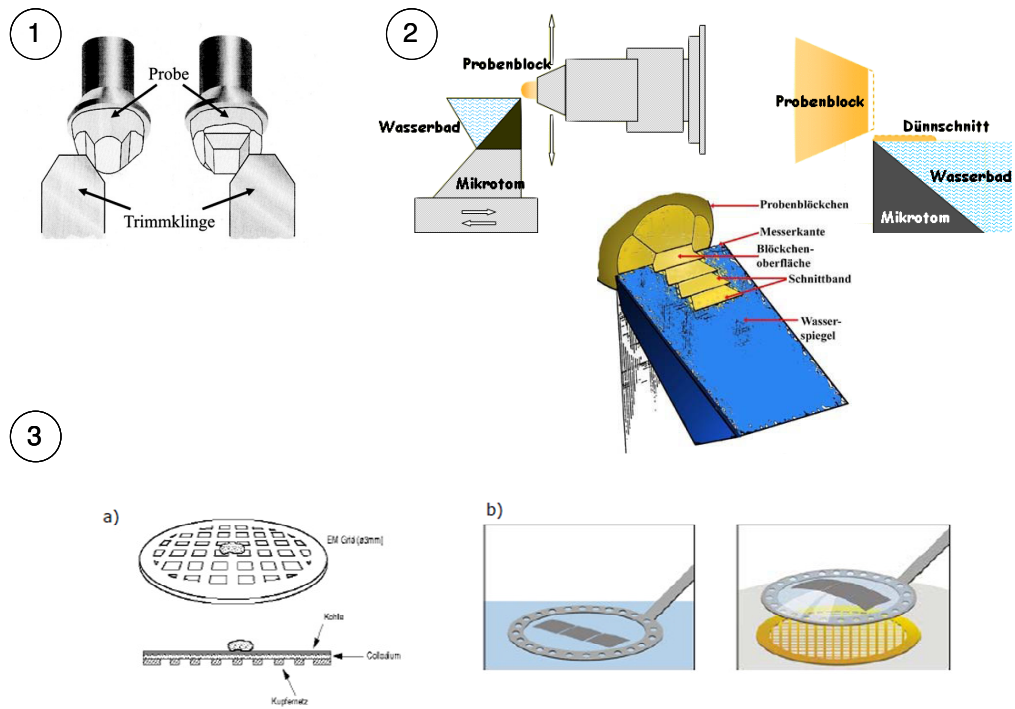


Abbildung 50: Probenaufbereitung fürs TEM: Trimmen der Probe (1), Herstellung der ultradünnen Schnitte (2) und Auffischen der Ultradünnschnitte (3) direkt (a) oder mit einer Öse (b), anschließend erfolgt die Kontrastierung¹⁰²

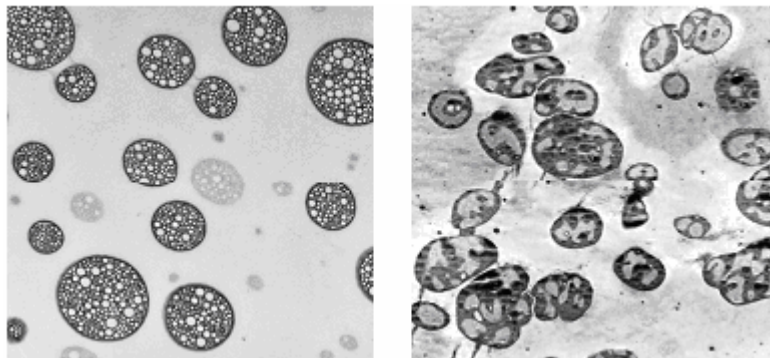


Abbildung 51: Kontrastierung von Polymeren mit Osmiumtetroxid (links) und mit Rutheniumtetroxid (rechts)

¹⁰² Quelle der Abbildung: FELMI, TU Graz

2.13 Bestimmung der mikrobiziden Wirksamkeit

Es gibt verschiedene Arten der Wirksamkeitsbestimmung von Kontaktbioziden, wobei insbesondere zwei Tests angewandt werden, der Agardiffusionstest und die Film Adherence Method. Der Unterschied zwischen diesen beiden Tests liegt darin, dass beim Agardiffusionstest der Wirkstoff aus der Oberfläche diffundieren muss. Methoden der direkten Bestimmung, wie zum Beispiel Auszählen der Bakterien oder Trübungsmessungen mittels Photometer, werden hier nicht näher erläutert, da diese Methoden in dieser Arbeit nicht angewandt wurden.

2.13.1 Agardiffusionstest¹⁰³

Beim Agardiffusionstest wird der zu prüfende Mikroorganismus auf einem Nährboden aufgebracht (Agar) und danach die Probe aufgelegt oder aufgetropft. Nach einigen Stunden der Inkubation kann man die Wirksamkeit der Testsubstanz kontrollieren. Dabei kommt es entweder zu einer Vermehrung, einer stetigen Population oder einem Absterben des Mikroorganismus. Dadurch ist es möglich, die minimale Hemmkonzentration (MHK) und die maximale Hemmkonzentration (MHK) zu definieren. Bei diesem Testverfahren ist es wichtig, dass der Wirkstoff aus der Oberfläche der Testsubstanz diffundiert, um eine Wirkung zu visualisieren. Dabei entsteht auf dem Agar eine Hemmzone, die umso größer ist, je empfindlicher der Mikroorganismus reagiert.

Die folgende Abbildung zeigt ein typisches Ergebnis des Tests. Wenn der antibakterielle Stoff wirksam ist, dann bildet sich ein Hemmhof aus, der in dieser Abbildung gut sichtbar ist.



Abbildung 52: Agardiffusionstest¹⁰⁴

¹⁰³ M.T.Madigan, J.M.Martinko, *Brock-Mikrobiologie*, 11.überarbeitete Auflage pearson Studium, 2006

2.13.2 Film adherence method von Oberflächen

Bei der Film adherence method hat sich die japanische Standardmethode JIS Z 2801:2000 durchgesetzt.¹⁰⁵ Dabei werden die Bakterien auf das zu untersuchende Material aufgebracht und bebrütet. Im Unterschied zum Agardiffusionstest muss die bakterizid wirkende Substanz nicht diffundieren, um eine Wirkung zu erzielen. Hier ergibt die Differenz der Keimzahlen auf den Proben und den Kontrollproben eine spezifische antimikrobielle Wirkung. Als Kontrollprobe dient eine Substanz ohne biozide Wirksamkeit. Bestimmt werden dabei die keimbildenden Einheiten (colony forming units, CFU).

Ein weiteres Testverfahren ist das AATCC-100-1999 (American Association of Textile Chemists and Colorists), welches dem JIS in der Durchführung sehr ähnlich ist und von Wynne et al. angewandt wurde.¹⁰⁶

In der vorliegenden Arbeit wird die mikrobizide Wirksamkeit größtenteils nach dem JIS-Prüfverfahren ermittelt. Die genaue Versuchsdurchführung wird in Kapitel 3.1.5 detailliert erläutert.

2.14 Cytotoxizität

Cytotoxizität ist die Fähigkeit einer chemischen Substanz, Gewebezellen zu schädigen. Die Prüfung der Verträglichkeit neuer und innovativer Materialien ist ein wichtiger Eingangstest vor deren kommerziellen Einführung. Ziel dieser Tests ist es, die Interaktion von neuen oder funktionalisierten Materialien mit menschlichem Gewebe zu simulieren und so die Cytotoxizität zu bestimmen.

Für die Prüfung der Biokompatibilität und Cytotoxizität werden die nach DIN ISO 10993-5¹⁰⁷(Biologische Beurteilung von Medizinprodukten) vorgeschriebenen Zelllinien eingesetzt.

¹⁰⁴ Quelle der Abbildung: memiserf.medmikro.ruhr-uni-bochum.de/OnlineSk

¹⁰⁵ Suzuki, S.; Imai, S.; Kourai, H. *Biocontrol Science* **2006**, *11*(3), 135-145.

¹⁰⁶ Makal, U.; Wood, L.; Ohman, D.E.; Wynne, K.J. *Biomaterials* **2006**, *27*, 1316-1326.

¹⁰⁷ Wallin, R.; Arscott, E. F. *MD&DI* **1998**, *4*, 96-97.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Amin-funktionalisierte Polynorbornene

3.1.1 Einleitung

Dieser Teil der Dissertation beschreibt die Synthese von Polymeren auf Norbornenbasis mit sekundären oder tertiären Amingruppen in der Seitenkette. Diese Polymere wurden mittels ringöffnender Metathesepolymerisation hergestellt. Die Änderung der Hydro- bzw. Lipophilie der Polymere wurde durch Inkorporation von Norbornenmonomeren mit unpolaren Hexyl- oder Dodecylseitenketten variiert. Dabei entstanden Copolymere mit unterschiedlichen Eigenschaften, welche durch Analysen wie GPC, NMR, IR und Kontaktwinkelmessungen charakterisiert wurden. Um eine mögliche antibakterielle Kontaktaktivität dieser Polymere zu untersuchen, wurden die als Film auf Glasplatten gecoateten Polymere nach JIS Z2801:2000 getestet. Weiters wurden Cytotoxizitätstests nach ISO 10993-5 durchgeführt, um eine Biokompatibilität des Polymers zu gewährleisten. Einige Monomere und daraus generierte Polymere wurden bereits im Rahmen der vorangegangenen Diplomarbeit¹⁰⁸ synthetisiert. Optimierungen in der Synthese der Monomere ((**Mo (1)** – **Mo (3)**) und Polymere wurden im Rahmen dieser Arbeit in Zusammenarbeit mit DI Nadja Noormofidi durchgeführt. Detaillierte experimentelle Schritte und Analysenmethoden sind in 5.1.15 angeführt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die in Abbildung 53 dargestellten Monomere synthetisiert, wobei Monomer 4 (**Mo (4)**) in der Zeit während der Diplomarbeit hergestellt und getestet wurde. Alle Daten und Ergebnisse der Homo- und Copolymere mit **Mo (4)** (grau dargestellt) werden hier aus Gründen der Vollständigkeit und des Vergleichs angeführt.

¹⁰⁸ Diplomarbeit Kreuzwiesner, E. *Homo- und Copolymere mit antibakteriellen Eigenschaften.*, TU Graz, **2007**

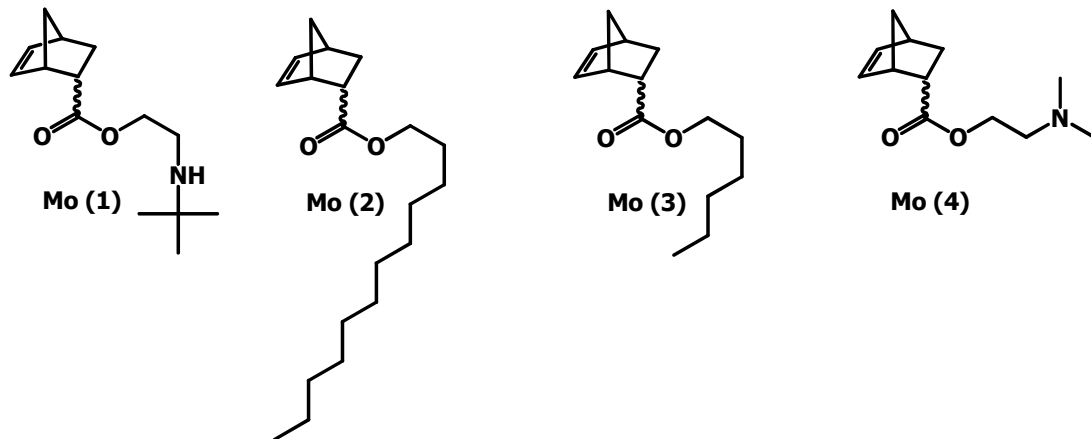


Abbildung 53: Monomere zur Synthese der antibakteriellen Polymere

exo,endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäure(2-tert-butylaminoethyl)ester **Mo(1)**

exo,endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäurelaurylester **Mo (2)**

exo,endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäurehexylester **Mo (3)**

exo,endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäure (2-dimethylaminoethyl)ester **Mo(4)**

Vorangegangene Resultate und Literaturrecherchen zeigen, dass es notwendig ist, einen Kompromiss zwischen Hydrophilie und Lipophilie der Polymere zu finden, um eine erfolgreiche Wechselwirkung mit der Lipiddoppelschicht der Cytoplasmamembran und eine damit verbundene mikrobizide Wirksamkeit zu erreichen. Die Zugabe von lipophilen Comonomeren resultiert außerdem in einer gesteigerten thermischen Stabilität der erhaltenen Copolymere. Diese thermische Stabilität ermöglicht flexiblere Prozessparameter in Kombination mit herkömmlichen Polymeren wie Polyethylen (PE) oder Polypropylen (PP) und ebnet dadurch den Weg zu mikrobiziden Polymercompounds.

3.1.2 Synthese der Monomere und statistischen Copolymere

Zur gründlichen Untersuchung der genannten Phänomene wurde ein hydrophiles Monomer **Mo (1)**, welches eine Aminfunktionalität in der Seitenkette besitzt, und zwei lipophile Monomere, **Mo (2)** und **Mo (3)**, synthetisiert. **Mo (1)** agiert dabei als effektives Kontaktbiozid und kann durch Deprotonierung des kommerziell erwerblichen Monomers in guter Ausbeute hergestellt werden. Diels Alder Reaktionen von Cyclopentadien und Acrylaten, welche kommerziell erwerbbar sind, führen zu den gewünschten Monomeren **Mo (2)** und **Mo (3)**. Alle Monomere ergaben ein Gemisch an *endo*- und *exo*-Isomeren, was jedoch für die Anwendung als Kontaktbiozid keine Bedeutung hat, und wurden mittels $^1\text{H-NMR}$, Elementanalyse und IR-Spektroskopie untersucht.

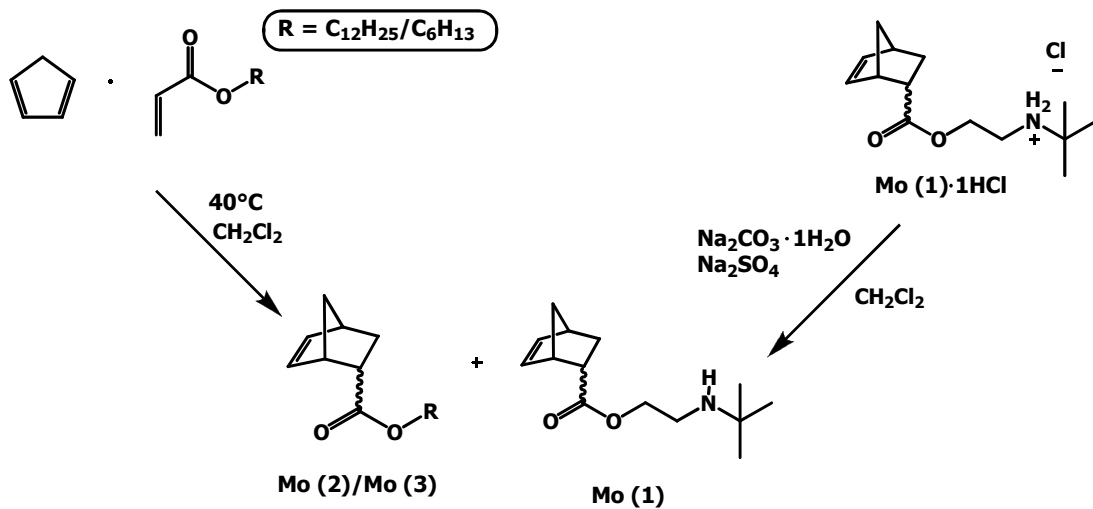


Abbildung 54: Reaktionsgleichung der Synthese von Mo (1), Mo (2) und Mo (3)

Die Synthese der statistischen Copolymere **poly(1_x-co-2_{600-x})**, **poly(1_x-co-3_{600-x})**, die mittels ROMP durch Verwendung des Grubbs-Initiators der dritten Generation generiert wurden, sind in Abbildung 55 demonstriert. Bei allen Polymeren wurde ein Monomer zu Initiatorverhältnis von 600:1 gewählt. Um die Entwicklung definierter Polymere und dessen Eigenschaften zu gewährleisten, wurde im Rahmen dieser Arbeit das **Mo (4)** nicht mehr synthetisiert und eingesetzt, da in der zuvor erwähnten Diplomarbeit¹⁰⁸ dessen partielle Wasserlöslichkeit bzw. Schwellung nachgewiesen wurde.

Die Synthese dieser Polymere wurde mit einem Grubbs Initiator (**G3**), welcher sich durch vorherige Untersuchungen als Bester herausstellte, gestartet und nach vollständigem Umsatz an Monomer durch einen Überschuss an Ethylvinylether terminiert.

Die genaue Beschreibung der Synthese wird im Experimentellen Teil (5.1.15) beschrieben.

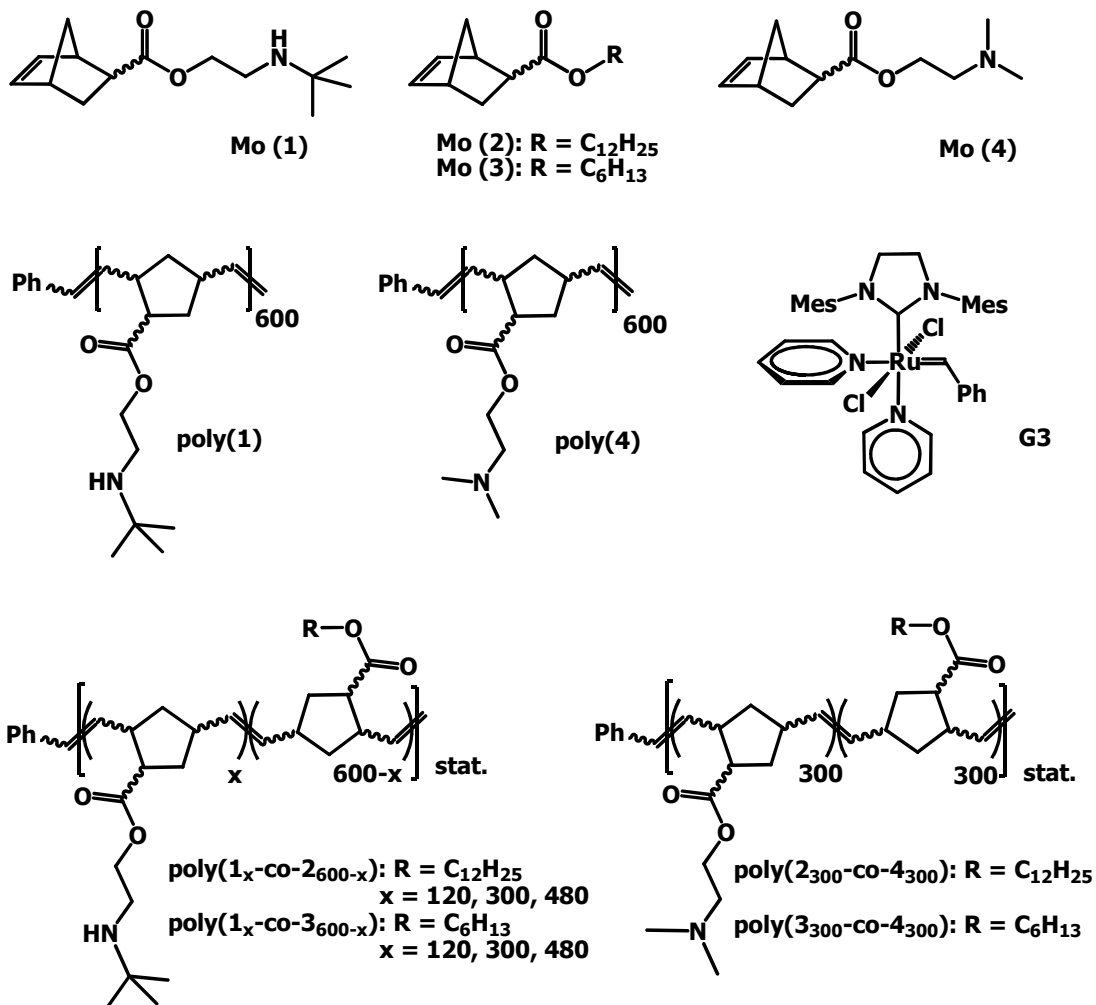


Abbildung 55: Strukturformel von Mo (1), Mo (2) (R = *n*-C₁₂H₂₅) und Mo (3) (R = *n*-C₆H₁₃) sowie der Polymere. Die statistische ringöffnende Metathese-co-polymerisation des hydrophilen Mo (1) und des lipophilen Mo (2)/Mo (3) wird durch einen Grubbs Katalysator der dritten Generation (H₂IMes)(pyridine)₂RuCl₂(=CHPh) G3 initiiert.

3.1.3 GPC-, NMR- und DSC-Analysen der erhaltenen Copolymere

Zur Bestimmung des Molekulargewichts wurden gelpermeationschromatographische Untersuchungen durchgeführt. Dazu wurden die Polymere in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst (meistens CHCl₃/Et₃N/*iso*-propanol (94/4/2)) und analysiert. Die Messungen wurden mit einem Gerät der Firma Merck Hitachi L-6000A pump (differentielles Refraktometer, Waters 410, als Detektor, Polystyrol-Standards zur Kalibration, Trennsäule mit Polymer Standard Service, 8 x 300mm STV linear XL 5 μm) durchgeführt.

Die Ergebnisse zeigten, dass es zu einem Anstieg des hydrodynamischen Volumens mit steigendem Anteil an **Mo (1)** kam. Relative Molekulargewichte befanden sich im Vergleich zu Polystyrol-Standards zwischen 118000 und 169000 g/mol. Die PDI (Polydispersitätsindices)

entsprachen jedoch nicht den Erwartungen (Tabelle 1). Der Hauptgrund war eine Retardierung, welche durch die Anwesenheit der Amingruppen erzeugt worden ist. Dabei kam es durch längere Polymerisationszeiten zu einem steigenden back-biting (Abbau der Polymerkette durch sekundäre Metathese-Reaktionen) und folglich zu höheren PDIs. Bewiesen wurde dieses Faktum durch die Synthese eines Homopolymers, bestehend aus **Mo (2)** (300 Äquivalente), initiiert mittels **G3** (1 Äquivalent). Die Polymerisationen wurden bei 0°, 20° und 40°C bis zum vollständigen Monomerumsatz (DC- Kontrolle) durchgeführt. Die GPC- Daten der entsprechenden Polymere ergaben PDIs von 1.2, 1.2 und 1.4 (67 kg/mol, 68 kg/mol, 72.4 kg/mol), ein vollständiger Monomerumsatz wurde nach 120 min, 60 min und 35 min erreicht. Zusätzlich wurden drei weitere Polymerisationen mit **Mo (2)** bei 0°, 20° und 40° mit einer Polymerisationszeit von jeweils 180min durchgeführt. Die PDI-Werte der GPC- Analysen waren 1.3, 1.3 und 1.6 (51 kg/mol, 66 kg/mol, 60 kg/mol). Diese PDI-Ergebnisse der GPC- Analysen zeigten klar und deutlich ein Auftreten von back-biting.

Anhand von NMR-Messungen konnte die tatsächliche Zusammensetzung der Polymere bestimmt werden. Als Analysengerät wurde ein Varian INOVA (500-MHz) oder ein Bruker Avance III (300-MHz) Spektrometer benutzt. Dazu wurden die zugehörigen Peaks im ¹H-NMR Spektrum (das Signal der Doppelbindung (5.52-5.1 ppm)) in Relation zu den Peaks der terminalen Methylgruppe (0.83 ppm) der Alkylkette gesetzt und integriert. Bei den Copolymeren mit dem geringsten Anteil an Aminfunktionalität (**poly(1₁₂₀-co-2₄₈₀)** und **poly(1₁₂₀-co-3₄₈₀)**) entsprachen die Integrale relativ gut dem Sollwert. Die Inkorporation von **Mo (1)** war jedoch in allen anderen Fällen geringer als erwartet (siehe Tabelle 1, Ansatz 4, 5, 7 und 8). Dabei könnte eine Entfernung von Polymer mit hohem Anteil an Aminfunktionalität bei der Fällung eine Erklärung gewesen sein. Zusammenfassend lässt sich daraus schließen, dass die Polymerisation nicht perfekte statistische Copolymere sondern Gradient-Polymere zutage brachte.

Tabelle 1: Charakterisierung der Polymere mittels GPC und DSC (differential scanning calorimetry) zur Temperaturanalyse.

Ansatz	Probe	Ausbeute [%]	M_n; GPC^a [kDa]	PDI^a	Amin- enthaltenden Einheiten^b	T_{dc} / T_g [°C]^c
1	poly(1)	87	136	1.4	100 %	283/29
2	poly(4)	83	161	2.2	100 %	306/12.5
3	poly(1₁₂₀-co-2₄₈₀)	73	118	1.4	19±2 %	345/n.e. ^e
4	poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)	74	128	1.5	40±2 %	320/-18
5	poly(1₄₈₀-co-2₁₂₀)	73	169	1.6	71±2 %	292/7
6	poly(1₁₂₀-co-3₄₈₀)	68	122	1.3	18±2 %	338/-17
7	poly(1₃₀₀-co-3₃₀₀)	77	128	1.2	46±2 %	293/4
8	poly(1₄₈₀-co-3₁₂₀)	79	132	1.5	74±2 %	279/19
9	poly(2₃₀₀-co-4₃₀₀)	75	172	1.6	38±2 %	351/-24
10	poly(3₃₀₀-co-4₃₀₀)	76	132	1.9	48±2 %	333/-3

^a bestimmt mittels GPC (Lösungsmittel: CHCl₃ : Et₃N : Isopropanol = 94 : 4 : 2; Polystyrol- standards); ^b Integration der passenden Peaks im ¹H-NMR Spektrum; ^c T_{dc} (decomposition temperature) ist die Temperatur bei der 5% Massenverlust auftreten (mittels STA, Heizrate 10 °C/min), T_g (Glasübergangstemperatur); ^e n.e. = nicht ermittelbar, die grauen Bereiche zeigen die Vergleichswerte/Ergebnisse der Polymere der Diplomarbeit

Weiters zeigt Tabelle 1 die Ergebnisse der DSC-Messung (T_g = Glasübergangstemperatur) und die der STA-MS (Simultane Thermoanalyse – Massenspektrometrie) Messung. Die DSC-Messungen wurden mit einem Perkin Elmer Pyris Diamond Differential Scanning Calorimeter durchgeführt. Als Kühlsystem diente ein Perkin Elmer CCA7 mit flüssigem Stickstoff (20mL/min). Die Glasübergangstemperatur (T_g) wurde durch Bestimmung des Mittelpunkts der DSC-Kurven ermittelt. STA-Messungen wurden mit einem Netzsch Simultaneous Thermal Analyzer STA 449C durchgeführt.

Parametereinstellungen:

Gasfluss: Spülgas 1 He: 50mL/min

Spülgas 2 He: 8mL/min

Temperatur: Anfang: 20°C isotherm 5min

Ende: 550°C isotherm 10min

Heizrate: 5°C/min

Abtastrate: 5°C/min

Wenn man die Temperaturen vergleicht, lässt sich erkennen, dass die Copolymere einen T_g unter Raumtemperatur und Zersetzungstemperaturen weit über 200°C ergaben. Mit steigendem Anteil an Alkylketten nahm die thermische Stabilität deutlich zu und der T_g sank.

3.1.4 Bestimmung der Oberflächenenergie der Polymere

Zur Bestimmung der Oberflächenenergie wurden Kontaktwinkelmessungen der Filme der Polymere mit dem Drop Shape Analysis System DSA 100 (Krüss GmbH, Hamburg, Germany) durchgeführt. Dazu wurde das Polymer in Dichlormethan gelöst und auf Glasplatten gecooatet. Als Testflüssigkeiten wurden Diiodmethan und Benzylalkohol (Tropfenvolumen ungefähr 3 μL ; Literaturwerte der Testflüssigkeiten: 50.8 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Diiodmethan und 39.0 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Benzylalkohol) verwendet.¹⁰⁹ Folgende Parametereinstellungen wurden dabei gewählt:

Parametereinstellung beim Spincoaten

- Rotationsgeschwindigkeit: 1000rpm
- Beschleunigung: 1000rpm/s
- Rotationsdauer: 20s

Die Kontaktwinkel wurden mit Hilfe des liegenden Tropfens 2 Sekunden nach Aufbringen des Tropfens gemessen. Basierend auf der Berechnung nach Owens-Wendt wurden die Oberflächenenergien der Polymere bestimmt.

Dabei konnte ein Zusammenhang zwischen der Polymerzusammensetzung und der Oberflächenenergie registriert werden. Mit steigendem Anteil an **Mo (2)** oder **Mo (3)**, dem hydrophoben Anteil, sank die Oberflächenenergie von ungefähr 40 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ im Fall von **poly(1)** zu Werten um 30 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ (**poly(1₁₂₀-co-2/3₄₈₀)**). Ursache dafür könnte sein, dass die Filmoberfläche teilweise durch Alkylketten der lipophilen Monomere (**Mo (2)**, **Mo (3)**) bedeckt wurde.¹¹⁰ Dies resultierte in niedrigerer Hydrophilie der spingecoateten Polymerfilme. Sowohl die C6 als auch die C12-Kette wiesen ähnliche Einflüsse auf die Oberflächenenergie auf.

¹⁰⁹ Wu, S. *Polymer Interfaces and Adhesion*, Marcel Dekker, NY, **1982**

¹¹⁰ Wijnans, S.; Gans, B.-J.; Wiesbrock, F.; Hoogenboom, R.; Schubert, U.S. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25(23)*, 1958-1962.

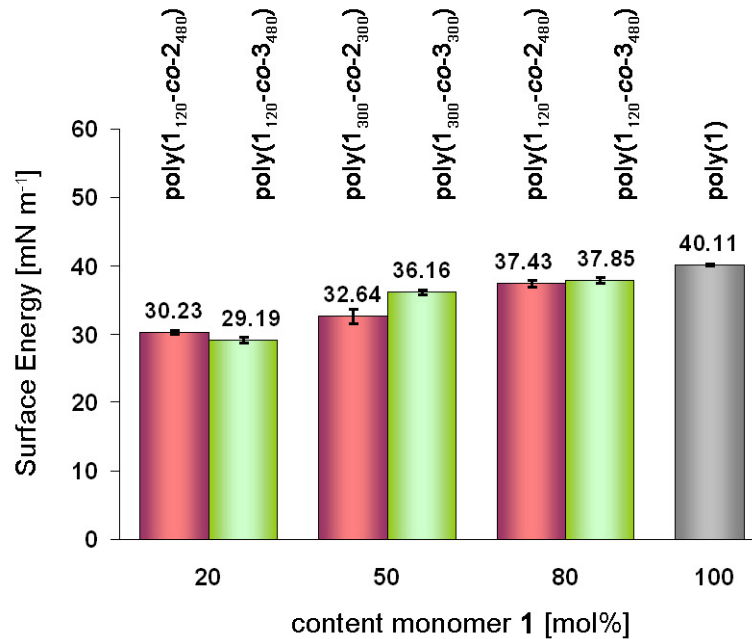


Abbildung 56: Oberflächenenergie der spingecoateten Polymerfilme. Die Oberflächenenergie sinkt mit steigendem Anteil an lipophilen Mo (2) und Mo (3).

3.1.5 Mikrobizide Aktivität nach JIS Z2801:2000

Die mikrobizide Aktivität der hergestellten Polymere wurde gegen verschiedene Mikroorganismen nach JIS Z 2801:2000 gescreent. Dieses Prüfverfahren ahmt Routinebedingungen in der Lebensmittel- und Pharmazeutischen Industrie nach.

Die Durchführung dieser Tests erfolgte bei der Firma Hyggen unter der Leitung von Herrn Dr. Sorger. Von den hergestellten Polymeren wurde eine 1%ige Lösung in Chloroform hergestellt. Diese Lösung wurde mittels Spincoaten auf Glasplatten der Größe 40x40mm aufgebracht. Dazu wurden folgende Parameter am Spincoater gewählt:

- Rotationsgeschwindigkeit: 1000rpm
- Beschleunigung: 1000rpm/s
- Rotationsdauer: 20s

Abbildung 57 zeigt zur Visualisierung einen Überblick des Testverfahrens nach dem japanischen Industriestandard.

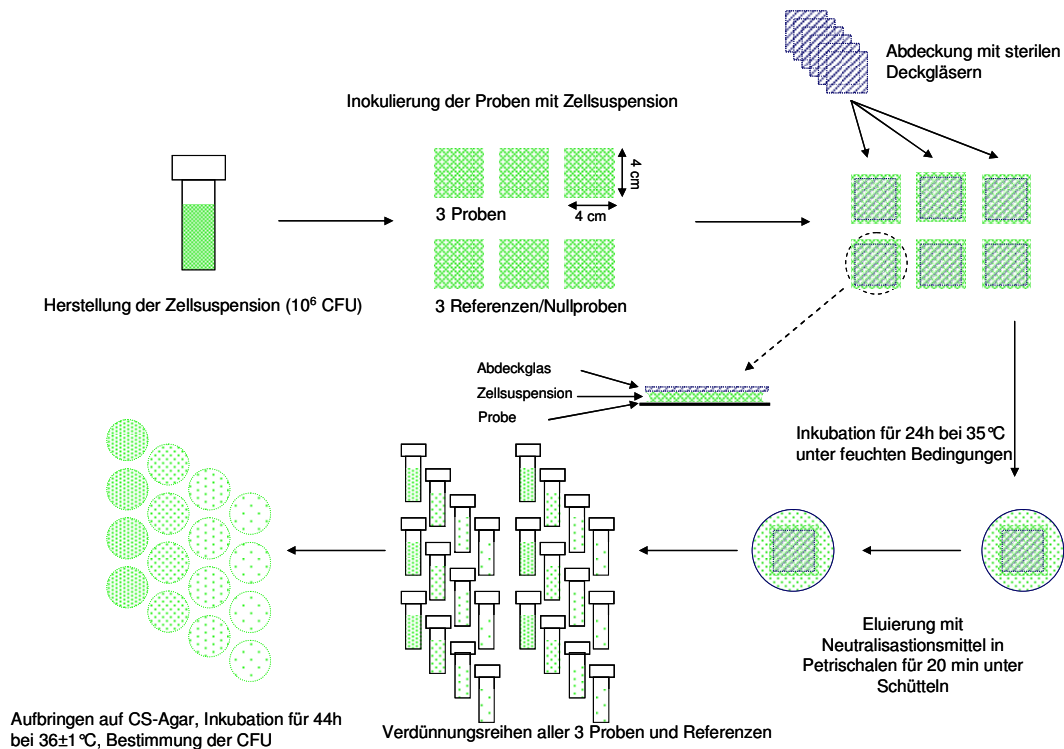


Abbildung 57: Schematische Darstellung des JIS Z2801

Bei der Firma Hyggen wurden die Tests wie folgt durchgeführt:

Jede Probe wurde mit einer Ausgangskoloniezahl von 10^6 Zellen pro Milliliter inokuliert. Die Abdeckung der Probekörper erfolgte mit sterilisierten Deckgläsern aus Glas, da diese erwie-senermaßen keinen Einfluss auf die Prüfsuspension haben. Geprüft wurden 2 Zeiten (0 Stunden, 24 Stunden). Der Wert „0-Stunden“ wurde nach 15 Minuten gemessen und als „standardisierter“ Sofortwert verwendet. Die Inkubationstemperatur betrug $36\pm 1^\circ\text{C}$ über 24 Stunden. Nach Ende der Inkubation wurde das Glas verkehrt in Petrischalen mit Glaskugeln und 10mL CSL-TSHC eingelegt und 20min unter Schütteln eluiert. CSL ist Caseinpepton-Sojamehlpepton-Nährlösung, TSHC (Tween-Saponin-Histidin-Cystein) ist eine Mischung, die dafür bekannt ist, die Wirkung von Desinfektionsmitteln aufzuheben. Danach wurden 1mL, 0.1mL, 0.1mL aus 10^{-1} -Verdünnung und 0.1mL aus 10^{-2} -Verdünnung auf CSA (Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar) ausgespatelt und bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ für 44 ± 4 Stunden bebrütet. Getestete Mikroorganismen waren: *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

Im Rahmen der vorangegangenen Diplomarbeit wurden die Copolymere von **Mo (1)** und **Mo (2)/Mo (3)** gegenüber zwei Bakterien, ein Gram-positives, *S. aureus* und ein Gram-negatives, *E. coli* getestet. Bei fast allen Polymeren konnte gezeigt werden, dass das Wachstum von *E. coli* und *S. aureus* gehemmt werden konnte.

Es ist wichtig hier anzumerken, dass die Amine in der gewünschten Anwendung (biozides Additiv in Wasserrohren) teilweise protoniert vorliegen. Daher war eine Quaternisierung des Stickstoffs in diesem Fall nicht unbedingt notwendig.

Das beste Ergebnis lieferte **poly(4)**, was jedoch mit Vorsicht zu handhaben war, da nicht ausgeschlossen werden konnte, dass eine geringe Wasserlöslichkeit der Grund für die biozide Wirksamkeit war. Auch die Standardabweichung dieser Probe war relativ groß. Abbildung 58 zeigt Trends in der Abhängigkeit zwischen Struktur und Wirksamkeit gegen E. coli. Die Homopolymere **poly(1)** und **poly(4)** zeigten gute Aktivität im Vergleich zu vielen Copolymeren. Das war ein Beweis dafür, dass die Anzahl der Amingruppen ausschlaggebend für die Funktionalität gegenüber E. coli ist. Statistische Copolymere mit **Mo (4)** waren jedoch deutlich weniger wirksam als die Copolymere mit **Mo (1)** als Comonomer. Bei den Copolymeren zeigten im Fall E. coli die Polymere mit kürzeren Alkylketten (**Mo(3)**) höhere Aktivität. Dennoch lieferte **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** beachtliche Resultate und war in dieser Copolymer-Serie das aktivste Polymer. Die Ergebnisse im Fall S. aureus ließen unterschiedliche Schlüsse zu. Die langen Alkylketten, welche durch **Mo (2)** in den Copolymeren vorhanden sind, hatten eine positive Wirkung auf die biozide Aktivität gegen S. aureus. Auch hier zeigten diese Copolymere die besten Ergebnisse. Dieser Effekt wird sehr deutlich, indem man **poly(2₃₀₀-co-4₃₀₀)** und **poly(4)** vergleicht. Im Vergleich zur Referenz schuf **poly(4)** sogar ein besseres Überlebens-Umfeld für Mikroorganismen. Auch **poly(2₃₀₀-co-4₃₀₀)** reduzierte, in Bezug auf die Referenz, die CFU um nur eine Größe.

Wie nun aus den Ergebnissen klar hervorgeht, gab es Unterschiede im Absterben zwischen S. aureus und E. coli, welche sich anhand der Strukturunterschiede erklären lassen. Die Struktur von Gram-positiven Bakterien wie S. aureus ist sehr instabil und nicht so komplex, wodurch eine Reduktion bei allen Proben inklusive der Nullprobe auftritt. Bei E. coli, einem Gram-negativen Bakterium, besteht die äußere Membran aus Phospholipiden, Proteinen und Lipopolysacchariden und besitzt hydrophile (Phosphat mit anderen polaren Komponenten) und hydrophobe (langkettige Fettsäuren mit 12-20 Kohlenstoffatomen) Enden.^{111, 112} Im Detail bedeutet dies, dass Gram-negative Bakterien zu 70-80% aus Phosphatidylethanolamin und 20-25% aus negativ geladenen Lipiden wie Phosphatidylglycerol (PG) und Cardiolipin (CL) bestehen. Gram-positive Bakterien beinhalten hauptsächlich anionische Lipide (PG und PC) und wenig (~12%) an Phosphatidylethanolamin. Zusammenfassend lässt sich dadurch sagen, dass die Dichte an negativer Ladung bei Gram-positiven Bakterien höher ist als bei

¹¹¹ Franklin, T.J.; Snow, G.A. *Biochemistry of Antimicrobial Action*, Chapman and Hall, **1981**

¹¹² Debashish, R.; Knapp, J.S.; Guthrie, J.T.; Perrier, S. *Biomacromolecules* **2008**, *9* (1), 91-99.

Gram-negativen, und damit auch eine Auswirkung auf die Anziehung zwischen Bakterien und antimikrobiellem Polymer ausübt.

Tabelle 2: Mikrobizide Aktivität der Copolymere der Diplomarbeit gegen E. coli und S. aureus nach JIS Z2801:2000

Ansatz	Probe	E. coli ^a $\Delta [\log(\text{CFU})]$ *	S. aureus ^a $\Delta [\log(\text{CFU})]$ *
1	Referenz ^b	0	0
2	poly(1)	-1.96	-1.86
3	poly(4)	-3.96	0.3
4	poly(1 ₁₂₀ -co-2 ₄₈₀)	-1.24	-1.79
5	poly(1 ₃₀₀ -co-2 ₃₀₀)	-1.86	-2.65
6	poly(1 ₄₈₀ -co-2 ₃₀₀)	-0.89	-1.79
7	poly(1 ₁₂₀ -co-3 ₄₈₀)	-0.83	-0.12
8	poly(1 ₃₀₀ -co-3 ₃₀₀)	-2.12	-0.37
9	poly(1 ₄₈₀ -co-3 ₁₂₀)	-2.19	-0.29
10	poly(2 ₃₀₀ -co-4 ₃₀₀)	-1.08	-1,2
11	poly(3 ₃₀₀ -co-4 ₃₀₀)	0.41	-0.92

* log: dekadischer Logarithmus; CFU: colony forming units (Keimbildende Einheiten=KBE); ^a $\Delta[\log(\text{CFU})] = \log(\text{CFU}_{\text{Sample}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Referenz}})$; CFU wurden nach 24 Stunden bestimmt; ^b poly(*endo,exo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonsäure (2,3-dimethyl)ester

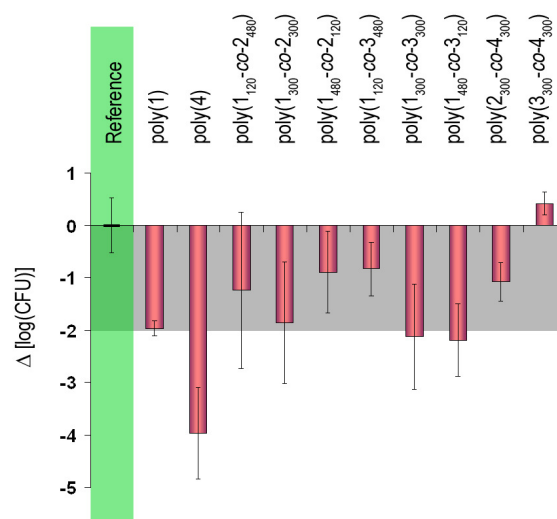


Abbildung 58: Mikrobizide Aktivität der Polymere gegen E. coli. Die Bestimmung der CFU erfolgte nach 24 Stunden. Auf der y- Achse ist $\Delta [\log(\text{CFU})] = \log(\text{CFU}_{\text{Probe}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Referenz}})$ aufgetragen. Der graue Bereich zwischen 0 und -2 illustriert die mikrobiostatische Aktivität, die Werte $\Delta [\log(\text{CFU})] < -2$ zeigen die mikrobizide Wirkung.

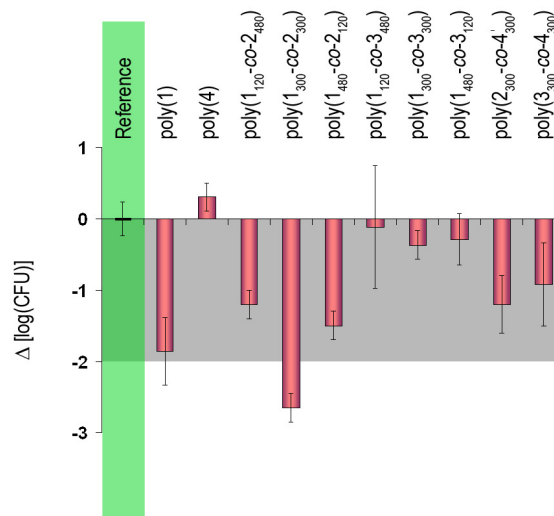


Abbildung 59: Mikrobizide Aktivität der Polymere gegen S. aureus. Die Bestimmung der CFU erfolgte nach 24 Stunden. Auf der y-Achse ist $\Delta [\log(\text{CFU})] = \log(\text{CFU}_{\text{Probe}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Referenz}})$ aufgetragen. Der graue Bereich zwischen 0 und -2 illustriert die mikrobiostatische Aktivität, die Werte $\Delta [\log(\text{CFU})] < -2$ zeigen die mikrobizide Wirkung.

Aufgrund der Analysenergebnisse und in Hinblick auf die Verarbeitung mit herkömmlichen Polymeren wurde das Copolymer **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** für weitere biozide Tests gegen andere Bakterien und Pilze gewählt. Die Durchführung dieser Untersuchungen erfolgte ebenfalls entsprechend dem JIS Z2801 bei der Firma Hyggen in Bischofshofen und entsprach der Durchführung in 3.1.5. Im Gegensatz zu vorherigen Tests wurden dieses Mal drei Zeiten getestet (0h, 24h und 48h), um mögliche zeitabhängige Änderungen in Erfahrung zu bringen. Wie in Abbildung 60 gezeigt, wurde die Aktivität gegenüber *C. albicans*, *A. niger*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* getestet (*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Candida albicans* (ATCC 10231) und *Aspergillus niger* (ATCC 16404)).

A. niger ist sehr stabil und deshalb kaum abtötbar. Daher ist die Aktivität von **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** gegen *A. niger*, dessen CFU um mehr als 2 log-Stufen reduziert wurden, ein besonders herausragendes Ergebnis. *C. albicans* hingegen wies schlechtere Resultate auf, dennoch konnte ein Wachstum des Pilzes über 48 Stunden im Gegensatz zur Referenz inhibiert werden. Die Wirkung gegen *P. aeruginosa* war nach 24 Stunden eher schlecht. Im Vergleich zur Referenz war die Anzahl der CFU nach dieser Zeit zwar geringer, ein Wachstum zwischen 0 Stunden und 24 Stunden war jedoch zu verzeichnen. Nach 48 Stunden konnte eine beachtliche Minderung von 3 Einheiten im Vergleich zur Referenz erreicht werden. Eine ebenso drastische Verringerung von mehr als drei Einheiten konnte auch bei *S. aureus* erzielt werden.

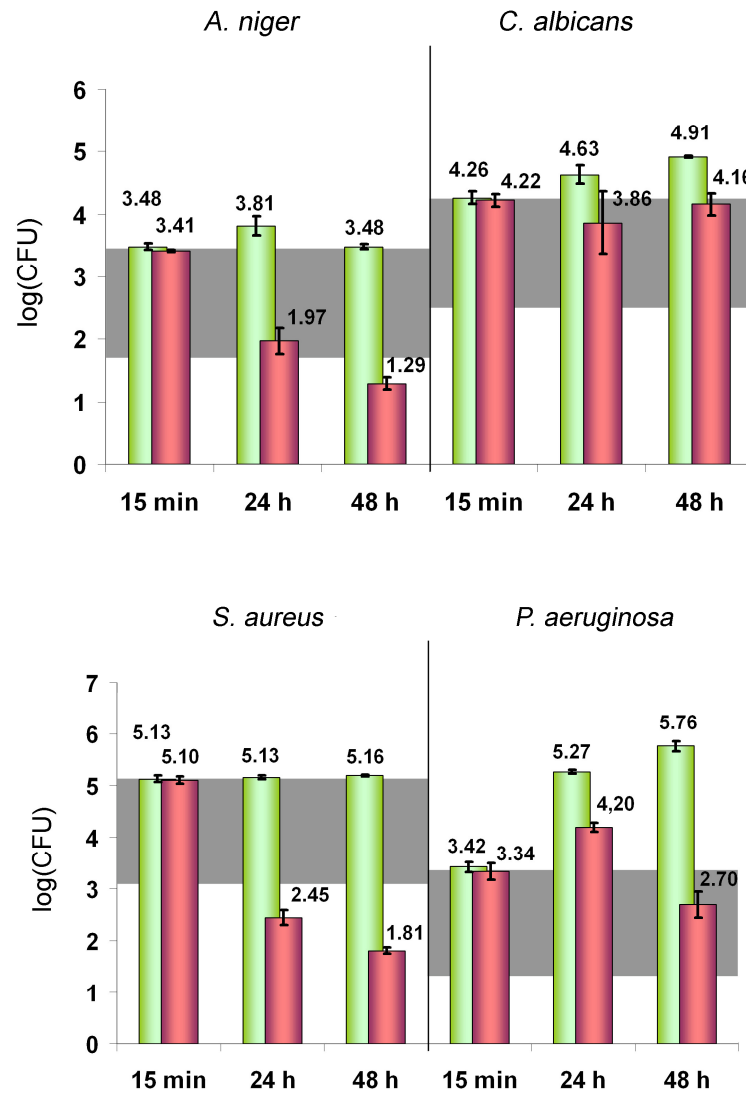


Abbildung 60: Mikrobizide Aktivität von poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀) gegen *A. niger*, *C. albicans*, *S. aureus* und *P. aeruginosa*. Die linken Säulen zeigen die Population der Mikroben am Referenzmaterial, die rechten Säulen die des poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)- Films. Graue Bereiche illustrieren auch hier mikrobiostatische Aktivität, log(CFU)- Werte unterhalb dieses grauen Bereichs zeigen mikrobizide Eigenschaften.

3.1.6 Cytotoxizität

Cytotoxizitätstests von zukünftigen Biomaterialien spielen heutzutage eine entscheidende Rolle um festzustellen, ob ein Material biokompatibel ist oder nicht.¹¹³ Um eine risikofreie Verwendung im Lebensmittelbereich, bei medizinischen Anwendungen oder in Wasserrohren zu garantieren, wurde **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** einem Cytotoxizitätstest nach ISO 10993-5:1999,

¹¹³ Rosengren, A.; Faxius, L.; Tanaka, N.; Watanabe, M.; Bjursten, L.M. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2005**, *75* (1), 115-122.

einer *in vitro* Methode (Balb/3T3 Zellen), unterzogen. Diese Tests wurden in Seibersdorf im ARC (Austrian Research Center) durchgeführt. Dazu wurde das Polymer auf 40X40mm Glasplatten spingecoatet und anschließend getestet.

Testergebnisse zeigten, dass **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** das Zellenwachstum von Balb/3T3-Zellen nicht beeinflusste. Die mit dem Polymer inkubierten Zellen wiesen normale Morphologie auf. Das Wachstum dieser Zellen konnte von unbehandelten Zellen nicht unterschieden werden. Als Referenzen wurden Phenol und Zinksulfat verwendet, welche durch ihre hohe Cytotoxizität zu einem langsameren Zellwachstum und zur Lyse von Zellen führten.

3.1.7 Zusammenfassung

In der vorangegangenen Diplomarbeit wurden biozide Polynorbornene, welche sekundäre (**Mo (1)**) und tertiäre Amine (**Mo (4)**) beinhalten, als Kontaktbiozide getestet. Sowohl Homopolymere als auch statistischen Copolymere mit Alkylketten in der Seitenkette wurden hergestellt, auf Glasplatten gecoatet und nach JIS Z2801 getestet. Die Ergebnisse der Copolymere gegen *E. coli* waren zwar schlechter als die der Homopolymere, hingegen konnte die Aktivität gegen *S. aureus* durch lange Alkylketten gesteigert werden.

Im Rahmen dieser Dissertation wurde ein Copolymer [**poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)**] aufgrund vorheriger Ergebnisse gewählt, im größeren Maßstab synthetisiert und dessen fungizide und bakterizide Aktivität getestet. 2 Pilze wurden dafür ausgesucht, *C. albicans* und *A. niger*. Während bei *A. niger* herausragende Ergebnisse erzielt werden konnten, wurde das Wachstum bei *C. albicans* kaum beeinflusst. Gegen *S. aureus* konnte ebenso eine gute biozide Wirksamkeit festgestellt werden, welche durch lange Alkylseitenketten hervorgerufen wurde. Im Gegensatz dazu zeigten die Testergebnisse, dass diese Ketten auf *E. coli* nur wenig bis keinen Einfluss haben und dadurch eine schlechtere Wirksamkeit erreicht wurde.

Zusätzlich wurden Cytotoxizitätstests dieses Polymers nach ISO 10993-5:1999 durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** das Zellenwachstum von Balb/3T3-Zellen nicht beeinflusste. Die Resultate dieser Arbeit belegen, dass die richtige Balance zwischen Hydrophobie und Amingruppen ein entscheidender Faktor für die antibakterielle Wirksamkeit in Lösung und für die Wirkung im Film ist.

Zusammenfassend wurde eine antibakterielle Wirksamkeit von aminfunktionalisierten Polynorbornenen als Film gezeigt. Obwohl eine selektive antibakterielle Wirkung für spezielle Anwendungen von großem Interesse ist, ist man auf der Suche nach permanenten Wirkpolymeren mit einem breiten Anwendungsspektrum. Forschungsarbeiten in diesem Gebiet werden in unseren Laboratorien noch weitergeführt.

3.2 Difunktionelle Norbornene

3.2.1 Einleitung

Basierend auf den Ergebnissen, die in Kapitel 3.1 erläutert werden, sind Norbornene mit zwei funktionellen Seitenketten synthetisiert worden. Diese Monomere unterscheiden sich von **Mo (1)** und **Mo (2)** nur durch die Anzahl der Seitenketten am Norbornen. Ziel dieser Arbeit war es, durch die doppelte Funktionalität am Norbornen die mikrobizide Wirksamkeit zu erhöhen. Xaver Gstrein leistete dafür im Rahmen seiner Diplomarbeit bereits einige Vorarbeiten. In der folgenden Abbildung sind die funktionellen Monomere dargestellt, wobei **Mo (6)** ein neues, zuvor noch nicht synthetisiertes und verwendetes Monomer ist.

exo,endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonsäure-(2-tertbutylaminoethyl)ester **Mo (5)**

exo,endo-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonsäuredodecylester **Mo (6)**

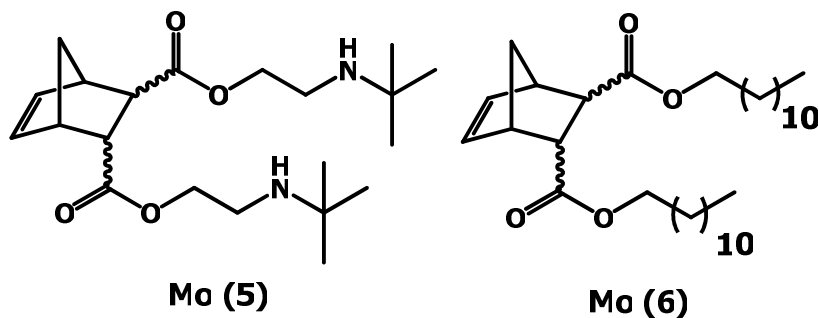


Abbildung 61: funktionelle Monomere **Mo (5)** und **Mo (6)**

3.2.2 Synthese

Eine Diels-Alder Reaktion von Cyclopentadien und Fumarsäurechlorid, welches kommerziell erwerbbar ist, und anschließende Esterbildung durch Zugabe des jeweiligen Alkohols (2-tert-Butylaminoethanol für **Mo (5)** und Dodecanol für **Mo (6)**), führte zu den gewünschten Monomeren **Mo (5)** und **Mo (6)**.

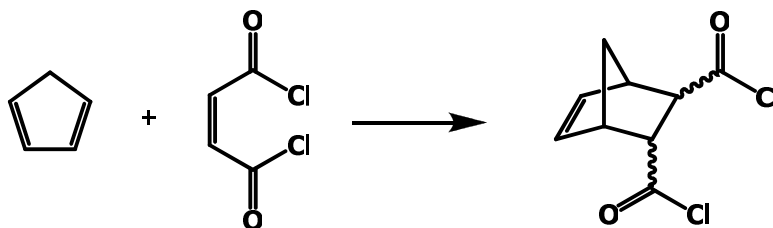


Abbildung 62: Diels-Alder Reaktion zu *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonyldichlorid

Alle Monomere ergaben ein Gemisch an *endo*- und *exo*-Isomeren, was jedoch für die Anwendung als Kontaktbiozid keinerlei Bedeutung hat, und wurden mittels $^1\text{H-NMR}$, Elementanalyse und IR- Spektroskopie untersucht. Detaillierte Syntheseschritte sind in Kapitel 5.1.20 und 5.1.21 beschrieben.

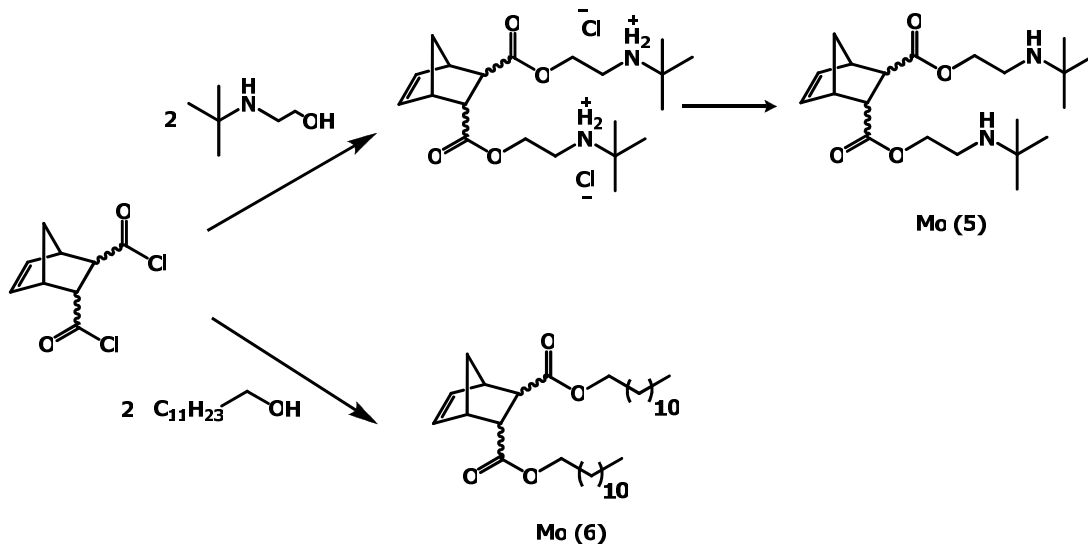


Abbildung 63: Reaktionsgleichung zur Synthese von Mo (5) und Mo (6)

Die Struktur der statistischen Copolymere **poly(5_x -*co*- 6_{600-x})**, welche mittels ROMP durch Verwendung des Umicore Katalysators **M31** generiert worden sind, werden in Abbildung 64 demonstriert. Nach vollständigem Umsatz an Monomer wurden die Polymerisationen durch einen Überschuss an Ethylvinylether terminiert. Bei allen Polymeren wurde eine Kettenlänge von 600 anvisiert. Die genaue Beschreibung der Synthese wird im Experimentellen Teil 5.1.22 beschrieben.

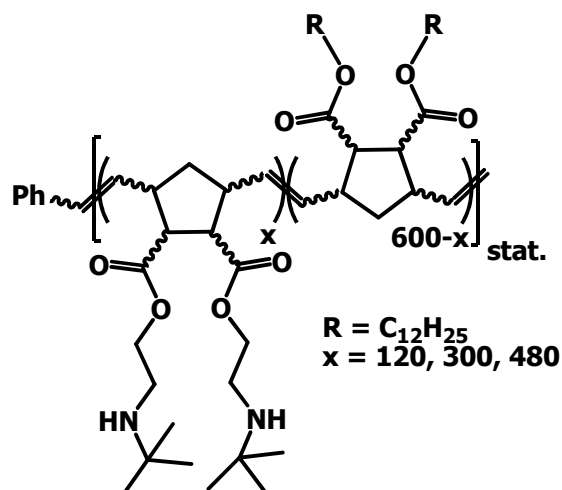


Abbildung 64: Struktur von poly (5_x -*co*- 6_{600-x})

3.2.3 GPC-, NMR-, STA- und DSC-Analysen der Copolymere poly(5_x-co-6_{600-x})

Auch hier wurden zur Bestimmung des Molekulargewichts GPC- Analysen durchgeführt. Als Lösungsmittel für die Polymere diente CHCl₃/Et₃N/*iso*-propanol (94/4/2). Die Messungen wurden mit einem Gerät der Firma Hitachi L-6000A pump (differentielles Refraktometer, Waters 410, als Detektor, Polystyrol-Standards zur Kalibration, Trennsäule mit Polymer Standard Service, 8 x 300mm STV linear XL 5 μm) ausgeführt. Anhand von NMR- Messungen konnte die tatsächliche Zusammensetzung der Polymere bestimmt werden. Als Analysengerät wurde dafür das Bruker Avance III (300-MHz) Spektrometer benutzt.

Die Polymerisation lieferte nicht perfekt statistische Copolymere, was durch Integration der zugehörigen Peaks im ¹H-NMR Spektrum (das Signal der Doppelbindung (5.52-5.1ppm) wurde in Relation zu den Peaks der terminalen Methylgruppe (0.83ppm) der Dodecylkette gesetzt und integriert) bewiesen wurde. Dabei fiel auf, dass bei den Polymeren **poly(5₃₀₀-co-6₃₀₀)** und **poly(5₁₂₀-co-6₄₈₀)** der Anteil der H-Atome von **Mo (6)** bei 0.83ppm nicht dem Sollwert entsprach, sondern niedriger war. Lediglich bei **poly(5₅₈₀-co-6₁₂₀)**, welches den geringsten Anteil an **Mo (6)** aufweist, ergab das Integral bei 0.83ppm die gewünschte Anzahl an Wasserstoffatomen. Das heißt, dass laut diesen Ergebnissen die Inkorporation des lipophilen Anteils (**Mo (6)**) bei den difunktionellen Norbornenpolymeren geringer war, und sich somit genau umgekehrt verhalten hat, als bei monofunktionalisierten Monomeren. Es wäre möglich, dass durch die zwei langen Alkylketten eine sterische Hinderung und eine damit verbundene unvollständige Polymerisation aufgetreten sein könnte.

Tabelle 3: GPC und DSC Ergebnisse

Probe	Ausbeute [%]	M _n ; GPC ^a [kDa]	PDI ^a	T _{dc} / T _m [°C] ^b
poly(5₁₂₀-co-6₄₈₀)	87	273	1.5	289/-15
poly(5₃₀₀-co-6₃₀₀)	79	244	1.9	200/-28
poly(5₄₈₀-co-6₁₂₀)	83	217	1.7	226/n.e ^c

^a bestimmt mittels GPC (Lösungsmittel: CHCl₃ : Et₃N : Isopropanol = 94 : 4 : 2; Polystyrol-Standards); ^b T_{dc} (decomposition temperature) ist die Temperatur, bei der 5% Massenverlust auftreten (mittels STA, Heizrate 10 °C/min), T_m (Schmelzpunkt); ^c n.e = nicht ermittelbar

Die Ergebnisse der DSC-Analysen zeigten, dass die Copolymere keinen T_g sondern einen Schmelzpunkt aufwiesen. Dies kam durch eine (Teil-)Kristallinität der Polymere zustande. Mit steigendem Anteil an **Mo (5)** sinkt der Schmelzpunkt auf -28°C. Der Schmelzpunkt des Polymers **poly(5₄₈₀-co-6₁₂₀)** konnte nicht bestimmt werden.

3.2.4 Mikrobizide Tests

Die mikrobizide Aktivität der hergestellten Polymere wurde gegen *L. monocytogenes* beim TTZ Bremerhaven (Technologie Transfer Zentrum) im Rahmen des EU-Projekts „Biosurf“ getestet.

Von den hergestellten Polymeren wurde eine 1%ige Lösung in Chloroform hergestellt. Diese Lösung wurde mittels Spincoaten auf Glasplatten der Größe 40x40mm aufgebracht. Dazu wurden folgende Parameter am Spincoater gewählt:

- Rotationsgeschwindigkeit: 1000rpm
- Beschleunigung: 1000rpm/s
- Rotationsdauer: 20s

Die Glasplatten wurden jeweils mit 3x75 μ L (entspricht der Ausgangskoloniezahl von 6×10^5) Bakteriensuspension beimpft und mit sterilen Deckgläsern abgedeckt. Danach wurden die Compoundplättchen für 24h bei 35°C inkubiert. Die Proben wurden in Petrischalen überführt, welche 10mL CSL-Medium beinhalten, und unter Schütteln eluiert. Die hergestellten Verdünnungen wurden auf CSA (Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar) ausgespatelt (200 μ L) und bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ für 44 ± 4 Stunden bebrütet. Die Versuche wurden im Doppelansatz durchgeführt.

Tabelle 4: Ergebnisse der bioziden Tests der difunktionellen Norbornene gegen *L. monocytogenes*

Probe	<i>L. monocytogenes</i>	
	24 h (log [CFU]) *	Reduktionsfaktor R ^a
Referenz ^b	6.23	-
1: poly(5₁₂₀-co-6₄₈₀)	6.28	-0.05
2: poly(5₃₀₀-co-6₃₀₀)	5.18	1.05
3: poly(5₄₈₀-co-6₁₂₀)	0	6.23

*log: dekadischer Logarithmus; ^aR= $\log(\text{CFU}_{\text{Referenz}}) - \log(\text{CFU}_{\text{poly (5-co-6)}})$, negative Werte bedeuten eine Keimvermehrung; ^b poly(*endo,exo*-dimethyl bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-2-carboxylat)

Die Bewertung der mikrobiziden Wirksamkeit erfolgte über die Reduktionszahl. Diese Reduktionszahl errechnet sich nach der Formel $R = \log(\text{CFU}_{\text{Referenz}}) - \log(\text{CFU}_{\text{poly (5-co-6)}})$. Sie ist ein Maß dafür, wie viele der in der ursprünglichen Bakteriensuspension enthaltenen Mikroorganismen, die im ersten Schritt der Untersuchung direkt auf die ausgerüsteten Materialmuster

aufgebracht wurden, durch den Kontakt mit der bioziden Oberfläche im Vergleich zum Nullmuster abgestorben sind.

Da die Bakterienkonzentrationen in Form von Zehnerpotenzen angegeben werden, arbeitet man bei der Berechnung mit den zugehörigen Logarithmen. Ein Reduktionsfaktor von 2 bedeutet daher, dass die Konzentration der Bakteriensuspension nach dem Kontakt mit der ausgerüsteten Probe im Vergleich zur Nullprobe um 2 Zehnerpotenzen geringer ist. Je größer der Reduktionsfaktor umso mehr Bakterien sterben während des Kontaktes mit der ausgerüsteten Oberfläche und umso höher ist daher die Wirksamkeit.

Man sieht in Tabelle 4 und Abbildung 65, dass lediglich **poly(5₄₈₀-co-6₁₂₀)**, das Polymer mit dem größten Anteil an **Mo (5)**, eine biozide Wirksamkeit nach JIS zeigte. Wie in Kapitel 3.1.5 näher erläutert wird, ist die Dichte an negativer Ladung bei Gram-positiven Bakterien, so auch *L. monocytogenes*, höher, was eine gesteigerte Wechselwirkung zwischen Polymer mit hohem Aminanteil (liegt teilweise in protonierter Form vor) und dem Bakterium zur Folge hat.

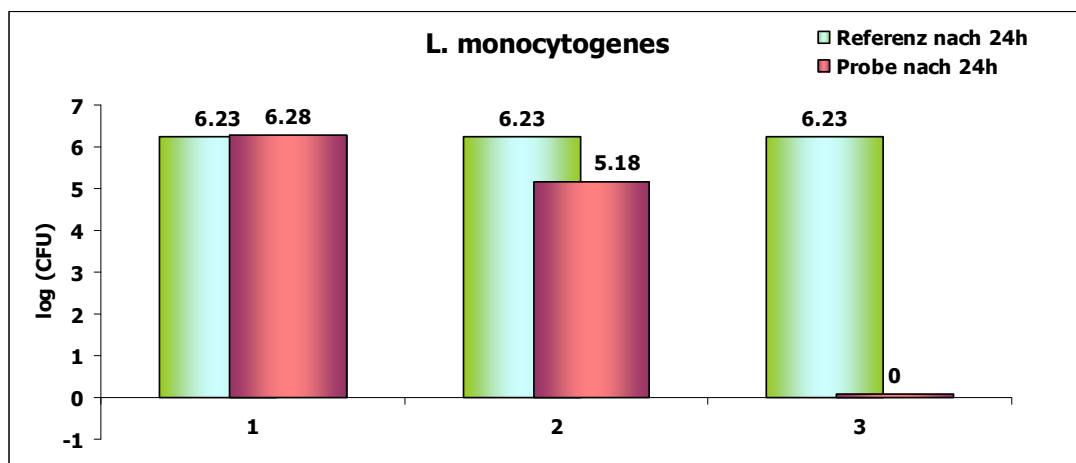


Abbildung 65: graphische Darstellung der bioziden Wirksamkeit von 1: poly(5₁₂₀-co-6₄₈₀), 2: poly(5₃₀₀-co-6₃₀₀) und 3: poly(5₄₈₀-co-6₁₂₀)

3.2.5 Zusammenfassung

Difunktionelle Norbornenmonomere wurden mittels ROMP durch Verwendung eines Umicore Initiators **M31** erfolgreich zu drei verschiedenen statistischen Copolymeren verarbeitet. Diese Polymere wurden GPC-, NMR- und DSC-Analysen unterzogen. Die NMR-Analyse ergab einen nicht vollständigen Einbau des lipophilen Monomers **Mo (6)**. GPC- und DSC-Analysen ergaben annähernd erwartete Werte. Zur Überprüfung der bioziden Aktivität wurden beim TTZ Bremerhaven Tests gegen *L. monocytogenes* in Anlehnung an den JIS durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, dass mit dem höchsten Anteil an **Mo (5)** die beste antibakte-

rielle Wirksamkeit erzielt werden konnte, da keine CFU nach 24 Stunden festgestellt werden konnten. Testergebnisse gegen *S. aureus* und *E. coli* sind noch ausständig.

3.3 Amin-funktionalisierte PE-Compounds

3.3.1 Einleitung

Aufgrund der bioziden Wirksamkeit von **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** (Kapitel 3.1) wurden am Institut Polymercompounds mit PE, Dowlex 2388, hergestellt. Zur Homogenisierung der Polymermischungen wurde ein Miniextruder der Firma Haake verwendet. Die Weiterverarbeitung erfolgte mittels Vakuumpaltenpresse der Firma Collin. Abbildung 66 zeigt das gewünschte Endziel, bei dem sich die funktionellen Gruppen des Wirkpolymers durch Selbstanordnung an der Oberfläche des Bulkpolymers befinden sollten.

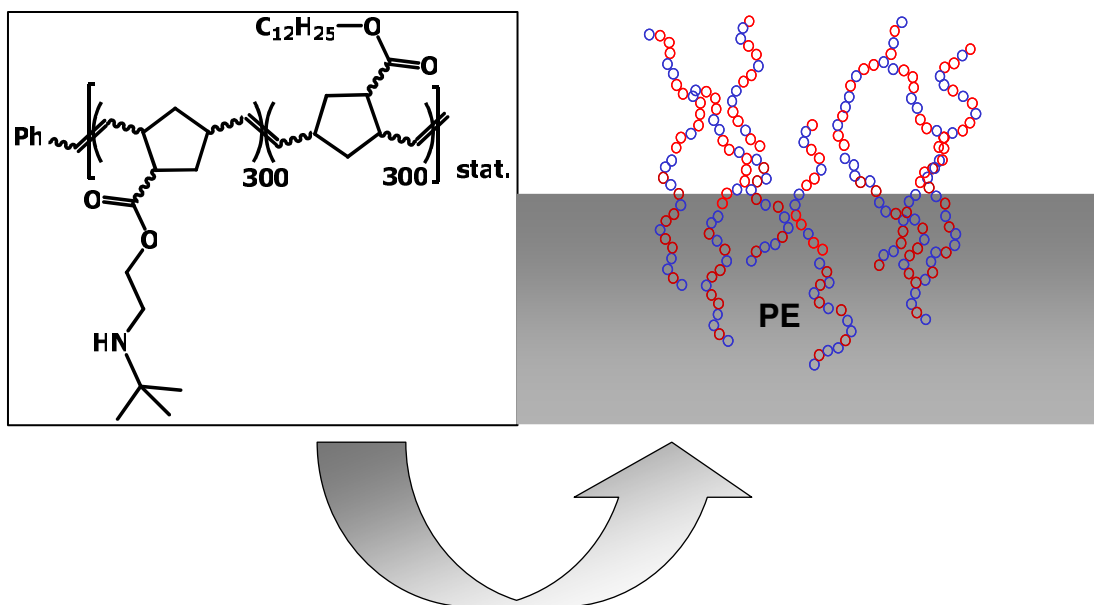


Abbildung 66: Herstellung von Polymercompounds mit PE

3.3.2 Herstellung der Polymercompounds

Bei der Herstellung der antimikrobiellen Compounds im Miniextruder (Gerätedaten siehe 5.1.10) wurde eine Verarbeitungstemperatur von 190°C und eine Mischzeit von 2 Minuten gewählt. Es wurden Mischungen mit 3%, 5% und 7% von **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** in PE (Dowlex 2388) hergestellt. Durch die Verwendung einer Lochdüse lagen die Compounds danach als Polymerstränge vor, die anschließend mit einer Schere zu kleinen Stücken geschnitten wurden. Die erste Formgebung der Polymerstücke erfolgte mittels Vakuumpaltenpresse (Gerätedaten siehe 5.1.12). Als Form dienten 2 Metallplatten (200x200mm) und ein Abstandhalter (1mm). Um das Ankleben des Polymeren zu verhindern, wurden 2 Teflonplatten zwischen den Metallplatten verwendet. Weiters schützten die Teflonplatten das Polymer vor

Schmutz. Die hergestellten Platten hatten eine Größe von 160x160x1mm und wurden mit Hilfe einer Schneidemaschine zu 40x40x1mm Platten zerkleinert.

Die Vakuumpaltenpresse wurde mit folgendem Temperatur-Druck Programm gestartet:

Tabelle 5: Temperatur-Druck Programm der Vakuumpaltenpresse

Stufe	1	2	3	4	5
T [°C]	170	170	170	170	50
t [min]	2	2	5	5	5
p [bar]	2	10	50	100	100

3.3.3 Migrationsuntersuchungen

In Zusammenarbeit mit DI Nadja Noormofidi wurden von den hergestellten Polymerplättchen Migrationsuntersuchungen durchgeführt um festzustellen, ob sich Bestandteile herauslösen. Dafür wurden die zwei nachstehend beschriebenen Methoden eingesetzt:

3.3.3.1 Gewichtsverlust

Die hergestellten Probeplättchen (5 wt-% **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** in Dowlex) wurden zu ca. 1g Stücken zerkleinert, in einen Glasbehälter überführt und 24h im Vakuumtrockenschrank bei 40°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend wurden die Plättchen gewogen und in verschraubbare Röhrchen überführt, die mit H₂O dest. befüllt und bei Raumtemperatur stehengelassen wurden. Es wurden zwei Testreihen durchgeführt – ein Kurz- und ein Langzeittest. Für den Kurzzeittest wurde das Polymer nach 24h entnommen, im Vakuumtrockenschrank bei 40°C getrocknet und rückgewogen, um einen möglichen Gewichtsverlust zu verzeichnen. Der Langzeittest wurde nach einem Monat beendet. Auch hier wurden die Plättchen entnommen, im Vakuumtrockenschrank bei 40°C getrocknet und rückgewogen. Als Referenzprobe wurde reines Dowlex 2388, ebenfalls in kleine Stücke geschnitten, verwendet. Das Ergebnis des Kurzzeittests und des Langzeittests zeigte, dass es zu **keiner Änderung der Masse** kam.

3.3.3.2 Soxhlet-Extraktion

Das zu extrahierende Material, die klein geschnittenen Polymerproben (5 wt-% **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** in Dowlex), befanden sich in einer Extraktionshülse, welche in den Soxhlet-Aufsatz eingesetzt wurde. Im Kolben unter dem Soxhlet-Aufsatz wurde ein Lösungsmittel, in unserem Fall ca. 300mL H₂O dest., zum Sieden gebracht. Die entstandenen Dämpfe stiegen durch das so genannte Dampfrohr auf, kondensierten im Kühler darüber und gelangten so in die Extraktionshülse. Dadurch war es möglich, in Wasser lösliche Substanzen bei höheren Temperaturen zu extrahieren. Insgesamt wurde die Soxhletextraktion 48h durchgeführt. Die dabei aus dem Polymer herausgelösten Substanzen konnten nach anschließender Entfernung des Wassers durch Lyophilisation (Gefriertrocknung) analysiert werden. Als Referenz wurde auch hier wieder pulverisiertes DOWLEX 2388 verwendet.

Bei der Probe (5 wt-% **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** in Dowlex) lösten sich **0,51%**. Bei der Referenz (DOWLEX 2388) wurden **0,86%** gelöst. Diese beiden Proben wurden zur HT-HPLC (Hochtemperatur-Flüssigchromatographie) an die Montanuniversität Leoben geschickt. Das Ergebnis dieser chromatographischen Auswertung ergab, dass es sich bei beiden herausgelösten Substanzen um PE, Dowlex 2388, handelte. Die mikrobiziden Substanzen verblieben somit im Compound.

3.3.4 Mikrobizide Tests der Compounds

Die Prüfung erfolgte auf Basis des JIS Z2801:2000 bei der Firma Hyggen in Bischofshofen. Geprüft wurden 3 Proben (3 wt-%, 5 wt-% und 7 wt-% **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** in Dowlex) und eine Nullprobe (reines Dowlex) ohne Wirkstoff. Der Wert „0-Stunden“ wurde nach 15-Minuten gemessen und als „standardisierter“ Sofortwert verwendet. Die Dreifachbestimmung zeigte eine gute Reproduzierbarkeit. Die Durchführung entspricht dem in Kapitel 3.1.5 beschriebenen Arbeitsablauf. Gestestet wurde die Wirksamkeit gegen *C. albicans* (ATCC 10231), *S. aureus* (ATCC 6538), *P. aeruginosa* (ATCC 15442) und *A. niger* (ATCC 16404).

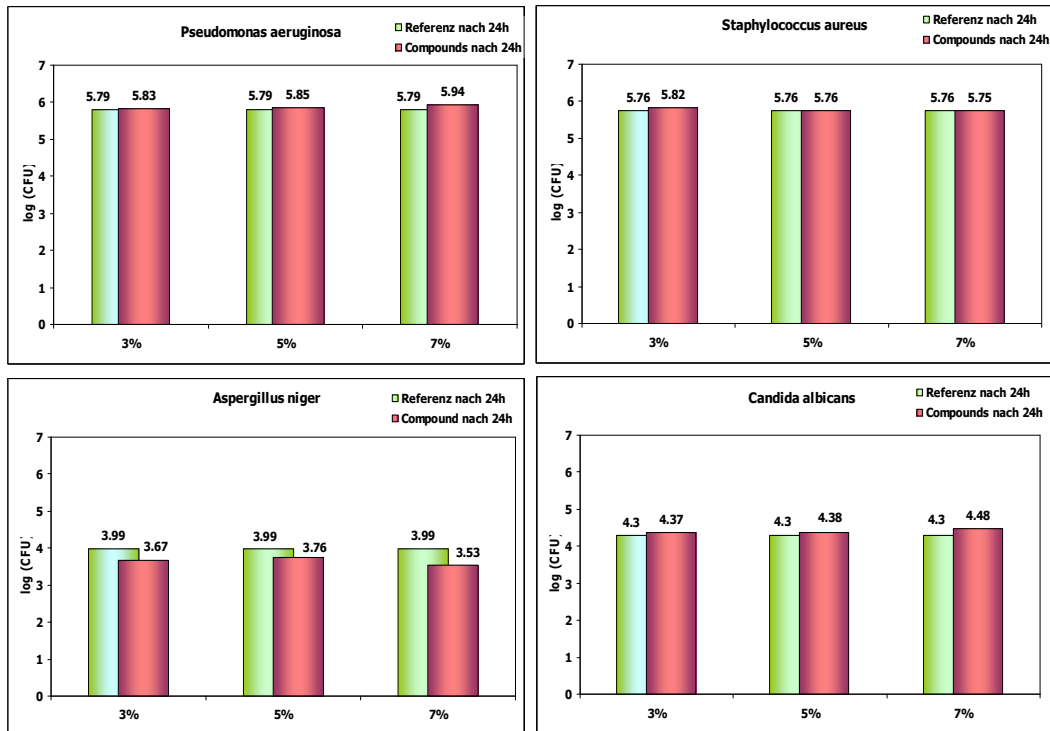


Abbildung 67: Testergebnisse der Compounds mit 3 wt-%, 5 wt-% und 7 wt-% an Wirkstoff gegen *C. albicans*, *A. niger*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* nach JIS Z2801:2000

Abbildung 67 zeigt die Ergebnisse der mikrobiziden Tests gegen *C. albicans*, *A. niger*, *P. aeruginosa* und *S. aureus*. Die Messergebnisse ergaben, dass bei *C. albicans*, *S. aureus* und *P. aeruginosa* kein Unterschied zur Referenz zu verzeichnen war. Lediglich *A. niger* wies eine geringe Reduktion der CFU im Vergleich zur Referenz nach 24 Stunden auf, jedoch eine nach JIS geforderte Reduktion von 2 log-Stufen konnte auch hier nicht erreicht werden. Unterschiede in den verschiedenen Compoundmischungen konnten ebenfalls nicht festgestellt werden.

Alle Messergebnisse verdeutlichten, dass kein relevanter Unterschied zwischen Referenz und Compound erkennbar war. Es ist daher anzunehmen, dass die bioziden Seitenketten des Polymers im Inneren des Compounds vorlagen und das gewünschte Endziel (siehe Abbildung 66) somit nicht verwirklicht werden konnte. Damit eine Aussage über die Verteilung des Biozids im Compound getroffen werden konnte, wurden TEM-Bilder angefertigt.

3.3.5 TEM-Untersuchungen

Um die Verteilung des Copolymers im Polymercompound in Erfahrung zu bringen, wurden am FELMI (Institut für Elektronenmikroskopie) der TU Graz transmissionselektronenmikroskopische Bilder angefertigt. Drei verschiedene Compounds wurden getestet, wobei in zwei Compounds ein statistisches Copolymer, in den dritten Compound ein Blockcopolymer eingearbeitet wurde.

1. 5 wt-% statistisches Copolymer **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** in Dowlex, Formgebung mittels Vakuumpaltenpresse (entspricht den nach JIS getesteten Compounds)
2. 5 wt-% statistisches Copolymer **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** in Dowlex, Formgebung mittels Spritzguss
3. 5 wt-% Blockcopolymer **poly(1₃₀₀-block-2₃₀₀)** in Dowlex, Formgebung mittels Spritzguss

Die Proben wurden in Epoxidharz eingebettet und anschließend gekühlt, um ultradünne Schnitte anzufertigen (Kryo-ultra-Mikrotom). Dieses Mikrotom ermöglichte die Herstellung ultradünner Schnitte von weichen, organischen Proben, indem die gekühlte Probe über das keilförmige Messer des Diamantschneiders fährt.



Abbildung 68: Mikrotom (links), TEM (rechts)

Die Schnitte wurden anschließend mit RuO₄ behandelt, um Kontrastunterschiede in der Probe zu visualisieren. Danach konnten die fertig präparierten Proben untersucht werden.

Abbildung 69 zeigt die Bilder der TEM-Analyse. Durch die Visualisierung des aktiven Polymers im Blend mit Rutheniumtetroxid wurde das biozide Polymer dunkel gefärbt. Die grauen Bereiche in den Bildern stellen PE dar.

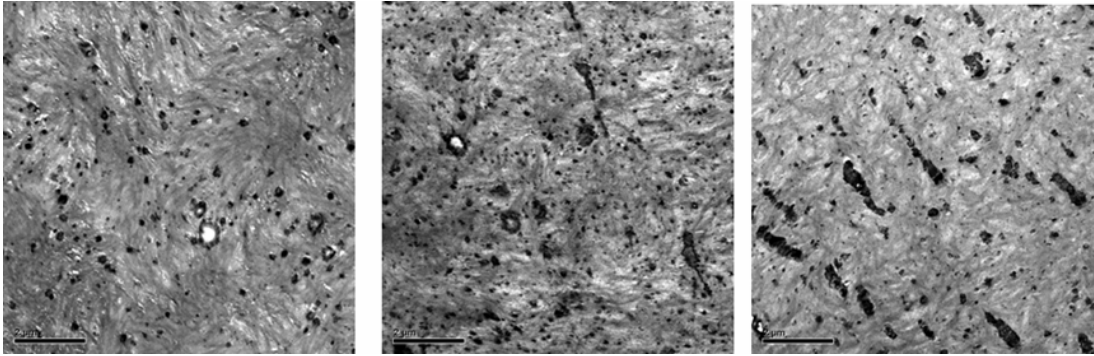


Abbildung 69: TEM-Bilder; statistisches Copolymer eingeleitet in PE, Vakuumpresse; statistisches Copolymer eingeleitet in PE, Spritzguss; Blockcopolymer eingeleitet in PE, Spritzguss (von li. nach re.)

Alle drei Bilder zeigen deutliche Unterschiede: Bild 1 (linkes Bild) zeigt im Vergleich zu Bild 2 (Mitte) eine relativ homogene Verteilung des Polymers im Blend ohne größere Agglomerationen. In Bild 2 (Mitte) treten häufigere Agglomerationen auf. Bild 3 (rechts) zeigt die größten Anhäufungen und damit verbundene Inhomogenitäten des bioziden Polymers im Blend. Anhand dieser TEM-Bilder kann man sagen, dass die Verteilung des statistischen Polymers im Blend besser war, als die des Blockcopolymers. Da Bild 1 und Bild 2 (links und Mitte) Unterschiede aufweisen hatte auch die Verarbeitungsmethode laut dieser Analyse Auswirkungen auf die Distribution im Compound. Um jedoch detailliertere Aussagen treffen zu können, ist es notwendig, weitere Untersuchungen durchzuführen. Es lässt sich damit sagen, dass eine vollständig homogene Verteilung mit keiner Methode erreicht werden konnte.

3.3.6 Zusammenfassung

Die per Extruder hergestellten Polymercompounds aus **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** und PE wurden mit Hilfe der Vakuumpaltenpresse oder mittels Spritzguss geformt. Die darauf folgenden Migrationsuntersuchungen ergaben, dass bei der Methode des Gewichtsverlusts sowohl beim Kurzzeit- als auch beim Langzeittest keine Abnahme des Gewichts auftrat. Bei der Soxhletextraktion wurde nur PE als extrahierte Substanz ermittelt.

Antimikrobielle Tests demonstrierten, dass die geforderte mikrobizide Wirkung nach JIS Z2801:2000 nicht erreicht wurde. Es kam lediglich in einem Fall (*A. niger*) zu einer Abnahme der CFU verglichen mit der Referenz PE. Um einen Grund für die fehlende Biozidität des Compounds zu finden, wurden TEM-Bilder gefertigt, welche die Verteilung des Wirkpolymers im Compound darstellen sollten. Aus Vergleichsgründen wurden verschiedene Verarbeitungsmethoden und verschiedene Copolymere (statistisches Copolymer, Blockcopolymer) verwendet. Diese Bilder zeigten, dass die Distribution unter Anwendung der Vakuumpalten-

presse und des statistischen Copolymers die besten Resultate lieferte, jedoch eine wünschenswerte Anordnung des Wirkpolymers an der Oberfläche der Compounds ausblieb.

Abschließend lässt sich sagen, dass noch viele Optimierungen in der Herstellung der Compounds durchgeführt werden müssen, um eine bakterizide Wirkung zu erreichen und damit verbundene Anwendungsgebiete aufzuschließen.

3.4 Herstellung von Polymercompounds mit Chitosan

Chitosan ist ein bereits sehr häufig eingesetztes Biozid und wird dadurch auch großtechnisch hergestellt. Da nach einer eingehenden Literaturrecherche PE-Chitosan Compounds noch nicht kommerziell angewendet werden, wurde diese Compoundmischung am Institut eingearbeitet und danach dessen antimikrobielle Aktivität getestet. Weiters wurden ζ -Potential- und ATIR-Messungen zur Oberflächencharakterisierung durchgeführt.

3.4.1 Temperaturstabilitätsuntersuchungen von Chitosan

Vor der Herstellung der Compounds wurde die Temperaturstabilität von Chitosan mittels Simultaner Thermoanalyse (STA, Gerätedaten siehe 5.1.3) überprüft. Bei dieser Analyse wurden gleichzeitig ein DSC- und ein thermogravimetrisches Signal in Abhängigkeit der Temperatur aufgenommen. Somit ließen sich Umwandlungstemperaturen und Massenverluste bestimmen. STA wird häufig mit einem Massenspektrometer kombiniert, um die zersetzten Polymerbestandteile zu analysieren. In einem Massenspektrometer werden die zu analysierenden Komponenten aufgrund ihrer Massenzahl getrennt, wodurch Zuordnungen zu den Polymerbestandteilen möglich sind.

Abbildung 70 zeigt die Zersetzungskurve von Chitosan. Wie man daraus ablesen kann, kommt es zur ersten Massenabnahme bei ungefähr 50°C (siehe blaue Kurve in Abbildung 70), wobei es sich dabei um verdampftes Wasser handelt. Danach bleibt die Masse konstant bis etwa 250°C. Schlussfolgerung dieser Analyse ist, dass Chitosan mit PE bei 170°C verarbeitet werden kann, ohne dass eine Zersetzung des Wirkstoffs stattfindet.

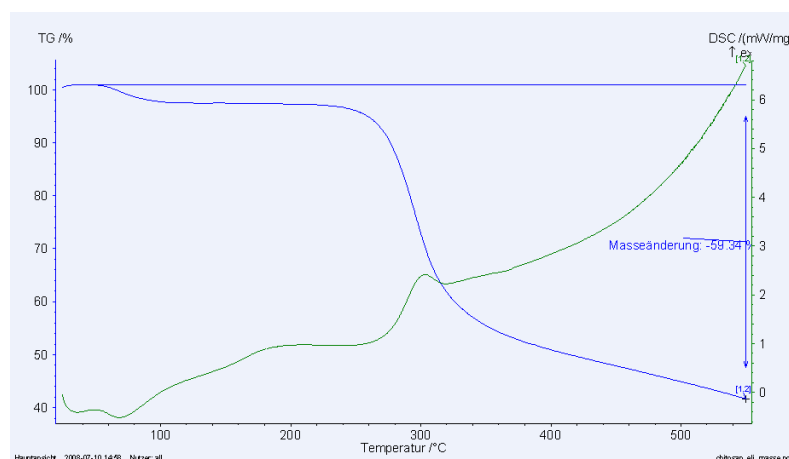


Abbildung 70: Zersetzungskurve von Chitosan

3.4.2 Herstellung der Chitosan-Compounds

Chitosan wurde mit pulverisiertem PE händisch gemischt und anschließend mit der Vakuumpaltenpresse zu Platten gepresst. Insgesamt wurden drei verschiedene Compounds hergestellt: 5 wt-% Chitosan in PE, 10 wt-% Chitosan in PE und 20 wt-% Chitosan in PE. Die Einstellungen der Vakuumpaltenpresse entsprechen dem in Kapitel 3.3.2 beschriebenen Temperatur-Druck Diagramm. Man konnte nach dieser Formgebung mit freiem Auge erkennen, dass die Compoundplatten nicht homogen waren. Diese Tatsache hatte mit Sicherheit Auswirkungen auf weitere Tests.

3.4.3 Bestimmung der Oberflächeneigenschaften der Compounds

In Zusammenarbeit mit der Firma Anton Paar wurden ζ -Potentialmessungen durchgeführt. Als Referenz wurden reine PE-Plättchen herangezogen.

Abbildung 71 zeigt die Ergebnisse der Stempelzelle. Man sieht sehr deutlich die Reinheit der PE-Probe, charakterisiert durch den isoelektrischen Punkt (IEP) bei pH 4. Die Mischungen mit 5 wt-% bzw. 10 wt-% Chitosan zeigten eine deutliche Verschiebung des IEP zu höheren pH Werten, allerdings konnte hier kein deutlicher Unterschied zwischen den Proben mit 5% und 10% festgestellt werden. Bei der Messung *PE 10% #3* handelte es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um einen Ausreißer. Die Probe mit 20 wt-% Chitosan hob sich in ihrem IEP wieder deutlich von den Proben mit geringerer Konzentration ab.

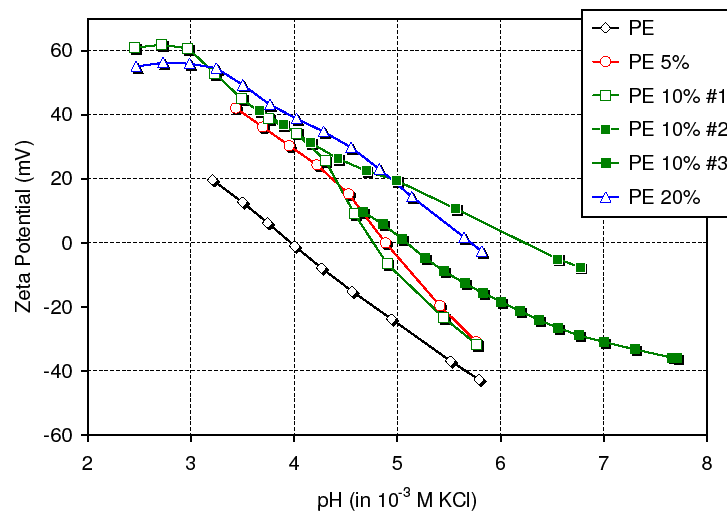


Abbildung 71: ζ -Potentiale der unterschiedlichen Compounds und PE in der Stempelzelle

Abbildung 72 zeigt die entsprechenden Resultate der Klammermesszelle. Interessanterweise konnte der IEP von pH 4 für reines Polyethylen nicht reproduziert werden, der pH Wert der verwendeten Elektrolytlösung lag hier jedoch bei pH > 7. Die gefundenen IEP's der diversen Mischungen zeigten jedoch einen deutlichen Trend einer Verschiebung zu höheren pH-Werten.

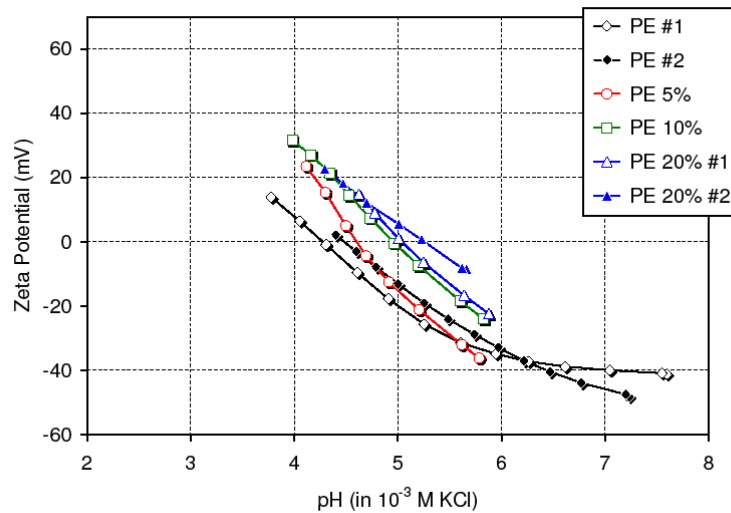


Abbildung 72: Resultate der Klammerzelle

In Abbildung 73 ist der Verlauf des mittleren IEP mit zunehmender Konzentration an Chitosan dargestellt. Der IEP bei 100% Chitosan stammte aus Messungen an einem Vliesstoff, gesponnen aus Chitosanfasern¹¹⁴ und ist im Einklang mit der Extrapolation der an dieser Probenreihe bestimmten IEP.

¹¹⁴ Matsumoto, H. *J. Coll. Interf. Sci.* **2007**, *310*, 678-681.

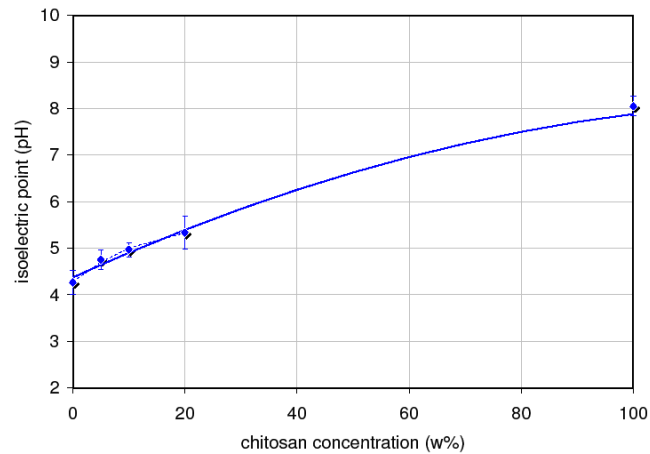


Abbildung 73: Verlauf des IEP mit zunehmender Konzentration an Chitosan

Wie man in Abbildung 71, Abbildung 72 und Abbildung 73 sehen kann, ändert sich der Isoelektrische Punkt (IEP) mit steigendem Gehalt an Chitosan im Polymerblend. Durch die Zumischung von Chitosan traten Änderungen in der Polarität der Oberfläche auf, was durch die Anwesenheit von Amingruppen erklärbar ist.

3.4.4 Mikrobizider Test

Die Prüfung erfolgte auf Basis des JIS Z2801:2000 bei der Firma W.H.U. in St. Johann / Pongau unter der Leitung von Herrn Dr. Arno Sorger. Geprüft wurde 1 Probe (20% Chitosan in Dowlex) und eine Nullprobe (reines Dowlex) ohne Wirkstoff. Der Wert „0-Stunden“ wurde nach 15-Minuten gemessen und als „standardisierter“ Sofortwert verwendet. Die Dreifachbestimmung zeigte eine gute Reproduzierbarkeit (Durchführung siehe 3.1.5).

Tabelle 6: JIS-Testergebnisse des Chitosan-Compound

Probe	log [CFU] <i>S. aureus</i> *	
	0 h	24 h
Referenz	4.79	6.18
Chitosan-Compound	4.9	5.96

* log: dekadischer Logarithmus; CFU: colony forming units.

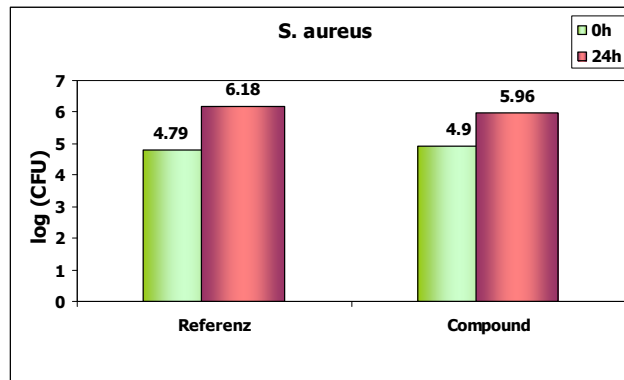


Abbildung 74: JIS-Ergebnisse gegen *S. aureus* des 20% Chitosan in PE- Compounds.

Wie man anhand von Abbildung 74 erkennen kann, trat ein Wachstum von *S. aureus* sowohl bei der Probe als auch bei der Referenz zwischen 0h und 24h auf. Das Prüfmuster zeigte somit keine bakterizide Wirksamkeit gemäß JIS Z2801. Da sogar bei 20 wt-% Chitosan in PE keine Wirkung erkennbar war, wurde die Wirksamkeit der Proben mit 5 wt-% und 10 wt-% Chitosan in PE nicht mehr eruiert.

Um Vergleichsanalysen durchzuführen, wurden Proben der Compounds ans OFI (Österreichisches Forschungsinstitut) geschickt und gemäß JIS Z2801:2000 geprüft. Auch dieser Test gegen *S. aureus* ergab das gleiche Resultat. Weiters wurde eine Testreihe gegen *E. coli* durchgeführt, bei der ebenso keine biozide Wirksamkeit festgestellt werden konnte. Weitere Arbeiten und Analysen werden aufgrund dieser Ergebnisse nicht mehr durchgeführt.

3.4.5 Zusammenfassung

Um weitere biozide Compounds herzustellen, wurde Chitosan herangezogen, welches bereits aufgrund seiner mikrobiziden Wirksamkeit kommerziell zum Einsatz kommt.

Bevor diese Blends hergestellt wurden, wurde die thermische Stabilität von Chitosan mittels STA-MS überprüft. Diese Resultate belegten, dass eine Verarbeitungstemperatur von 170°C die Stabilität von Chitosan nicht beeinflusst. Nach der Herstellung der Compounds (5 wt-% Chitosan in PE, 10 wt-% Chitosan in PE und 20 wt-% Chitosan in PE) wurden diese Blends unterschiedlicher Analysen unterzogen. Zum einen wurden die Änderungen der Oberflächeneigenschaften mittels ζ -Potentialmessungen bestimmt. Anhand dieser Messungen konnte man mit zunehmendem Gehalt an Chitosan im Blend eine Steigerung der IEPs zu höheren pH-Werten beobachten. ATIR-Messungen zeigten hingegen keine Unterschiede zwischen reinem PE und den Blends und konnten aus diesem Grund zur Charakterisierung nicht verwendet werden. Anschließende mikrobizide Tests legten dar, dass die Compound-Mischung mit 20 wt-% Chitosan in PE keine Wirkung gegenüber den Bakterien *S. aureus* und *E. coli*

aufwies. Die Änderungen der IEP sind in diesem Fall kein Indiz für eine antibakterielle Wirkung.

Diese Testergebnisse führten dazu, keine weiteren Untersuchungen der Compounds mit Chitosan als Wirkstoff durchzuführen.

3.5 Polyamine

Polyamine sind stickstoffhaltige Makromoleküle. Da aus Literaturrecherchen bekannt ist, dass Amine als biozide Gruppe in vielen Bereichen Anwendung finden, wurden im Rahmen dieser Dissertation und in Zusammenarbeit mit Dr. Frank Wiesbrock Mikrowellen-unterstützte Polymerisationen zur Synthese von aminfunktionalisierten Verbindungen durchgeführt. Dr. Frank Wiesbrock hatte sich bereits an der technischen Universität in Eindhoven eingehend mit Mikrowellen-unterstützter Synthese von Polyaminen beschäftigt (siehe 2.8). Diese Polymere wurden anschließend in kommerziell erhältliche Polymere (PE, PP) eincompoundiert.

3.5.1 Einleitung

Mikrowellenreaktoren spielen seit Beginn des neuen Jahrtausends eine sehr große Rolle in Chemielabors. Nicht nur die erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit sondern auch Faktoren wie Temperaturkontrolle, Druckkontrolle, Reproduzierbarkeit und Scale-up der Reaktion können damit verwirklicht werden. Darüber hinaus werden höhere Ausbeuten und bessere Reinheit bei geringerem Lösungsmittelverbrauch erhalten. Um diese Vorteile zu nutzen, wurden die bei uns am Institut befindlichen Mikrowellen zur Synthese von Polyaminen verwendet. Die in PE oder PP compoundierten Polyamine wurden anschließend nach JIS Z2801 getestet. Weiters wurde die Oberfläche dieser Compounds mittels AFM-Bilder und ζ -Potentialmessungen charakterisiert.

3.5.2 Synthese der Polyamine

Die Darstellung dieser Funktionspolymere wurde in drei Syntheseschritte unterteilt: Mikrowellen-unterstützte CROP (1), Deamidisierung der Polymerkette (2) und eine optionale Deprotonierung des Amins in der Hauptkette (3).

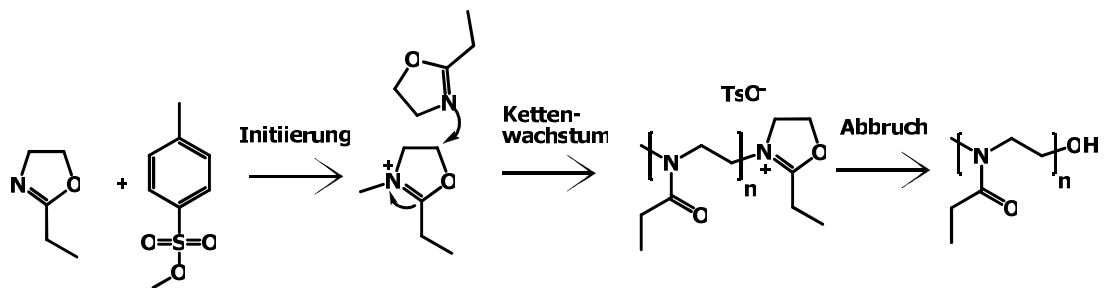
1. Schritt: CROP mittels Mikrowelle

Abbildung 75: Reaktionsgleichung zur Darstellung der Polyamide

Die Edukte (Ethyloxazolin, Methyltosylat) wurden unter Schutzgas eingewogen, anschließend in der Mikrowelle AP Synthos 3000 (für größere Ansätze geeignet, Gerätedaten siehe 5.1.13) für 10min bei 140°C polymerisiert (CROP). Die genauen Einstellungen sind in Kapitel 5.1.23 angeführt.

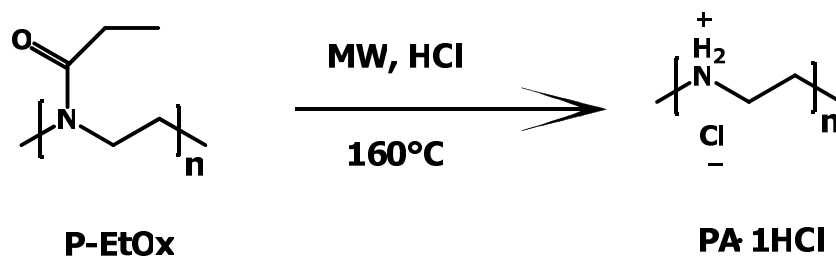
2. Schritt: Deamidisierung – Synthese des protonierten Polyamins

Abbildung 76: Deamidierungsreaktion

Das Polyamid (P-EtOx) wurde in Salzsäure gelöst und anschließend wieder in der Mikrowelle AP Synthos 3000 für 4 Stunden bei 240°C behandelt. Genaue Mikrowelleneinstellungen befinden sich im Experimentellen Teil (Kapitel 5.1.24).

3. Deprotonierung zum Polyamin

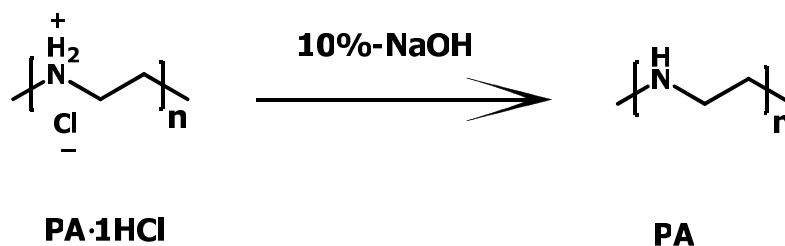


Abbildung 77: Deprotonierung zum Polyamin

Das protonierte Polyamin (PA·1HCl) wurde unter Verwendung einer Base (10% NaOH-Lösung) deprotoniert.

3.5.3 STA-Messungen von PA·1HCl und PA

Bevor mit den protonierten bzw. deprotonierten Polyaminen Polymercompounds hergestellt werden konnten, wurden deren Temperaturstabilitäten kontrolliert. Dazu wurden thermogravimetrische Messungen (STA-MS) des protonierten und deprotonierten Polymers als Vergleich angestellt. Abbildung 78 und Abbildung 79 zeigen die Zersetzungskurven (in beiden Abbildungen durch die blaue Kurve dargestellt) dieser Messungen. Aus den Kurven ist abzulesen, dass die Stabilität der beiden Polymere sehr unterschiedlich ist. Das protonierte Polymer (5% Masseverlust bei 270°C) war um einiges stabiler als die deprotonierte Form (5% Masseverlust bei 235°C). Da die Verarbeitung mit PE (Dowlex) Temperaturen um 170°C verlangte, wurde nur die protonierte Form eingesetzt, um größere Verluste an Polymer zu verhindern. Aufgrund dieser Tatsache wurden die Polymere, wenn nötig, erst nach der Compoundierung durch Einlegen in wässrige NaOH-Lösung deprotoniert.

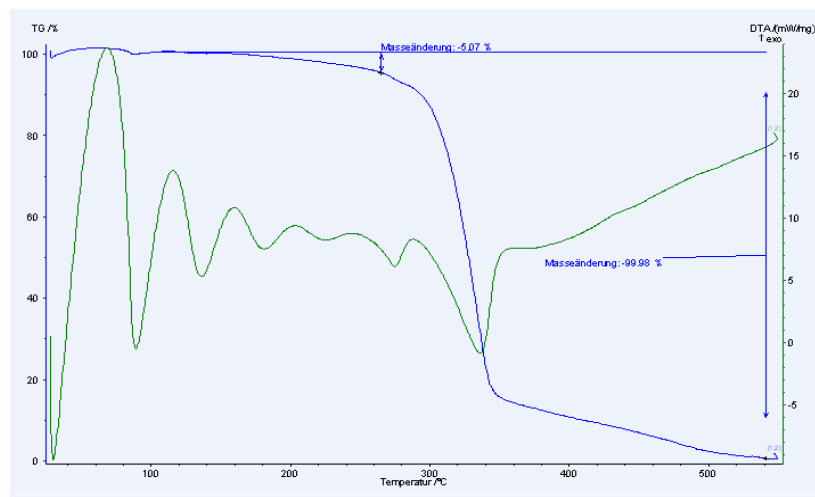


Abbildung 78: STA-MS Messkurve des protonierten Polyamins (PA·1HCl): Temperaturstabilität bis ungefähr 160°C. Bis 270°C ist ein Masseverlust von 5% zu verzeichnen.

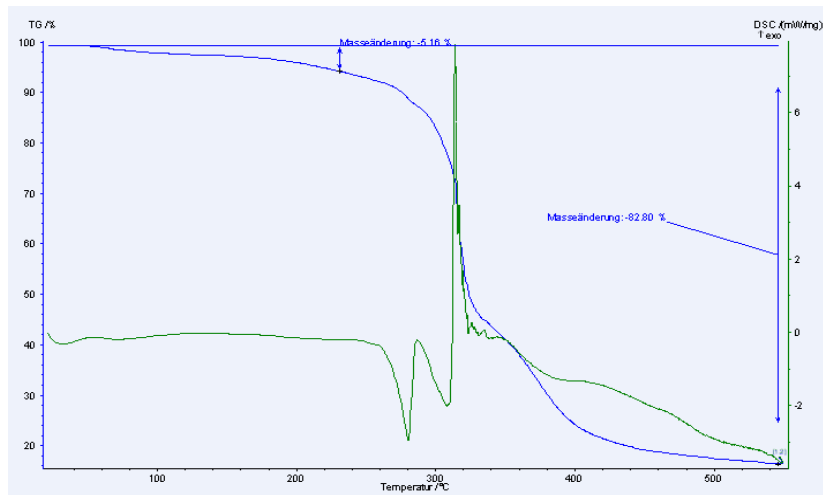


Abbildung 79: STA-MS Messkurve des deprotonierten Polyamins (PA): Ab 50°C ist der Beginn der Zersetzungskurve zu sehen. Bis 235°C ist ein Masseverlust von 5% zu verzeichnen.

3.5.4 Herstellung der Compounds

Durch die zuvor am Institut durchgeführten STA-MS Messungen wurde nur das protonierte Polymer (PA·1HCl) in Dowlex eingearbeitet. Es entstanden 5 wt-% Mischungen, wobei das PA·1HCl einmal händisch und einmal per Miniextruder (siehe 5.1.10) eingemischt wurde.

Beim händischen Mischen konnten Agglomerationen des PA·1HCl beobachtet werden, was das Mischen deutlich erschwerte. Die mittels Vakuumplassenpresse (Gerätedaten siehe 5.1.12) hergestellten Polymerplatten der händisch hergestellten Mischungen wiesen deutliche Inhomogenitäten auf. Biozide Tests dieser Platten wurden aufgrund der Agglomerationen des Wirkpolymers und den damit verbundenen Inhomogenitäten, als nicht sinnvoll erachtet.

Tabelle 7: Temperatur-Druck Programm der Vakuumplassenpresse

Stufe	1	2	3
T [°C]	170	170	50
t [min]	5	10	5
p [bar]	10	100	100

Die Mischung mittels Miniextruder wurde für fünf Minuten bei 180°C durchgeführt. Die erhaltenen Polymerstränge wurden mittels Schere in kleine Stücke geschnitten und anschließend in der Vakuumplassenpresse zu 200x200x1mm Polymerplatten geformt. Diese Platten erga-

ben bessere, aber immer noch nicht völlig homogene Mischungen. Trotzdem wurden diese Platten getestet. Vor der Untersuchung wurden die zugeschnittenen Platten (40x40x1mm) zur Deprotonierung für 24 Stunden in wässrig-alkalische Lösung eingelegt.

3.5.4.1 Mikrobizide Tests der mittels Miniextruder hergestellten Compounds

Die Prüfung erfolgte auf Basis des JIS Z2801:2000 bei der Firma W.H.U. in St. Johann/Pongau unter der Leitung von Herrn Dr. Arno Sorger. Geprüft wurde 1 Probe (5% PA in Dowlex) und eine Referenz (reines Dowlex) ohne Wirkstoff gegen das Gram-negative Bakterium *P. aeruginosa* (ATCC 15442), das Gram-positive Bakterium *S. aureus* (ATCC 6538P) und gegen den Pilz *C. albicans* (ATCC 10231). Der Wert „0-Stunden“ wurde nach 15-Minuten gemessen und als „standardisierter“ Sofortwert verwendet. Die Ausgangskoloniezahl betrug 10^6 pro Ansatz.

Die Compounds zeigten eine sehr gute bakterizide Wirksamkeit gegen *S. aureus*, nach 24 Stunden konnten keine Kolonien mehr gefunden werden. Die Wirksamkeiten gegen *P. aeruginosa* und *C. albicans* waren jedoch nicht so gut. Auch die Reproduzierbarkeit der Proben war nicht optimal. Bei *P. aeruginosa* und *C. albicans* zeigte nur eine von drei Bestimmungen eine biozide Wirkung, wodurch im Mittel die geforderte Reduktion von 2 log-Stufen (siehe JIS) nicht erreicht werden konnte.

Tabelle 8: JIS- Testergebnisse der PA- Compounds gegen *S. aureus*

Probe	0h [log(CFU)]*	24 h [log(CFU)]*	Reduktionsfaktor R ^a
Referenz (PE)	4.64	2.49	-
5 % PA in PE	4.57	0	2.49

* log: dekadischer Logarithmus; CFU: colony forming units; ^a R= log(CFU_{Referenz})- log(CFU_{Compound})

Tabelle 9: JIS- Testergebnisse der PA- Compounds gegen *P. aeruginosa*

Probe	0h [log(CFU)]*	24 h [log(CFU)]*	Reduktionsfaktor R ^a
Referenz (PE)	3.72	5.68	-
5 % PA in PE	3.63	3.92	1.76

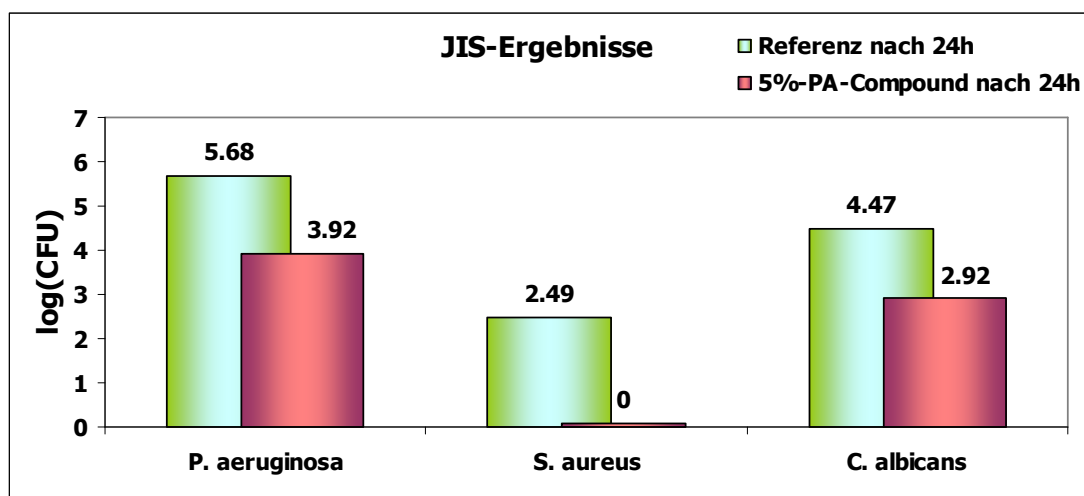
* log: dekadischer Logarithmus; CFU: colony forming units; ^a R= log(CFU_{Referenz})- log(CFU_{Compound})

Tabelle 10: JIS- Testergebnisse der PA- Compounds gegen *C. albicans*

Probe	0h [log(CFU)]*	24 h [log(CFU)]*	Reduktionsfaktor R ^a
Referenz (PE)	3	4.47	-
5 % PA in PE	2.97	2.92	1.55

* log: dekadischer Logarithmus; CFU: colony forming units; ^a R = $\log(\text{CFU}_{\text{Referenz}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Compound}})$

Die wahrscheinliche Ursache hierfür lag in Probeninhomogenitäten. Abbildung 80 zeigt eine grafische Darstellung der Ergebnisse. Hier sieht man, dass nur im Fall *S. aureus* eine gemäß JIS geforderte Reduktion auftritt.

Abbildung 80: JIS-Ergebnisse der Compounds gegen *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*

Um die Inhomogenitäten der Wirkstoffverteilung im Blend zu eliminieren, wurden Compounds beim TCKT (Transfercenter für Kunststofftechnik) in Wels hergestellt. Diese Arbeiten wurden im Rahmen des EU-Projekts „Biosurf“ durchgeführt. Nachstehend sind nun die Durchführung bzw. die Testergebnisse der bioziden Analysen detailliert angeführt.

3.5.5 Herstellung von Polymercompounds beim TCKT

Die Herstellung der Compounds wurde vom TCKT durch Verwendung eines Extruders bei 200°C durchgeführt. Eine Spritzgussmaschine formte die Compoundmischung zu 60x60mm Plättchen.

Je eine der folgenden zwei Substanzen wurden in PP (RA 130 E natur; Polypropylen (PP) Statistisches Copolymer, Borealis) eincompoundiert:

- PA·1HCl (3.5.2), protoniertes PA
- PA (3.5.2), deprotoniertes PA

Weiters wurde in zwei Proben Lotader AX8900 eingemischt. Lotader besteht zu 25% aus Ester (m), 8% aus Glycidyl-Methacrylat (p) und 67% Polyethylen (n). Abbildung 81 zeigt die Strukturformel dieser Verbindung.

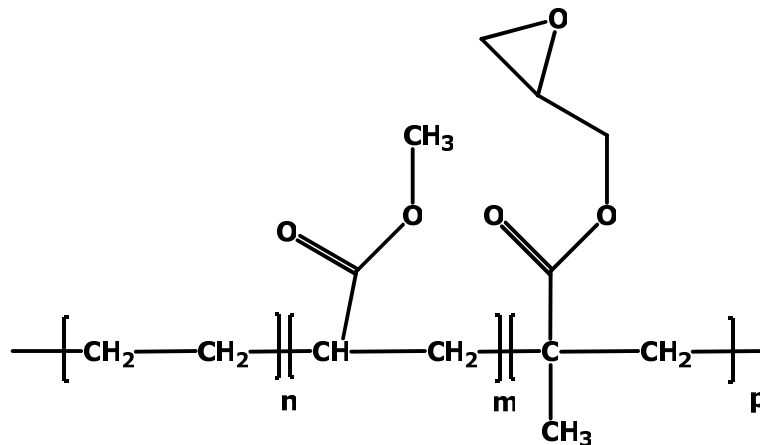


Abbildung 81: Lotader AX8900 (GMA)

Lotader soll die Mischbarkeit der Wirksubstanzen mit PP verbessern. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick der unterschiedlichen Compoundmischungen:

Tabelle 11: Zusammensetzung der Compounds

Probe	Material 1		Material 2		Material 3	
	Anteil	Bezeichnung	Anteil	Bezeichnung	Anteil	Bezeichnung
1	99%	RA 130E natur	1%	PA·1HCl		
2	98%	RA 130E natur	1%	PA·1HCl	1%	Lotader
3	98%	RA 130E natur	1%	PA	1%	Lotader
Ref.^a	100%	RA 130E natur				

^a Referenz

Die Homogenität der Proben war sehr gut und deutlich besser als bei den bei uns am Institut hergestellten Compounds (siehe 3.5.4; 3.5.4.1). In Abbildung 82 ist ein farblicher Unterschied in den Compounds zu erkennen. Anscheinend kam es zu einer leicht bräunlichen Färbung durch das Einmischen von Lotader und PA, da PA für Temperaturen von 200°C nicht geeignet ist. Bei diesen Temperaturen kam es zum thermischen Abbau der Amine, wodurch Stickstoffoxide und Cadaverin (Polyamin; auch ein Bestandteil des Leichengifts) entstanden. Durch die Entstehung von Stickoxiden kam es zu der leicht bräunlichen Farbe der Compounds.

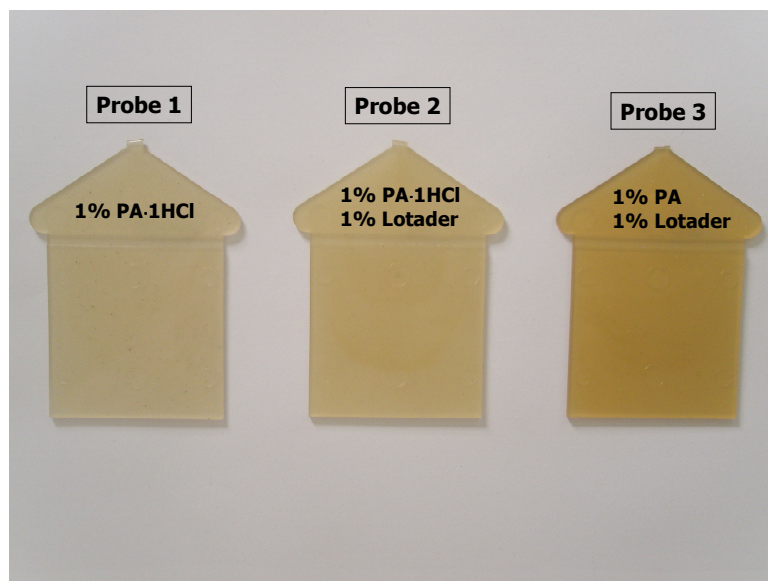


Abbildung 82: Compoundplättchen im Vergleich

3.5.5.1 Kontaktwinkelmessungen-Oberflächenenergie

Zur Bestimmung der Oberflächenenergien wurden Kontaktwinkelmessungen der Compoundplättchen mit dem Drop Shape Analysis System DSA 100 (Krüss GmbH, Hamburg, Germany) durchgeführt. Als Testflüssigkeiten wurden Wasser, Diiodmethan und Benzylalkohol (Tropfenvolumen ungefähr 3 μl ; Literaturwerte der Testflüssigkeiten: 72.7 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Wasser, 50.8 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Diiodmethan und 39.0 $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Benzylalkohol) verwendet.¹⁰⁹

Die Kontaktwinkel wurden mit Hilfe des liegenden Tropfens 2 Sekunden nach Aufbringen des Tropfens gemessen. Basierend auf der Berechnung nach Owens-Wendt wurden die Oberflächenenergien der Polymere bestimmt. Folgende Tabelle zeigt ein Mittel der bestimmten Kontaktwinkel aus zehn Messungen:

Tabelle 12: Kontaktwinkel der protonierten und deprotonierten Polyamin-Compounds gegen Wasser, Benzylalkohol und Diiodmethan

Probe	Kontaktwinkel [°]	Kontaktwinkel [°]	Kontaktwinkel [°]
	Wasser	Diiodmethan	Benzylalkohol
Referenz	91.32 ± 0.7	61.61 ± 4.43	43.4 ± 3.15
1	86.86 ± 2.08	50.75 ± 1.41	42.4 ± 1.73
2	88.00 ± 3.2	59.86 ± 2.37	41.2 ± 2.48
3	83.2 ± 2.47	55.04 ± 2.24	46.6 ± 2.8

Abbildung 83 zeigt die aus den Kontaktwinkeln von Wasser, Diiodmethan und Benzylalkohol berechneten Oberflächenenergien, sowie den polaren und dispersen Anteil.

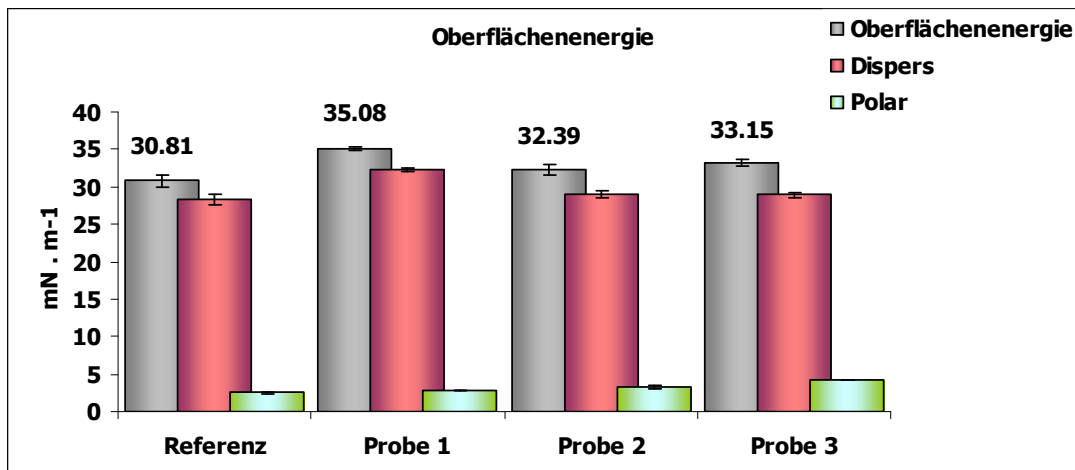


Abbildung 83: Resultierende Oberflächenenergien der Proben 1, 2, 3 und der Referenz

Es konnte gezeigt werden, dass Unterschiede in den Oberflächenenergien zwischen reinem PP (RA 130E natur) und den Compounds vorherrschen. Am deutlichsten ist die Differenz zwischen Referenz und Probe 1. Durch die Zugabe an Lotader ist die Oberflächenenergie und damit auch die Hydrophilie der Probe (Probe 2) gesunken. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass durch Lotader (besteht zu 67% aus PE) eine bessere Affinität zu PP erzeugt wurde und die Amingruppen des möglicherweise in Lotader eingeschlossenen PA.1HCl dadurch teilweise von der Oberfläche verschwunden sind.

Wie erwartet wies Probe 3, das ungeladene Polyamin (98% PP, 1% Lotader, 1% PA), im Vergleich zu Probe 1, eine möglicherweise durch Stickoxide hervorgerufene höhere Oberflächenenergie von 33.15 mN·m⁻¹ auf.

Abbildung 84 gibt noch einmal einen grafischen Überblick der Compound-Zusammensetzungen und der dazugehörigen Oberflächenenergien. Der disperse und polare Anteil sind ebenfalls in der Grafik dargestellt.

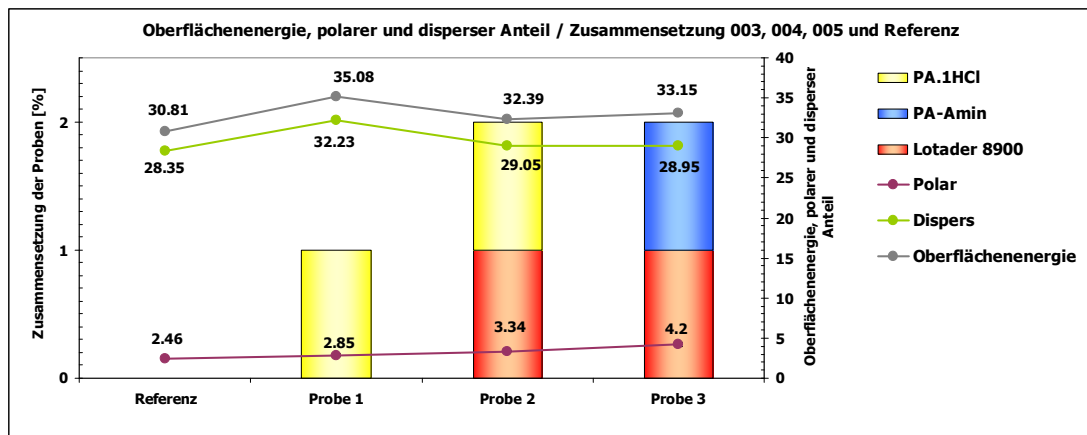


Abbildung 84: Grafische Darstellung der Zusammensetzungen der Proben und der damit zusammenhängenden Oberflächenenergien (disperser und polarer Anteil)

3.5.5.2 ζ -Potentialmessungen

Diese ζ -Potentialmessungen wurden bei der Firma Anton Paar unter der Leitung von Herrn Dr. Thomas Luxbacher durchgeführt. Als Referenz wurden wieder PP-Plättchen herangezogen. Alle Messungen wurden in der Klammermesszelle mit einer KCl-Elektrolytlösung (10^{-3} M) durchgeführt. Messungen von Probe 3 wurden aufgrund der thermischen Zersetzung nicht mehr veranlasst.

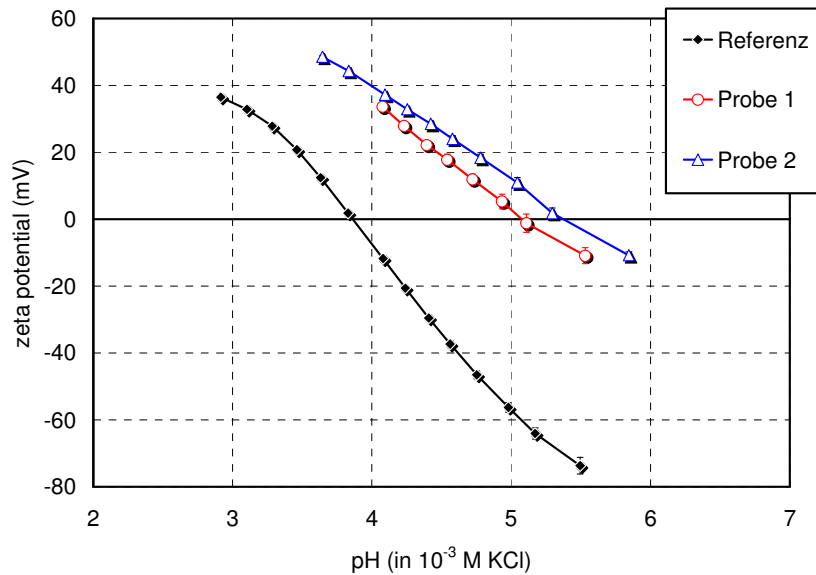


Abbildung 85: Ergebnisse der ζ -Potentialmessungen von Probe 1, 2 und Referenz. Man sieht eine Verschiebung des IEP in den neutralen Bereich

Oberflächeneigenschaften sind ein wichtiger Parameter für eine mögliche biozide Wirksamkeit von Compounds. Mit Hilfe von elektrokinetischen Messungen (ζ -Potentialmessungen) können dissoziierbare Gruppen (Carboxylsäuren und Amingruppen) an der Oberfläche detektiert werden.¹¹⁵

Abbildung 85 zeigt die Auftragung der Zetapotentiale gegen den pH-Wert von Probe 1, 2 und reinem PP (Referenz). Der isoelektrischen Punkte (IEP) von PP liegt bei einem pH-Wert von 3.9. Man sieht anhand dieser Graphik, dass die IEP von Probe 1 und Probe 2 im Vergleich zur Referenz (PP) zu höheren pH-Werten shiften. Ebenso steigt bei einem bestimmten pH-Wert das ζ -Potential, was durch die Anwesenheit der Amingruppen erklärt werden kann. Weiters kann man erkennen, dass der IEP der Probe 2 (pH=5.4) ein wenig höher ist als der IEP von Probe 1 (pH=5.1). Die Basizität dieser Probe ist somit geringfügig höher als die der Probe 1. Diese Verschiebung des IEP könnte durch die Zumischung von Lotader erreicht worden sein.

Allgemein gesehen, sind ζ -Potentialmessungen eine nützliche Methode um Informationen über die an der Compoundoberfläche befindlichen bioziden Wirkstoffe zu bekommen. Das heißt, man bekommt anhand dieser Messungen nur eine Vorabinformation über die Oberfläche, eine Aussage über eine tatsächliche biozide Wirksamkeit kann jedoch nicht getroffen werden.

¹¹⁵ Hunter, R.J. *Zeta potential in colloid science*, Academic Press, 1981

3.5.5.3 Mikrobizide Tests

Diese Compounds (Referenz, 1, 2, 3) wurden bei 2 verschiedenen Firmen getestet. Das TTZ (Technologie Transfer Zentrum) in Bremerhaven ist ein Kooperationspartner im EU- Projekt „Biosurf“ und verantwortlich für die bioziden Tests der Polymere. Das TTZ verwendete für diese Tests keine zertifizierte Methode wie die Testlabors zuvor (WHU/Hygcn), sondern führte die Tests nur in Anlehnung an den JIS durch. Als Vergleichslabor wurde das OFI (Österreichisches Forschungsinstitut) herangezogen. Diese Untersuchungen wurden wieder gemäß JIS Z 2801:2000 durchgeführt.

3.5.5.3.1 TTZ- Ergebnisse und Durchführung

Das TTZ testete die Wirksamkeiten der Proben gegen *L. monocytogenes*. Aufgrund der momentanen Medienpräsenz von Listerien bei Käse und des „Biosurf“-Kooperationspartners COASA (Verpackungshersteller für Käse in Spanien), wurden die ersten Testversuche der Compounds gegen *L. monocytogenes* durchgeführt. Es wäre demnach ein entscheidender wissenschaftlicher Fortschritt, wenn biozid ausgestattetes Verpackungsmaterial die Proliferation von Listerien unterbinden könnte.

Durchführung (in Anlehnung an JIS Z2801:2000):

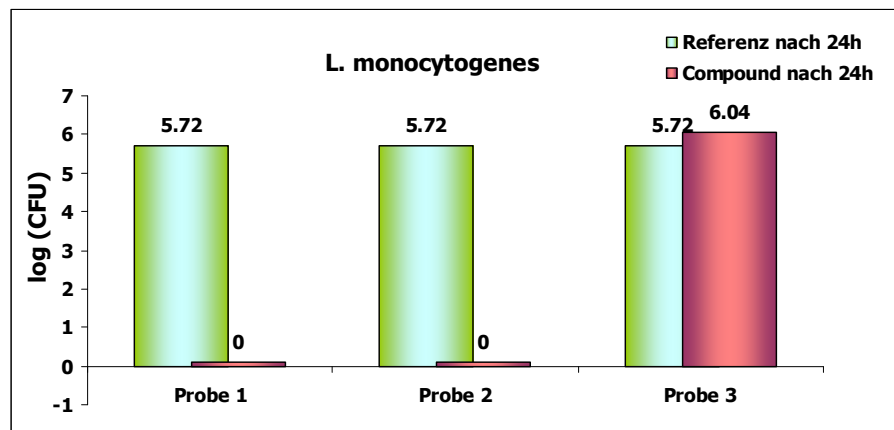
Auf die unbehandelten (sterilisiert durch Abwischen mit 70% Ethanol) Compoundplättchen wurden jeweils 3x75 µL (entspricht der Ausgangskoloniezahl von 4.1×10^5 je Ansatz) Bakterien suspension aufgetragen und mit sterilen Deckgläsern abgedeckt. Danach wurden die Compoundplättchen für 24h bei 35°C inkubiert. Danach wurden die Proben in Petrischalen überführt, welche 10mL CSL-Medium beinhalten, und unter Schütteln eluiert. Die hergestellten Verdünnungen wurden auf CSA (Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar) ausgespatelt (200 µL) und bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ für 44 ± 4 Stunden bebrütet.

Die Versuche wurden im Doppelansatz durchgeführt. Tabelle 13 und Abbildung 86 zeigen die Ergebnisse der mikrobiziden Tests.

Tabelle 13: TTZ-Testergebnisse der Proben gegen *L. monocytogenes*

Probe	<i>L. monocytogenes</i>	
	24 h (log [CFU]) *	Reduktionsfaktor R ^a
Referenz ^b	5.72	-
1	0	5.72
2	0	5.72
3	6.04	-0.32

*log: dekadischer Logarithmus; ^a R= $\log(\text{CFU}_{\text{Referenz}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Compound}})$, negative Werte bedeuten eine Keimvermehrung; ^b PP (RA 130E natur)

Abbildung 86: grafische Darstellung der TTZ-Testergebnisse der antibakteriellen Untersuchungen gegen *L. monocytogenes*

Diese Messungen zeigten, dass eine hervorragende Wirkung von Probe 1 und Probe 2 gegen *L. monocytogenes* auftrat. Die Probe 3 besaß keine antibakterielle Wirkung. Das Ausbleiben der bioziden Aktivität kam bei Probe 3 durch die thermische Zersetzung der Probe wobei höchstwahrscheinlich Cadaverin und Stickoxide gebildet worden sind. Durch die Anwesenheit von Cadaverin, welches auch in geringen Mengen in manchen Käsesorten vorkommt, wurde wahrscheinlich eine Art Nährboden für *L. monocytogenes* geschaffen. Dadurch könnte das Wachstum dieses Bakteriums auf der Probe erklärt werden.

Anhand der guten Ergebnisse bei Probe 1 und 2 kann nun bestätigt werden, dass Ladungen in der Polymerkette für die Wirksamkeit gegen das Gram-positive Bakterium *L. monocytogenes* wichtig waren.

3.5.5.3.2 OFI-Ergebnisse und Durchführung

Beim OFI wurden unter der Leitung von Herrn Kristöfel und im Auftrag der KeKelit Kunststoffwerke, Vergleichstests der Compounds gemäß JIS Z2801:2000 durchgeführt. Als Bakterien wurden dafür *S. aureus* (DSM 346) und *E. coli* (DSM 787) verwendet.

Durchführung:

In einem ersten Schritt wurden die Probekörper mit je 0.3mL Bakteriensuspension, welche die Testkeime in bekannter Menge enthielt, beimpft (Ausgangskoloniezahlen: 9.18×10^4 je Ansatz (*S. aureus*) und 9.9×10^5 je Ansatz (*E. coli*)). Die beimpften Proben wurden in sterilen, verschlossenen Petrischalen (Luftfeuchtigkeit >90%) bei einer Temperatur von 23°C für 24 Stunden gelagert (inkubiert).

Nach der Inkubation wurde die Bakteriensuspension unter sterilen Bedingungen von den Proben abgenommen (extrahiert) und die Lebendkeimzahlen in den Abspülungen ermittelt. Die Keimzahlbestimmung erfolgte durch Aufbringen der Abspülungen (in verschiedenen Verdünnungsstufen) auf geeignete Nährböden, Inkubation bei 35°C für 2 Tage und anschließendes Auszählen der Bakterienkolonien.

Es wurde auch hier eine Doppelbestimmung durchgeführt. Tabelle 14 und Tabelle 15 sowie Abbildung 87 und Abbildung 88 zeigen die Ergebnisse gegen *S. aureus* und *E. coli*.

Tabelle 14: OFI-Ergebnisse: log(CFU) und Reduktionsfaktoren der bioziden Tests gegen *S. aureus*

Probe	S. aureus	
	24 h (log [CFU]) *	Reduktionsfaktor R ^a
Referenz ^b	5.65	-
1	3.06	2.6
2	3.26	2.4
3	5.3	0.4

*log: dekadischer Logarithmus; ^a R= $\log(\text{CFU}_{\text{Referenz}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Compound}})$; ^b PP (RA 130E natur)

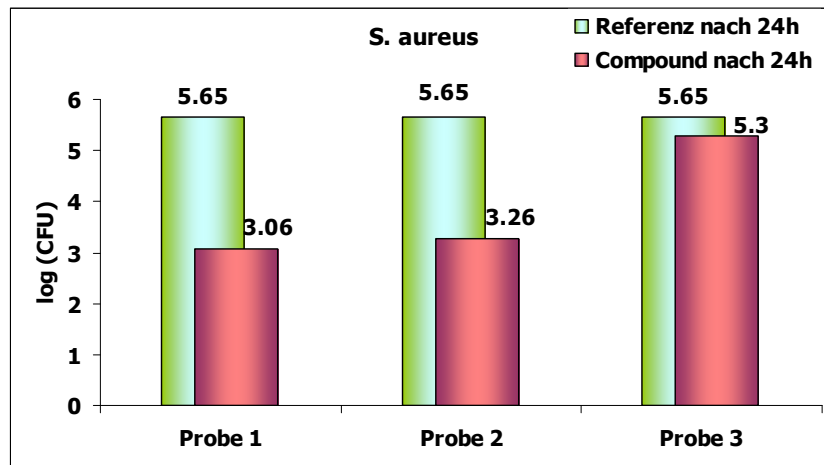


Abbildung 87: OFI-Testergebnisse der Compounds gegen S. aureus

Die Resultate dieser Messung untermauerten das Ergebnis des TTZ gegen *L. monocytogenes*. Die CFU des Gram-positive Bakteriums *S. aureus* wurden in den Fällen 1 und 2 um mehr als 2 log-Einheiten reduziert. Obwohl nach 24 Stunden noch CFU nachgewiesen werden konnten, wurde die nach JIS geforderte Reduktion erfolgreich erzielt. Die Probe 3 zeigte auch hier, aufgrund der thermischen Zersetzung von PA, keine biozide Wirkung.

Weiters wurde beim OFI die Wirksamkeiten gegen das Gram-negative Bakterium *E. coli* getestet. In diesem Fall wurde eine gewünschte Reduktion bei Probe 1 und Probe 2 von mehr als 2 log-Stufen erzielt und damit die Anforderungen nach JIS erfüllt (Tabelle 15). Probe 3 wies auch hier keinen antibakteriellen Effekt auf. Abbildung 88 zeigt die grafische Darstellung der Ergebnisse gegen *E. coli*.

Tabelle 15: log(CFU) und Reduktionsfaktoren der bioziden Tests gegen E. coli

Probe	E. coli	
	24 h (log [CFU]) *	Reduktionsfaktor R ^a
Referenz ^b	7.18	-
1	4.7	2.5
2	4.88	2.3
3	6.92	0.3

*log: dekadischer Logarithmus; ^aR= $\log(\text{CFU}_{\text{Referenz}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Compound}})$; ^b PP (RA 130E natur)

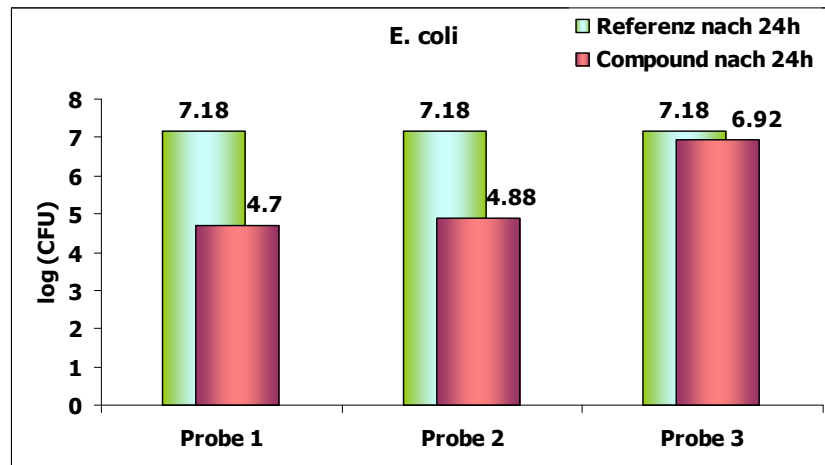


Abbildung 88: OFI- Testergebnisse der Compounds gegen E. coli

3.5.6 Zusammenfassung

Polyamine in protonierter und deprotonierter Form wurden durch CROP und anschließender Säurebehandlung in der Mikrowelle synthetisiert. Daraus wurden mittels Miniextruder und Vakuumpullenpresse Compoundplättchen hergestellt. Aufgrund deutlich sichtbarer Probeninhomogenitäten konnte nur bei wenigen Plättchen eine nach JIS geforderte Reduktion erreicht werden. Aus diesem Grund wurden beim TCKT biozide PP-Compounds von den protonierten (PA-1HCl) sowie von den deprotonierten Polyaminen (PA) hergestellt. Bei zwei von drei Proben wurde Lotader, welches die Einmischung der Polyamine in PP verbessern soll, zugegeben. Die Homogenitäten dieser Proben waren sehr gut. Anschließende Oberflächencharakterisierungen, ergaben, dass es zu einer Änderung der Polarität im Compound kam. Mikrobizide Tests beim TTZ Bremerhaven und beim OFI in Wien ergaben hervorragende Resultate der protonierten Amine gegen *L. monocytogenes*. Nach 24 Stunden konnten keine CFU erfasst werden. Eine Wirksamkeit gemäß JIS Z2801 gegen *E. coli* und *S. aureus* war ebenfalls gegeben. Die Mischung von PP mit PA und Lotader wies aufgrund der fehlenden positiven Ladung und einer wahrscheinlichen thermischen Zersetzung bei der Verarbeitung keine biozide Wirkung auf. Aufgrund dieser Resultate lässt sich sagen, dass das Vorhandensein positiv geladener Makromoleküle im Compound für eine biozide Aktivität von entscheidender Bedeutung ist.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieser Dissertation war die Herstellung und Untersuchung von mikrobiziden (Kontakt-) Polymeren. Der erste Teil dieser Arbeit behandelt die Synthese von bioziden Copolymeren, deren antimikrobielle Wirksamkeiten gemäß JIS Z2801:2000 getestet wurden. Ein daraus ausgewähltes Copolymer wurde anschließend im größeren Maßstab synthetisiert und per Extrusion in PE eincompoundiert. Auch diese Compoundmischungen wurden hinsichtlich ihrer bioziden Aktivität getestet. Im zweiten Teil wurden mikrobizide Compounds mit kommerziell erhältlichem Chitosan hergestellt. Dieses wurde ebenfalls mit PE gemischt, verarbeitet und getestet. Eine neue, auf Polyamin-basierende Strategie wird im letzten Kapitel dieser Dissertation beschrieben.

In der vorangegangenen Diplomarbeit wurden Polynorbornene, welche sekundäre (**Mo (1)**) und tertiäre Amine (**Mo (4)**) beinhalteten, synthetisiert und ihre Anwendbarkeit als (Kontakt-)Biozide geprüft. Dabei wurden die auf Glasplatten spingecoateten Homo- und statistischen Copolymere nach JIS Z2801:2000 getestet. Die Resultate ergaben, dass vor allem im Fall *S. aureus* eine gesteigerte Aktivität durch die langen Alkylketten in den Copolymeren auftrat.

Im Rahmen dieser Dissertation wurde ein Copolymer (**poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)**) aufgrund vorheriger Ergebnisse gewählt, im größeren Maßstab synthetisiert, und dessen fungizide sowie bakterizide Aktivität getestet (2 Pilze, *C. albicans* und *A. niger*, sowie die Bakterien *S. aureus* und *E. coli*). Herausragende Ergebnisse wurden gegen *A. niger* erzielt, das Wachstum von *C. albicans* wurde jedoch kaum beeinflusst. Das Polymer zeigte eine gute biozide Wirksamkeit gegen *S. aureus*, gegen *E. coli* ist jedoch eine schlechtere Wirkung erreicht worden. Dennoch wurde eine antibakterielle Wirksamkeit von aminfunktionalisierten statistischen Polynorbornenen als Film gezeigt. Um die Biokompatibilität dieses Polymers zu überprüfen, wurden Cytotoxizitätstests nach ISO 10993-5:1999 durchgeführt. Diese Tests ergaben, dass **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** das Zellenwachstum von Balb/3T3-Zellen nicht beeinflusst und somit keine Cytotoxizität auftritt.

Um die Dichte an funktionellen Gruppen im Polymer zu steigern, wurden difunktionelle Norbornenmonomere (**Mo(5)** und **Mo(6)**) mittels ROMP erfolgreich zu drei verschiedenen statistischen Copolymeren (**poly(5_x-co-6_{600-x})**) verarbeitet. Die biozide Aktivität wurde beim TTZ in Bremerhaven gegen *L. monocytogenes* in Anlehnung an den JIS Z2801:2000 durchgeführt. Diese Testergebnisse legten dar, dass mit dem höchsten Anteil an **Mo (5)** (entspricht **poly(5₄₈₀-co-6₁₂₀)**) nach 24 Stunden keine CFU festgestellt werden konnten.

Ein großer Teil dieser Dissertation beschäftigt sich mit der Herstellung biozider Compounds. Aufgrund vorheriger Resultate biozider Tests, wurde **poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀)** zu verschiedenen Gewichtsprozent (3-, 5- und 7-wt%) in Polyethylen mittels Extruder eincompoundiert. Die folgende Formgebung wurde mit Hilfe der Vakuumpplattenpresse oder der Spritzgussmaschine bewerkstelligt. Migrationsuntersuchungen (Gewichtsverlust, Soxhletextraktion) der Compounds ergaben, dass kein Verlust an Wirkstoff infolge hoher Temperaturen auftrat. Mikrobizide Tests dieser Compoundmischungen nach JIS Z2801:2000 belegten jedoch, dass eine nach JIS geforderte Reduktion bei keinem der Compounds erreicht wurde.

Um mögliche Gründe für die fehlende Biozidität der Compounds zu finden, wurden TEM-Bilder gefertigt, welche die Verteilung des Wirkpolymers im Compound darstellen sollten. Diese Analyse ergab, dass es zu Agglomerationen des Wirkstoffs im Polymer kam. Eine wünschenswerte Anordnung des bioziden Polymers an der Oberfläche ist ausgeblieben.

Ferner wurde das bereits kommerziell erwerbbar und als Biozid eingesetzte Chitosan, welches aus dem Biopolymer Chitin gewonnen wird, verwendet, um biozide PE-Compounds zu fertigen. Es wurden Compoundplättchen mit 5 wt-%, 10 wt-% und 20 wt-% Chitosan in PE mit der Vakuumpplattenpresse hergestellt. ζ -Potentialmessungen ergaben eine leichte Änderung des IEP mit zunehmendem Gehalt an Chitosan, wogegen mikrobizide Tests gegen *S. aureus* und *E. coli* keine biozide Wirkung nach JIS zeigten. Infolgedessen wurden keine weiteren Untersuchungen der Compounds mit Chitosan als Wirkstoff durchgeführt.

In Zusammenarbeit mit Dr. Frank Wiesbrock wurden mittels kationisch ringöffnender Polymerisation (CROP), Polyamine in protonierter und deprotonierter Form (PA·1HCl, PA) in der Mikrowelle synthetisiert. Daraus wurden Compounds mit PP hergestellt und diese gegen *L. monocytogenes*, *E. coli* und *S. aureus* getestet. Die Ergebnisse dieser Tests belegten eine hervorragende biozide Wirksamkeit der PA·1HCl-Compounds. Die Bestimmungen der Oberflächenenergien dieser Compounds demonstrierten einen Anstieg der Energie mit zunehmender Polarität. Es ließ sich somit ein Zusammenhang zwischen biozider Aktivität und steigender Oberflächenenergie erkennen. Die bei der Firma Anton Paar durchgeführten ζ -Potentialmessungen brachten ebenso Unterschiede der Oberflächenladung zum Ausdruck.

Ausblick

Zweifellos stellt dieses Forschungsgebiet eine Reihe an Herausforderungen dar. Mitunter sollen Polymere hergestellt werden, die zum einen als Kontaktbiozid Mikroorganismen abtöten, zum anderen soll das Polymer eine Adhäsion von Mikroben verhindern. Möglichkeiten diese Strategie zu verfolgen, liegen in der Einführung von funktionellen Gruppen mit niedriger Oberflächenenergie, wodurch eine Anhaftung schwer bis nicht möglich wird. Dadurch wäre es möglich ein unerwünschtes Biofouling zu vermeiden. Arbeiten in diesem Themengebiet laufen bereits.

Ein weiterer Schwerpunkt soll die Überprüfung der bioziden Wirksamkeit als Funktion der Zeit sein. Versuche in diese Richtung wurden bereits gestartet. Außerdem könnte mit Langzeittests ein mögliches Biofouling kontrolliert und vermessen werden.

Um die biozide Wirksamkeiten von Polymeren vor Ort zu bestimmen und damit lange Wartezeiten und hohe Kosten zu vermeiden, sollte an der Einführung schneller Screening-Methoden zur Bestimmung der bioziden Aktivität gearbeitet werden. Dabei werden alternative Testverfahren basierend auf einer Fluoreszenzmessung ins Auge gefasst. Bei dieser Methode arbeitet man mit Live-/Dead-Kits, welche eine unterschiedliche Färbung von toten (rot) und lebenden (grün) Mikroben ermöglichen. Aus dem Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten lässt sich die Anzahl von lebenden und toten Organismen quantifizieren. Die Fluoreszenzmessungen würden sogar eine online-Messung der antimikrobiellen Aktivität und somit eine Erfassung der Abtötungsgeschwindigkeit zulassen.

Damit biozide Polymere möglichst günstig und in großen Mengen hergestellt werden können, sollen bereits kommerziell erhältliche Polymere mit bioziden Wirkgruppen ausgestattet werden. Folglich sollen in Polymere (PVC (Polyvinylchlorid), SBR und Polyisopren) antimikrobiell wirksamen Gruppen insertiert werden.

Ein ebenso wichtiger Punkt ist die Optimierung von bereits bestehenden Systemen, sodass stabile Wirkpolymere mit einem breiten Anwendungsspektrum die Folge sind.

5 Experimenteller Teil

5.1 Analysenmethoden

5.1.1 Infrarotspektroskopie

Als Messgerät diente ein Perkin Elmer Spektrophotometer Spectrum One mit einem DTGS-Detektor (DTGS = Deuterated Triglycine Sulphate). Die Proben wurden als Film auf einem Calciumfluorid-Plättchen im Transmissionsmodus (10 Scans) vermessen. ATIR-Messungen wurden mit einem speziellen ATIR-Aufsatz durchgeführt.



Abbildung 89: ATIR-Aufsatz zur Messung von festen Proben

5.1.2 NMR-Spektroskopie

Die Spektren wurden mit Hilfe eines Varian Inova 500 MHz Spektrometer oder mit einem Bruker Avance III 300 MHz Spektrometer aufgenommen. Die Proben wurden entsprechend ihren Löslichkeiten in deuteriertem Chloroform, Deuteriumoxid oder DMSO gelöst.

5.1.3 STA (Simultane Thermoanalyse)

Die thermische Stabilität der Proben wurde mit einem STA-Gerät der Firma Netzsch 449C überprüft. Als Spülgas wurde Helium verwendet, Anfangstemperatur 20°C, Endtemperatur 550°C. Die Heiz- und Abtastrate betragen 10°C pro Minute, in einigen Fällen auch 5°C pro Minute.

5.1.4 DSC (Differential Scanning Calorimetry)

Durch Anwendung der DSC lassen sich die Glasübergangstemperaturen der Polymere bestimmen. Als Gerät wurde ein Pyris Diamond der Firma Perkin Elmer verwendet. Die Glasübergangstemperaturen wurden im 2. Heizlauf bestimmt.

5.1.5 Antimikrobielle Bestimmung

Die antimikrobiellen Aktivitäten wurden nach JIS Z2801:2000 in Bischofshofen bei der Firma Hyggen, in St. Johann / Pongau bei der Firma WHU GmbH, beim TTZ Bremerhaven und beim OFI in Wien überprüft.

Die Abdeckung der Probekörper erfolgte mit sterilisierten Deckgläsern aus Glas, da diese erwiesenermaßen keinen Einfluss auf die Prüfsuspension haben. Geprüft werden 2 Zeiten (0 Stunden, 24 Stunden). Der Wert „0-Stunden“ wurde nach 15 Minuten gemessen und als „standardisierter“ Sofortwert verwendet. Die Ausgangskoloniezahl betrug ca. 10^6 je Ansatz, Inkubationstemperatur 35°C über 24 Stunden. Nach Ende der Inkubation wurde das Glas verkehrt in Petrischalen mit Glaskugeln und 10mL CSL-TSHC eingelegt und 20min unter Schütteln eluiert (CSL ist ein Caseinpepton-Sojamehlpepton-Nährlösung, TSHC (Tween-Saponin-Histidin-Cystein) ist eine Mischung, die dafür bekannt ist, die Wirkung von Desinfektionsmitteln aufzuheben). Danach wurden 1mL, 0,1mL, 0,1mL aus 10^{-1} -Verdünnung und 0,1mL aus 10^{-2} -Verdünnung auf CSA (Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar) ausgespatelt und bei $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ für 44 ± 4 Stunden bebrütet.

5.1.6 Elementanalysen

Analysen der Elemente C, N und H wurden mittels eines Universal CHN Elemental Analyzer Vario El durchgeführt.

5.1.7 Kontaktwinkelmessungen



Abbildung 90: Gerät zur Bestimmung der Oberflächenenergie¹¹⁶

Kontaktwinkelmessungen wurden mit einem Drop Shape Analysis System DSA 100 (Krüss GmbH, Hamburg, Germany) von spingecoateten Polymerfilmen bzw. Compoundplättchen durchgeführt. Dabei wurde die Methode des liegenden Tropfens angewandt. Die Tropfen wurden mit einer Spritze auf die Probe aufgebracht und der Kontaktwinkel innerhalb von 2 Sekunden bestimmt. Als Testflüssigkeiten wurden Wasser, Benzylalkohol und Diiodmethan (Literaturwerte: $72.7 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Wasser, $50.8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Diiodmethan und $39 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ für Benzylalkohol) verwendet, das Tropfenvolumen betrug $3 \mu\text{l}$. Mit Hilfe der Methode nach Owens-Wendt wurde die Oberflächenenergie γ berechnet.

5.1.8 GPC- Messungen

Molekulargewichte und PDI's der Polymere wurden mittels GPC- Analysen ermittelt. Dazu wurde eine Mischung von $\text{CHCl}_3/\text{Et}_3\text{N}/i\text{-}iso\text{-}Propanol$ (94/4/2) als Eluent verwendet. Die Messungen wurden mit einem Gerät der Firma Merck Hitachi L-6000A pump mit einem Refraktometer Waters 410 als Detektor durchgeführt. Zur Kalibration wurden Polystyrolstandards mit Trennsäulen bestehend aus PSS 5 mm mit 106 \AA , 104 \AA und 103 \AA verwendet.

¹¹⁶ Quelle der Abbildung: http://img.directindustry.de/images_di/photo-g/kontaktwinkel-messgerat-33035.jpg

5.1.9 Elektrokinetische Messungen

Die Bestimmung der ζ -Potentiale der funktionellen Polymere wurde am Elektro Kinetic Analyser SurPASS bei der Firma Anton Paar durchgeführt. Das Messsystem besteht aus einer Titrationseinheit RTU, Leitfähigkeits- und pH-Elektroden, einer Messzelle, dem Elektro Kinetic Analyser (EKA) und der dazugehörigen Software Visiolab. Die Messungen wurden in einer Klammer- und Stempelzelle durchgeführt.



Abbildung 91: Aufbau des Geräts zur Messung des ζ -Potentials¹¹⁷

5.1.10 Compounder ¹¹⁸

Hersteller:	Thermo Haake
Modell:	Minilab
Max. Füllvolumen:	7mL
Rückflusskanal	1.5 mL
Drehzahl:	1-360 min ⁻¹
Max. Drehmoment:	5 Nm pro Schnecke
Max Druck:	200bar
Feeding:	pneumatischer Stempel



Abbildung 92: Minicomponenter der Firma Thermo Haake

¹¹⁷ Quelle der Abbildung: http://img.directindustry.de/images_di/photo-g/elektrokinetisches-analysegerat-fur-festkorper-264101.jpg

¹¹⁸ Quelle der Abbildung: <http://www.titk.de/bild/technik/minilab.JPG>

5.1.11 Spritzguss



Abbildung 93: Micro-injection moulding Maschine der Firma Thermo

Als Spritzgussanlage wurde eine Maschine der Firma Thermo Haake mit einer maximalen Service Temperatur von 350°C verwendet. Die Spritzgussform ist in Abbildung 94 ersichtlich.



Abbildung 94: Spritzgussform zur Herstellung von Polymerplättchen

5.1.12 Vakuumpplattenpresse

Hersteller: Collin

Modell: P 200 PV

Plattengröße: 200mm

Die Herstellung der Polymerplatten wurde teils am Institut für Chemische Technologie von Materialien der TU Graz, teils an der Montanuniversität Leoben durchgeführt. Es ist möglich, mehrere Druck- und Temperaturstufen zu programmieren.



Abbildung 95: Vakuumpplattenpresse Collin

5.1.13 Mikrowellenreaktor AP Synthos 3000 – Firma Anton Paar¹¹⁹

Hersteller:	Anton Paar
Modell:	Synthos 3000
Gefäßigenschaften:	HF100
Liner Material:	PTFE-TFM
Druckmantel:	Keramik
Volumen:	100mL
Arbeitsdruck:	40–70 bar
Max. Temperatur:	240°C



Abbildung 96: Mikrowellenreaktor Synthos 3000 der Firma Anton Paar

¹¹⁹ Quelle der Abbildung: http://www.alsa.at/static/images/chemiereport/Anton_Paar_Synthos3000.jpg

5.1.14 Mikrowellenreaktor Biotage Initiator™¹²⁰

Hersteller:	Biotage
Modell:	Initiator™, 2.45GHz, vollautomatisch, Touch
Reaktionsvolumen:	0.2 - 20mL
Reaktionsgefäß:	Glas, Septum, Caps
Druck:	0-20 bar
Temperaturbereich:	40-250°C



Abbildung 97: Biotage Mikrowellenreaktor

5.1.15 Verwendete Chemikalien

Sofern nicht explizit angeführt, wurden alle verwendeten Chemikalien bei den Firmen Aldrich, Merck oder Lancaster bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Verwendete absolute Lösungsmittel wurden über dem entsprechenden Trocknungsmittel unter Schutzgas destilliert.

5.1.16 Darstellung von G3 (H₂IMes)(pyridine)₂RuCl₂(=CHPh)

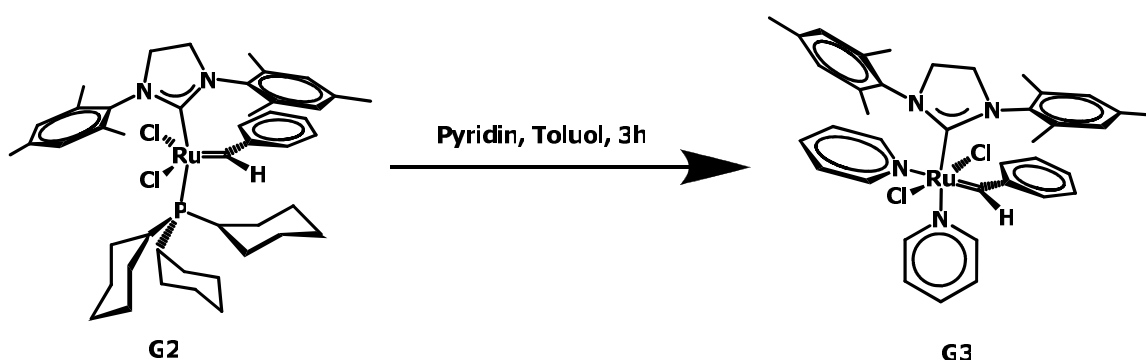


Abbildung 98: Reaktionsgleichung zur Herstellung des Grubbs- Initiators G3

¹²⁰ Quelle der Abbildung: <http://www.biotage.com/graphics/6636.jpg>

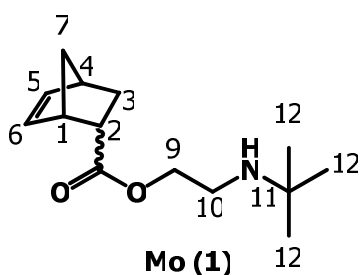
Der Grubbs zweite Generation Initiator ($848.97\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 155.3mg; 0.183mmol; 1 Äq.) wird in der Glovebox eingewogen und in 5mL Toluol gelöst. Nun wird der Lösung Pyridin ($79.1\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 736mg; 9.305mmol; 50 Äq.) zugetropft, worauf sich die Lösung von violett in grün verfärbt. Nach 3 Stunden wird das Katalysatormischung in kaltes, entgastes n-Heptan in der Glovebox unter Schutzgas eingetroppt. Das n-Heptan verfärbt sich zuerst gelb, dann grün und zum Schluss fällt der Katalysator aus. Der in n-Heptan ausgefallene Katalysator wird nun aus der Glovebox ausgeschleust und über eine Minifritte abfiltriert. Der grüne Feststoff wird noch mit n-Heptan gewaschen und anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 129,2mg (97%)

5.1.17 Synthese Mo (1): Mischung von *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäure(2-tertbutylamino-ethyl)ester

Zur Synthese von **Mo (1)** wird **Mo (1)·1HCl** ($273.15\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 20g; 0.0732mol) in Dichlormethan gelöst und mit Natriumsulfat ($142.04\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 24.96g; 0.176mol) und Natriumhydrogencarbonat ($84.01\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 12.92g; 0.154mol) versetzt. Nach ungefähr 24 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung abfiltriert und zur Abtrennung von nicht umgesetztem Hydrochlorid anschließend in n-Pentan aufgenommen, abfiltriert und einrotiert. Die farblose, klare Flüssigkeit wird noch einmal in n-Pentan aufgenommen, abfiltriert und einrotiert.

Ausbeute: 16,16g (93%) farblose Flüssigkeit; $R_f \approx 0.4$ (MeOH)



$\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ (MW: $237.34\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$):

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, CDCl_3 , 500 MHz): charakteristische Signale des *endo*-Isomers: 6.18, 5.92 (m, 2H, $\text{nb}^{5,6}$), 4.11 (t, 2H, COOCH_2), 3.19, 2.96, 2.90 (bs, m, bs, 3H, $\text{nb}^{1,2,4}$), 2.77 (t, 2H, CH_2NH), 1.90 (m, 1H, nb^3), 1.43-1.25 (m, 4H, NH, $\text{nb}^{3,7}$), 1.10 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)$) charakteristische Signale des *exo*-Isomers: 6.11 (m, 2H, $\text{nb}^{5,6}$), 4.17 (t, 2H, COOCH_2); *endo* : *exo* = 88 : 12; **$^{13}\text{C-NMR}$ (δ , 20 °C, 75 MHz, CDCl_3):** 174.8, 138.0, 132.4, 64.9, 50.5, 49.8, 45.9, 43.4, 42.7, 41.5, 29.4, 29.1; charakteristische Signale des *exo*-Isomers: 176.3, 138.2, 135.8. **FT-IR (CaF₂):** 3324, 3063, 2968, 2869, 1735, 1448, 1362, 1336, 1186, 1110 cm^{-1} .

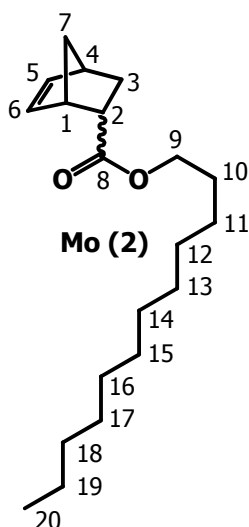
MS: $m/z = 237.2$ (M^+)

STA: 89°C/137°C (Δm am Start/ -5%)

5.1.18 Synthese Mo (2): Mischung von *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäuredodecylester

Laurylacrylat ($240.38\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 11.79g; 0.049mol) wird in 20mL Dichlormethan vorgelegt. Das frisch ge crackte Cyclopentadien ($66.1\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 6.48g; 0.098mol) wird langsam unter Rühren zugegeben und bei 40°C unter Rückfluss gerührt. Umsatzkontrolle wird mittels DC durchgeführt. Danach zieht man das Lösungsmittel am Rotavapor ab und trocknet das Produkt im Ölpumpenvakuum. Die Aufreinigung des Produkts erfolgt mittels Säulenchromatographie (Kieselgel; Eluat: zuerst reines Cyclohexan, ab Fraktion 17 Cyclohexan/Essigester 15:1). Das Lösungsmittel wird nun wieder abgezogen und das fertige Produkt am Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 12.18g (81%) leicht gelbliche Flüssigkeit; $R_f \approx 0.27$ (CH:EE=30:1)



$C_{20}H_{34}O_2$ (MW: $306.48\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$):

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, CDCl_3 , 300 MHz): charakteristische Signale des *endo*-Isomers: 6.18, 5.92 (m, 2H, $\text{nb}^{5,6}$), 4.00 (m, 2H, COOCH_2), 3.20 (bs, 1H, nb^1), 2.96-2.88 (m, 2H, $\text{nb}^{2,4}$), 1.90 (m, 1H, nb^3), 1.59 (m, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$), 1.46-1.19 (m, 21H, $\text{nb}^{3,7}$, dodecyl), 0.88 (t, 3H, CH_3); charakteristische Signale des *exo*-Isomers: 6.11 (m, 2H, $\text{nb}^{5,6}$), 4.07 (t, 2H, COOCH_2); *endo* : *exo* = 80 : 20. **$^{13}\text{C-NMR}$ (δ , 20 °C, CDCl_3 , 75 MHz):** 176.5, 137.9, 132.5, 64.5, 49.8, 45.9, 43.5, 42.7, 32.1, 29.79, 29.78, 29.72, 29.69, 29.50, 29.38, 29.31,

28.8, 26.1, 22.8, 14.3; charakteristische Signale des *exo*- Isomers: 176.5, 138.2, 135.9, 64.8. **FT-IR (CaF₂):** 3063, 2925, 2855, 1736, 1466, 1335, 1175, 1110 cm⁻¹.

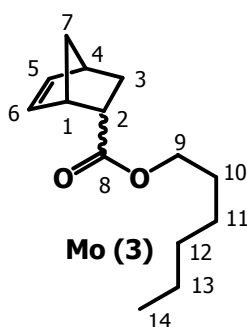
MS: m/z = 306.6 (M⁺)

STA: 130°C/190°C (Δm am Start/ -5%)

5.1.19 Synthese **Mo (3)**: Mischung von *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäurehexylester

Die Synthese von **Mo (3)** entspricht der Synthese von **Mo (2)**, wobei Hexylacrylat verwendet wurde (156.22g·mol⁻¹; 68.50 mmol; 1 Äq.).

Ausbeute: 12.93 g (85%) farbloses Öl; R_f ≈ 0.4 (CH:EE=30:1)



C₁₄H₂₂O₂ (MW: 222.32g·mol⁻¹):

¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 300 MHz): charakteristische Signale des *endo*-Isomers: 6.18, 5.92 (m, 2H, nb^{5,6}), 4.01 (m, 2H, COOCH₂), 3.20, 2.93, 2.90 (bs, m, bs, 3H, nb^{1,2,4}), 1.89 (m, 1H, nb³), 1.66-1.23 (m, 11H, nb^{3,7}, CH₂), 0.89 (t, 3H, CH₃); charakteristische Signale des *exo*-Isomers: 6.11 (m, 2H, nb^{5,6}), 4.07 (m, 2H, COOCH₂); *endo* : *exo* = 77 : 23. **¹³C-NMR (δ, 20 °C, 75 MHz, CDCl₃):** 175.0, 137.8, 132.5, 64.5, 49.8, 45.9, 43.5, 42.7, 31.6, 29.3, 28.8, 25.8, 22.7, 14.2; charakteristische Signale des *exo*-Isomers: 176.5, 138.2, 135.9, 64.7. **FT-IR (CaF₂):** 3063, 2957, 2861, 1734, 1468, 1336, 1175, 1110 cm⁻¹.

MS: m/z = 222.2 (M⁺)

STA: 80°C/128°C (Δm am Start/ -5%)

5.1.20 Synthese Mo (5): Mischung von *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonsäure-(2-tertbutylaminoethyl)ester

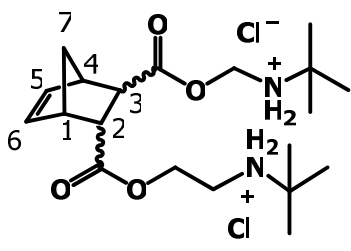
1. Schritt: Diels Alder

Zur Synthese von *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonyldichlorid wird Fumarsäurechlorid ($152.96\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 34.71g; 0.227mol) in 60mL Dichlormethan vorgelegt. Das frisch gecrackte Cyclopentadien ($66.1\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 30g; 0.454mol) wird langsam unter Rühren und Eiskühlung zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel am Rotavapor abgezogen und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

2. Schritt: Esterbildung

2-tert-Butylaminoethanol ($117.19\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 26.6g; 0.227mol) wird in 150mL Dichlormethan gelöst. Das Produkt der ersten Stufe (*exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonyldichlorid ($219.06\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 24.86g; 0.1135mol)) wird unter Rühren im Eisbad der Reaktionslösung zugetropft. Danach wird die Lösung für ungefähr 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Umsatzkontrolle wird mittels DC durchgeführt. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor abgezogen. Um nun das überschüssige Cyclopentadien zu entfernen, wird das Produkt in n-Heptan extrahiert und am Ölpumpenvakuum getrocknet. Falls laut NMR noch Verunreinigungen vorliegen, wird das Produkt in heißem Aceton umkristallisiert, filtriert und getrocknet.

Ausbeute: 40.14g (78%) weißer Feststoff; $R_f \approx 0.2$ (Methanol)



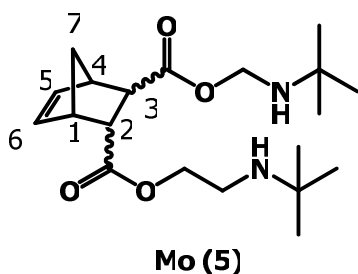
$\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$ (MW: $453.44\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$):

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, DMSO, 300 MHz): 9.29, 9.21 (bs, 4H, NH_2), 6.29, 6.12 (q, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 4.42-4.18 (m, 4H, COOCH_2), 3.50, 2.67 (t, 2H, $\text{nb}^{1,4}$), 3.38, 3.28, (s, 2H, $\text{nb}^{2,3}$), 3.17 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 1.57, 1.23 (s, 2H, nb^7), 1.32 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (δ , 20 °C, 75 MHz, DMSO):** 174.9, 138.1, 132.5, 64.9, 50.6, 49.9, 46.0, 43.5, 42.8, 41.9, 29.5, 29.2.

3. Schritt: Deprotonierung

Das Zwischenprodukt ($453.44\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 9.99g; 0.22mol) wird in 400mL Dichlormethan suspendiert, dann werden Natriumcarbonat ($124.01\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 21.79g; 0.176mol) und Natriumsulfat ($142.04\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 12.53g; 0.088mol) zugegeben und die Suspension über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird mit 300mL destilliertem Wasser ausgeschüttelt. Der pH-Wert der wässrigen Phase beträgt 8/9. Das Produkt löst sich und bleibt in der organischen Phase. Diese wird über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel zunächst am Rotavapor und danach im Ölpumpenvakuum abgezogen.

Ausbeute: 7.45g (89%) leicht braune, ölige Flüssigkeit; $R_f \approx 0.25$ (Methanol)



$\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4$ (MW: $380.52\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$):

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, CDCl_3 , 300 MHz): 6.28, 6.05 (q, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 4.19-4.13 (m, 4H, COOCH_2), 3.39, 2.68 (t, 2H, $\text{nb}^{1,4}$), 3.25, 3.11 (s, 2H, $\text{nb}^{2,3}$), 2.79 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 1.62, 1.46 (s, 2H, nb^7), 1.2 (bs, 1H, NH), 1.09 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3)$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (δ , 20 °C, 75 MHz, CDCl_3):** 174.4, 173.1, 137.6, 135.1, 65.5, 65.2, 50.3, 50.2, 47.9, 47.8, 47.3, 47.2, 45.8, 41.3, 29.0. **FT-IR (CaF_2):** 3324, 3063, 2968, 2869, 1735, 1448, 1362, 1336, 1186, 1110 cm^{-1} .

MS: $m/z = 379.3$ (M^+)

STA: 147°C/200°C (Δm am Start/ -5%)

5.1.21 Synthese von Mo (6): Mischung von *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonsäuredodecylester

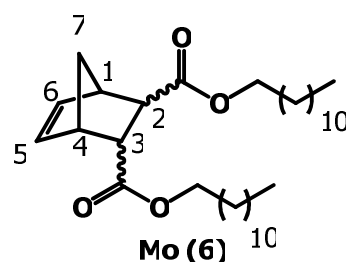
1. Schritt: Diels Alder

Die Diels Alder Reaktion zur Synthese von *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonyldichlorid entspricht der Durchführung von Syntheseschritt 1 bei **Mo (5)**.

2. Schritt: Esterbildung

Dodecanol ($186.33\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 42.9g; 0.227mol) wird in ungefähr 150mL Dichlormethan gelöst. Der Lösung wird unter Eiskühlung *exo,endo*-Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonyldichlorid ($219.06\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 24.86g; 0.1135mol) zugetropft und die Reaktionslösung anschließend bis zum vollständigen Umsatz (Umsatzkontrolle mittels DC in CH:EE=10:1, KMnO_4) gerührt. Die Aufreinigung des Produkts erfolgt durch Säulenchromatographie (Kieselgel; Eluat: Cyclohexan/Essigester 15:1). Das Lösungsmittel wird danach abgezogen und das fertige Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 43.4g (75%) leicht gelbliche Flüssigkeit; $R_f \approx 0.48$ (CH:EE=15:1)



$\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_4$ (MW: $518.81\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$):

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, CDCl_3 , 300 MHz): 6.26, 6.07 (q, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 4.30-3.79 (m, 4H, COOCH_2), 3.37, 2.67 (t, 2H, $\text{nb}^{1,4}$), 3.26, 3.11 (s, 2H, $\text{nb}^{2,3}$), 2.79 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 1.60, 1.44 (m, 2H, nb^7), 1.7 (m, 2H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$), 1.26 (s, 36H, CH_2), 0.88 (t, 3H, CH_3). **$^{13}\text{C-NMR}$ (δ , 20 °C, 75 MHz, CDCl_3):** 174.6, 173.4, 172.5, 137.6, 135.1, 134.9, 64.7, 64.6, 48.7, 48.3, 47.9, 47.8, 47.3, 46.4, 45.7, 31.9, 30.9, 29.7, 29.6, 29.4, 29.3, 29.2, 28.7, 28.6, 26.9, 26.0, 25.9, 22.7, 14.3. **FT-IR (CaF_2):** 3063, 2925, 2855, 1736, 1466, 1335, 1175, 1110 cm^{-1} .

MS: $m/z = 518.4$ (M^+)

STA: $146^\circ\text{C}/232^\circ\text{C}$ (Δm am Start/ -5%)

5.1.22 Allgemeine Polymersynthese für poly(1), poly($1_x\text{-co-}2_{600-x}$), poly($1_x\text{-co-}3_{600-x}$), poly(4), poly($5_x\text{-co-}6_{600-x}$)

Alle Polymerisationen werden unter Schutzgas in der Glovebox oder im Abzug durchgeführt. Die Monomere (für das Homopolymere: **poly (1): Mo (1)** (2g; 8.43mmol; 600Äq.); für die Copolymere: **poly ($1_x\text{-co-}2_{600-x}$): Mo (1)** (1.00/2.51/4.01g; 4.21/10.57/16.90mmol; $x = 120/300/480$ Äq.) und **Mo (2)** (5.17/3.23/1.31g; 16.86/10.53/4.27mmol; $600-x$ Äq.); **poly ($1_x\text{-co-}3_{600-x}$): Mo (1)** (1.00/2.50/4.00g; 4.22/10.53/16.87mmol; $x = 120/300/480$ Äq.)

und **Mo (3)** (3.75/2.34/0.94g; 16.87/10.55/4.21mmol; 600-xÄq.); **poly(5_x-co-6_{600-x})**: **Mo (5)** (1.00/2.51/3.07g; 2.73/6.59/8.06mmol; x = 120/300/480Äq.) und **Mo (6)** (5.45/3.42/1.03g; 10.51/6.59/1.99mmol; 600-xÄq.) werden in allen Fällen in Dichlormethan_(abs.) gelöst.

Bei den Polymerisationen wird ein Initiator **G3** (25.75mg; 0.035mmol; 1Äq.) in einer kleinen Menge an CH₂Cl₂₍abs.) gelöst und schnell der Monomerlösung zugegeben. Dabei ist ein Farbwechsel von grün nach braun zu beobachten. Im Falle von **poly(5_x-co-6_{600-x})** wird **M31** (748.77 g·mol⁻¹; 0.022 mmol; 1Äq.), ebenso in einer kleinen Menge an CH₂Cl₂₍abs.) gelöst, als Initiator verwendet. Hier ist ein Farbwechsel von rot nach braun zu beobachten. Die Reaktionslösung rührt bei 250rpm je nach Monomer bis zu 24 Stunden bei Raumtemperatur in der Glovebox. Der Umsatz wird mittels DC (Dünnschichtchromatographie) kontrolliert. Nach vollständigem Monomerumsatz wird die Reaktion durch einen Überschuss an Ethylvinylether beendet. Die Lösung wird nun mindestens weitere 30min bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufreinigung des Polymers wird die Polymerlösung am Rotavapor eingeeengt und anschließend in kaltem n-Pentan langsam ausgefällt. Nach Entfernung des Fällungsmittels wird das Polymer nochmals in CH₂Cl₂ gelöst und in n-Pentan umgefällt. Nach Trocknung des Polymers wird das Produkt zuletzt in THF aufgelöst, in Wasser deion. gefällt und dann im Vakuumtrockschrank bei 40°C getrocknet.

poly(1):

Ausbeute: 87 %

¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 500 MHz): 5.54-5.15 (m, 2H, CH=CH), 4.24-3.95 (m, 2H, COOCH₂), 3.23-2.36 (m, 5H, Cp^{1,2,4}, CH₂N), 2.14-1.25 (m, 5H, NH, Cp^{3,5}), 1.09 (bs, 6H, NC(CH₃)₃).

GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2): 136 kg/mol; PDI=1.4

STA: 283°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)

DSC: T_g = 29°C

poly(1₁₂₀-co-2₄₈₀):

Ausbeute: 73 %.

¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 300 MHz): 5.52-5.10 (m, 2H, CH=CH), 4.25-3.83 (m, 2H, COOCH₂), 3.27-2.33, 2.16-0.96, 0.88 (t, 2.63H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis

Mo (1) : Mo (2) = 116±10 : 484±10.

GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2): 118 kg/mol; PDI=1.4

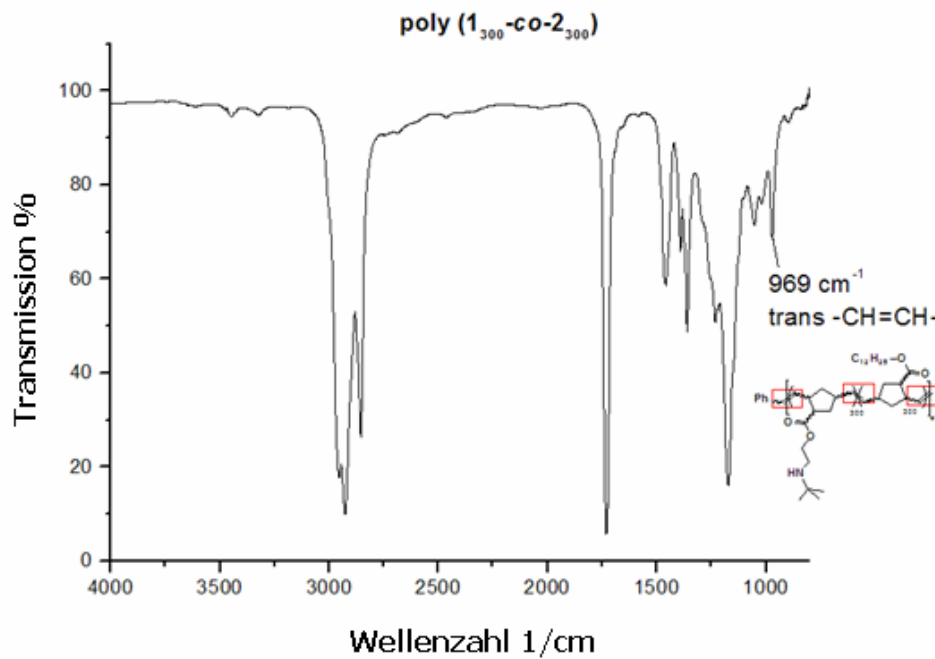
STA: 345°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)

DSC: T_g = nicht bestimmbar/auswertbar

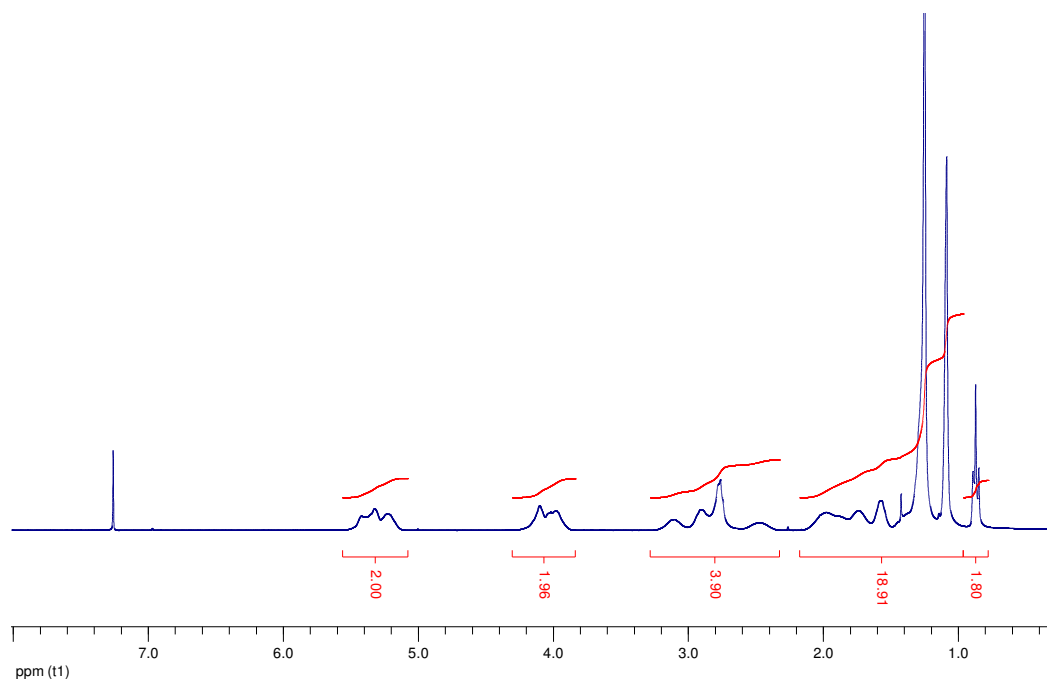
poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀):**Ausbeute:** 75 %.**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 300 MHz):** 5.52-5.10 (m, 2H, CH=CH), 4.25-3.86 (m, 2H, COOCH₂), 3.26-2.32, 2.16-0.96, 0.87 (t, 1.84H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis**Mo (1) : Mo (2) =** 240±10 : 360±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** 128 kg/mol; PDI=1.5**STA:** 320°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_g = -18°C**poly(1₄₈₀-co-2₁₂₀):****Ausbeute:** 73 %.**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 300 MHz):** 5.52-5.10 (m, 2H, CH=CH), 4.27-3.87 (m, 2H, COOCH₂), 3.25-2.31, 2.17-0.94, 0.87 (t, 0.87H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis**Mo (1) : Mo (2) =** 426±10 : 174±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** 169 kg/mol; PDI=1.6**STA:** 292°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_g = 7°C**poly(1₁₂₀-co-3₄₈₀):****Ausbeute:** 68%.**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 500 MHz):** 5.52-5.10 (m, 2H, CH=CH), 4.22-3.90 (m, 2H, COOCH₂), 3.27-2.33, 2.18-1.00, 0.88 (t, 2.46H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis**Mo (1) : Mo (2) =** 108±10 : 492±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** 122 kg/mol; PDI=1.3**STA:** 338°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_g = -17°C**poly(1₃₀₀-co-3₃₀₀):****Ausbeute:** 77 %.**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 500 MHz):** 5.52-5.10 (m, 2H, CH=CH), 4.22-3.90 (m, 2H, COOCH₂), 3.27-2.33, 2.18-1.00, 0.88 (t, 1.63H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis**Mo (1) : Mo (3) =** 276±10 : 324±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** 128 kg/mol; PDI=1.2**STA:** 293°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_g = 4°C

poly(1₄₈₀-co-3₁₂₀):**Ausbeute:** 79 %.**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 500 MHz):** 5.52-5.11 (m, 2H, CH=CH), 4.22-3.90 (m, 2H, COOCH₂), 3.27-2.32, 2.18-1.00, 0.88 (t, 0.78H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis**Mo (1) : Mo (3) =** 444±10 : 156±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** 132 kg/mol; PDI=1.5**STA:** 279°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_g = 19°C**poly(5₁₂₀-co-6₄₈₀):****Ausbeute:** nicht bestimmbar**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 300 MHz):** 5.7-5.0 (m, 2H, CH=CH), 4.4-3.82 (m, 4H, COOCH₂), 3.46-2.52, 2.40-0.98, 0.87 (t, 4.9H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis**Mo (5) : Mo (6) =** 306±10 : 294±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** PDI=1.9**STA:** 289°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_m = -15°C**poly(5₃₀₀-co-6₃₀₀):****Ausbeute:** 77 %.**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 300 MHz):** 5.7-4.8 (m, 2H, CH=CH), 4.5-3.7 (m, 4H, COOCH₂), 3.25-0.88 (t, 0.87H, CH₂CH₃). Tatsächlich ermitteltes Verhältnis **Mo (5) : Mo (6)****=** 376±10 : 224±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** PDI=2.2**STA:** 200°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_m = -28°C**poly(5₄₈₀-co-6₁₂₀):****Ausbeute:** nicht bestimmbar**¹H-NMR (δ, 20 °C, CDCl₃, 300 MHz):** 5.7-4.8 (m, 2H, CH=CH), 4.5-3.7 (m, 4H, COOCH₂), 3.25-0.88. Tatsächlich ermitteltes Verhältnis **Mo (5) : Mo (6) =** 510±10 : 90±10.**GPC (CHCl₃ : Et₃N : i-Prop. = 94 : 4 : 2):** PDI=1.7**STA:** 226°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)**DSC:** T_m = nicht ermittelbar

IR/¹H-NMR- Spektrum von poly(1₃₀₀-co-2₃₀₀) zur Veranschaulichung



Die IR-Spektren von **poly(1_x-co-2_{600-x})**, **poly(1_x-co-3_{600-x})**, **poly(5_x-co-6_{600-x})** unterscheiden sich nicht, da IR-Messungen rein qualitativer Natur sind.



Die NMR Spektren der Polymere **poly(1_x-co-2_{600-x})**, **poly(1_x-co-3_{600-x})**, **poly(5_x-co-6_{600-x})** unterscheiden sich im Wesentlichen nur durch ihre Integrale.

5.1.23 Synthese von Poly(2-ethyl-2-oxazolin)

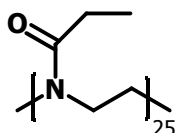
Zur Synthese von P-EtOx werden 2-Ethyl-2-oxazolin ($99.13\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 1.17g; 0.0118mol), Methyltosylat ($186.22\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 0.088g; 0.00047mol) und Acetonitril ($41.05\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 3.94g; 0.09598mol) unter Schutzgas in ein Mikrowellengefäß (PTFE-Liner für die Synthese in der Mikrowelle Synthos 3000, Glasgefäße für die Synthese in der Mikrowelle Biotage) eingewogen, verschlossen und in der Mikrowelle bei folgendem Temperaturprogramm polymerisiert (siehe Kapitel 3.5.2).

Tabelle 16: Mikrowelleneinstellungen AP Synthos 3000

Phase	Power T [°C]	Rampe t [min]	Hold t [min]	Fan
1	140	3:00	10:00	1
2	40	20:00	1:00	3

Nach Ende der Reaktion wird das Acetonitril am Rotavapor entfernt und das Polymer anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 98 % weißer Feststoff



P-EtOx

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, CDCl_3 , 300 MHz): 3.44 (s, 100H, CH_2CH_2), 2.48-2.16 (m, 53.8 H, COCH_2CH_3), 1.2-1.11 (s, 76.65 H, COCH_2CH_3).

GPC (CHCl_3 : Et_3N : *i*-Prop. = 94 : 4 : 2): 2.2 kg/mol; PDI=1.34

STA: ca. 330°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten, Literaturwert)¹²¹

DSC: T_g = ca. 60°C ¹²¹

¹²¹ Wiesbrock, F.; Hoogenboom, R.; Leenen, M.; Van Nispen, S.F.G.M.; Van der Loop, M.; Abeln, C.H.; Van der Berg, A.; Schubert, U.S. *Macromolecules* **2005**, *38*, 7957-7966.

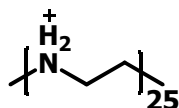
5.1.24 Synthese von Polyamin-hydrochlorid (PA·1HCl)/ Polyamin (PA)

Zur Synthese des Polyamin-hydrochlorids PA·1HCl wird das P-EtOx ($50.000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 50g; 0.001mol) in 170mL Salzsäure durch Rührung vollständig gelöst. Die stark viskose Lösung wird in der Mikrowelle bei folgendem Temperaturprogramm deamidisiert.

Tabelle 17: Mikrowelleneinstellungen zur Synthese von PA·1HCl

Phase	Power	Rampe	Hold	Fan
	T [°C]	t [min]	t [min]	
1	160	5:00	240:00	1
2	60	20:00	5:00	3

Danach wird das weiße Polymer abfiltriert, in Ethanol aufgenommen (um gebildete Propionsäure zu entfernen) und für 1h ins Ultraschallbad gestellt. Das weiße Polymer wird im Vakuumtrockenschrank bei 40°C getrocknet.

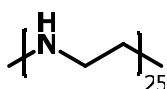


PA·1HCl

STA: ca. 270°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, D_2O , 300 MHz): 3.55 (s, CH_2CH_2), 2.11 (s, $^+\text{NH}_2$)

Um die deprotonierte Form des Polyamins erhalten zu können, wird das PA·1HCl in einer basisch-wässrigen Lösung deprotoniert, abfiltriert und getrocknet.



PA

Ausbeute: 87% weißes Pulver

$^1\text{H-NMR}$ (δ , 20 °C, D_2O , 300 MHz): 3.55 (s, CH_2CH_2).

STA: ca. 230°C (Temperatur bei der 5% Masseverlust auftreten)

6 Appendix

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau der Bakterienzelle	3
Abbildung 2: Unterschied zwischen Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien.....	4
Abbildung 3: Lipide der Cytoplasmamembran	5
Abbildung 4: Cytoplasmamembran.....	6
Abbildung 5: Eschericchia coli	6
Abbildung 6: Pseudomonas aeruginosa	7
Abbildung 7: Staphylococcus aureus (S. aureus)	7
Abbildung 8: Listeria monocytogenes	8
Abbildung 9: das linke Bild zeigt Aspergillus niger im Lichtmikroskop bei 400-facher Vergrößerung, das rechte die Sporen im REM bei 10.000-facher Vergrößerung.....	9
Abbildung 10: Candida albicans	10
Abbildung 11: <i>o</i> -Phenyl-phenol (OPP)	12
Abbildung 12: Triclosan.....	12
Abbildung 13: Benzalkoniumchlorid als Beispiel für QAV	13
Abbildung 14: Chlorhexidin.....	14
Abbildung 15: Tributylzinn (TBT)	14
Abbildung 16: Beispiele für Anwendungsgebiete biozider Polymere (von li. nach re. Lebensmittelverpackungen, Kniegelenk, Miniskusimplantat) ”	16
Abbildung 17: Cartoon zu bakteriziden Materialmodifikationen.....	16
Abbildung 18: Cytoplasmamembran von Bakterien entsprechend dem Fluid Mosaic Modell, stabilisiert durch Calcium-Ionen und verteilte Phospholipide	18
Abbildung 19: Verdrängung von gebundenem Calcium und Anbinden von PHMB an die Phospholipide	18
Abbildung 20: PHMB-induzierte Phasenseparation von geladenen und ungeladenen Lipiden	18
Abbildung 21: Zerfall der Cytoplasmamembran, hervorgerufen durch die Phasenseparation	18

Abbildung 22: Copolymer von El-Refaie Kenawy et al. mit antimikrobieller Aktivität.....	21
Abbildung 23: ROMP synthetisiertes amphiphiles Polymer	22
Abbildung 24: 2-tert-Butylaminoethylmethacrylat (poly(2-tert-butylaminoethyl)methacrylate)	22
Abbildung 25: Übersicht über biologisch abbaubare Polymere.....	23
Abbildung 26: Chitosan-Syntheseweg.....	24
Abbildung 27: Allgemeine Diels Alder Reaktion mit cyclischem Übergangszustand und Bildung der neuen Doppelbindung	25
Abbildung 28: Diels Alder Reaktion von cyclischen Verbindungen und Bildung von bicyclischen Produkten	25
Abbildung 29: Olefin-Metathese	26
Abbildung 30: Polymerisation von Norbornen nach Ziegler-Natta und mittels ROMP.....	26
Abbildung 31: schematische Darstellung des Metathese-Mechanismus	27
Abbildung 32: Olefin Metathese- Reaktionen.....	27
Abbildung 33: verschiedene Norbornenderivate	29
Abbildung 34: Grubbs-Katalysatoren, 1 st Generation (G1), 2 nd Generation (G2), 3 rd Generation (G3).....	31
Abbildung 35: Neolyst-Katalysatoren, 1 st Generation (M1), 2 nd Generation (M2), 3 rd Generation (M31).....	31
Abbildung 36: ROMP mit Grubbs-Initiatoren	31
Abbildung 37: CROP von 2-Ethyl-2-oxazolin (Monomer) mit Methyltosylat als Initiator.....	32
Abbildung 38: Anzahl der Mikrowellen-Polymerisations Publikationen sortiert nach Jahr	33
Abbildung 39: Deamidisierung und Deprotonierung zur Synthese von Polyaminen	34
Abbildung 40: elektromagnetisches Spektrum.....	35
Abbildung 41: Unterschied in der Erwärmung mit der Mikrowelle und durch herkömmliche Methoden.....	35
Abbildung 42: Aufbau eines Schneckenextruders	36
Abbildung 43: Spritzgussprozess	37
Abbildung 44: Vakumplattenpresse	38

Abbildung 45: Kontaktwinkel bei unterschiedlicher Benetzung.....	39
Abbildung 46: graphische Darstellung des Kontaktwinkels θ	39
Abbildung 47: Darstellung des ζ - Potentials in Abhängigkeit vom pH-Wert.....	42
Abbildung 48 zeigt den Einsatzbereich des TEM (0.2 nm oder 2 Å) im Vergleich zu anderen Methoden. Das TEM besitzt ein 100 bis 1000x größeres AV als das LIM – bedingt durch die Verwendung von Elektronenstrahlen anstelle von Lichtstrahlen.....	43
Abbildung 49: schematischer Aufbau eines TEM.....	45
Abbildung 50: Probenaufbereitung fürs TEM: Trimmen der Probe (1), Herstellung der ultradünnen Schnitte (2) und Auffischen der Ultradünnschnitte (3) direkt (a) oder mit einer Öse (b), anschließend erfolgt die Kontrastierung.....	46
Abbildung 51: Kontrastierung (4) von Polymeren mit Osmiumtetroxid (links) und mit Rutheniumtetroxid (rechts)	46
Abbildung 52: Agardiffusionstest.....	47
Abbildung 53: Monomere zur Synthese der antibakteriellen Polymere	50
Abbildung 54: Reaktionsgleichung der Synthese von Mo (1), Mo (2) und Mo (3).....	51
Abbildung 55: Strukturformel von Mo (1), Mo (2) ($R = n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$) und Mo (3) ($R = n\text{-C}_6\text{H}_{13}$) sowie der Polymere. Die statistische ringöffnende Metathese-co-polymerisation des hydrophilen Mo (1) und des lipophilen Mo (2)/Mo (3) wird durch einen Grubbs Katalysator der dritten Generation (H_2IMes)(pyridine) $_2$ RuCl $_2$ (=CHPh) G3 initiiert.	52
Abbildung 56: Oberflächenenergie der spingecoateten Polymerfilme. Die Oberflächenenergie sinkt mit steigendem Anteil an lipophilen Mo (2) und Mo (3).....	56
Abbildung 57: Schematische Darstellung des JIS Z2801	57
Abbildung 58: Mikrobizide Aktivität der Polymere gegen E. coli. Die Bestimmung der CFU erfolgte nach 24 Stunden. Auf der y- Achse ist $\Delta [\log(\text{CFU})] = \log(\text{CFU}_{\text{Probe}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Referenz}})$ aufgetragen. Der graue Bereich zwischen 0 und -2 illustriert die mikrobiostatische Aktivität, die Werte $\Delta[\log(\text{CFU})] < -2$ zeigen die mikrobizide Wirkung.	59
Abbildung 59: Mikrobizide Aktivität der Polymere gegen S. aureus. Die Bestimmung der CFU erfolgte nach 24 Stunden. Auf der y- Achse ist $\Delta [\log(\text{CFU})] = \log(\text{CFU}_{\text{Probe}}) - \log(\text{CFU}_{\text{Referenz}})$ aufgetragen. Der graue Bereich zwischen 0 und -2 illustriert die mikrobiostatische Aktivität, die Werte $\Delta[\log(\text{CFU})] < -2$ zeigen die mikrobizide Wirkung.	60
Abbildung 60: Mikrobizide Aktivität von poly(1 $_{300}$ -co-2 $_{300}$) gegen A. niger, C. albicans, S. aureus und P. aeruginosa. Die linken Säulen zeigen die Population der Mikroben am	

Referenzmaterial, die rechten Säulen die des poly(1 ₃₀₀ - <i>co</i> -2 ₃₀₀)- Films. Graue Bereiche illustrieren auch hier mikrobiostatische Aktivität, log(CFU)- Werte unterhalb dieses grauen Bereichs zeigen mikrobizide Eigenschaften.	61
Abbildung 61: funktionelle Monomere Mo (5) und Mo (6)	63
Abbildung 62: Diels-Alder Reaktion zu <i>exo,endo</i> -Bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dicarbonyldichlorid	63
Abbildung 63: Reaktionsgleichung zur Synthese von Mo (5) und Mo (6)	64
Abbildung 64: Struktur von poly (5 _x - <i>co</i> -6 _{600-x})	64
Abbildung 65: graphische Darstellung der bioziden Wirksamkeit von 1: poly (5 ₁₂₀ - <i>co</i> -6 ₄₈₀), 2: poly (5 ₃₀₀ - <i>co</i> -6 ₃₀₀) und 3: poly (5 ₄₈₀ - <i>co</i> -6 ₁₂₀)	67
Abbildung 66: Herstellung von Polymercompounds mit PE.....	69
Abbildung 67: Testergebnisse der Compounds mit 3 wt-%, 5 wt-% und 7 wt-% an Wirkstoff gegen <i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> nach JIS Z2801:2000	72
Abbildung 68: Mikrotom (links), TEM (rechts)	73
Abbildung 69: TEM-Bilder; statistisches Copolymer eingeblendet in PE, Vakuumpresse; statistisches Copolymer eingeblendet in PE, Spritzguss; Blockcopolymer eingeblendet in PE, Spritzguss (von li. nach re.)	74
Abbildung 70: Zersetzungskurve von Chitosan	76
Abbildung 71: ζ-Potentiale der unterschiedlichen Compounds und PE in der Stempelzelle ..	77
Abbildung 72: Resultate der Klammerzelle	78
Abbildung 73: Verlauf des IEP mit zunehmender Konzentration an Chitosan	79
Abbildung 74: JIS-Ergebnisse gegen <i>S. aureus</i> des 20% Chitosan in PE- Compounds.....	80
Abbildung 75: Reaktionsgleichung zur Darstellung der Polyamide	83
Abbildung 76: Deamidierungsreaktion	83
Abbildung 77: Deprotonierung zum Polyamin.....	83
Abbildung 78: STA-MS Messkurve des protonierten Polyamins (PA·1HCl): Temperaturstabilität bis ungefähr 160°C. Bis 270°C ist ein Masseverlust von 5% zu verzeichnen.	84

Abbildung 79: STA-MS Messkurve des deprotonierten Polyamins (PA): Ab 50°C ist der Beginn der Zersetzungskurve zu sehen. Bis 235°C ist ein Masseverlust von 5% zu verzeichnen.	85
Abbildung 80: JIS-Ergebnisse der Compounds gegen <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i>	87
Abbildung 81: Lotader AX8900 (GMA)	88
Abbildung 82: Compoundplättchen im Vergleich	89
Abbildung 83: Resultierende Oberflächenenergien der Proben 1, 2, 3 und der Referenz	90
Abbildung 84: Grafische Darstellung der Zusammensetzungen der Proben und der damit zusammenhängenden Oberflächenenergien (dispenser und polarer Anteil).....	91
Abbildung 85: Ergebnisse der ζ -Potentialmessungen von Probe 1, 2 und Referenz. Man sieht eine Verschiebung des IEP in den neutralen Bereich	92
Abbildung 86: grafische Darstellung der TTZ-Testergebnisse der antibakteriellen Untersuchungen gegen <i>L. monocytogenes</i>	94
Abbildung 87: OFI-Testergebnisse der Compounds gegen <i>S. aureus</i>	96
Abbildung 88: OFI- Testergebnisse der Compounds gegen <i>E. coli</i>	97
Abbildung 89: ATIR-Aufsatz zur Messung von festen Proben	101
Abbildung 90: Gerät zur Bestimmung der Oberflächenenergie	103
Abbildung 91: Aufbau des Geräts zur Messung des ζ -Potentials	104
Abbildung 93: Micro-injection moulding Maschine der Firma Thermo.....	105
Abbildung 94: Spritzgussform zur Herstellung von Polymerplättchen	105
Abbildung 95: Vakuumplattenpresse Collin	106
Abbildung 98: Reaktionsgleichung zur Herstellung des Grubbs- Initiators G3	107

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakterisierung der Polymere mittels GPC und DSC (differential scanning calorimetry) zur Temperaturanalyse.	54
Tabelle 2: Mikrobizide Aktivität der Copolymere der Diplomarbeit gegen E. coli und S. aureus nach JIS Z2801:2000	59
Tabelle 3: GPC und DSC Ergebnisse.....	65
Tabelle 4: Ergebnisse der bioziden Tests der difunktionellen Norbornene gegen L. monocytogenes.....	66
Tabelle 5: Temperatur-Druck Programm der Vakuumpaltenpresse	70
Tabelle 6: JIS-Testergebnisse des Chitosan- Compound	79
Tabelle 7: Temperatur-Druck Programm der Vakuumpaltenpresse	85
Tabelle 8: JIS- Testergebnisse der PA- Compounds gegen S. aureus	86
Tabelle 9: JIS- Testergebnisse der PA- Compounds gegen P. aeruginosa	86
Tabelle 10: JIS- Testergebnisse der PA- Compounds gegen C. albicans.....	87
Tabelle 11: Zusammensetzung der Compounds.....	88
Tabelle 12: Kontaktwinkel der protonierten und deprotonierten Polyamin-Compounds gegen Wasser, Benzylalkohol und Diiodmethan	90
Tabelle 13: TTZ-Testergebnisse der Proben gegen L. monocytogenes	94
Tabelle 14: OFI-Ergebnisse: log(CFU) und Reduktionsfaktoren der bioziden Tests gegen S. aureus	95
Tabelle 15: log(CFU) und Reduktionsfaktoren der bioziden Tests gegen E. coli	96
Tabelle 16: Mikrowelleneinstellungen AP Synthos 3000.....	118
Tabelle 17: Mikrowelleneinstellungen zur Synthese von PA·1HCl	119

CURRICULUM VITAE

Persönliches:

Name: Elisabeth Kreutzwiesner
Nationalität: Österreich
Geburtsdatum: 22.10.1982
Geburtsort: Leoben, Österreich
Adresse: Tegetthoffplatz 3, 8010 Graz, Österreich
E-mail: elisabeth.kreutzwiesner@gmx.at

Lehrerfahrung:

Sommersemester 2010: Betreuung der Lehrveranstaltung CHE.161 „LU aus Technischer Chemie“ am Institut für chemische Technologie von Materialien der TU Graz.

Arbeitserfahrung:

Sommer 1998, 1999, 2000: Ferialpraktikum bei der Papierfabrik Brigl&Bergmeister, Chemielabor

Sommer 2001: Ferialpraktikum bei der Firma RHI, F&E

Sommer 2001-2006: Ferialpraktikum bei Voest Alpine Stahl Donawitz, F&E

Geringfügige Beschäftigung bei der Brauunion Österreich als Führerin im Brauereimuseum Göss seit 2001

Ausbildung:

01.07.2007-bis jetzt Dissertation am Institut für Chemische Technologie von Materialien (ICTM), TU Graz

01.10.2006-21.06.2007 Diplomarbeit „Homo- und Copolymere mit antibakteriellen Eigenschaften“ am Institut für Chemische Technologie von Materialien (ICTM), TU Graz

01.10.2001-21.06.2007: Studium der Technischen Chemie an der TU Graz

09. 1993-06.2001: Gymnasium, BG/BRG Leoben I

09.1989-07.1993 Volksschule, Proleb (Leoben)

Stipendium:

2009: Förderstipendium der Technischen Universität Graz

Publikationsliste:

Publikationen

2010

Kreuzwiesner, E.; Noormofidi, N.; Wiesbrock, F.; Kern, Wolfgang; Rametsteiner, K.; Stelzer, F.; Slugovc, C. *Contact Bactericides and Fungicides on the Basis of Amino-Functionalized Poly(norbornene)s*, submitted.

Präsentationen

2009

Kreuzwiesner, E.; Wiesbrock, F.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *Polymerization Methods to obtain Amino-Functionalized Biocides*. - in: European Polymer Congress (epf09). Graz am: 12.07.**2009**

Hecke, A.; Kelly, A.; Kreuzwiesner, E.; Rupp, B.; Stelzer, F.; Wiesbrock, F. *Microwave-Assisted Synthesis and Characterization of 2-Oxazoline-Based Hydrogels*. - in: 11th Pacific Polymer Conference. Cairns am: 06.12.**2009**

2008

Kreuzwiesner, E.; Noormofidi, N.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *Polymers and Copolymers with antimicrobial activity*. - in: PCCL Boardmeeting. Leoben am: 21.02.**2008**

Kreuzwiesner, E.; Noormofidi, N.; Stelzer, F.; Kern, W.; Slugovc, C. *Antimicrobial Copolymers Compounded with Polyethylene*. - in: Zing, Polymer Synthesis. Cancun am: 17.03.**2008**

Noormofidi, N.; Kreutzwiesner, E.; Stelzer, F.; Slugovc, C. *Antimicrobial Polymer Blends via ROMP*. - in: 1st Joint Austrian & Slovenian Polymer Meeting ASPM 2008 and 9th Austrian Polymer Meeting. Graz am: 26.03.**2008**

Wiesbrock, F.; Rupp, B.; Kreutzwiesner, E.; Stelzer, F. *Poly(2-oxazoline)-based Hydrogels*. - in: 3. Wiener Biomaterialsymposium. Wien am: 19.11.**2008**

Poster

2009

Hecke, A.; Kreutzwiesner, E.; Rupp, B.; Stelzer, F.; Wiesbrock, F. *Microwave-Assisted Synthesis and Characterization of 2-Oxazoline-Based Hydrogels*. - in: European Polymer Congress EPF09. Graz, Austria am: 12.07.**2009**

Kreutzwiesner, E.; Noormofidi, N.; Wiesbrock, F.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *High Potential Functionalised Polynorbornenes for the Purpose of Microbicides*. - in: MRS Spring Meeting. San Francisco am: 13.04.**2009**

2008

Kreutzwiesner, E.; Noormofidi, N.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *ROM Polymers With Antimicrobial Activity*. - in: Euchems Turin. Turin am: 16.09.**2008**

Noormofidi, N.; Kreutzwiesner, E.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *Antimicrobial ROM Polymers as Additives for Commodity Materials*. - in: International Workshop on Biomacromolecules 2008. Stockholm am: 01.06.**2008**

Kreutzwiesner, E.; Noormofidi, N.; Stelzer, F.; Kern, W.; Slugovc, C. *Usage of Ruthenium Based Catalysts to Synthesize Antimicrobial Polymers*. - in: Zing, Organometallics at the Centre. Cancun am: 13.03.**2008**

Noormofidi, N.; Kreuzwiesner, E.; Rametsteiner, K.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *Antimicrobial ROM Polymers Optimized for Blending with Commodity Materials*. - in: Zing, Polymer Synthesis. Cancun am: 17.03.**2008**

Kreuzwiesner, E.; Noormofidi, N.; Kern, W.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *Antimicrobial Copolymers Compounded With Polyethylene*. - in: 1st Joint Austrian & Slovenian Polymer Meeting ASPM 2008 and 9th Austrian Polymer Meeting. Graz am: 26.03.**2008**

2007

Noormofidi, N.; Kreuzwiesner, E.; Slugovc, C.; Stelzer, F. *Synthesis of antimicrobial polymers optimized for blending with commodity materials*. - in: Innovative Science for Successful Business, 4th Partnering Day for Biomedical Research. Graz am: 18.10.**2007**