

Modifizierungen von Titan- und Magnesiumoberflächen mit kontaktbioziden und low-fouling Eigenschaften mittels oberflächeninitiiertes Polymerisation

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

Fachbereich Chemie, Institut für Pharmazie

an der Universität Hamburg eingereichte

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

vorgelegt von

Eilika Zorn

Hamburg

2024

Die vorliegende Arbeit wurde von 2020 bis 2024 im Institut für Pharmazie in der Abteilung Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Universität Hamburg unter der Betreuung von Prof. Dr. Wolfgang Maison angefertigt.

Erstgutachter: Prof. Dr. Wolfgang Maison

Zweitgutachter: Prof. Dr. Chris Meier

Prüfungskommission: Prof. Dr. Wolfgang Maison

Prof. Dr. Sebastian Wicha

Prof. Dr. Ralph Holl

Datum der Disputation: 07.06.2024

Science is not a boy's game, it's not a girl's game. It's everyone's game. It's about where we are and where we're going.

Nichelle Nichols

Danksagung

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. Wolfgang Maison für die Betreuung, Inspiration, fachliche Hilfe und die Möglichkeit in seiner Arbeitsgruppe zu arbeiten. Du hast mein Interesse an der pharmazeutischen Chemie schon während des Studiums geweckt und in der Promotion nur gestärkt. Danke für die immer offene Tür und deine Zeit. Du hast mich in der Promotion durch viele Höhen und Tiefen begleitet, wusstest in den richtigen Momenten viel Aufmerksamkeit zu geben und hast in manchen Moment auch Entwicklungszeit zugelassen.

Prof. Dr. Chris Meyer danke ich herzlich für die Übernahme des zweiten Gutachtens. Prof. Dr. Ralph Holl und Prof. Dr. Sebastian Wicha möchte ich für die Bereitschaft zur Teilnahme an der Prüfungskommission danken. Weiter danke ich Prof. Dr. Sebastian Wicha für die nette und erfolgreiche Kooperation während meiner Promotion und die unkomplizierte Mitnutzung der S2-Labore.

Darüber hinaus danke ich den weiteren Kooperationspartnern: Dr. Nico Scharnagl (Hereon Geesthacht) für die XPS-Messungen, Dr. Marcus Rohnke (JLU Gießen) für die SIMS-ToF-Messungen und Tomi Mantel aus dem AK Ernst (TUHH) für die Hilfestellungen bei den Zetapotentialmessungen. Danken möchte ich auch dem ganzen technischen Personal im Institut. Ohne diese lieben Menschen wäre manches schwer gewesen, allen voran Kathleen, aber auch Annette, Christine, Claudia und Melanie.

Ein großer Dank gilt meinem tollen Arbeitskreis, danke euch für die tollen fachlichen Hilfestellungen, die konstruktiven Korrosionsmeetings und die vielen gemeinsamen, ablenkenden Tage und Abende mit viel Rage Cage. Danke an alten und neuen Hasen: Dr. Erik Ruf, Dr. Tim Naundorf, Dr. Tom Seddig, Dr. Malte Holzapfel, Dr. Sarah Chandralingam, Dr. Silke Schmidt, Dr. Natalija Peric, Lasse Outzen, Svenja Kerpa, Michelle Kobus, Timo Friedrich, Laurens Ballentin, Lennart Spickschen, Hauke Eggert, Shirin Mesgarha, Erica Moretto und Nils Burmeister. Ein besonderer Dank geht an meine beiden Laborpartner Erik und Laurens, von denen ich viel Unterstützung erhalten haben. Tim möchte ich noch herzlich für das Korrekturlesen danken. Ein großer Dank geht an Nils. Danke, dass wir seit 2014 alle Höhen und Tiefen gemeinsam durchstehen und du mir immer mit Rat und Tat zur Seite stehst.

Weiter möchte ich meinem Bachelor Cristian, meiner Masterandin Inga und meinen Praktikanten Iven, Anna, Katrin, Katya, Zoe, Lina und Lotte danken.

Auch dem gesamten AK Wicha möchte ich danken. Insbesondere Niklas und Aneeq danke ich für die tolle Hilfe und Unterstützung im S2-Labor.

Ein weiterer Dank gilt meinen ganzen Freunden aus der Uni, Schule und den Segelmädels. Danke, dass es euch gibt und ihr mir immer eine tolle Ablenkung zur Arbeit bereitet. Ein

besonderer Dank gilt an Alina und Muriel, danke dass ihr immer für mich da seid. Insbesondere danke ich noch Nils, Nina, Cai und Jonas fürs Korrekturlesen.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie danken. Danke, dass ihr immer für mich da seid und mich unterstützt. Danke auch an Mama und Talina, dass ihr die Arbeit Korrektur gelesen habt.

I. Publikationsliste

Auszüge dieser Dissertation wurden in folgenden Publikationen bereits veröffentlicht:

Zwitterionic surface modification of polyethylene via atmospheric plasma-induced polymerization of (vinylbenzyl-)sulfobetaine and evaluation of antifouling properties

Burmeister, N, Vollstedt, C., Kröger, C., Friedrich, T., Scharnagl, N., Rohnke, M., Zorn, E., Wicha, S.G., Streit, W.R., Maison, W.

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces **2023**, Vol. 224, 113195.

Contact-biocide TiO₂ Surfaces by Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization with Chemically Stable Phosphonate Initiators

Zorn, E., Knaack J. I. H. Burmeister, N., Scharnagl, N., Rohnke, M., Wicha, S.G., Streit, W.R., Maison, W.

Langmuir **2023**, Vol. 39 (31), 11063-11072.

Surface-grafted N-Oxides have low-fouling and antibacterial properties

Burmeister, N., Zorn, E., Farooq, A., Preuss, L., Vollstedt C., Friedrich, T. Mantel, T., Scharnagl, N., Rohnke, M., Ernst, M. Wicha, S.G., Streit, W.R., Maison, W.

Advanced Materials Interfaces **2023**, Vol. 10 (35), 2300505.

Low-fouling and Antibacterial Polymer Brushes via Surface-Initiated Polymerization of a Mixed Zwitterionic and Cationic Monomer

Burmeister, N., Zorn, E., Preuss, L., Timm, D., Scharnagl, N., Rohnke, M., Wicha, S.G., Streit, W.R., Maison, W.

Langmuir **2023**, Vol. 39 (49), 17959-17971.

Medicinal Chemistry of drugs with N-oxide functionalities

Kobus, M., Friedrich, T., Zorn, E., Burmeister, N., Maison, W.

Journal of Medicinal Chemistry **2024**, submitted manuscript.

II. Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung und Ausblick.....	1
2. Summary and Outlook.....	5
3. Einleitung	9
3.1 Biofilme und die Problematik von biofilm-assoziierten Infektionen.....	9
3.2 Aktive und passive Ansätze zur Verhinderung des Biofouling.....	12
Passive Ansätze.....	12
Aktive Ansätze	15
Kombinierte Ansätze	17
3.3 Modifikation von medizinisch relevanten Metalloberflächen	17
Oberflächeninitiierte Polymerisation	18
4. Zielsetzung.....	29
5. Ergebnisse und Diskussion	31
5.1 SI ATRP mit Phosphonsäuren als Anker.....	31
5.1.1 Design der Phosphonsäuren	31
5.1.2 Darstellung der bifunktionalen Phosphonsäuren.....	33
5.1.3 Immobilisierung der Phosphonsäuren auf Nanopartikeln und Bulkmaterialien	38
5.1.4 SI-ATRP mit dem kationischen Monomer VBTAC	52
5.2 Polymerisation weiterer ionischer Monomere über SI-ATRP	68
5.2.1 Darstellung kontaktbiozider Modifikationen von Titanoberflächen.....	69
5.2.2 Darstellung zwitterionischer Modifikationen auf Titan	72
5.2.3 Modifikation der Titanoberflächen mit kombinierter kontaktbiozider und <i>low-fouling</i> Aktivität	76
5.3 SI-PIMP mit Phosphonsäuren als Anker	89
5.3.1 Design der Photoiniferter	89
5.3.2 Darstellung der bifunktionalen Phosphonsäuren.....	91
5.3.3 Immobilisierung der bifunktionalen Phosphonsäuren CTPA und CTHP	95
5.3.4 SI-PIMP über Ti-CTPA und Ti-CTHP mit VBTAC	99
5.3.5 SI-PIMP über Ti-CTHP mit weiteren ionischen Monomeren	102

6. Experimentalteil.....	107
6.1 Methoden und Materialien.....	107
6.1.1 Allgemeine Anmerkung.....	107
6.1.2 Instrumentelle Analytik	107
6.1.3 Chromatographische Methoden.....	111
6.1.4 Methoden zur Immobilisierung.....	112
6.1.5 Methoden für die oberflächeninitiierte Polymerisation.....	113
6.1.6 Methoden um die Ladungsdichte zu ermitteln.....	114
6.1.7 Mikrobiologische Methoden	115
6.2 Synthesevorschriften der bifunktionalen Phosphonsäuren	117
6.3 Synthesevorschriften der Monomere.....	134
7. Literatur	137
8. Anhang.....	151
8.1 Gefahrstoffverzeichnis	151
8.2 Zusätzliche XPS Spektren	157
8.3 Zusätzliche FT-IR Spektren	159
8.4 NMR Spektren	160
9. Eidesstattliche Versicherung	203

III. Abkürzungsverzeichnis

ABPA	ω -(α -bromisobutyramido)butylphosphonsäure
ADPA	ω -(α -bromisobutyramido)decylphosphonsäure
AHPA	ω -(α -bromisobutyramido)hexylphosphonsäure
AIBN	Azabis(isobutyronitril)
AOPA	ω -(α -bromisobutyramido)octylphosphonsäure
ASTM	engl. <i>American Society for Testing and Materials</i>
ATCC	engl. <i>American Type Culture Collection</i>
BUPA	11-(2-bromo-2-methyl-propanoyloxy)undecylphosphonsäure
COSY	engl. <i>correlation spectroscopy</i>
CTAC	Cetyltrimethylammoniumchlorid
CTHP	(6-(4-(((Diethylcarbamothioyl)thio)methyl)benzamido)hexyl)phosphonsäure
CTPA	4-(Phosphorylmethyl)benzyl-diethylcarbamodithioat
Ctrl	engl. <i>control</i> (Kontrolle)
d	engl. <i>doublet</i>
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DLVO	Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek
DMSO	Dimethylsulfoxid
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EPS	extrazellulären polymeren Substanzen
ESI	Elektronenspray-Ionisation
et al.	lat. <i>et alii</i> (und andere)
EtOH	Ethanol
FT-IR	Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie
GHS	global harmonisiertes System zur Einstufung und Kennzeichnung von Chemikalien
GPC	Gel-Permeations-Chromatographie
h	engl. <i>hours</i> (Stunden)
HMBC	engl. <i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HRMS	hochaufgelöste Massenspektrometrie
HSAB	engl. <i>hard soft acid base</i>
HSQC	engl. <i>heteronuclear single quantum coherence</i>
IR	Infrarotlicht
JIS	engl. <i>Japanese Industrial standard</i>

KBE	Kolonie bildende Einheiten
m	engl. <i>multipllett</i>
MeOH	Methanol
METAC	(2-(Methacryloyloxy)ethyl)trimethylammoniumchlorid
min	Minuten
MS	Massenspektroskopie
NIH	engl. <i>US National Institut of Health</i>
NMR	engl. <i>nuclear magnetic resonance</i> (Kernspinresonanz)
PA	Phosphonsäure
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PEG	Polyethylenglykol
PMDETA	N,N,N',N'',N'''-Pentamethyldiethylentriamin
q	engl. <i>quartett</i>
QAS	quartäres Ammoniumsalz
Quant.	Quantitativ
REACH	engl. <i>Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals</i>
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RP18	Umkehrphase mit C18 Endcapping
Rpm	engl. <i>rounds per minute</i>
Rt	Raumtemperatur
s	engl. <i>singlet</i>
SAM	engl. <i>self-assembled monolayer</i> (selbstorganisierende Monoschichten)
SDS	Natriumdodecylsulfat
SI	engl. <i>surface-initiated</i>
SI-ATRP	engl. <i>surface-initiated atom transfer radical polymerization</i>
SI-PIMP	engl. <i>surface-initiated photoiniferter mediated polymerization</i>
SI-RAFT	engl. <i>surface-initiated reversible addition-fragmentation chain-transfer polymerization</i>
SIMS	Sekundärionen-Massenspektrometrie
SPM	engl. <i>scanning probe microscopy</i>
<i>Staph. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
t	engl. <i>triplett</i>
T-BAG Methode	engl. <i>tethering by aggregation and growth</i>

TGA	Thermogravimetrische Analyse
THF	Tetrahydrofuran
TNTC	engl. <i>too numerous to count</i> (nicht zählbar)
ToF	engl. <i>Time-of-Flight</i> (Flugzeitdetektor)
USD	US Dollar
UV	Ultraviolettes Licht
VBC	4-(Vinylbenzyl)chlorid
VBD	4-(Vinylbenzyl)-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octylium
VBDN	Alkyl-4-(4-vinylbenzyl)-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octyl-1,4-dium
VBDSB	3-(4-(4-vinylbenzyl)-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octyl-1,4-dium) propylsulfonat
VBSB	3-(dimethyl(4-(vinylbenzyl)ammoniumpropylsulfonat
VBTAC	4-(Vinylbenzyl)trimethylammoniumchlorid
Vis	sichtbares Licht
XPS	Röntgenphotoelektronenspektroskopie

1. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde an verschiedenen Modifikationsmethoden für Titan geforscht. Dabei lag der Fokus auf einer oberflächeninitiierten Modifizierung mit Polymeren die eine *low-fouling* oder antimikrobielle Eigenschaft aufweisen und somit im medizinischen Bereich zu einer Verhinderung der Biofilmbildung verwendet werden können. Dafür wurden die beiden oberflächeninitiierten Polymerisationstechniken SI-ATRP und SI-PIMP evaluiert.

Zunächst wurde die SI-ATRP auf Titanoberflächen näher untersucht. Zur Aktivierung der Titanoberfläche wurden die neuen bifunktionalen Anker-moleküle **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** entwickelt und dargestellt. Erstmals wurden hier systematisch die Effekte unterschiedlicher Alkyl-längen als Verbindung mit phosphonsäurebasierten Initiatoren auf die Beladungsdichte der gebildeten SAMs und die anschließende SI-ATRP untersucht.

Auf TiO₂-Nanopartikeln konnte eine erfolgreiche Immobilisierung aller Initiatoren über FT-IR nachgewiesen werden. Mittels TGA wurden für die bifunktionalen Anker Beladungsdichten von 1.7 bis 2.3 Molekülen/nm² ermittelt, die höchste Beladungsdichte wies **ADPA** mit der C10 Methyleneinheit auf. SI-ATRP mit dem kationischen Monomer **VBAC** ergaben Polymerisationsausbeuten von 1.98 bis 2.59 µg/cm²; die Polymerisationsausbeute nahm mit der Alkyl-länge zu.

Auch auf Titan Bulkmaterial wurden über SI-ATRP mit **VBAC** chemisch stabile, polykationische Oberflächen mit niedrigen Wasserkontaktwinkeln erhalten. Die chemische Zusammensetzung der gebildeten Polymere wurde über XPS bestätigt. Die über SIMS-ToF ermittelte Tiefe des Polymers nahm mit der Alkyl-länge des Initiators zu, auch die berechnete Polymerisationsausbeute lag für die beiden Initiatoren **AOPA** und **ADPA** mit den längeren Methylenketten bei 10.5 µg/cm² und damit deutlich höher als bei den kürzeren. Für alle polykationischen Oberflächen konnte eine hohe Anzahl von dem Lösungsmittel zugänglichen Ammoniumgruppen $\sim 10^{16}$ N⁺/cm² nachgewiesen werden, was zu einer effizienten antimikrobiellen Aktivität der modifizierten Titanträger gegen klinisch relevanter grampositiver und gramnegativer Bakterienstämme führte (Abbildung 1).

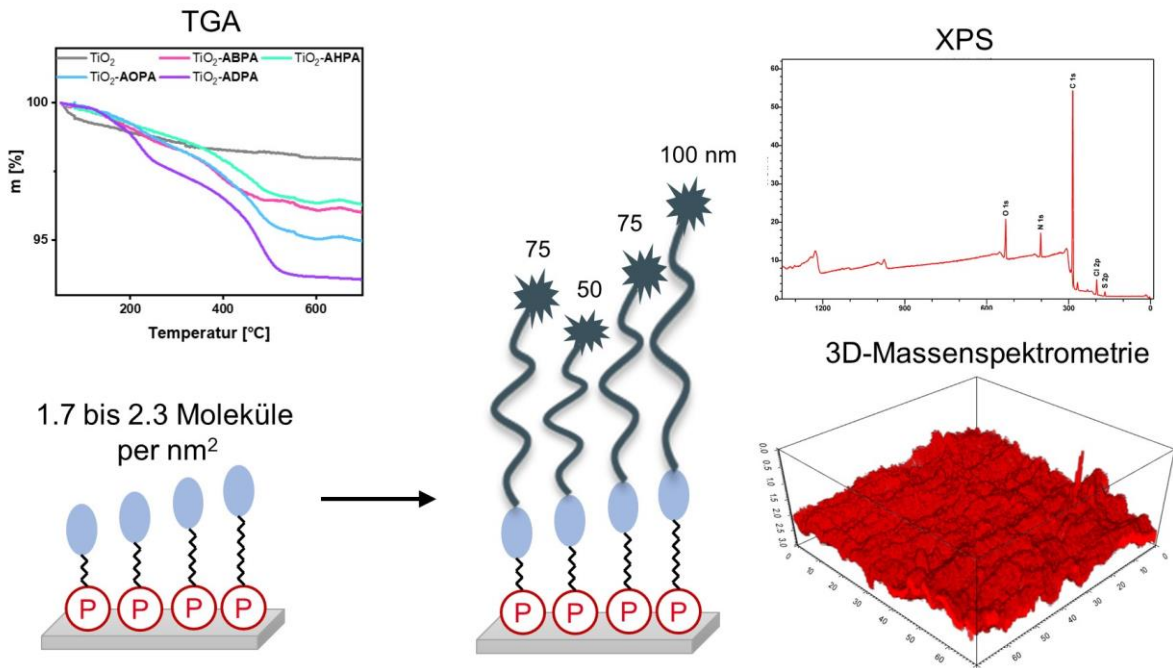


Abbildung 1: Auswahl der Ergebnisse der Immobilisierung der verschiedenen synthetisierten SI-ATRP Initiatoren und anschließender SI-ATRP mit **VBTA**.

ADPA als optimaler Initiator wurde anschließend verwendet, um SI-ATRP mit weiteren geladenen Monomeren auf Titan Bulkoberflächen zu untersuchen. Hier wurden weitere kationische Styrolerivate erfolgreich polymerisiert. Hier konnten lösungsmittelzugängliche Ladungsdichten von $\sim 10^{16} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ und antimikrobielle Effekte gegen *Staph. aureus* nachgewiesen werden. Für das zwitterionische Derivat **VBSB** konnte ein guter *low-fouling* Effekt gegen *P. aeruginosa* festgestellt werden. Die ermittelten lösungsmittelzugänglichen Ladungen lagen bei $7.5 \cdot 10^{15} \text{ SO}_3^-/\text{cm}^2$. Über die Bestimmung des ζ -Potentials konnte zusätzlich eine neutrale Ladung der Oberfläche festgestellt werden.

Weiter wurde ein neues Styrol basiertes Monomer **VBDSB** entwickelt und dargestellt, welches eine quartäre Ammoniumgruppe und ein Sulfobetain enthält. Hiermit wurden erstmalig antimikrobielle und *low-fouling* Eigenschaften in einem Monomer vereint. Die SI-ATRP über **ADPA** auf Titan Bulkoberflächen führte zu dichten Polymeren mit über 750 nm Schichtdicke. Eine positive Ladung der Oberfläche über verschiedene pH-Werte wurde über Messungen des ζ -Potentials nachgewiesen. Die chemische Intaktheit des Polymers wurde über XPS bestätigt und die Lösungsmittel zugängliche Ladungen lagen bei über $10^{16} \text{ N}^+/\text{cm}^2$. Der antimikrobielle und antiadhäsive Effekt konnte gegen verschiedene grampositive und gramnegative Bakterien nachgewiesen werden. Mit der SI-ATRP von **VBDSB** auf TiO₂-Nanopartikeln konnte zudem eine extrem thermostabile Modifikation erhalten werden, was insbesondere für Anwendungen von harschen Sterilisationsprotokollen vorteilhaft ist (Abbildung 2).

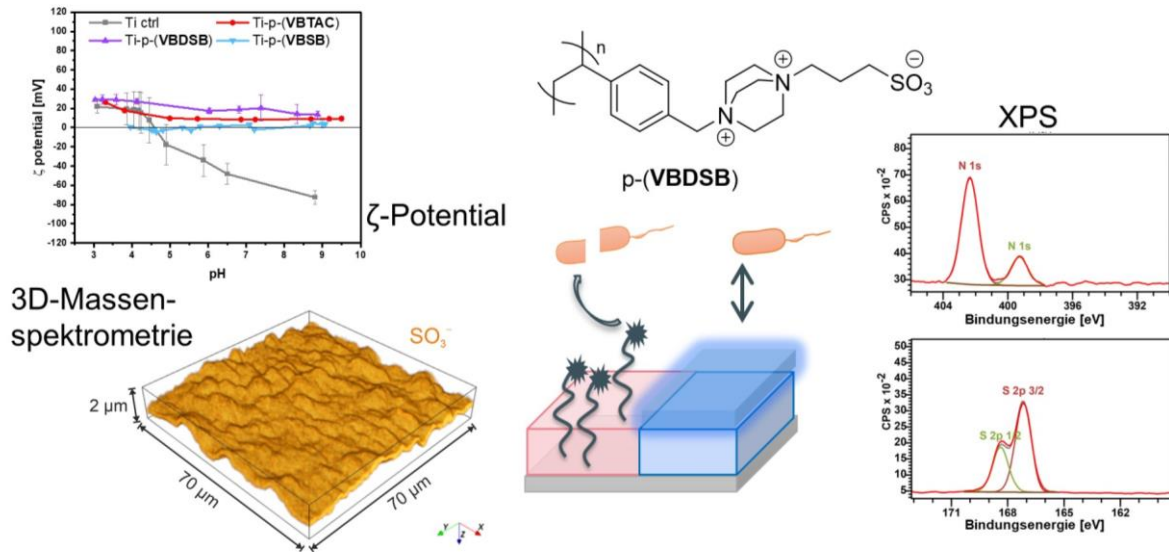


Abbildung 2: Auswahl der Ergebnisse der Modifizierung mit **VBDSB** auf Titan. Ergebnisse der ζ-Potential Messung, der 3D-Massenspektrometrie und der XPS Analytik.

Als Alternative zur SI-ATRP wurde eine zweite oberflächeninitiierte Polymerisation evaluiert: SI-PIMP. Hierfür wurden zwei bifunktionale Phosphonsäuren mit einer Photoinifertergruppe entwickelt und dargestellt. **CTPA** und **CTHP** konnten zudem erfolgreich auf Titan immobilisiert und über TGA und FT-IR charakterisiert werden. Eine erfolgreiche SI-PIMP konnte über **CTHP** durch UV-Aktivierung durchgeführt werden. Als *Proof of concept* konnten verschiedene polykationische und polyzwitterionische Derivate auf der Oberfläche erzeugt werden. Die polykationischen Polymere p-(**VBTAC**) und p-(**METAC**) zeigten beide Ladungsdichten von $\sim 5 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ und einen antimikrobiellen Effekt gegen *Staph. aureus*. Das zwitterionische Polymer p-(**VBNOx**) konnte ohne Postmodifizierung auf Titanoberflächen dargestellt werden und zeigte einen antimikrobiellen Effekt gegen *Staph. aureus*.

Es wurden somit zwei effiziente und einfache Modifikationsmethoden entwickelt, welche zur Funktionalisierung von Titanoberflächen mit geladenen Monomeren eingesetzt wurden. Dadurch konnten polyionische Polymere direkt erzeugt werden und eine Postmodifizierung mit toxischen Alkylanzien oder Propansulton vermieden werden. Die resultierenden Polymere wiesen gute antimikrobielle und/oder antiadhäsive Eigenschaften auf.

Die synthetisierten bifunktionalen Phosphonsäuren lassen sich auch auf anderen Metallen wie Magnesium immobilisieren, wodurch die Polymerisationstechniken genutzt werden könnten, um auch auf anderen medizinisch interessanten Metalloberflächen antimikrobielle und *low-fouling* Polymere aufzubringen. Weiter können die in dieser Arbeit etablierten, Polymerisationsmethoden genutzt werden, um Poly-N-oxide auf die Oberflächen aufzubringen. Diese gelten als sehr vielversprechende Funktionalität, um eine kombinierte *low-fouling* und antibakterielle Funktionalität zu vermitteln.

2. Summary and Outlook

As part of this doctoral thesis, different modification methods for titanium were investigated. The focus was on surface-initiated modification with polymers that have low-fouling or antimicrobial properties and can therefore be used in the medical field to prevent biofilm formation. For this purpose, the two surface-initiated polymerization techniques SI-ATRP and SI-PIMP were evaluated.

First, SI-ATRP was examined in more detail on titanium surfaces. The new bifunctional anchor molecules **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** and **ADPA** were developed and synthesized to activate the titanium surface. For the first time, the effects on the loading density of the formed SAMs and the subsequent SI-ATRP of different alkyl length spacers in phosphonic acid-based initiators were systematically investigated.

Successful immobilization of all initiators on TiO₂ nanoparticles was demonstrated by FT-IR. Loading densities of 1.7 to 2.3 molecules/nm² were determined via TGA for the bifunctional anchors. **ADPA** with the C10 methylene unit exhibited the highest loading density. SI-ATRP with the cationic monomer **VBTAC** resulted in polymerization yields of 1.98 to 2.59 µg/cm², the polymerization yield increased with the alkyl length.

Chemically stable polycationic surfaces with low water contact angles were also obtained on titanium bulk material via SI-ATRP with **VBTAC**. The chemical composition of the polymers formed was confirmed via XPS. The depth of the polymer determined via SIMS-ToF increased with the alkyl length of the initiator, and the calculated polymerization yield for the two initiators **AOPA** and **ADPA** with the longer methylene chains was 10.5 µg/cm² and thus significantly higher than for the shorter ones. For all polycationic surfaces, a high number of solvent-accessible ammonium groups $\sim 10^{16}$ N⁺/cm² could be detected, which led to an efficient antimicrobial activity of the modified titanium coupons against various bacterial strains (Figure 1).

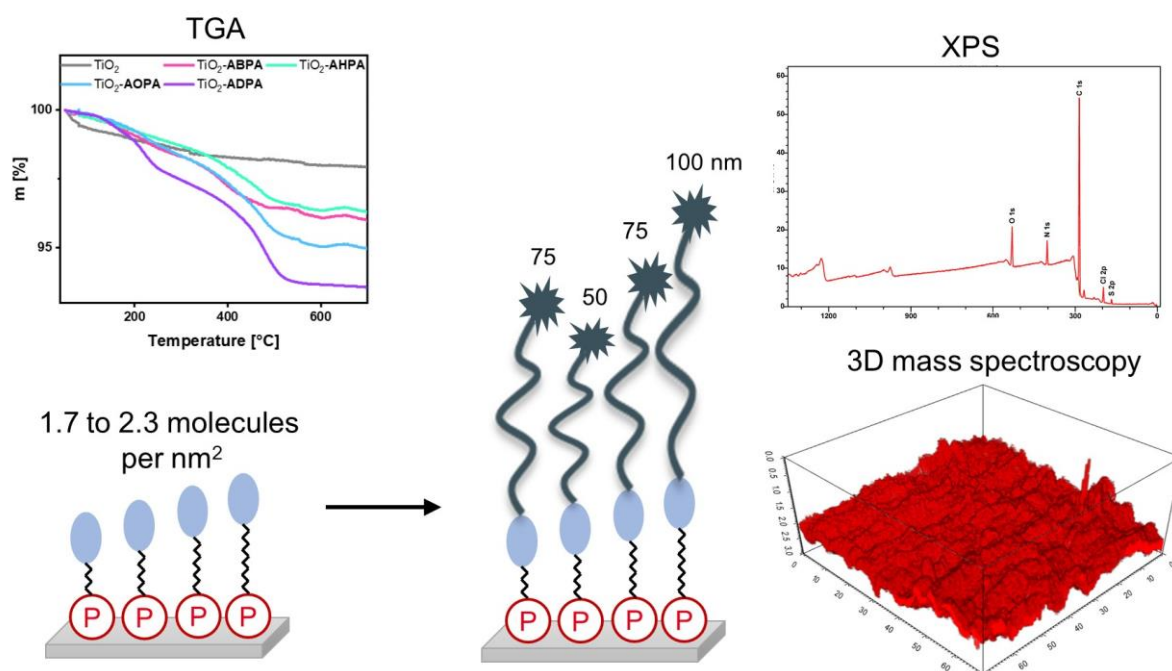


Figure 1: Selection of the results of the immobilization of the different synthesized SI-ATRP initiators and subsequent SI-ATRP with **VBTAAC**

ADPA as an optimal initiator was then used to investigate SI-ATRP with other charged monomers on titanium coupons. Here, further cationic styrene derivatives were successfully polymerized. Solvent-accessible charge densities of $\sim 10^{16}$ N⁺/cm² and antimicrobial effects against *Staph. aureus* were demonstrated. A good low-fouling effect against *P. aeruginosa* was found for the zwitterionic derivative **VBSB**. The solvent-accessible charges determined were $7.5 \cdot 10^{15}$ SO₃⁻/cm². By measuring the ζ potential, a neutral charge of the surface could also be confirmed.

Furthermore, a new styrene-based monomer **VBDSB** was developed, which contains a quaternary ammonium group and a sulfobetaine. This was the first time that antimicrobial and low-fouling properties were combined in one monomer. SI-ATRP via **ADPA** on titanium coupons led to dense polymers with a layer thickness of over 750 nm. A positive charge of the surface over different pH values was demonstrated by measurements of the ζ potential. The chemical integrity of the polymer was confirmed via XPS and the solvent accessible charges were above 10^{16} N⁺/cm². The antimicrobial and low-fouling effect was demonstrated against various Gram-positive and Gram-negative bacteria. Polymers formed of **VBDSB** via SI-ATRP on TiO₂ nanoparticles were found to be extremely thermostable, which is particularly advantageous for applications of harsh sterilization protocols (Figure 2).

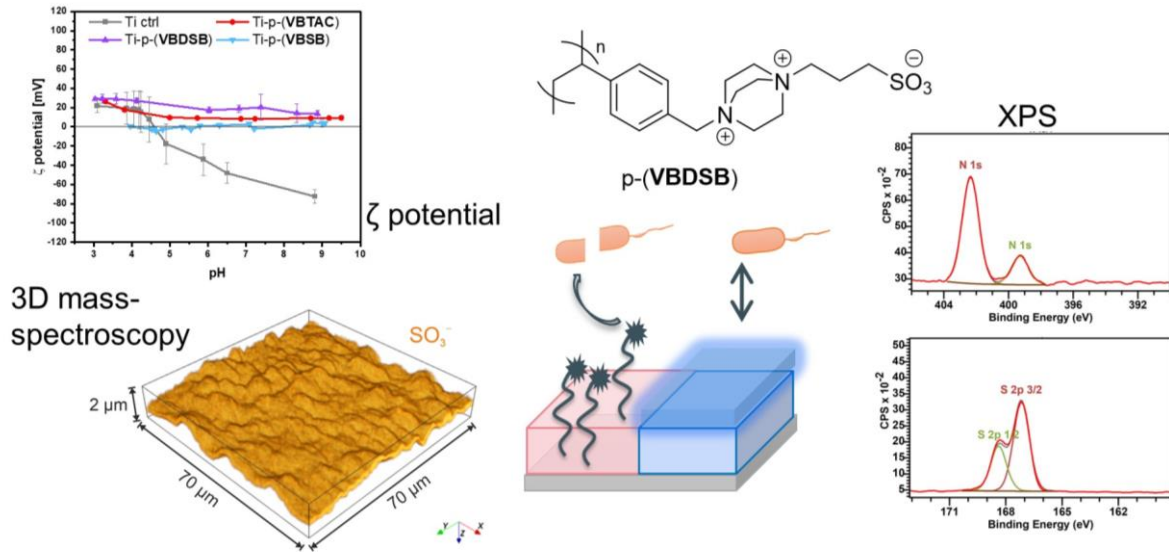


Figure 2: Selection of the results of the modification with **VBDSB** on titanium. Results of the ζ potential measurement, 3D mass spectrometry and XPS analysis.

As an alternative to SI-ATRP, a second surface-initiated polymerization was evaluated: SI-PIMP. For this purpose, two bifunctional phosphonic acids with a photoiniferter group were developed and synthesized. **CTPA** and **CTHP** were successfully immobilized on titanium and characterized by TGA and FT-IR. A successful SI-PIMP was performed from **CTHP** by UV activation. As a proof of concept, various polycationic and polyzwitterionic derivatives were prepared on the surface. The polycationic polymers p-(**VBTAC**) and p-(**METAC**) both showed charge densities of $\sim 5 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ and showed an antimicrobial effect against *Staph. aureus*. The zwitterionic polymer p-(**VBNOx**) could be prepared on titanium surfaces without postmodification and showed an antimicrobial effect against *Staph. aureus*.

Two efficient and simple modification methods were thus developed, which were used to functionalize titanium surfaces with charged monomers. This allowed polyionic polymers to be prepared directly, avoiding post-modification with toxic alkylants or propane sultone. The resulting polymers showed good antimicrobial and/or low-fouling properties.

The synthesized bifunctional phosphonic acids can also be immobilized on other metals such as magnesium, whereby the polymerization techniques could be used to apply antimicrobial and low-fouling polymers to other medically interesting metal surfaces. Furthermore, the polymerization methods established in this work can be used to apply poly-*N*-oxides to the surfaces. These are regarded as very promising functionalities to impart a combined low-fouling and antibacterial functionality.

3. Einleitung

3.1 Biofilme und die Problematik von biofilm-assoziierten Infektionen

Biofilme sind in der Natur ubiquitär verbreitet und sind schon seit Milliarden von Jahren im Lebenszyklus der Prokaryoten ein wichtiger Bestandteil, um das Überleben zu sichern.¹ Biofilme werden definiert als mikrobielle Lebensgemeinschaft, die an einer Oberfläche haftet und fest integriert ist in eine selbst generierte extrazelluläre Polymermatrix. Diese gelartige Matrix besteht bis zu 97% aus Wasser, in dem sich die gebildenden extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) befinden.² Zu den EPS gehören Polysaccharide, Proteine, Nukleotide und Lipide. Extrazelluläre bakterielle Bestandteile wie z.B. Pili, Flagellen und Fimbrien stabilisieren zusätzlich die Struktur.³

Der Biofilm hat für die Bakterien eine Vielzahl von Vorteilen. Es wird eine Zell-Zell Kommunikation ermöglicht und ein synergistisches Mikrokonsortium zwischen den Bakterien aufgebaut, bei denen unter anderem metabolische Nebenprodukte zwischen den einzelnen Bakterien ausgetauscht werden. Ein Weg der Signalisierung zwischen den Bakterien ist das *quorum sensing*, bei dem es zur Genregulierung über sogenannte Autoinduktoren z.B. Peptide oder Fettsäurederivate kommt. Weiter ist die Polymermatrix ein Schutzschild gegenüber äußeren Gefahren, indem sie vor Austrocknung schützt und eine Barriere für Oxidationsmittel, Biozide und UV-Strahlung darstellt. Zusätzlich stellt die Polymermatrix einen Nährstoffspeicher und eine Recyclinganlage dar, indem Nährstoffe aus der Umwelt aufgenommen und gespeichert werden oder Bestandteile von toten Bakterien bereitgestellt sowie wiederverwendet werden. Die Proteine der EPS können in Form von Enzymen als externes Verdauungssystem genutzt werden, wodurch extrazellulär Energie bereitgestellt wird.^{3, 4}

Innerhalb des Biofilmes entwickeln die Mikroorganismen einen veränderten Phänotyp in Bezug auf Wachstum, Genexpression und Proteinproduktion sowie Toleranz und Resistenz gegenüber Antibiotika im Gegensatz zu planktonischen Bakterien.⁵⁻⁸ Hierbei wirkt die extrazelluläre Matrix entweder als Diffusionsbarriere⁹ oder führt zur Inaktivierung der Antibiotika über Chelatisierung¹⁰, enzymatischen Abbau¹¹ oder andere destruktive Reaktionen mit Bestandteilen der Polymermatrix.¹² Zusätzlich wird die Toleranz gegenüber einigen Antibiotika durch die langsame Vermehrungsrate der Bakterien in Biofilmen erklärt.^{6, 13} Viele Bakterien befinden sich in einer stationären Phase, bei der es nur langsam bis gar nicht zur Vermehrung kommt, andere werden von äußeren Einflüssen sogar in eine Art schlafenden Zustand versetzt. Die Konsequenz ist, dass einige Angriffspunkte nicht mehr vorhanden sind, da viele Antibiotika auf die Zellteilung Einfluss nehmen. Neben der Toleranz ist der Austausch von Resistenzen zwischen den Bakterien innerhalb des Biofilmes ein wichtiger Bestandteil in der Widerstandsfähigkeit des Biofilms gegenüber Antibiotika.¹⁴ Die hohe Zelldichte innerhalb des Biofilms erleichtert einen horizontalen Gentransfer über Plasmide oder eDNA.^{2, 7}

Biofilmassoziierte Infektionen spielen im Gesundheitssystem eine große Rolle und sind im Gesundheitswesen laut dem *National Institutes of Health* (NIH) für mehr als 80% der mikrobiellen Infektionen und 60% der nosokomialen Infektionen verantwortlich.^{15, 16} Das Risiko für eine Biofilmbildung ist besonders hoch auf Implantaten wie z.B. Kathetern, und medizinischen Geräten wie Beatmungsgeräten. Aber auch immunsupprimierten Patienten mit z.B. zystischer Fibrose oder diabetischer Neuropathie haben ein erhöhtes Risiko. Ein Biofilmbefall auf medizinischen Materialien kann im Patienten zu chronischen Entzündungen führen und stellt ein Reservoir für resistente Bakterien dar, die freigesetzt werden und weitere Infektionen auslösen können. Die Toleranz gegenüber den gängigen Desinfektionsmethoden stellt das größte Problem bei der Behandlung dar. So ist eine systemische Antibiotikatherapie nur noch in 22 – 37% der Fälle effektiv genug oder das Antibiotikum muss so hoch dosiert werden, dass es zur Zelltoxizität und anderen schweren Nebenwirkungen kommt. Meist können die gebildeten Biofilme nur mechanisch entfernt werden, was bei Implantaten nur durch einen operativen Austausch realisierbar ist. Die grampositiven Bakterien *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermidis* sind die vorherrschenden Bakterienstämme, die an therapieassoziierten Infektionen beteiligt sind. Aber auch multiresistente Stämme von *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa* spielen zunehmend eine große Rolle.^{1, 17-19}

Um eine Biofilmbildung zu verhindern, ist es wichtig, die Prozesse bei der Bildung des Biofilms zu verstehen (Abbildung 3). Initial ist die Oberfläche meist mit verschiedenen Biomolekülen wie Proteine, Lipide, anorganischen Molekülen, Zucker und andere Kohlenhydrate bedeckt. Die Bakterien nähern sich über verschiedene Mechanismen der Oberfläche. Dabei sind zunächst ungerichtete Bewegungen wie die BROWNSche Molekularbewegung vorherrschend. Anziehend zur Oberfläche wirken dann Kräfte wie VAN DER WAALS Kräfte und LONDON Kräfte. Dabei wirken VAN DER WAALS Kräfte über eine längere Distanz von ca. 50 nm und stellen schwache, ungerichtete Anziehungskräfte zwischen Molekülen dar. LONDON Kräfte wirken zwischen spontan gebildeten Dipolen. Ab ca. 20 nm sind zusätzlich elektrostatische Wechselwirkungen relevant, welche zwischen Ionen, permanenten Dipolen oder spontan gebildeten Dipolen wirken. Dabei können diese sowohl anziehend als auch abstoßend wirken, wie z.B. zwischen der elektrochemischen Doppelschicht des Bakteriums und der aufgeladenen Oberfläche. Eine weitere wichtige Rolle in den ersten Phasen der Biofilmbildung spielt die Polarität der Oberfläche, da sich Bakterien vermehrt an hydrophoben Oberflächen anlagern. Zunächst gleichen sich anziehende sowie abstoßende Kräfte noch aus und es kommt nur zur reversiblen Anheftung an der Oberfläche.²⁰ Wenn die anziehenden Kräfte überwiegen, kommt es dann zur irreversiblen Anheftung der Bakterien an der Oberfläche. Zur Beschreibung des Anlagerungsprozesses können verschiedene Theorien wie beispielweise die DLVO-Theorie (entwickelt von DEJARGUIN, LANDAU, VERWEY und OVERBEEK), die eine

theoretische Beschreibung von den Kräften auf dispergierte Teilchen darstellt, verwendet werden.²¹ Eine weitere Theorie, die zur Beschreibung der Anlagerungsprozesse verwendet wird, ist die des thermodynamischen Systems. Alle Theorien erklären den Prozess aber nicht endgültig, da sie nicht alle wirkenden Kräfte und Interaktion einbeziehen. Je dichter sich die Bakterien der Oberfläche annähern, können sich dann spezifische Interaktion wie ionische und Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden und es kommt zur Immobilisierung der Bakterien.^{20, 22, 23}

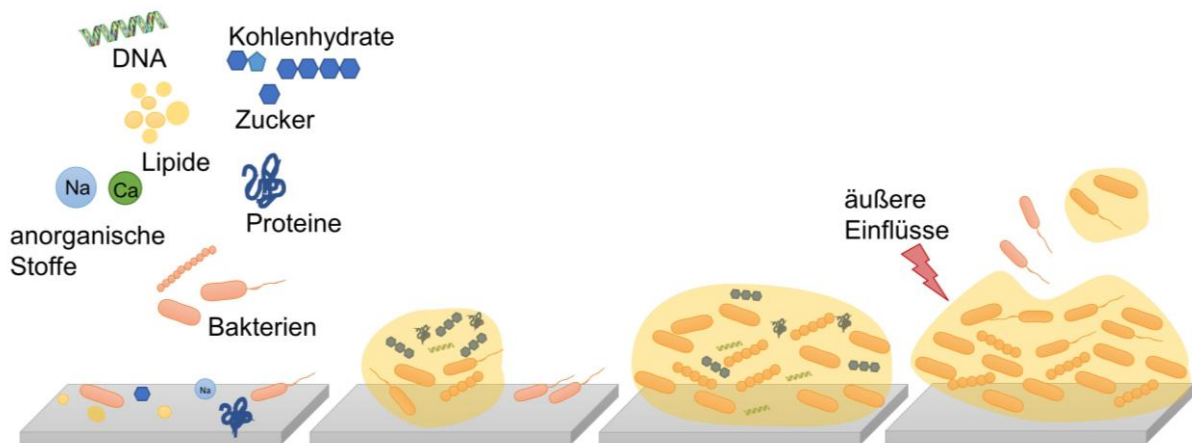


Abbildung 3: Schritte der Biofilmbildung. 1. Schritt: initiale, lose Anheftung von Biomolekülen und Bakterien an der Oberfläche. 2. Schritt: irreversible Anheftung der Bakterien und Bildung der extrazellulären Polymermatrix. 3. Schritt: gefestigter Biofilm. 4. Schritt: partielle Ablösung des Biofilms und Verbreitung von Bakterien in die Umwelt.

Nach der irreversiblen Bindung werden durch Autoinduktionssignale Gene transkribiert, welche zur Bildung der extrazellulären Polymermatrix führen. Die Bakterien beginnen dann damit EPS zu sekretieren und es findet die erste Zellkommunikation statt, eine Mikrokolonie entsteht. Im zweiten Schritt wird der Biofilm weiter ausgebaut und wird zur Makrokolonie.²³ Die Bakterien sind nun keine planktonischen Organismen mehr und gehen in einen sessilen oberflächengebundenen Modus über, wobei sich die Genexpression stark ändert.

Im letzten Schritt kommt es durch Umweltreize wie u.a. Sauerstofflimitierung, pH-Wert-, Nahrungsmittelkonzentration- oder Temperaturveränderung zu einer phänotypischen Veränderung, welche zur partiellen Ablösung des Biofilms führt. Verschiedene Mechanismen können dabei eine Rolle spielen: Bildung von Enzymen, die die Biofilmmatrix degenerieren, Tensidbildung, die zu einer Reduktion der Oberflächenspannung führen oder Induktion von lokalem Zelltod. Diese ablösenden Prozesse stärken den Biofilm häufig auch, indem dadurch Tunnel zum Transport von Biomolekülen und Bakterien innerhalb des Biofilms gebildet werden. Durch die Ablösung kommt es zur Verbreitung von freien Bakterien wie auch kleinen Biofilmaggregaten aus dem Biofilm in die Umwelt. Diese Bakterien weisen meist eine bessere

Adhäsionsfähigkeit sowie erweiterte Virulenzfaktoren auf und stellen somit ein Gesundheitsrisiko dar.^{4, 19}

3.2 Aktive und passive Ansätze zur Verhinderung des Biofoulings

Zur Verhinderung von Biofilmbildung auf Oberflächen gibt es verschiedene Ansatzmöglichkeiten, welche in passive und aktive Ansätze eingeteilt werden können (Abbildung 4). Die passiven Ansätze verhindern dabei die initiale Anheftung von Biomolekülen und Bakterien an der Oberfläche. Bei den aktiven Ansätzen kommt es zu einer Abtötung der Bakterien in der näheren Umgebung.

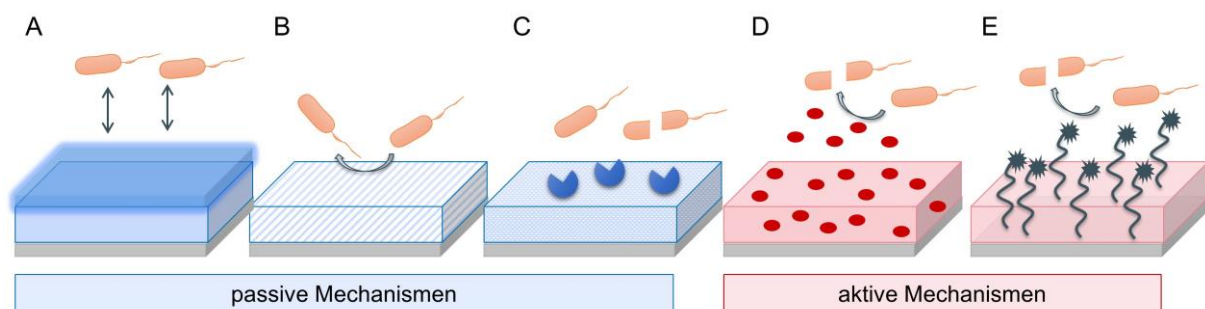


Abbildung 4: Beispiele für passive und aktive Mechanismen zur Verhinderung des Biofoulings. A) *low-fouling* Oberflächen, B) hydrophobe, selbstreinigende Oberflächen, C) spezifische Proteininteraktion, D) freigesetzte Biozide oder Antibiotika, E) Kontaktbiozide wie quartäre Ammonium Salze (QAS).

Passive Ansätze

Ziel der passiven Mechanismen ist es, die Oberfläche so zu verändern, dass die Bakterien diese nicht mehr als kolonisierbar ansehen. Hierbei gibt es verschiedene Modifikationsmöglichkeiten, um dies zu erreichen. Grob kann man hier zwischen *low-fouling*, foulingfreisetzend oder spezifischer Proteininteraktion unterscheiden. Alle Modifikationen sollten bioinert und zusätzlich chemisch sowie thermisch stabil sein.²⁴

Bei der Modifikation mit *low-fouling* Eigenschaften wird die initiale Adhäsion von Biomolekülen und Mikroorganismen durch dicht gebundenes Wasser verhindert. Diese Hydrathülle stellt eine physikalische und energetische Barriere dar und es kommt zur sterischen Abstoßung der Bakterien über eine hohe Oberflächenenergie.²⁴⁻²⁶ Eine Oberflächenhydratisierung lässt sich über starke Wasserstoffbrückenbinder oder zwitterionische Strukturen realisieren.²⁷

Über viele Jahre wurde Polyethylenglykol (PEG) als Goldstandard für eine *low-fouling* Modifikation verwendet, da es ein nicht toxisches, wasserlösliches und biokompatibles Polymer darstellt. Die einzige Einschränkung ist, dass PEG in seiner Anwendungsdauer

limitiert ist, da es oxidativem und enzymatischem Abbau unterliegt. Zusätzlich ist es meistens über 35 °C nicht mehr effektiv genug, da bei diesen Temperaturen der hydratisierende Effekt abnimmt. Ein *in vivo* Einsatz ist zusätzlich limitiert, da es keine Proteinresistenz besitzt.²⁵ Alternative Polymere wären das Polyglycerol und Polyoxazolin.²⁴

Zwitterionische Strukturen stellen vor allem in den letzten zwei Dekaden eine zunehmend vielversprechende Alternative zur *low-fouling* Modifikation dar. Zwitterionische Polymere bestehen aus positiv und negativ geladenen Gruppen in ihrer Wiederholungseinheit und besitzen eine neutrale Nettoladung.²⁸ Die *low-fouling* Eigenschaften werden erzeugt, indem die Ordnung von Wassermolekülen auf der Oberfläche über ionische Solvatation beeinflusst wird. Dabei kommt es zu einer Wasserstoffbrückengeometrie, die der Geometrie von flüssigem Wasser ähnelt.²⁹ Die koordinierten Wassermoleküle wirken wie eine Barriere, wodurch der erste Schritt der Biofilmbildung unterbunden wird.³⁰ WHITESIDES *et al.* stellten vier Eigenschaften auf, die für eine *low-fouling* Aktivität essentiell sind: Hydrophilie, Ladungsneutralität, Wasserstoffbrückenakzeptoren und keine Wasserstoffbrückendonatoren.^{26, 31} Diese treffen alle auf Zwitterionen zu. Hydrophilie ist bei allen Zwitterionen über die Ladungen gegeben und auch die netto Ladungsneutralität trifft zu. Die Interaktion über Wasserstoffbrücken ist über die Wahl der Kationen und Anionen zu erreichen. Weiter sollten bei dem Design von Zwitterionen die inter- und intrazellulären Interaktionen mit bedacht werden. Ionische Strukturen sind nicht von Natur aus foulingresistent sondern könnten durch ihre Ladungen mit Biomolekülen in der Umgebung interagieren. Um dies zu verhindern, müssen innerhalb eines Polymers genügend Möglichkeiten für eine intramolekulare Interaktion der einzelnen Zwitterionen untereinander gegeben sein, damit sie für die externe Umgebung keine Interaktionsmöglichkeiten geben.²⁹ Wenn dies zusätzlich zu den WHITESIDES-Regeln gegeben ist, stellen zwitterionische Modifizierungen ideale foulingresistente Oberflächen dar.

Beispiele für in der Literatur verwendete Zwitterionen sind in Abbildung 5A gezeigt. Die am häufigsten verwendeten Gruppen von Zwitterionen sind: Phosphobetaine (Phosphorylcholin), Sulfobetaine, Carboxybetaine und *N*-oxide. Polysulfobetaine können zusätzlich eine unspezifische Proteinbindung und Thrombozytenadhäsion unterbinden und zeigen Stimulus abhängige *low-fouling* Eigenschaften.³²⁻³⁴ Als Inspiration für das Design von Zwitterionen dient ein Beispiel aus der Natur. Die Oberfläche von Zellmembranen ist mit Phosphorylcholin (Abbildung 5A) bedeckt und wurde zudem als erstes Beispiel für eine Modifikation mit Zwitterionen verwendet. Bei den zwitterionischen Modifizierungen auf Oberflächen zeigte sich im Laufe der Zeit, dass sich ein kurzer Alkylspacer zwischen dem Kation und Anion positiv auf die *low-fouling* Aktivität auswirkt.³⁵ Dies ist bei dem *N*-oxid mit nur einer σ -Bindung zwischen Kation und Anion optimiert. Poly-*N*-oxide stellen eine relativ neue Gruppe von zwitterionischen Strukturen dar und wurden von MARSH *et al.*³⁶ 2006 erstmals vorgestellt. JIANG *et al.*³⁷ untersucht die Poly-*N*-oxide noch weiter auf ihr *low-fouling* Verhalten. Von MAISON *et al.*³⁸

konnte zusätzlich noch eine antibakterielle Aktivität über eine Generierung von radikalen Sauerstoffspezies nachgewiesen werden, was diese Strukturen zu bifunktional wirkenden Funktionalitäten macht.

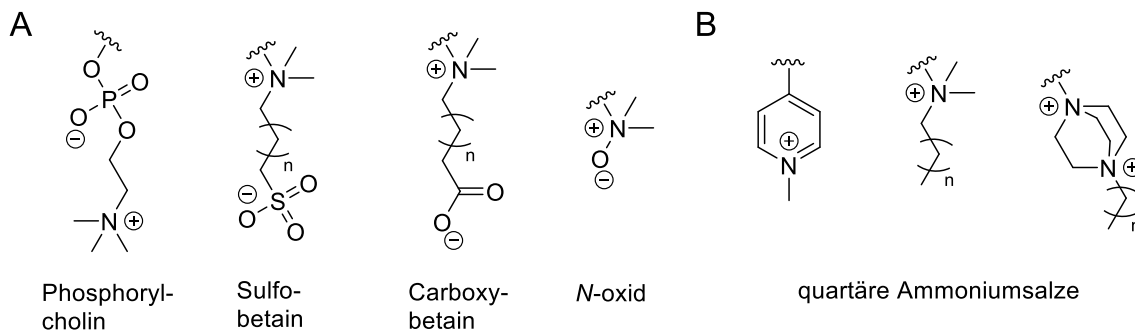


Abbildung 5: Beispiele für A) zwitterionische Strukturen zur *low-fouling* Modifikation und B) quartäre Ammoniumsalze für eine aktive Modifikation.

Bei der foulingfreisetzenden Modifikation werden Strukturen generiert, die eine niedrige Oberflächenenergie besitzen, wodurch eine hydrophobe, selbstreinigende Oberfläche entsteht. Hierbei wird eine schwache Adhäsion von Biomolekülen und Mikroorganismen noch ermöglicht, diese lassen sich aber bei diesen Modifikationen einfach durch leichte Scher- oder mechanische Kräfte entfernen. Ein klassisches Beispiel aus der Natur für das Foulingfreisetzen stellt das Lotusblatt dar. Durch eine Nanostrukturierung erhält es eine superhydrophobe, stark wasserabweisende Oberfläche. Die geringe Benetzbarkeit führt zu einem Abperlen von Wassertropfen, wodurch die Oberfläche gereinigt wird. Die Strukturierung entsteht durch 10 μm große, kegelartige Strukturen, welche einzeln mit nanometergroßen Härchen besetzt sind. Hier kommt es zu Lufteinschlüssen und schlussendlich zur Wasserabweisung.^{25, 39} Beispiele in der Literatur für eine foulingfreisetzende Modifikation stellen Silikone oder Polyfluorderivate dar, welche über die Generierung einer niedrigen Oberflächenenergie wirken.²⁵ Zusätzlich können foulingfreisetzende Modifikationen synthetisch auch über eine Nanostrukturierung der Oberfläche erreicht werden, welche dann ähnlich wie das Lotusblatt wirken würde. Ein Einsatz *in vivo* stellt sich allerdings schwierig dar, weil es bei diesen Derivaten zu einer schnellen Proteinanlagerung kommt, was wiederum ein Fouling begünstigt.²⁴

Ein dritter passiver Ansatz stellen die spezifischen Proteininteraktionen dar. Hier wird durch ein Aufbringen von Albumin oder Heparin unspezifische Bindungen von Bakterien und anderen Proteinen verhindert. Heparin wirkt zusätzlich über die starke negative Ladung, welche dann zur Abstoßung der negativ geladenen Bakterien führt. Diese Modifikationen wurden bereits bei Anwendungen im Ohr verwendet, sind aber bei *in vivo* Anwendung mit Blutkontakt problematisch. Hier könnte es zu einem schnellen Austausch des Albumins bzw. Heparins durch adhäsive Proteine kommen, was ein Fouling sogar begünstigen würde.²⁴

Aktive Ansätze

Aktive Ansätze gegen das Biofouling haben das Ziel, organisches Material und Mikroorganismen zu zerstören bzw. zu töten und werden auch als Fouling degradierend bezeichnet. Die ersten aktiven Ansätze haben auf einen freisetzenen Mechanismus gesetzt, aber seit einigen Jahren nehmen Modifizierungen zu, welche durch Kontakt wirken (Abbildung 4).²⁵

Bei den freisetzenen Modifizierungen kommt es zur Freisetzung von Bioziden wie Chlorhexidin oder Antibiotika wie Gentamicin oder Vancomycin in die Umgebung. Das bekannteste Beispiel ist die Freisetzung von Tributylzinnoxid in der Schifffahrt. Die freisetzenen Modifizierungen finden aber immer weniger Einsatz, da sie mit einer Umweltverschmutzung, Störung von Biokulturen und Antibiotikaresistenzen bei subletalen Dosen einhergehen.⁴⁰ Weiter sind sie in ihrem Einsatz limitiert, da ab einem bestimmten Punkt die Biozide aufgebraucht sind.²⁴ Als Alternative wurden auch Silber und Kupfer freisetzenen Polymere entwickelt. Durch Silber-Freisetzung können Bakterien effektiv abgetötet werden, wobei es nur wenig toxisch ist. Abschließend sind die Wirkmechanismen von Silber und Kupfer noch nicht geklärt. Silber wirkt wahrscheinlich über eine Bindung an die Zellmembran und anschließender Zellzerstörung. Denkbar sind auch Bindungen an Thiolgruppen von Enzymen, eine Blockade der DNA-Polymerase oder eine Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) als Wirkmechanismen. Silbernanopartikel wirken wahrscheinlich antibakteriell über die Kationen. Kupfer wirkt wahrscheinlich durch ähnliche Mechanismen wie Silber, wie eine Depolarisation der Membran oder eine ROS-Bildung.²⁵

Eine vielversprechende Alternative zur Freisetzung von Bioziden sind polykationische Strukturen. Hier werden vorrangig Polymere mit quartären Ammoniumgruppen (QAS) verwendet (Abbildung 5B). Diese Oberflächen töten Bakterien durch Kontakt und werden als Kontaktbiozide bezeichnet. Ein großer Vorteil ist, dass bisher keine bakterielle Resistenz gegen diese Strukturen bekannt ist und in die Umwelt keine Biozide abgegeben werden. Für die Wirkweise gibt es verschiedene Erklärungsmöglichkeiten, welche in Abbildung 6 dargestellt sind. Als ein Mechanismus wird eine Ruptur der Zellmembran der Bakterien postuliert, was durch Live/Dead-Fluorescence, SPM-Aufnahmen der Bakterienzellen und über das Austreten von Zellbestandteilen nachgewiesen werden konnte.⁴¹ Dieser Mechanismus wird Polymer-Spacer-Effekt genannt.^{42, 43} Diese Ruptur der Zellmembran erklärt aber nicht die Wirkung von kurzen Molekülen unter 24 nm, weshalb als zweiter Mechanismus der Phospholipidschwammeffekt postuliert wird.⁴⁴ Hier wird vermutet, dass die Polykationen die negativ geladene Membran von Bakterien destabilisieren und diese elektrostatische Interaktion zu einer Zerstörung der Zellmembran führt, was einen Zelltod zur Folge hat.²⁴

Die chemische Struktur des Polymers ist ebenfalls von großer Bedeutung für die biologische Aktivität und die Biokompatibilität von Kontaktbioziden. Es hat sich gezeigt, dass weniger polare Strukturen eine spezifischere Aktivität gegen Bakterien bei geringerer allgemeiner Zytotoxizität aufweisen.⁴⁵ Auch die Alkylkette an den quartären Ammoniumgruppen beeinflusst die Wirkung der Kationen, längere Alkylketten erhöhen die Hydrophobie und damit die antibakterielle Wirkung der Strukturen. Weiter spielt das Molekulargewicht der einzelnen Moleküle bzw. Polymerbürsten eine Rolle. Ein höheres Molekulargewicht führt bei gleicher Pflropfdichte zu einer höheren antibakteriellen Effektivität.⁴¹ Wichtig für die Wirkung ist auch die Ladungsdichte der Moleküle bzw. Polymere. Die Ladungsdichte wird anhand der dem Lösungsmittel zugänglichen Ladungen bewertet. Ein antimikrobieller Effekt wird für eine Ladungsdichte von $> 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ postuliert.⁴⁶ Ein großer Nachteil bei den Kontaktbioziden ist, dass sich mit der Zeit tote Bakterien auf der Oberfläche festsetzen. Diese maskieren die aktiven Kopfgruppen und ermöglichen somit eine erneuerte Biofilmbildung.²⁵

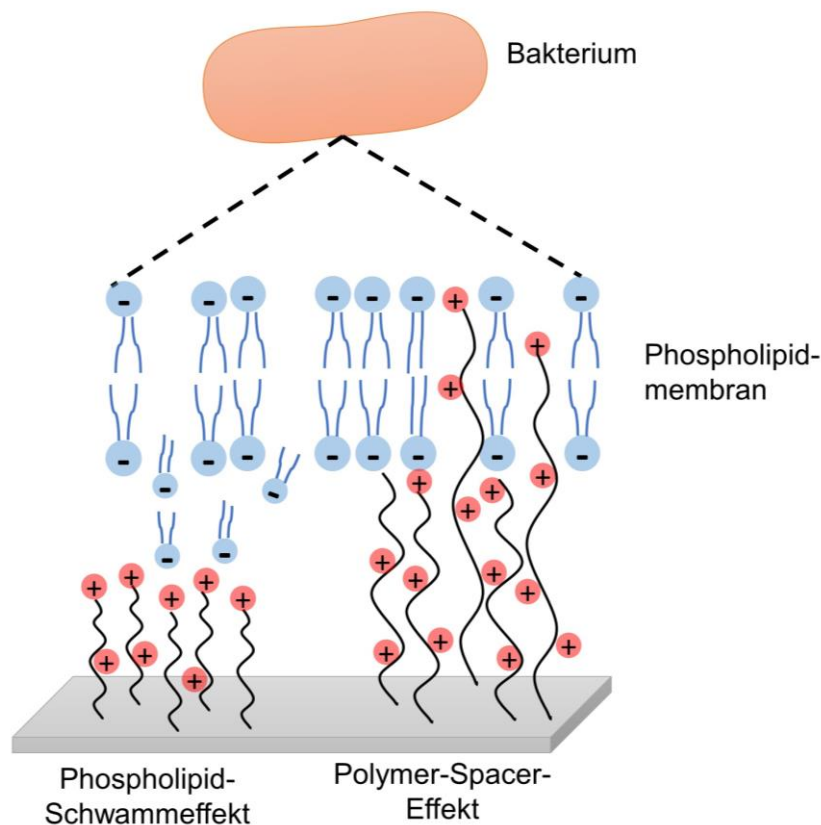


Abbildung 6: postulierte Wirkmechanismen der quartären Ammoniumsalze: Phospholipidschwammeeffekt und Polymer-Spacer-Effekt.⁴⁷

Kombinierte Ansätze

In den letzten Jahren werden vermehrt aktive und passive Mechanismen kombiniert, um damit eine verbesserte Wirkung auf die Biofilmbildung zu erreichen. Hierbei wird meistens ein Zwitterion mit einer quartären Ammoniumgruppe kombiniert. Aber auch die anderen passiven und aktiven Ansätze wurden kombiniert und getestet. Verschiedene Modifizierungsansätze werden verwendet, um eine multifunktionale Modifikation zu erreichen. Ein möglicher Weg ist die Copolymerisation oder Blockpolymerisation von einem Monomer mit *low-fouling* Eigenschaft wie einem Zwitterion und einem Monomer mit kontaktbiozider Aktivität über ein Kation.⁴⁸⁻⁵¹ Auch eine Copolymerisation von einem *low-fouling* Monomer und einem Antibiotikum bzw. Desinfektionsmittel führt zu einer kombinierten Aktivität auf der Oberfläche.⁵²⁻⁵⁴ Als weitere Strategie kann die Oberfläche für verschiedene Polymerisationstechniken aktiviert werden, wodurch sich auf der Oberfläche zwei verschiedene Polymerbürsten synthetisieren lassen, die jeweils unterschiedliche Funktionalitäten tragen.^{34, 55-57}

3.3 Modifikation von medizinisch relevanten Metalloberflächen

Titan und seine Legierungen werden in vielfältiger Weise für die Konstruktion leichter, biokompatibler und korrosionsbeständiger Geräte verwendet. Im biomedizinischen Bereich ist es ein gängiges Material für Implantate und wird auch für chirurgische Instrumente oder Biosensoren verwendet. Die Titanoberfläche zeigt eine hohe Biokompatibilität, was es zu einem idealen Metall für Implantate macht, aber auch eine ideale Grundlage für Proteinablagerung und bakterielle Besiedlung darstellt. Somit sind Entzündungen von Titanimplantaten nach wie vor ein großes Problem mit negativen Auswirkungen für die Patienten. Dies kann eine systemische Therapie mit Antibiotika nach sich ziehen oder im schlimmsten Fall eine Entfernung des Implantats bedeuten.^{40, 58}

Magnesium und seine Legierung hingegen wären ideale Kandidaten für bioabbaubare Implantate, da sie nicht toxisch sind und eine ähnliche Dichte und ähnliches Elastizitätsmodul wie der menschliche Knochen aufweisen. Limitierend ist, dass keine langfristige Anwendung möglich ist und im entzündetem sowie saurem Medium Korrosionsprozesse kontrolliert werden müssen.⁵⁹

Um Metalloberflächen antibakterielle oder *low-fouling* Eigenschaften zu verleihen, gibt es verschiedene Modifikationsmöglichkeiten. Meistens wird das metallische, anorganische Substrat mit einer organischen Lage, welche die gewünschten Eigenschaften vermittelt, funktionalisiert. Eine Möglichkeit zur Funktionalisierung ist das Aufbringen von Polymeren über ein Sol-Gel-Verfahren. Diese sind aber meist nicht kovalent gebunden und bieten kaum eine

Kontrolle der Modifizierungsschicht. Als kovalent gebundene Alternative werden sogenannte selbstorganisierende Monolagen (SAM, engl. *self-assembled monolayers*) verwendet, um eine dünne Lage mit organischen Molekülen zu schaffen, die eine Funktionalisierung vermitteln. Monolagen sind meist nur wenige Nanometer dick und in ihrer maximalen Aktivität eingeschränkt. Eine Alternative stellt die Modifizierung der Metalloberflächen mit Makromolekülen bzw. Polymeren dar, die die gewünschte Funktionalisierung tragen.

Polymere können über zwei Wege kovalent auf eine Metalloberfläche aufgetragen werden, entweder über eine *grafting-to* Methode oder eine *grafting-from* Methode (Abbildung 7). Beim *grafting-to* werden im Vorfeld synthetisierte Polymere über funktionelle Gruppen auf der Oberfläche kovalent oder nicht-kovalent fixiert, z.B. über Clickchemie. Vorteile dieser Methode ist die Analyse der eingesetzten Polymere hinsichtlich der molaren Masse und Zusammensetzung über u.a. GPC oder $^1\text{H-NMR}$. Nachteil ist die sterische Hinderung zwischen den einzelnen Polymeren, wodurch oft keine dichte Packung der Polymere möglich ist.^{60, 61} Eine höhere Packungsdichte lässt sich durch die *grafting-from* Modifikation (im Weiteren oberflächeninitiierte Polymerisation genannt) erreichen. Hier werden die Polymere ausgehend von auf der Oberfläche liegenden Initiatoren oder Kettenübertragungsvermittlern synthetisiert. Dadurch ist eine Kontrolle über die Polymerarchitektur, -zusammensetzung und -dicke möglich. Hiermit lässt sich eine sehr gleichmäßige und stabile Modifizierung der Oberfläche erreichen.^{61, 62}

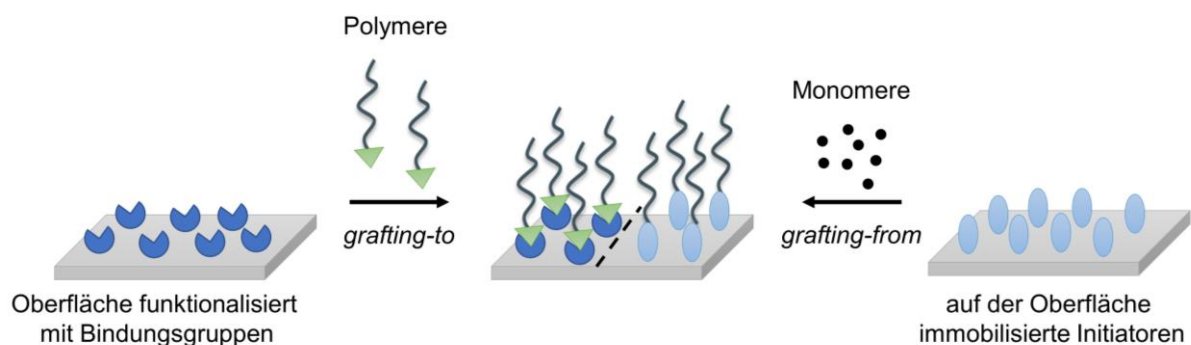


Abbildung 7: Verschiedene Möglichkeiten zur Modifizierung von Oberflächen über Polymere: *grafting-to* und *grafting-from*.

Oberflächeninitiierte Polymerisation

Zur oberflächeninitiierten Polymerisation gibt es verschiedene Techniken die angewendet werden können. Die meisten sind kontrollierte radikalische Polymerisationen und ermöglichen eine präzise Kontrolle über die Polymerbürstenarchitektur und deren Zusammensetzung. Weiter tolerieren die meisten Techniken eine Vielzahl von funktionellen Gruppen und eignen sich ideal für eine Modifizierung von Metalloberflächen. Kontrollierte Polymerisationstechniken

wie SI-ATRP, SI-PIMP und SI-RAFT sind die häufigsten verwendeten Techniken und sind in Abbildung 8 dargestellt. Bei der oberflächeninitiierten (engl. *surface initiated*) Atomtransfer-Radikal-Polymerisation (SI-ATRP) werden Polymerbürsten über einen Übergangsmetallkomplex katalysiert gebildet. Bei der Photoinifertervermittelten Polymerisation wird über die Aktivierung durch ein Photon eine radikalische Polymerisation vermittelt. Bei der reversiblen Additions-Fragmentierung-Kettenübertragungs-Polymerisation (SI-RAFT) wird eine Kombination aus einem freien radikalischen Initiator wie Azabis(isobutyronitril) (AIBN) und einem Kettenübertragungsvermittler wie einem Dithiocarbamat verwendet. Es können entweder der freie radikalische Polymerisationsinitiator oder der Kettenübertragungsvermittler kovalent auf die Oberfläche aufgebracht werden. Der andere Part wird der Polymerisationslösung hinzugegeben.⁶² Weitere Beispiele für eine oberflächeninitiierte, kontrollierte radikalische Polymerisation sind die oberflächeninitiierte Nitroxid-vermittelte Polymerisation (SI-NMP), oberflächeninitiierte reversible Iodid-Transfer Polymerisation (SI-RITP) und oberflächeninitiierte Organotellurium-vermittelte lebende radikalische Polymerisation (SI-TERP).⁶²

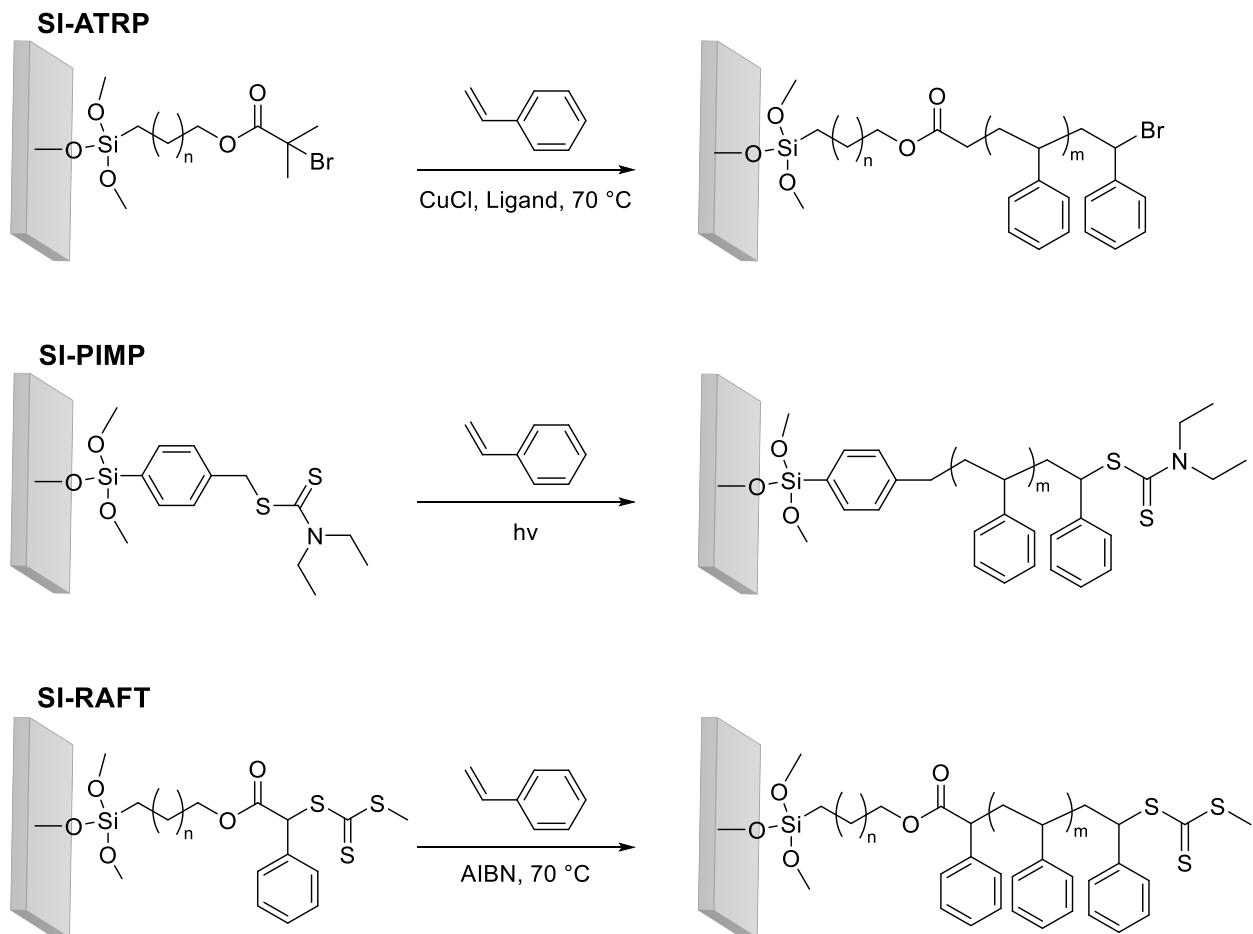
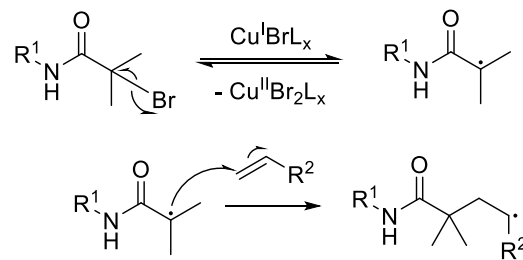
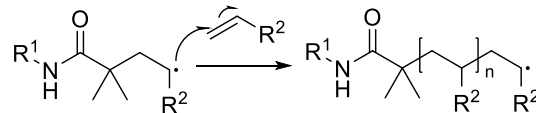
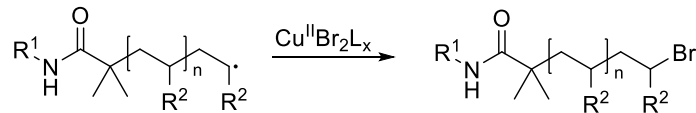


Abbildung 8: Beispiele für oberflächeninitiierte Polymerisationsmethoden. SI-ATRP, SI-PIMP und SI-RAFT von Styrol.

SI-ATRP

Die am häufigsten genutzte Technik, um eine Oberfläche mit Polymeren zu funktionalisieren, ist die Atomtransfer-Radikal-Polymerisation (ATRP). Hierbei kommt es zu einer reversiblen Aktivierung und Deaktivierung über ein Übergangsmetallkomplex (oft ein Cu(I)-Komplex) und einem „schlafenden“ Alkylhalogenid, welches ein Radikal bilden kann. Als Initiatorgruppen sind verschiedene Alkylhalogenide denkbar, die Bromisobutyrylgruppe wird dabei am meisten genutzt. Die katalysierenden Übergangsmetalle werden immer in Kombination mit geeigneten Liganden verwendet.⁶³ In den letzten Jahren sind neue Techniken basierend auf SI-ATRP entwickelt worden, wie die Ein-Elektron-Übertragung lebende radikalische Polymerisation (SET-LRP) oder die mit zusätzlichem Aktivator und Reduktionsmittel ATRP (SARA-ATRP). Beide Polymerisationstechniken werden über Cu^0 katalysiert und weisen eine hohe Toleranz gegenüber Luft und Verunreinigungen auf. Auch elektrochemisch katalysierte ATRP (eATRP) oder UV-vermittelte ATRP (UV-SI-ATRP) werden verwendet.⁶²

Im Folgenden wird der Mechanismus der klassischen SI-ATRP besprochen. Wie bei einer freien Polymerisation besteht dieser aus einer Initiierung, einem Kettenwachstum und einem Kettenabbruch (Schema 1).⁶⁴ Bei der Initiation erfolgt eine kupferkatalysierte Abstraktion des Halogenatoms, wobei eine Ein-Elektronoxidation stattfindet. Diese Reaktion ist reversibel und durch die aktivierende bzw. deaktivierende Geschwindigkeitskonstante k_{act} und k_{deact} definiert. Beim Kettenwachstum kommt es zur Addition der Monomere über eine Übertragung des Radikals wie bei einer herkömmlichen Radikalpolymerisation. Der Kettenabbruch tritt bei der SI-ATRP durch eine Disproportionierung ein und kaum über eine radikalische Kopplung.⁶³ Dies funktioniert bei oberflächeninitiierten Polymerisationen auf Nanopartikeln, die eine große Oberfläche aufweisen und auf denen somit genügend deaktivierende Gruppen gebildet werden können. Bei planaren Bulksubstraten sollte eine deaktivierende Spezies zugesetzt werden oder die Polymerisation nach einiger Zeit abgebrochen werden, weil das Substrat nicht genug deaktivierende Gruppen bilden kann, da meist nur eine dünne Lage der Initiatoren vorhanden ist.⁶² Vorteile der SI-ATRP sind die gut erhältlichen Initiatoren, welche entweder in hoher Qualität kommerziell zu erwerben sind oder sich in wenigen Schritten synthetisieren lassen. Weiter können für die SI-ATRP eine große Bandbreite an Monomeren verwendet werden. Einzige Limitierung zeigen Monomere, die das verwendete Übergangsmetall komplexieren könnten, wie Pyridine oder organische, saure Gruppen. Häufig kann dieses Problem aber durch die Verwendung von tridentaten Liganden oder der Salze der Säuren umgangen werden.⁶⁵

Initiation**Kettenwachstum****Kettenabbruch**

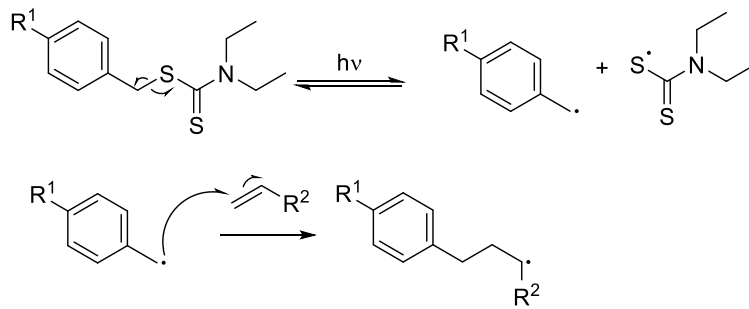
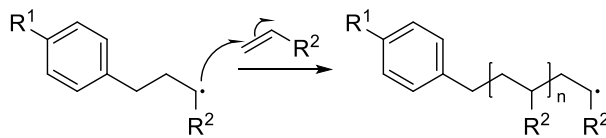
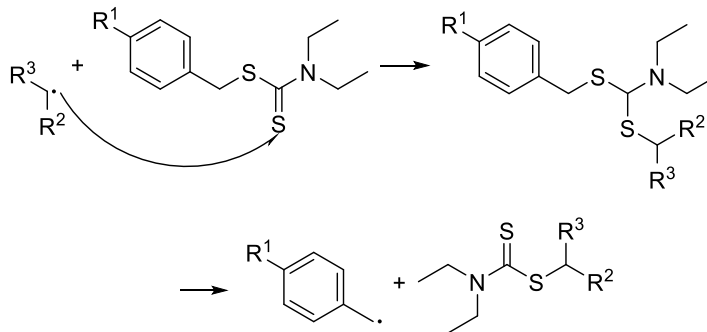
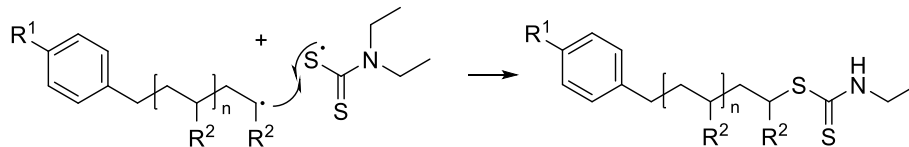
Schema 1: beispielhafter Mechanismus der SI-ATRP. Initiation durch die Reaktion des Alkylhalogenides mit Cu^I und Ausbildung eines Radikals am Kohlenstoff. Dieses kann dann im Sinne einer radikalischen Addition mit dem Monomer reagieren. Durch die erneuerte Reaktion mit Monomeren R^2 kommt es zum Kettenwachstum. Der Kettenabbruch kommt bei der SI-ATRP durch die Reaktion mit dem deaktivierenden Cu^{II} zustande.⁶³

Weiter hat bei der SI-ATRP die Wahl der Initiatoren und ihrer Beladung auf dem Substrat einen Einfluss auf die anschließend gebildeten Polymerbürsten und die Polymerdichte. Eine hohe und vor allem homogene Beladung mit Initiatoren bietet für die oberflächeninitiierte Polymerisation mehr Startpunkte, was sich zu dichten Polymerbürsten durch SI-ATRP führt. Damit die Initiatoren selbstorganisierende Monolagen mit einer hohen Beladungsdichte ausbilden, müssen die funktionellen Gruppen und ihre Wechselwirkung untereinander beachtet werden. Hierbei ist die Wahl der Verbindungsgruppe innerhalb der Initiatoren von Bedeutung, da zwischen Alkylketten beispielsweise VAN-DER-WAALS Wechselwirkungen ausgebildet werden können. Aber auch ein Aromat könnte über ein π -Stacking einen positiven Einfluss haben. Weiter sollte beachtet werden, ob es intermolekular zwischen den einzelnen Initiatoren auch zu Abstoßungen durch u.a. Ladungen kommen könnte. Da *low-fouling* oder kontaktbiozide Modifizierungen meist über ionische Polymere erreicht werden, sollte der Einfluss der Ladung auf die Packungsdichte der Polymere bei der Polymerisation und der Analyse nicht außer Acht gelassen werden.

SI-PIMP

Bei der oberflächeninitiierten Photoiniferter-vermittelten Polymerisation wird als unkonventioneller Initiator ein Photoiniferter verwendet. OTSU *et al.*⁶⁶ präsentierte dieses Konzept das erste Mal. Der Photoiniferter fungiert gleichzeitig als Initiator, Kettenübertragungsvermittler und als deaktivierende Spezies. Die Kontrolle der Polymerisation wird über die Stärke des eingestrahlten UV-Lichtes gesteuert.⁶² Hier kommt es zu einer Ausbildung eines stabilen Radikals an der Dithiocarbamatgruppe. Der Kohlenstoff fungiert als Polymerisationsverlängerungsausgang und die Dithiocarbamatgruppe als Kettenübertragungsvermittler. Limitierend ist, dass nur photochemisch stabile Monomere und Substrate verwendet werden können.⁶⁵ Ein Vorteil ist, dass Licht als „Katalysator“ verwendet wird und damit keine Übergangsmetalle im Prozess verwendet werden müssen, was eine Reinigung erleichtern kann. Durch schwefelhaltige Strukturen vermittelte Polymerisationen sind die ersten bekannten Polymerisationen, welche ohne die Zugabe von Katalysatoren wie Übergangsmetallen funktionieren und sind die Vorgänger für die RAFT-Polymerisation.

Wie bei der SI-ATRP besteht die SI-PIMP aus einer Initiierung, einem Kettenwachstum und einem Kettenabbruch. Zusätzlich kann es noch zu einem Kettentransfer über die Dithiocarbamatgruppe kommen (Schema 2). Zunächst wird angeregt durch ein Photon ($h\nu$) im Photoiniferter, die Dithiocarbamatgruppe abstrahiert, wodurch reversibel zwei Radikale entstehen. Dabei ist die Wahl des Photoiniferters und des eingestrahlten Lichtes essenziell für den Erfolg dieser Initiation. Die Molekülstruktur des Photoiniferters bestimmt hierbei die Intensität und den Wellenlängenbereich des absorbierten Lichtes und die Fähigkeit zur Energie- und Elektronenübertragung. Die gewählte UV-Wellenlänge sollte auf den Photoiniferter abgestimmt werden.⁶⁷ Anschließend kann es über das gebildete benzyllische Radikal mit einem Monomer reagieren und ein Kettenwachstum beginnen. Zusätzlich kann es über noch intakte Photoiniferter zu einem degenerativem Kettentransfer kommen, welcher aber bei der oberflächeninitiierten Polymerisation eher unwahrscheinlich ist. Es kann aber durch die abgespaltenen Dithiocarbamatradikale in Lösung auch zu einer zusätzlichen Lösungspolymerisation kommen. Dadurch ist die SI-PIMP meistens nicht ausschließlich oberflächeninitiiert, wodurch sie nicht so kontrolliert abläuft wie die SI-ATRP. Ein Kettenabbruch entsteht durch eine Rekombination mit dem Dithiocarbamat und dem radikalischen Ende der wachsenden Polymerkette. Es kommt zu einem schlafenden Ende, welches durch eine erneuerte Absorption eines Photons wieder reaktiviert werden kann. Weiter kann die Polymerisation über die Intensität und Dauer des eingestrahlten UV-Lichtes kontrolliert werden. Somit wird auch deutlich, dass keine weiteren exogenen Radikalinitiatoren mehr nötig sind.⁶⁸

Initiation**Kettenwachstum****degenerativer Kettentransfer****Kettenabbruch**

Schema 2: beispielhafter Mechanismus der SI-PIMP. Initiation durch die Reaktion mit UV-Licht und Ausbildung eines Radikals am Kohlenstoff. Dieses kann dann mit dem Monomer reagieren, wodurch eine Bindung zum Monomer entsteht und dabei das Radikal übertragen wird. Durch die erneuerte Reaktion mit Monomeren kommt es zum Kettenwachstum. Die Dithiocarbamatgruppe kann zusätzlich auch mit freien gebildeten Radikalen reagieren und es kommt zu einem Kettentransfer. Der Kettenabbruch kommt bei der SI-PIMP durch die Reaktion mit dem Dithiocarbamatradikal zustande.⁶⁸

Monomere zur Modifikation

Funktionalisierungen einer Oberfläche mit entweder *low-fouling* Eigenschaften oder kontaktbiozider Aktivität werden durch eine Modifizierung mit ionischen Polymeren erreicht (vgl. Abbildung 5). Zur *low-fouling* Modifizierung der Oberfläche werden meist Zwitterionen aufgebracht. Zur aktiven, antibakteriellen Modifikation werden quartäre Ammoniumgruppen verwendet. (Abbildung 9, Effektor). Die Monomere sind also so zu wählen, dass die ionische Funktionalität entweder über eine Postmodifikation nach der Polymerisation der Grundstruktur oder durch eine direkte Polymerisation der ionischen Monomere gebildet werden kann. Postmodifizierungen werden meistens ausgehend von Polymerbürsten mit tertiären Aminen durchgeführt. Eine Postmodifizierung zu quartären Ammoniumgruppen wird z.B. über die Reaktion von Methyljodid oder Bromhexan an tertiären Aminen erreicht. Polysulfobetaine lassen sich über eine Postmodifizierung durch die Ringöffnung von 1,3-Propansulton an tertiären Aminen generieren. Über die Reaktion von Betapropiolacton an tertiären Aminen lassen sich Polycarboxybetaine darstellen.⁶⁹ Eine direkte Polymerisation der fertigen ionischen Monomeren würde diese Postmodifikation mit toxischen Reagenzien im letzten Schritt umgehen. Hier erfolgt die Einführung der aktivitätsvermittelnden Gruppe bei der Synthese der Monomere. Somit würde eine eventuelle Verunreinigung der fertigen Polymere mit den toxischen Reagenzien vermieden werden. Eine Limitierung der direkten Polymerisation geladener Monomere könnte aber eine elektrostatische Abstoßung zwischen den einzelnen Monomeren und Polymeren darstellen, was zu einer niedrigeren Polymerdichte und kürzeren Ketten führen könnte.

Für die Herstellung polyionischer Modifizierungen sollte zusätzlich die Wahl des Polymerrückgrates beachtet werden. Als Monomere für eine oberflächeninitiierte Polymerisation werden verschiedene Strukturen erfolgreich eingesetzt. Styrole, Methacrylate oder Methacrylamide eignen sich, da sie die bei der Polymerisation gebildeten Radikale gut stabilisieren können (Abbildung 9). Die chemische Stabilität der gebildeten Polymere ist ein wichtiger Faktor, da die Materialien für die klinische Anwendung stabil gegenüber Reinigung und Sterilisationsprotokollen sein müssen. So können z.B. ammoniumgruppenhaltige Polymere aus Esterderivaten wie Acrylate durch die Hofmannsche Eliminierung von Ammoniumgruppen abgebaut werden. Verbindungen mit Ester können zudem einer wässrigen Hydrolyse unterliegen. Diese Reaktionen erfordern in der Regel hohe Temperaturen und sind daher im biologischen Kontext eher irrelevant, aber für Hochtemperatur-Sterilisationsprotokolle können diese Abbaureaktionen relevant werden.⁷⁰ Styrol Derivate stellen hier eine stabilere Alternative für eine Polymerisation dar.

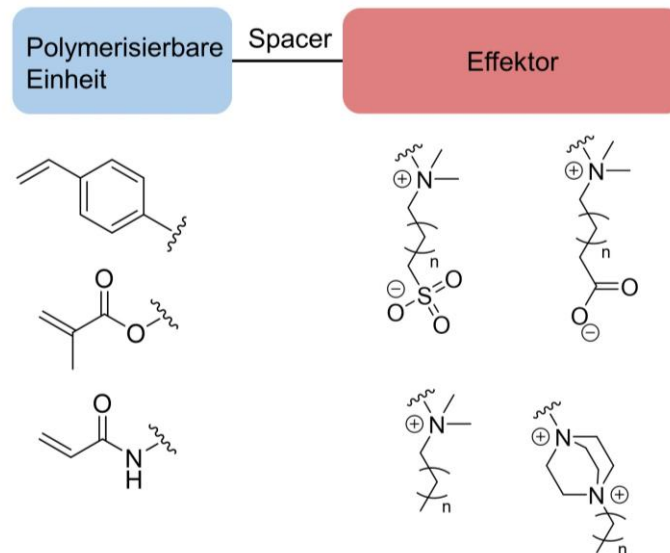


Abbildung 9: Aufbau der Monomere und Beispiele für die polymerisierbare Einheit und für die Effektorgruppen.

Aktivierung der Oberfläche

Für eine oberflächeninitiierte Polymerisation muss die Oberfläche zunächst funktionalisiert werden. Dies geschieht meist durch eine selbstorganisierende Monolage von bifunktionalen Anker-molekülen (Abbildung 10). Diese bifunktionalen Moleküle bestehen aus einer Ankergruppe, welche die Immobilisierung auf der Oberfläche vermittelt, einer Verbindungsgruppe und einer Initiatorfunktionalität am Ende. Die Ankergruppe kann dabei durch Physisorption oder Chemisorption an die Oberfläche binden, wobei letzteres zu bevorzugen ist, da es zu stabileren Bindungen führt. Eine eventuell vorhandene Verbindung (engl. *Spacer*) besteht meistens aus einer Alkylgruppe oder einem aromatischen Ring. Diese beeinflussen die Wechselwirkung zwischen den benachbarten Molekülen auf der Oberfläche. Die Endgruppe trägt die chemisch aktive Gruppe, die die oberflächeninitiierte Polymerisation vermittelt.⁷¹

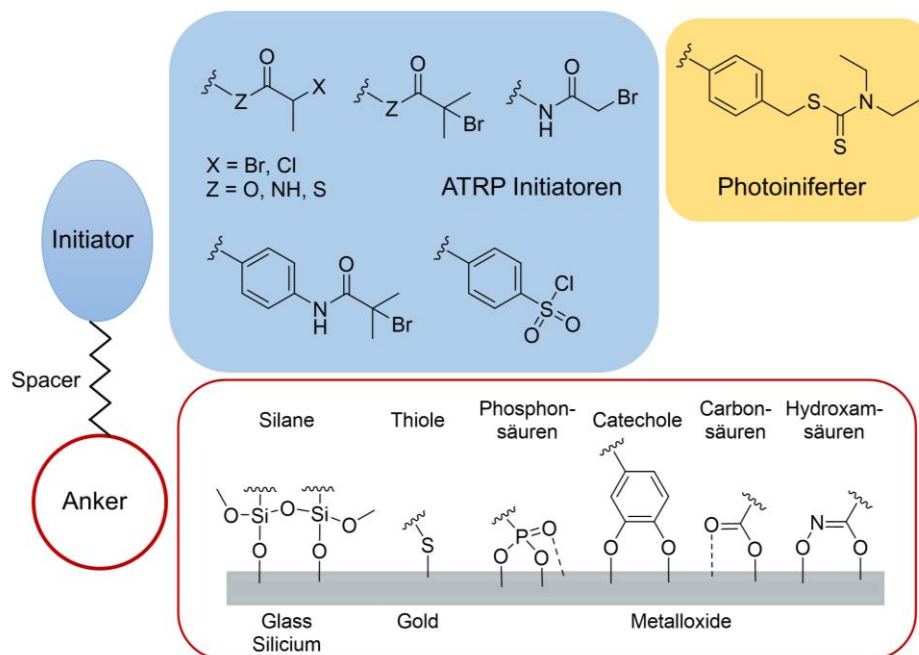


Abbildung 10: Design von Initiatoren, die für eine SI-ATRP oder SI-PIMP verwendet werden können. Anker-moleküle sind als immobilisierte Form dargestellt (untere Box). Initiator-funktionalitäten sind als SI-ATRP Initiatoren (blaue Box) und als Photoiniferter für die SI-PIMP (gelbe Box) dargestellt.

Je nach Material werden unterschiedliche Ankergruppe verwendet (**Abbildung 10**).⁷² Silane werden meist als reaktive Ester verwendet, um Silicium oder Glas zu modifizieren, können aber auch zur Modifizierung von Metalloxidoberflächen verwendet werden. Metalloxidoberflächen sollten mit Liganden modifizierten werden, die nach dem HSAB Prinzip (Harte-Weiche-Säure-Base-Konzept) zu einer stabilen Modifizierung führen, sprich harte Anker-moleküle auf harten Substraten bzw. weiche Anker auf weichen Substraten. Zur Modifizierung von Eisen- oder Titanoberflächen sollten zum Beispiel Phosphonsäuren, Carbonsäuren, Hydroxamsäuren oder Catechole verwendet werden. Weiche Materialien wie Gold werden klassischerweise mit Thiolgruppen modifiziert.⁶⁴

An dem anderen Ende tragen die Anker-moleküle eine Initiatorgruppe, welche charakteristisch für die jeweilige oberflächeninitiierte Polymerisation ist (Abbildung 10). Für die SI-ATRP werden Halogenalkane verwendet, wobei das Halogen entweder an α -Position eines Carbonyls an einem sekundären oder tertiären Kohlenstoffatom oder an einer benzyli-schen Position hängt. Dies führt nach Abstraktion des Halogens zu durch Hyperkonjugation stabilisierten Radikalen, welche dann für ein Kettenwachstum zur Verfügung stehen (Abbildung 10, blaue Box). Bei der SI-PIMP wird klassischerweise ein Dithiocarbamat in benzyli-scher Position als Photoiniferter verwendet (Abbildung 10, gelbe Box).

Phosphonsäuren als Anker

Zur Modifizierung von Metalloxiden sind Phosphonsäuren geeignet. Sie bilden kovalente Bindungen zur Metalloberfläche aus und führen somit zu stabilen selbstorganisierenden Monolagen.⁷³ Sie können mono- bis tridentate Bindungsmodi zu den Oberflächen aufbauen, da drei Bindungsstellen, zwei saure Hydroxygruppen und die Phosphorylgruppe, zur Verfügung stehen.⁷¹ Immobilisierungen von Phosphonsäuren auf Metalloxidoberflächen werden meistens aus Lösung erreicht. Aber auch ein *Spincoating* aus unpolarem Lösungsmittel oder eine Immobilisierung mittels *Spraycoating* auf ein erhitztes Substrat ist denkbar. Für eine Immobilisierung auf ein Silicium Substrat wird die T-BAG Methode (engl. *tethering by aggregation and growth*) verwendet. Hierbei wird die Phosphonsäure aufgebracht indem langsam das Lösungsmittel evaporiert und gleichzeitig erhitzt wird, um eine Chemisorption zu ermöglichen.^{72, 74} Zwei verschiedene Mechanismen sind für den Immobilisierungsprozess von Phosphonsäuren auf Metalloberflächen beschrieben. Für stark lewissaure Metalloberflächen, wie Titan, werden tridentate Bindung ausgebildet (Abbildung 11A). Bei schwach lewissauren Metalloberflächen, wie Magnesium, werden bidentate Bindung ausgebildet, die durch eine Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert werden können (Abbildung 11B).^{75, 76}

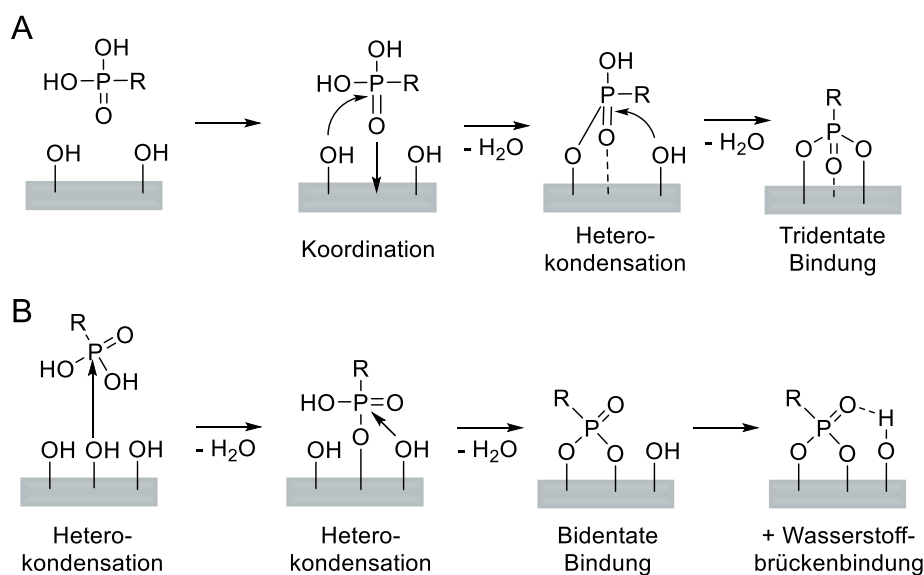


Abbildung 11: Mechanismen für den Immobilisierungsprozess von Phosphonsäuren auf A) stark lewissauren Metalloberflächen und B) schwach lewissauren Oberflächen.

Phosphonsäuren werden in der Literatur bereits verwendet, um Oberflächen über eine Monolage zu modifizieren. Phosphonsäuren mit hydrophobem Rest verhindern bereits erfolgreich die Adhäsion von Proteinen und Zellen auf Stahl. Aber auch silberfreisetzende Phosphonsäuren sind bereits auf Titan und Stahl beschrieben.⁷⁴ Für die Verwendung von Phosphonsäuren als Anker-moleküle für eine oberflächeninitiierte Polymerisation, wie die SI-

ATRP, sind in der Literatur ebenfalls einige Beispiele beschrieben. Der am häufigsten verwendete Initiator ist die 11-(2-Brom-2-methyl-propanoyloxy)undecylphosphonsäure (BUPA)⁷⁷⁻⁸⁸, bestehend aus einem Bromisobutrylrest als Initiator, welcher über eine Estergruppe und eine Alkylkette mit der Phosphonsäure verbunden ist. Zwei weitere bifunktionale Phosphonsäuren sind in der Literatur für eine SI-ATRP beschrieben, welche über zwei bzw. sechs Kohlenstoffatome und eine Estergruppe mit einer Bromisobutrylgruppe verbunden sind.^{89, 90} BUPA wurde bereits verwendet um Metalloberflächen mit Polystyrol^{79, 80, 87, 88} oder mit Polymethylmethacrylat^{77, 81, 85, 88} zu modifizieren. Aber auch Zwitterionen wie Polysulfobetain^{78, 91} oder Phosphorylcholin^{83, 84} und PEG⁸² wurden erfolgreich auf immobilisierten Phosphonsäureankern dargestellt. Ein Polykation über eine Postmodifikation von Poly(dimethylamino)ethylmethacrylat als Beispiel für eine antibakterielle Modifikation über einen Phosphonsäureanker sind von DONG *et al.*⁸⁹ beschrieben.

4. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung und Evaluierung neuer Modifikationen für Metalloberflächen mit *low-fouling* und antibakteriellen Eigenschaften mittels oberflächeninitiiert Polymerisation.

Es sollen dabei verschiedene Möglichkeiten der oberflächeninitiierten Polymerisation erprobt und verglichen werden, um möglichst hohe Beladungsdichten der bioaktiven Polymere zu realisieren. Zum einem soll SI-ATRP verwendet werden. Als Alternative soll außerdem die photochemische SI-PIMP erprobt werden. Für beide Polymerisationstechniken sollen im ersten Schritt passende bifunktionale Anker entwickelt und synthetisiert werden, um die Oberfläche für eine Polymerisation zu aktivieren. Im zweiten Schritt soll die Funktionalisierung mit den gewünschten antimikrobiellen und *low-fouling* Polymeren über eine Polymerisation geeigneter bereits funktionalisierter Monomere erreicht werden (Abbildung 12).

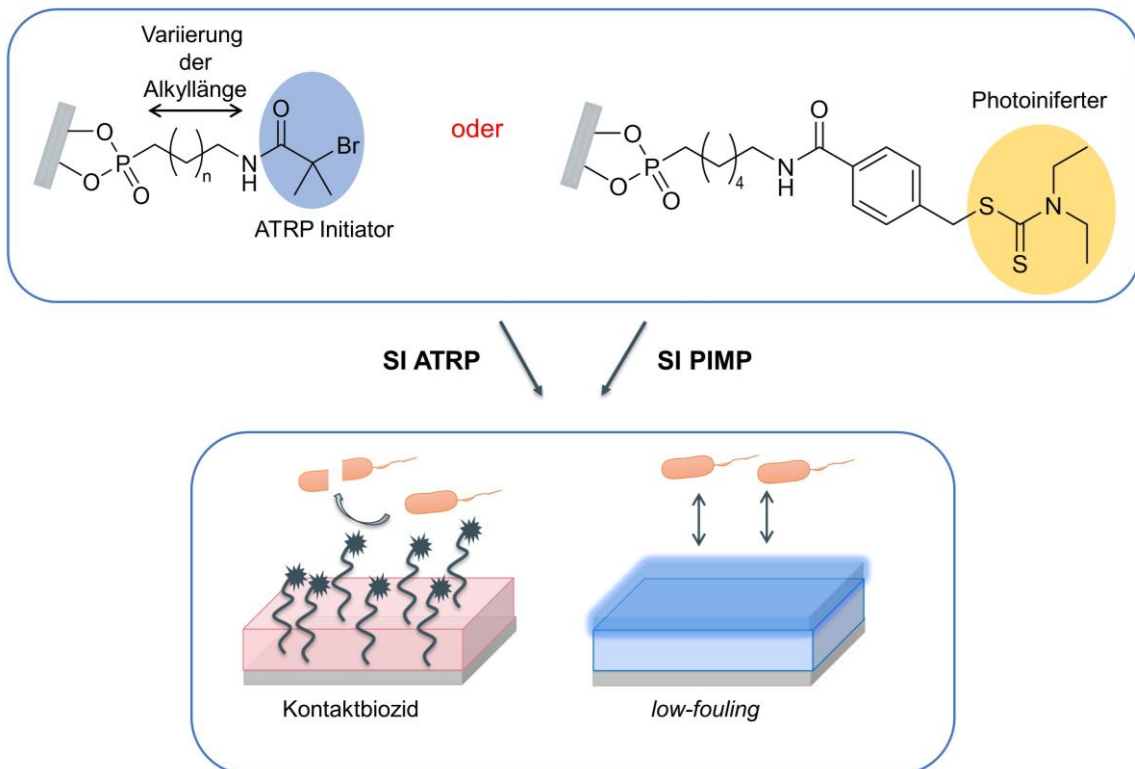


Abbildung 12: Design und Immobilisation bifunktionaler Anker und anschließende Polymerisation auf Oberflächen um die gewünschten antimikrobiellen und *low-fouling* Eigenschaften zu erhalten.

Für die SI-ATRP auf Titanoberflächen sollen bifunktionale Anker mit einer Phosphonsäure als Ankergruppe und einer Bromisobutyrylgruppe als Initiatorgruppe entwickelt werden. Es sollen verschieden lange Alkylketten als Verbindung getestet werden, um zu überprüfen, ob durch die Kettenlänge die Beladungsdichte der Phosphonsäure und die anschließende Polymerisation beeinflusst werden. Für andere Anker-moleküle wurde in der Literatur bereits

ein Effekt der Kettenlänge auf die anschließende Polymerisation beschrieben.^{92, 93} Zunächst soll der Einfluss der Beladung auf ein Modellsystem mit einer großen Oberfläche wie TiO₂-Nanopartikel untersucht werden. Hierbei soll eine quantitative Analyse der Beladung und der anschließenden SI-ATRP durchgeführt werden. Für die Polymerisation soll ein kationisches Monomer mit bekannten kontaktbioziden Eigenschaften (VBTAC) verwendet werden.

Anschließend soll die Immobilisierung der bifunktionalen Phosphonsäuren und die SI-ATRP des kationischen Monomers auch auf Titan als Bulkmaterial übertragen werden. Die Immobilisierung der Phosphonsäuren und anschließende Polymerisation sollen über verschiedene Analytik-Methoden verglichen werden. Abschließend soll mikrobiologisch untersucht werden, ob ein Unterschied in der kontaktbioziden Aktivität der gebildeten Polykationen festgestellt werden kann.

Nach Auswahl der geeigneten bifunktionalen Phosphonsäure sollen weitere ionische Monomere für eine SI-ATRP auf Titan evaluiert werden. Es sollen hierbei einerseits polykationische Polymere als Kontaktbiozide synthetisiert werden, andererseits sollen für einen *low-fouling* Effekt polyzwitterionische Polymere erzeugt werden. Hierbei sollen die gebildeten Funktionalisierungen über Goniometrie und über Ladungsdichtebestimmung charakterisiert werden. Die mikrobiologische Aktivität der erzeugten Oberflächen soll mithilfe des ASTM Assay E21 49-13a oder eines bakteriellen Adhäsionstestes bestimmt und verglichen werden.

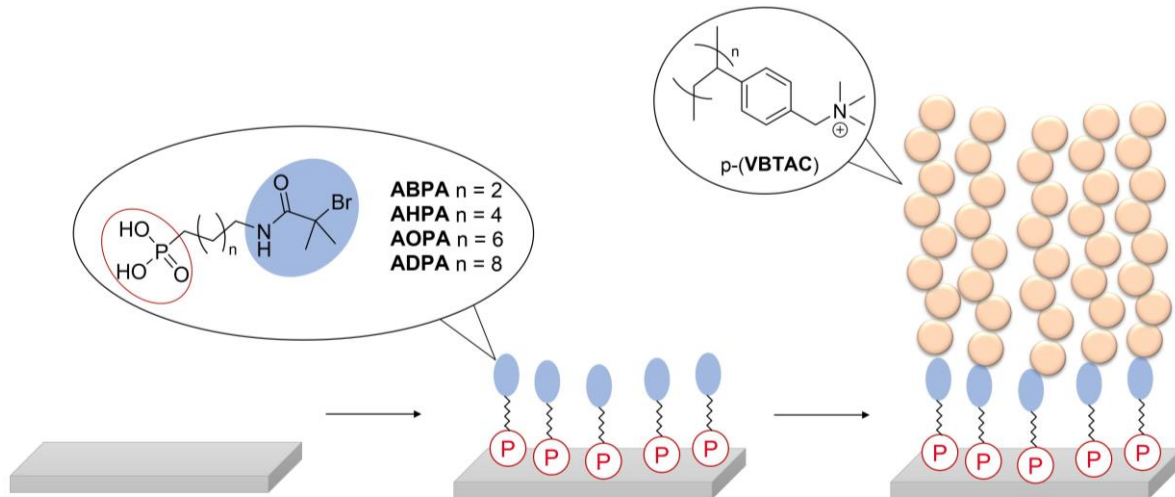
Des Weiteren soll eine Kombination des antimikrobiellen und des *low-fouling* Ansatzes erfolgen. Auf anderen Materialien konnten hierdurch bereits positive Effekte festgestellt werden. Die Modifikation erfolgte bisher über eine Co- oder Blockpolymerisation von zwei getrennten Monomeren.^{50, 55, 57, 94} Es soll im Rahmen dieser Arbeit ein neues Monomer entwickelt und synthetisiert werden, welches die beiden Funktionalitäten vereint. Die Polymerisation dieses Monomers soll über SI-ATRP auf Titan evaluiert und über Goniometrie und XPS charakterisiert werden. Das Polymer mit kombinierten Funktionalitäten soll mit einem rein kationischen bzw. rein zwitterionischen Polymer verglichen werden. Hierbei soll überprüft werden, ob sich eine Kombination beider Funktionalitäten in einem Monomer vereinen lässt.

Zusätzlich soll eine Modifikation von Titan über die photochemische SI-PIMP erprobt werden, da hier in der Literatur bisher nur Silanylderivate oder Thiole als Anker beschrieben sind.^{34, 95} Im Rahmen dieser Arbeit soll ein phosphonsäurebasierter Photoiniferter entwickelt und synthetisiert werden. Anschließend soll getestet werden, ob sich auf TiO₂-Nanopartikeln und Titan Bulkmaterialien ionische Monomere polymerisieren lassen. Die Ergebnisse sollen mit den Ergebnissen über SI-ATRP hinsichtlich der Polarität, Ladungsdichte und Bioaktivität verglichen werden.

5. Ergebnisse und Diskussion

5.1 SI ATRP mit Phosphonsäuren als Anker

Zur Optimierung der SI-ATRP als oberflächeninitiierte Polymerisationstechnik auf Metalloxiden wurden im ersten Schritt verschiedene bifunktionale Anker entwickelt und auf der Oberfläche immobilisiert. Diese Anker können im zweiten Schritt dann als Initiatoren für eine SI-ATRP verwendet werden. Zunächst wurde dafür die SI-ATRP eines kationischen Monomers **VBTAC** erprobt (Schema 3).



Schema 3: schematische Darstellung der Vorgehensweise. 1. Schritt: Immobilisierung der bifunktionalen Anker, 2. Schritt: SI-ATRP mit **VBTAC**.

5.1.1 Design der Phosphonsäuren

Für die SI-ATRP ausgehend von Metalloberflächen muss die Metalloberfläche zunächst aktiviert werden. Dies geschieht, indem kovalent ein Initiator auf der Oberfläche aufgebracht wird. Hierfür wird als Ankergruppe eine Phosphonsäure und als funktionelle Gruppe eine Bromisobutyrylgruppe verwendet. Die beiden Gruppen sollen über eine Amidgruppe verbunden werden und das *Spacing* über verschiedene Alkylängen soll untersucht werden.

Bei der Wahl der Verbindung zwischen der Ankergruppe und der Initiatorgruppe sollte der Einfluss dieses Spacers nicht außer Acht gelassen werden. Vor allem Alkylketten haben einen großen Einfluss auf die SAM-Bildung und Ausrichtung der Ketten und der damit einhergehender Beladungsdichte der Anker-moleküle. Der Kettenneigungswinkel wird durch die Länge der Ketten beeinflusst. Es wurde beobachtet, dass längere Alkylketten zu kleineren Winkeln und somit zu einer aufrechteren Orientierung führen.⁷¹ Die Ordnung der Alkylketten lässt sich zudem gut über die Auswertung der Alkylsignale in den IR-Spektren der SAMs ermitteln. Die Konformationsordnung der benachbarten Ketten und gauche Defekte innerhalb

dieser Alkylketten können hier erkannt werden. Eine Verschiebung der Alkylbanden der SAMs im Gegensatz zu den freien Molekülen zu niedrigeren Wellenzahlen deutet auf geordnete Lagen zwischen den einzelnen Molekülen hin.^{96, 97} SPORI *et al.*⁹⁸ zeigte wie die Ordnung der benachbarten Moleküle bei längeren Alkylketten zu nimmt. Einen Effekt auf die Ordnung durch eine gerade oder ungerade Anzahl an Kohlenstoffen in der Kette (SAM_{gerade} und SAM_{ungerade}) konnte durch BEN AMARA *et al.*⁹⁹ gezeigt werden. SAM_{gerade} zeigen einen geringeren Prozentsatz von gauche Defekten als SAM_{ungerade} und bieten somit enger gepackte SAM. Eine optimale Packung der Moleküle führt zugleich zu einer strukturell und thermisch stabileren Modifizierung. Der sogenannte gerade-ungerade Effekt (engl. *Odd-Even Effect*) konnte auch für die Dielektrizitätskonstante und Hydrophilie der modifizierten Oberfläche beobachtet werden. Entgegen der Erwartung wurden bei ungeraden SAM durch ihre Unordnung eine hydrophobere Oberfläche beobachtet. Dies wurde so erklärt, dass die Hydrophobie der SAM durch die Ausrichtung der Kettenenden, sprich der Methylgruppe an der Grenzfläche, maßgeblich beeinflusst wird.^{99, 100} Somit wird die Hydrophilie der Monolagen der Anker-moleküle maßgeblich von der Kopfgruppe, also der Initiatorgruppe, beeinflusst sein und der Spacer beeinflusst nur die Konformation der Moleküle zueinander.

Von GREEN *et al.*^{92, 93, 101} wurden systematische Vergleiche der Alkyl-längen für Silanylester als Ankergruppen durchgeführt und einige interessante Ergebnisse gefunden. Für die SI-ATRP von Methacrylmonomeren auf Silicium wurden Silaninitiatoren mit drei, elf und 15 Methylengruppen als Spacer verwendet und die Aufpfropfdichte (engl. *grafting density*) verglichen. Hier stellten die Autoren eine Erhöhung der Aufpfropfdichte mit wachsender Länge des Initiators fest. Interessant war aber, dass die Beladungsdichte der Initiatoren auf der Oberfläche mit abnehmender Initiatorlänge zu nahm und somit hier gezeigt wurde, dass eine geringere Beladungsdichte auf der Oberfläche zu höheren Aufpfropfdichten führte.⁹³ Für die SI-ATRP mit Styrol wurden dieselben Initiatoren verglichen und das gebildete Polystyrol näher untersucht. Hier konnten die höchsten Molekulargewichte über die mittlere Alkyl-länge erreicht werden. Die Autoren führten die Schlussfolgerung an, dass die mittlere Alkyl-länge von elf Kohlenstoffen zu einer anderen Orientierung der selbstorganisierenden Monolagen führt, was sich positiv auf die SI-ATRP auszuwirken scheint.⁹² Weiter wurden noch Silaninitiatoren mit drei, sechs und elf Methylengruppen als Spacer verglichen. Hier konnten die Autoren wieder feststellen, dass der längste Spacer zur höchsten Aufpfropfdichte führt. Die beste Beladungsdichte wurde allerdings für den Initiator mit sechs Methylengruppen gefunden.¹⁰¹ Diese Ergebnisse könnten mit dem gerade-ungeraden-Effekt erklärt werden, bei dem stabilere und dichtere SAMs durch eine gerade Anzahl an Alkylgruppen erhalten werden.⁹⁹

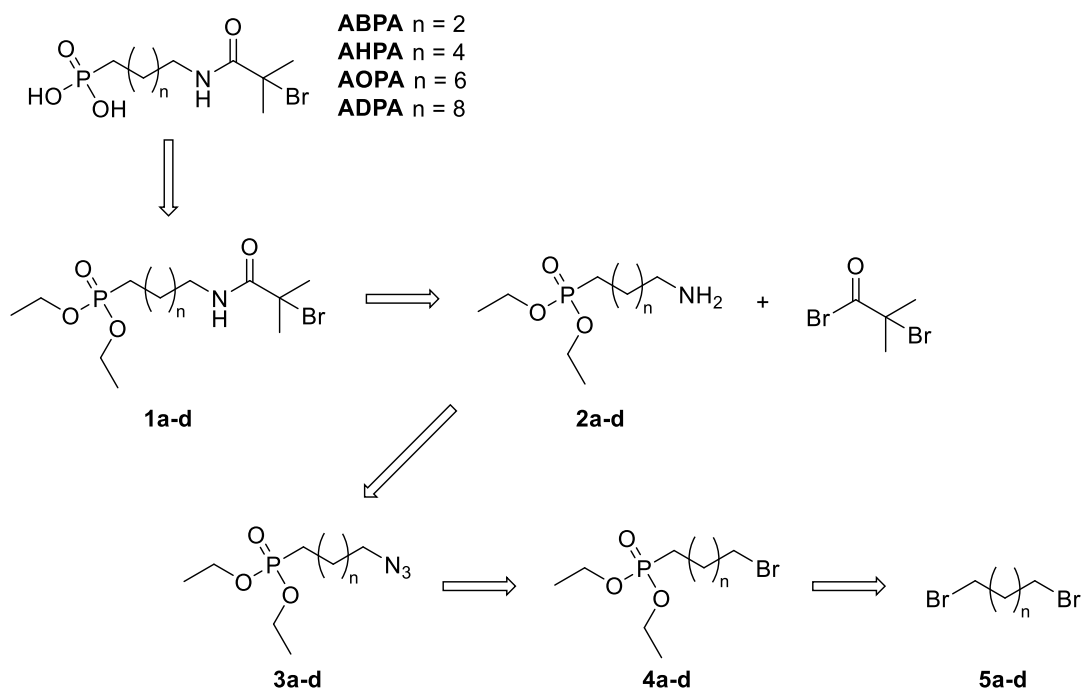
In der Literatur wurden bereits phosphonsäurebasierte Initiatoren verwendet, bei welchen als Verbindung zwischen Phosphonsäure als Ankergruppe und Initiatorgruppe ein Ester und Alkylgruppen mit zwei, sechs oder elf Kohlenstoffen verwendet wurden.⁷⁷⁻⁹⁰ Bisher wurde keine

systematische Untersuchung zum Einfluss der Alkylängen in der Verbindungseinheit durchgeführt. In dieser Arbeit wurde als Verbindung eine hydrolysestabile Amidgruppe gewählt und verschiedene Verbindungslängen zwischen vier bis zehn Methylengruppen dargestellt und verglichen (Schema 4).

5.1.2 Darstellung der bifunktionalen Phosphonsäuren

Retrosyntheseweg

Zur Darstellung der gewünschten bifunktionalen Phosphonsäuren wurde eine zielgerichtete und gut realisierbare Syntheseroute gewählt. Die Retrosynthese ist in Schema 4 gezeigt.



Schema 4: Retrosynthesepfad für die Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA**

Zunächst lassen sich die gewünschten freien Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** aus den korrespondierenden Phosphonsäurediethylestern **1a-d** darstellen. Die verwendeten Diethylester dienen als Schutzgruppe, um die Phosphonsäure vor ungewünschten Nebenreaktionen zu schützen. Zusätzlich stellen die Diethylester eine lipophilere Verbindung als die korrespondierende freie Säure dar, und lassen sich leichter reinigen.

Zur Hydrolyse von Phosphonsäureestern gibt es verschiedene Möglichkeiten. Die einfachste Methode ist die Reaktion mit konzentrierter HCl unter Reflux. Allerdings wird diese Methode unter sehr harschen Bedingungen durchgeführt und viele funktionelle Gruppen wie die Amidgruppe würden hierbei zersetzt werden.¹⁰² Mildere Bedingungen bietet die MCKENNA

Methode¹⁰³ bei der die Phosphonsäureester zunächst zu einem Bis(trimethylsilyl)-phosphonsäureester umgesetzt werden und anschließend mit H₂O hydrolysiert werden.

Die Amide **1a-d** können aus der Kupplung der Aminophosphonate **2a-d** und einem Carbonsäurebromid dargestellt werden. Hierbei wird als Nebenprodukt HBr gebildet, welches bei der Reaktion mit einer geeigneten Base wie Triethylamin neutralisiert wird, um Nebenreaktionen zu verhindern. Das Carbonsäurebromid stellt eine hydrolyselabile Verbindung dar, weshalb wasserfrei gearbeitet werden sollte.

Die Aminophosphonate **2a-d** lassen sich durch eine Reduktion der Azidophosphonate darstellen. Hier können verschiedene Reduktionen verwendet werden. Eine milde Möglichkeit stellt die STAUDINGER Reduktion dar.¹⁰⁴ Hierbei wird das Azid nukleophil mit Triphenylphosphan angegriffen, es kommt unter N₂ Freisetzung zur Bildung eines Phosphazens, welches mit H₂O zum gewünschten Amin hydrolysiert wird. Die Aminophosphonate **2a-d** sind bereits in der Literatur bekannt und kommerziell in einigen Ländern zu erwerben. Preislich liegen die Produkte aber bei 880 bis 1280 US-Dollar pro 1 g, weshalb eine zweistufige Synthese aus den kommerziell besser zu erwerbenden Dibromalkanen **5a-d** gewählt wurde.¹⁰⁵

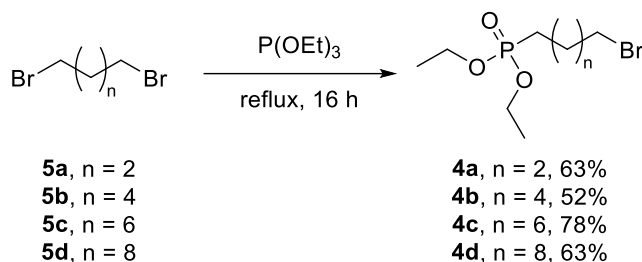
Die Azidophosphonate **3a-d** können durch eine Substitution der Bromphosphonaten **4a-d** mit Natriumazid dargestellt werden.

Die Darstellung von Bromphosphonaten **4a-d** lässt sich aus den kommerziell zu erwerbenden Dibromalkanen **5a-d** (42 bis 194 Euro pro 100 g) über eine MICHAELIS-ARBUZOV-Reaktion^{106, 107} realisieren. Hierbei wird eine C-P-Bindung über die Reaktion mit Triethylphosphit unter Reflux gebildet.

ADPA wurde bereits in der Masterarbeit von Jan-Christian Raabe¹⁰⁸ dargestellt, die Syntheseroute wurde in dieser Arbeit weiter optimiert.

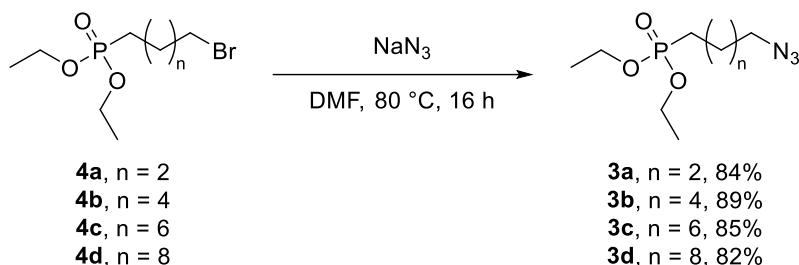
Synthese von ABPA, AHPA, AOPA und ADPA

Die erfolgreiche Desymmetrisierung der Dibromalkane **5a-d** über die MICHAELIS-ARBUZOV-Reaktion^{106, 107} wurde bereits in vorherigen Arbeiten von MAISON *et al.*^{109, 110} gezeigt und konnte auf die Synthese der vier verschiedenen Bromphosphonate **4a-d** angewendet werden (Schema 5). Hierbei wurden die Bedingungen von PODRUGINA *et al.*¹¹¹ angewendet. Durch einen Überschuss an Dibromalkanen und einer säulenchromatographischen Reinigung ließen sich **4a**, **4c** und **4d** in befriedigender bis guter Ausbeute darstellen. Lediglich das Diethyl(ω -(α -bromhexyl)phosphonat **4b** zeigte einige Nebenprodukte, was sich in der geringen Ausbeute von 52% niederschlägt.



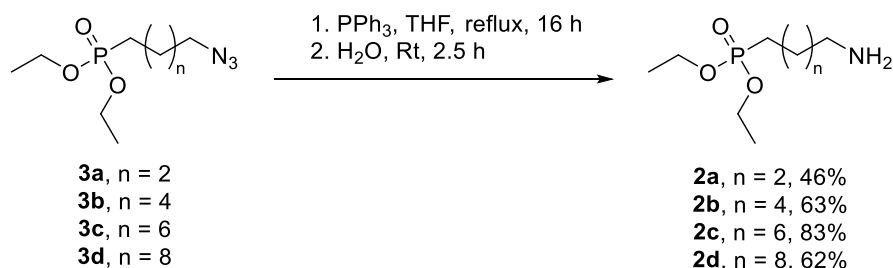
Schema 5: Synthese von **4a-d** über eine MICHAELIS-ARBUZOV-Reaktion^{106, 107} mit Triethylphosphit.

Die Azidophosphonate **3a-d** ließen sich durch eine nukleophile Substitution mit Natriumazid aus den Bromphosphonaten **4a-d** darstellen (Schema 6). Hierbei wurde die Synthese an das Protokoll von JANCZEWSKI *et al.*¹¹² angelehnt. Als Nebenprodukt wurde NaBr gebildet, welches sich durch eine Extraktion mit Wasser und Ethylacetat abtrennen ließ. Die Produkte **3a-d** wurden mit sehr guten Ausbeuten erhalten.



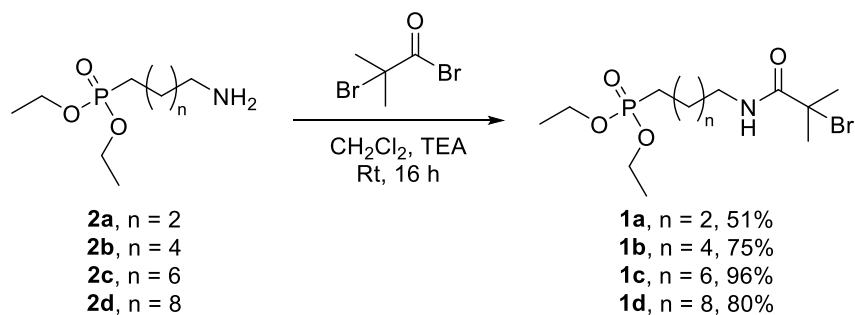
Schema 6: Synthese von **3a-d** über eine Substitution mit Natriumazid.

Die Reduktion der Azidophosphonsäuren **3a-d** zu den Aminophosphonsäuren **2a-d** wurde durch eine STAUDINGER Reduktion bei milden Bedingungen durchgeführt (Schema 7). Die Bedingungen wurden hierbei an das Protokoll von HAELTERS *et al.*¹¹³ angelehnt. Die Reinigung erfolgte durch eine Säure-Base-Wäsche, bei der die Amine zunächst zu ihren Ammoniumsalzen protoniert wurden, um das gebildete Triphenylphosphinoxid abzutrennen. Anschließend wurden die Amine wieder deprotoniert und mit Ethylacetat extrahiert. Für die langen Alkylketten **2c** und **2d** konnten dies auch in sehr guten Ausbeuten durchgeführt werden. Bei den kürzeren Alkylketten **2a** und **2b** war die Löslichkeit in Ethylacetat geringer, weshalb etwas niedrigere Ausbeuten erhalten wurden.



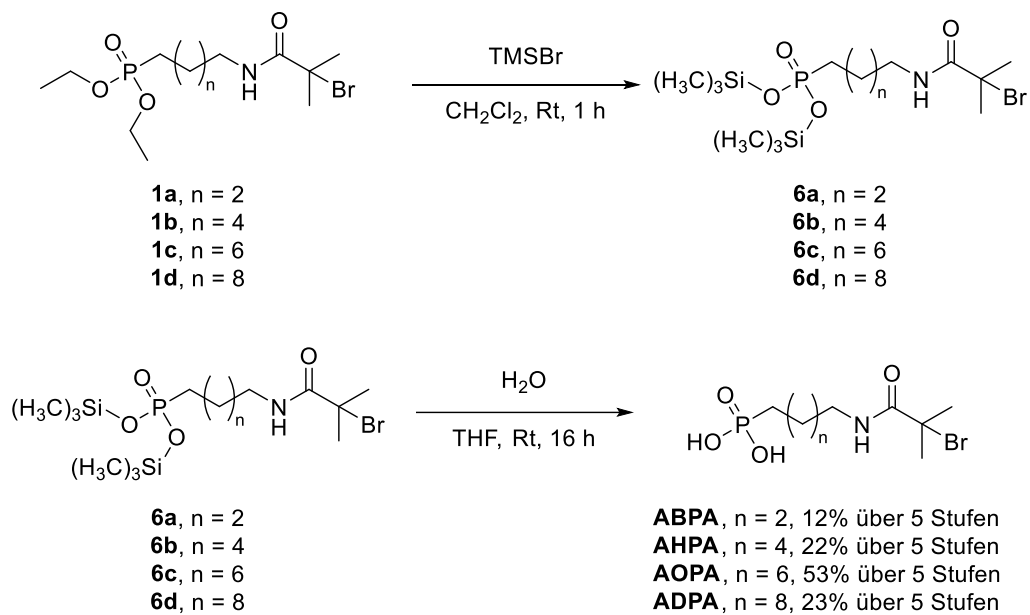
Schema 7: Synthese von **2a-d** über eine STAUDINGER Reduktion mit Triphenylphosphin und anschließender Hydrolyse mit H₂O.

Die Amidkupplung mit dem Bromisobutyrylrest konnte unter Wasser- und Luftausschluss mit dem Bromisobutyrylbromid realisiert werden (Schema 8). Die Rohprodukte wurden mit Säure und Base gewaschen, um das gebildete HBr und überschüssiges Triethylamin zu entfernen. Nach der Reinigung wurden geringe Reste des Nebenproduktes Bromisobuttersäure nachgewiesen. Auf eine weitere chromatographische Reinigung wurde allerdings verzichtet, da dieses Nebenprodukt bei der Reinigung des Endproduktes entfernt werden konnten. Alle Produkte **1a-d** konnten in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten werden.



Schema 8: Synthese von **1a-d** über eine Amidbildung mit 2-Brom-2-isobutyrylbromid.

Die bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** wurden durch die Entschützung der Phosphonsäurediethylester **2a-d** mit der MCKENNA¹⁰³ Methode in ausgezeichneten Ausbeuten erhalten (Schema 9). Zunächst wurden unter Wasser- und Luftausschluss die Bis(trimethylsilyl)phosphonsäureester **6a-d** durch die Zugabe von Bromtrimethylsilan erhalten. Alle flüchtigen Verunreinigungen und Lösungsmittel wurden im Vakuum entfernt. Anschließend wurden die Bis(trimethylsilyl)phosphonsäureester **6a-d** mit Wasser hydrolysiert und nach Gefriertrocknung die Endprodukte erhalten. Vergleichend wurde zusätzlich die Gesamtausbeute über fünf Stufen für alle vier Phosphonsäuren bestimmt. Hierbei sticht **AOPA** hervor, was sich mit einer Gesamtausbeute von 53% am besten darstellen ließ. Am geringsten fiel die Gesamtausbeute mit nur 12% bei **ABPA** aus.

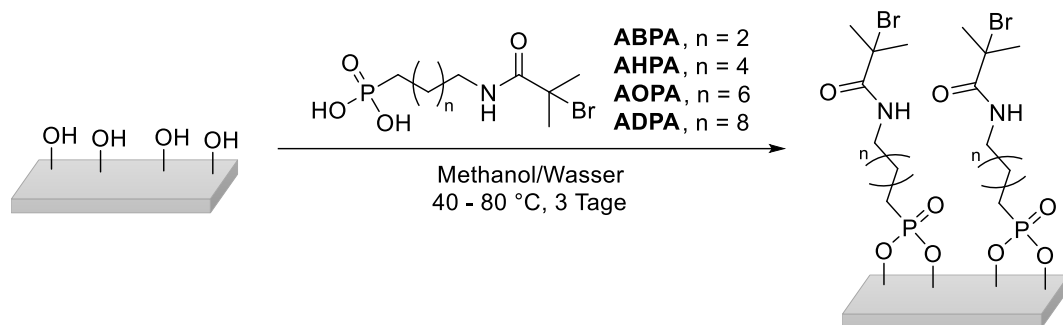


Schema 4: Entschützung der Phosphonsäureester zu **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** mit der MCKENNA¹⁰² Methode. Ausbeuten sind über 5 Stufen bestimmt angegeben.

5.1.3 Immobilisierung der Phosphonsäuren auf Nanopartikeln und Bulkmaterialien

Die Immobilisierung der dargestellten bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** wurde nach einer etablierten Methode von MAISON *et al.*¹⁰³⁻¹⁰⁵ durchgeführt und ist dem Schema 5 zu entnehmen. Die Nanopartikel wurden ohne vorherige Reinigung verwendet, die Titan bzw. Magnesiumträger wurden vor der Beschichtung gereinigt. Für die Nanopartikel wurde eine 10 mM Lösung der Phosphonsäuren in Methanol/Wasser (2:1 V/V), für die Träger wurde eine 1 mM Lösung verwendet. Die Nanopartikel bzw. Träger wurden in der Lösung bei 80 °C für drei Tage inkubiert um eine maximale Beladung mit Phosphonsäuren zu erreichen.

76



Schema 5: Immobilisierung der bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** auf Metalloxidoberflächen.

Immobilisierung auf TiO₂-Nanopartikeln

Zunächst wurden die bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** auf TiO₂-Nanopartikeln (21 nm) immobilisiert. Diese eignen sich als Modellsysteme, da sich die Beladung der Oberfläche mit Phosphonsäuren über thermogravimetrische Analysen (TGA) und Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FT-IR) untersuchen lassen. Allerdings unterscheidet sich die Oberflächenstruktur und Form der Nanopartikel signifikant von der Oberfläche eines Bulkmaterials. Daher ist eine direkte Übertragung der Ergebnisse nicht zwingend gewährleistet und sollte nur mit Vorsicht erfolgen.

TGA

Bei der TGA wird die Massenänderung einer Probe in Abhängigkeit von der Zeit oder Temperatur gemessen. Die Probe wird dabei in einem Tiegel aus Al₂O₃ einem bestimmten Temperaturprogramm ausgesetzt. Dabei wird ausgenutzt, dass sich organische Substanzen meistens bei niedrigeren Temperaturen als anorganische Substanzen zersetzen. Eine typische TGA-Kurve ist in Abbildung 13 gezeigt. Im ersten Schritt kommt es zur Verdampfung

sowie Sublimation von Wasser oder anderen Lösungsmitteln, welche gebunden oder in der Probe eingeschlossen sind. In der zweiten Phase bei höheren Temperaturen werden organische Verbindungen zersetzt. Alles, was über 700 °C noch nicht zersetzt ist, wird als nicht zersetzbarer Anteil angesehen, häufig z.B. anorganische Salze aber auch einige Kohlenstoffmodifikationen.

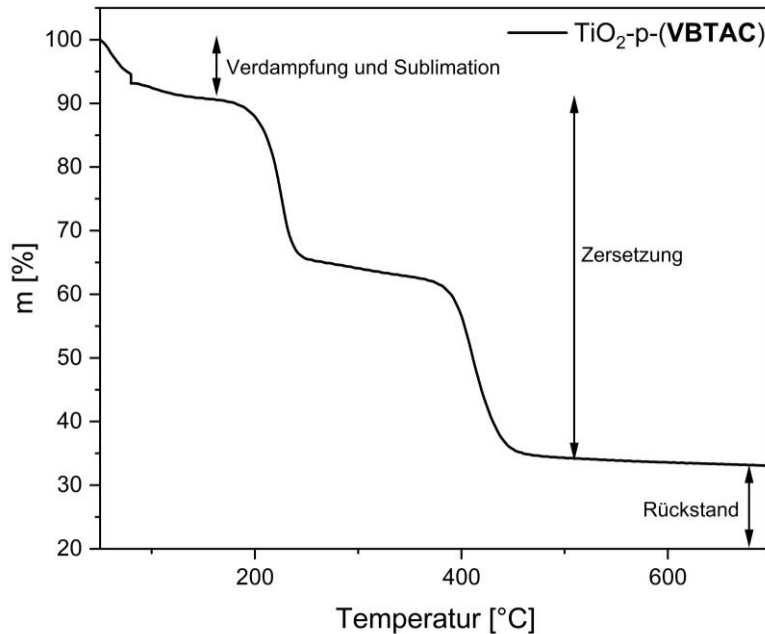


Abbildung 13: Beispiel TGA Kurve von TiO₂-p-(VBTAC).

Bei Temperaturprogrammen bis 700 °C werden somit typischerweise organische Bestandteile zersetzt. Es kann durch die Bestimmung des Massenverlustes die Beladung eines anorganischen Trägers mit organischem Material ermittelt werden. Alkylphosphonsäuren wie die bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** bilden kovalente Bindungen zur TiO₂ Oberfläche aus. Die TGA Kurven der beschichteten Nanopartikel sind in Abbildung 14A zu sehen. Die thermische Zersetzung von TiO₂-**ABPA**, TiO₂-**AHPA**, TiO₂-**AOPA** und TiO₂-**ADPA** folgt einem zweistufigen Verlauf. Zunächst wird bei ca. 200 °C die CN-Bindung zum Amid gespalten und es wird Bromisobutylamid abgespaltet. Bei 300 bis 500 °C wird dann die CP-Bindung gespalten, was eine β -Eliminierung der Alkylgruppe zur Folge hat. Da die Phosphonsäure-Metall-Bindung sehr stabil ist, verbleibt bei Temperaturen bis 700 °C das Phosphat als Rückstand auf der Oberfläche der TiO₂-Nanopartikel.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ Das Phosphat führt zu einem signifikanten Verbrennungsrückstand von ~10% für alle bifunktionalen Phosphonsäuren bezogen auf den prozentualen Anteil des Phosphors im Molekül. Als Korrekturfaktor wird hierbei der Verbrennungsrückstand der freien Phosphonsäure verwendet (Abbildung 14B). Hier ist allerdings zu beachten, dass bei den freien Phosphonsäuren die Phosphonsäuregruppe zu Phosphorsäure, Phosphoroxid und flüchtigem Phosphin zersetzt wird. Es verbleibt also nur ein Teil als Verkohlungsrückstand.^{109, 110}

Bei der Berechnung der Beladungsdichten von **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** auf TiO_2 wurde der Rückstand der freien Phosphonsäuren mit eingerechnet (siehe Tabelle 1). Der korrigierte Gewichtsverlust Δm_{korr} der immobilisierten bifunktionalen Phosphonsäuren in Gewichtsprozent kann mit der Formel 1 berechnet werden.

$$\Delta m_{\text{korr}} = \frac{\Delta m (\text{TiO}_2 - \text{PA})}{\Delta m (\text{PA})} * 100\%$$

Formel 1 mit dem korrigiertem Gewichtsverlust Δm_{korr} , dem gemessenen Gewichtsverlust $\Delta m_{(\text{TiO}_2-\text{PA})}$ und dem Gewichtsverlust der freien Phosphonsäuren $\Delta m_{(\text{PA})}$.

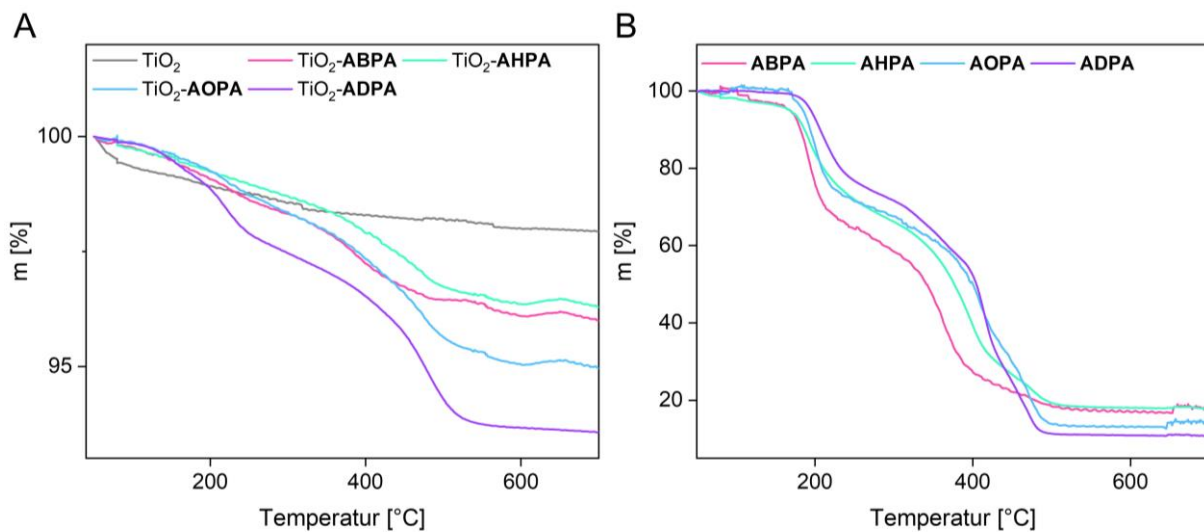


Abbildung 14: TGA Kurven, A) von TiO_2 -Nanopartikeln und TiO_2 -ABPA, TiO_2 -AHPA, TiO_2 -AOPA und TiO_2 -ADPA, B) von freien bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA**.

Die Massenverluste der freien Phosphonsäuren und der korrigierte Massenverlust (Formel 1) für TiO_2 -ABPA, TiO_2 -AHPA, TiO_2 -AOPA und TiO_2 -ADPA sind der Tabelle 1 zu entnehmen. Mit dem Massenverlust und der spezifischen Oberfläche der TiO_2 -Nanopartikel kann eine Beladungsdichte von **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** auf den TiO_2 -Nanopartikeln berechnet werden (Formel 2).

$$\sigma_i = \frac{\Delta m_{\text{korr}}}{(100 - \Delta m_{\text{korr}})} * \frac{N_A}{S_m * M_{\text{PA}}} * 10^{-18}$$

Formel 2 mit der Beladungsdichte σ_i , dem korrigiertem Massenverlust Δm_{korr} , der Avogadro Nummer N_A , der molaren Masse der immobilisierten Phosphonsäure M_{PA} und der spezifischen Oberfläche der TiO_2 -Nanopartikel S_m bestimmt über BET.

Die Beladungsdichte liegt zwischen 1.7 bis 2.3 Phosphonsäuren pro nm^2 . Eine maximale Beladung wird mit vier Phosphonsäuren pro nm^2 angenommen und ist nur unter idealen Bedingungen und mit sehr kleinen Phosphonsäuren, wie kurzkettigen Alkylphosphonsäuren,

bei denen es untereinander zu VAN-DER-WAALS-Kräfte kommt und diese sich somit nah aneinander lagern können, zu finden.¹¹¹ Der sperrige Rest der Bromisobutyrylgruppe verhindert ein enges Packen der Phosphonsäuren, was zu nicht perfekt angeordneten SAMs und niedrigeren Beladungsdichten führt.¹¹² Die VAN-DER-WAALS-Kräfte zwischen den Alkylketten erklären auch die höhere Beladungsdichte von **ADPA**. SZILLIES *et al.*¹¹³ haben ähnliche Trends für verschiedene Alkylängen und Kopfgruppen gefunden. Die Beladungsdichten der Initiatoren befinden sich im vergleichbaren Bereich zu den Beladungsdichten anderer Initiatoren für oberflächeninitiierte Polymerisation.^{82, 87, 114}

Tabelle 1: Massenverluste Δm durch TGA ermittelt, korrigierter Massenverlust Δm_{korr} und berechnete Beladungsdichte σ_i .

	Δm [%] ^a	Δm_{korr} [%] ^b	σ_i [1/nm ²] ^c
TiO ₂ - ABPA	4.00	4.91	1.98
TiO ₂ - AHPA	3.71	4.56	1.68
TiO ₂ - AOPA	5.03	5.90	2.03
TiO ₂ - ADPA	6.43	7.22	2.34
ABPA	81.96		
AHPA	82.06		
AOPA	85.71		
ADPA	89.71		

Anmerkung: **a:** Massenverluste sind aus drei unabhängigen Messungen als Mittelwert ermittelt, **b:** korrigierter Massenverlust wurde mit Formel 1 berechnet, **c:** Beladungsdichte σ_i wurde mit Formel 2 berechnet.

FT-IR Spektroskopie

Bei der Infrarotspektroskopie werden Moleküle mit Licht des Infrarotbereiches bestrahlt. Diese werden absorbiert und die aufgenommene Energie wird in molekulare Schwingungen umgewandelt. Die Absorption ist charakteristisch für die chemischen Bindungsverhältnisse eines Moleküls und kann zur Charakterisierung dieser verwendet werden. IR Spektren von kovalent gebundenen Phosphonsäuren auf Metalloxidoberflächen werden herangezogen, um die gebildeten selbstorganisierten Monolagen auf ihre Ordnung zu untersuchen. Die IR Spektren der bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** auf TiO₂-Nanopartikeln sind der Abbildung 15 zu entnehmen. Modifizierte und unmodifizierte TiO₂-Nanopartikel zeigen eine breite Absorption unterhalb von 890 cm⁻¹ für die Ti-O Streckschwingung.¹¹⁵ Die Stabilität der Amidgruppe nach der Beschichtung der

Phosphonsäure auf der Oberfläche ist essentiell für die nachfolgende SI-ATRP und wird bestätigt durch die Valenzschwingung der Carbonylgruppe bei 1658 cm^{-1} .

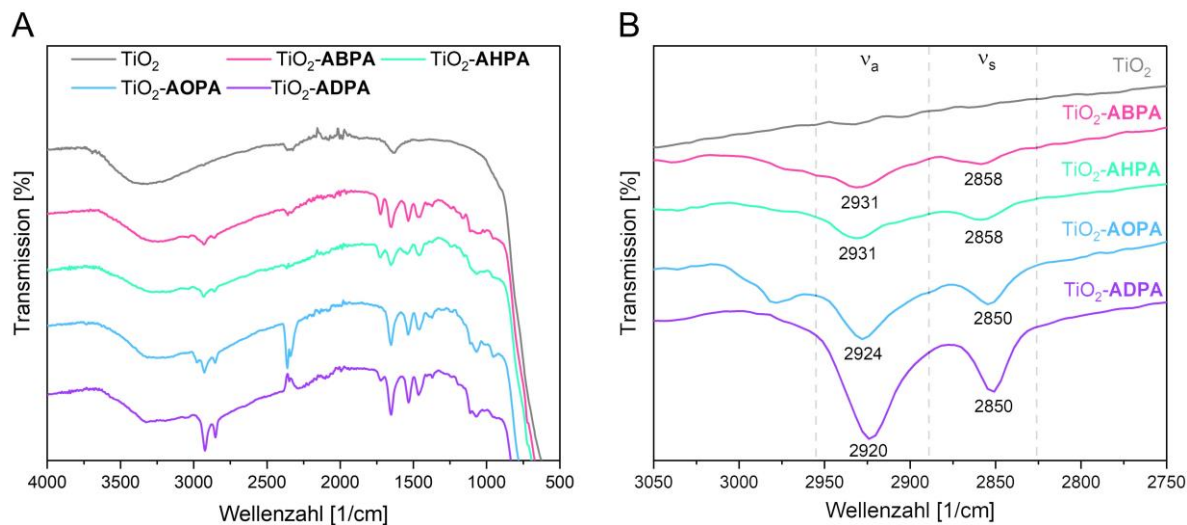


Abbildung 15: FT-IR Spektren A) von TiO₂-Nanopartikeln und TiO₂-**ABPA**, TiO₂-**AHPA**, TiO₂-**AOPA** und TiO₂-**ADPA**, B) Bereich der CH-Streckschwingung ν_a und ν_s .

Die CH-Streckschwingungen sind ein guter Indikator für die Konformation der Alkylketten und damit der Ordnung der Monolage. Schwingungen bei höheren Wellenzahlen deuten auf eine Unordnung oder viele gauche Defekte hin. Banden bei niedrigeren Wellenzahlen zeigen eine geordnete Konformation an. Zur Beurteilung der Ordnung werden die Banden der asymmetrischen und symmetrischen CH-Streckschwingung von der freien ungebundenen Phosphonsäure und der oberflächengebundenen Phosphonsäure verglichen. Eine Verschiebung der Banden zu niedrigeren Wellenzahlen deutet auf eine geordnete Monolage hin.^{96, 97} Von SPORI *et al.*⁹⁸ wurde gezeigt, wie bei längeren Alkylketten die Ordnung zunimmt. Dieser Trend ist auch bei den dargestellten bifunktionalen Phosphonsäuren zu erkennen. Die beiden Phosphonsäuren **AOPA** und **ADPA** zeigen Banden für die asymmetrische Streckschwingung ν_a bei 2924 bzw. 2920 cm^{-1} und symmetrische Streckschwingungen ν_s bei 2850 cm^{-1} (Abbildung 15B), dies deutet auf geordnete Monolagen hin. Für **ABPA** und **AHPA** sind die Streckschwingungen bei höheren Wellenzahlen von 2931 cm^{-1} für ν_a und 2858 cm^{-1} für ν_s (Abbildung 15B) zu finden, was mit ungeordneteren Schichten zu erklären ist.¹¹⁶⁻¹¹⁸

Die Streckschwingungen der PO-Einfachbindung liegen bei allen modifizierten TiO₂-Nanopartikeln im selben Bereich, zwischen 945 und 1110 cm^{-1} (Abbildung 15A). Die nur noch minimal zu erkennende Bande bei 1200 cm^{-1} für die Streckschwingung der PO-Doppelbindung deutet auf überwiegend tridentat gebundene Phosphonsäuren. Unterstützt wird dies durch nur schwache Banden bei 900 bis 950 cm^{-1} als Streckschwingung der OH-Gruppen der freien Phosphonsäure.⁷⁶

Immobilisierung der Phosphonsäuren auf Magnesiumoxid Nanopartikeln

Die bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA** und **ADPA** wurden anschließend auf Magnesiumoxid-Nanopartikeln (35 nm) immobilisiert. Hier wurden verschiedene Lösungsmittel als Immobilisierungslösung verwendet. Für die kürzeste bifunktionale Phosphonsäure **ABPA** wurden dieselben Immobilisierungsbedingungen wie für die TiO₂-Nanopartikel gewählt, also in Methanol und Wasser. Da Magnesiumträger sehr korrosionsanfällig im wässrigen Medium sind, wäre eine wasserfreie Methode wünschenswert. Hierfür wurden mit der längsten bifunktionalen Phosphonsäure **ADPA** wasserfreie Immobilisierungsmethoden getestet, da hier die höchste Lipophilie und somit beste Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln zu erwarten ist. Als organische Lösungsmittel wurden Dichlormethan, Tetrahydrofuran und Ethanol getestet, die Immobilisierungstemperatur (40 °C für Dichlormethan, 60 °C für THF und Ethanol) wurde dementsprechend angepasst. Alle Nanopartikel wurden thermogravimetrisch untersucht. MgO-**ABPA** wurde zusätzlich mit FT-IR und Festphasen-NMR analysiert.

TGA

TGA Ergebnisse der unterschiedlichen Immobilisierungsversuche auf MgO Nanopartikel über verschiedene Lösungsmittel sind in Abbildung 16 gezeigt. Über alle Immobilisierungsmethoden konnten **ABPA** bzw. **ADPA** erfolgreich immobilisiert werden, was an einer zusätzlichen Stufe über 350 °C zu erkennen ist, welche auf die bifunktionalen Phosphonsäuren zurückzuführen ist.

Immobilisierungen in Methanol/Wasser-Gemisch zeigen sowohl für die MgO Kontrolle (MgO ctrl) als auch für MgO-**ABPA** eine sehr große Stufe bei ca. 350 °C (Abbildung 16A). Diese bei MgO Nanopartikeln auch in der Literatur¹¹⁹ beobachtete Stufe ist u.a. auf eine Degradation von Mg(OH)₂ zu MgO, wie auch MgO zu Mg zu erklären. Nach einer Inkubation in Wasser kann sich Mg(OH)₂ bilden, was bei organischen Lösungsmitteln wie Dichlormethan oder Tetrahydrofuran nicht zu beobachten ist. Trotzdem kann für MgO-**ABPA** eine zweite Stufe zwischen 350 °C bis 550 °C detektiert werden, was immobilisiertem **ABPA** zuzuordnen ist. Der korrigierte Massenverlust (Formel 1) liegt hier bei etwa 18%, was einer Beladungsdichte von 5.9 Phosphonsäuren pro nm² entspricht (Tabelle 2). Dies wäre für eine Monolage nicht möglich, weil für Phosphonsäuren von einer maximalen Beladungsdichte von vier Phosphonsäuren pro nm² ausgegangen wird.¹¹¹ Die hohe errechnete Beladungsdichte könnte durch verschiedene Dinge zu erklären sein. Es könnte zum einen zu einer Ausbildung von einem Bilayer gekommen sein oder es sind noch Rückstände freier, ungebundener Phosphonsäure detektiert worden, die bei der Reinigung der Partikel nicht vollständig entfernt werden konnten.

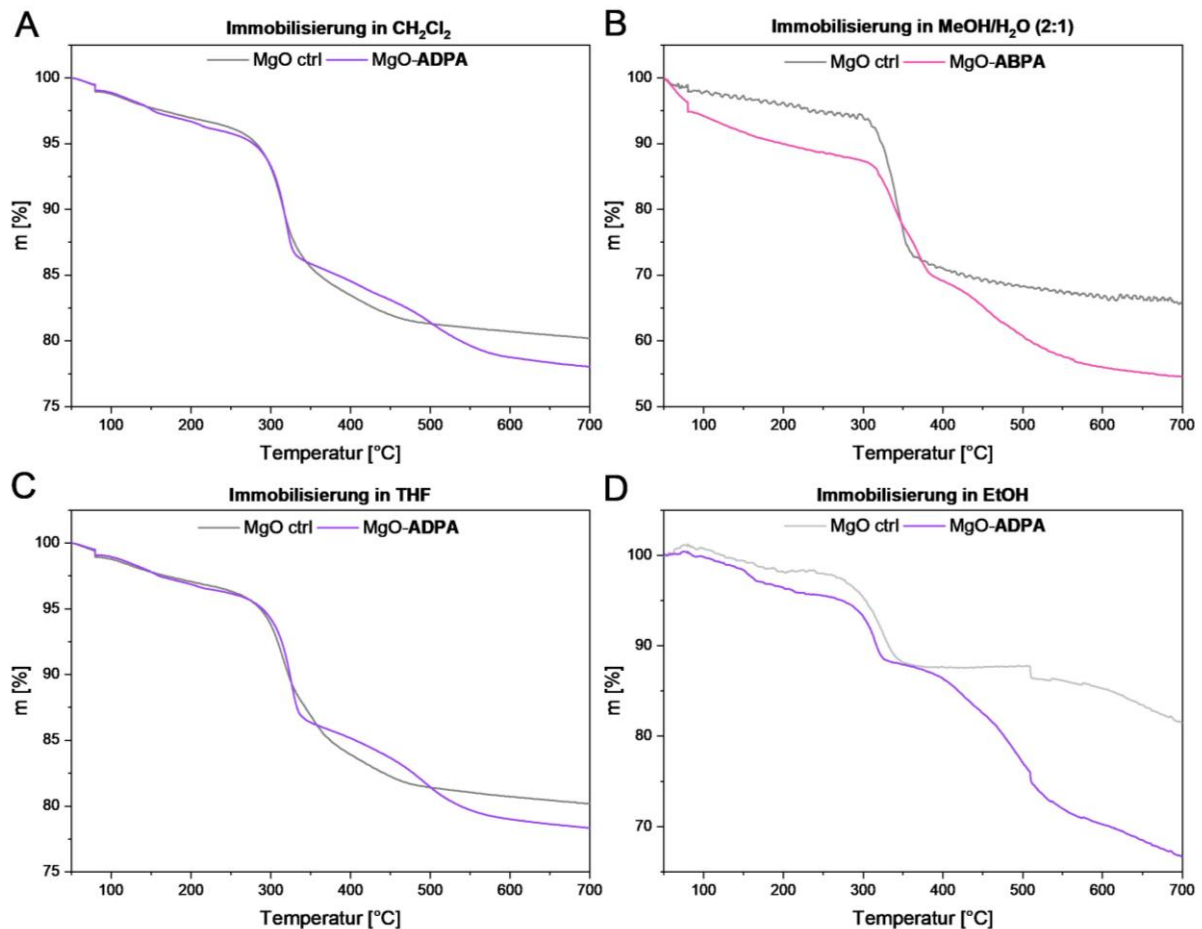


Abbildung 16: TGA Kurven von A) MgO-ADPA Immobilisierung in CH_2Cl_2 , B) MgO-ABPA Immobilisierung in $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, C) MgO-ADPA Immobilisierung in THF, D) MgO-ADPA Immobilisierung in EtOH.

Die Immobilisierungen in Dichlormethan sowie Tetrahydrofuran mit **ADPA** auf MgO Nanopartikeln verliefen erfolgreich, was durch eine Stufe zwischen 350 und 550 °C bestätigt wird (Abbildung 16B und C). Bei allen Kurven der MgO Kontrolle (MgO ctrl) sowie MgO-ADPA wird eine Stufe bei 350 °C detektiert, welche auf eine Degradation von MgO schließen lässt.¹¹⁹ Für MgO-ADPA wurden durch die Immobilisierung in Dichlormethan und Tetrahydrofuran gute Beladungsdichten von drei Phosphonsäuren pro nm^2 erhalten (Tabelle 2). Die bifunktionale Phosphonsäure **ADPA** lässt sich somit ausgezeichnet auf MgO in organischen Lösungsmitteln immobilisieren. Die Immobilisierung von **ADPA** auf MgO in Ethanol verlief auch erfolgreich, was an einer zusätzlichen Stufe zwischen 350 und 550 °C zu erkennen ist (Abbildung 16D). Für beide Kurven der MgO ctrl und MgO-ADPA ist wieder ein Massenverlust vor 300 °C für die Degradation von MgO zu erkennen (Abbildung 16A bis C). Interessant ist, dass für MgO-ADPA in Ethanol mit über 21% der höchste Massenverlust nachgewiesen wurde. Dies würde einer Beladungsdichte von 9.5 Phosphonsäuren pro nm^2 entsprechen, was sich nur durch Ausbildung von Bilagern/Mehrfachlagern oder Rückständen von freier, ungebundener Phosphonsäure erklären lässt. Somit sind die Immobilisierungsmethoden mit Tetrahydrofuran oder Dichlormethan zu bevorzugen.

Tabelle 2: Massenverluste Δm durch TGA ermittelt, korrigierter Massenverlust m_{korr} und berechnete Beladungsdichte σ_i .

	Lösungsmittel	Δm [%] ^a	Δm_{korr} [%] ^b	σ_i [1/nm ²] ^c
MgO- ABPA	MeOH/H ₂ O	14.98	18.34	5.85
MgO- ADPA	CH ₂ Cl ₂	8.40	10.30	2.99
MgO- ADPA	THF	8.46	10.38	3.01
MgO- ADPA	EtOH	21.86	26.81	9.53

Anmerkung: **a:** Massenverluste sind aus drei unabhängigen Messungen als Mittelwert ermittelt, **b:** korrigierter Massenverlust wurde mit Formel 1 berechnet, **c:** Beladungsdichte σ_i wurde mit Formel 2 berechnet.

FT-IR

Von MgO-**ABPA** wurden FT-IR Spektren aufgenommen, um eine qualitative Beurteilung der Immobilisierung zu ermöglichen. Für MgO-**ABPA** sind deutliche zusätzliche Banden im Vergleich zu der MgO Kontrolle zu erkennen, was eine erfolgreiche Immobilisierung bestätigt. MgO Nanopartikel weisen charakteristisch eine breite Bande bei unter 550 cm⁻¹ auf, welche der Mg-O Bindung zuzuordnen ist.¹²⁰ Diese ist bei der MgO Kontrolle wie auch bei MgO-**ABPA** deutlich zu erkennen (Abbildung 17A). Bei beiden Nanopartikeln sind zudem eine breite Bande bei 3400 cm⁻¹ sowie eine Bande bei 1630 cm⁻¹ zu erkennen, welche OH-Schwingungen von adsorbiertem Wasser sowie Mg(OH)₂ auf der Oberfläche zuzuordnen sind. Die Valenzschwingung des Amids von **ABPA**, welche bei 1658 cm⁻¹ im Spektrum von MgO-**ABPA** zu erwarten wäre, wird durch die OH-Schwingung verdeckt. Die Streckschwingungen der PO-Einfachbindung in MgO-**ABPA** sind bei 997 und 1087 cm⁻¹ zu erkennen und die Streckschwingung der PO-Doppelbindung bei 1200 cm⁻¹.⁷⁶ Zusätzlich sind im Spektrum von MgO-**ABPA** Banden bei 1541 und 1458 cm⁻¹ zu erkennen und können der NH- sowie CN-Bindung zugeordnet werden.

Die IR-Spektren können zusätzlich verwendet werden, um die gebildeten selbstorganisierten Monolagen auf ihre Ordnung zu untersuchen. Die Konformationsordnung von **ABPA** wurde bewertet über die CH-Streckschwingungen, wobei die asymmetrische Streckschwingung ν_a bei 2940 cm⁻¹ und die symmetrische Streckschwingung ν_s bei 2869 cm⁻¹ liegt. Für beide ist keine Verschiebung der Werte zu niedrigeren Wellenzahlen von immobilisierter und freier Phosphonsäure zu beobachten (vgl. **ABPA**: 2928 und 2866 cm⁻¹). Dies deutet entweder auf keine geordneten Schichten der Monolagen oder eine Verdeckung der Banden der Monolage durch Banden freier, ungebundener Phosphonsäure hin. Die zweite Erklärung würde auch mit den Ergebnissen der TGA im Einklang stehen.

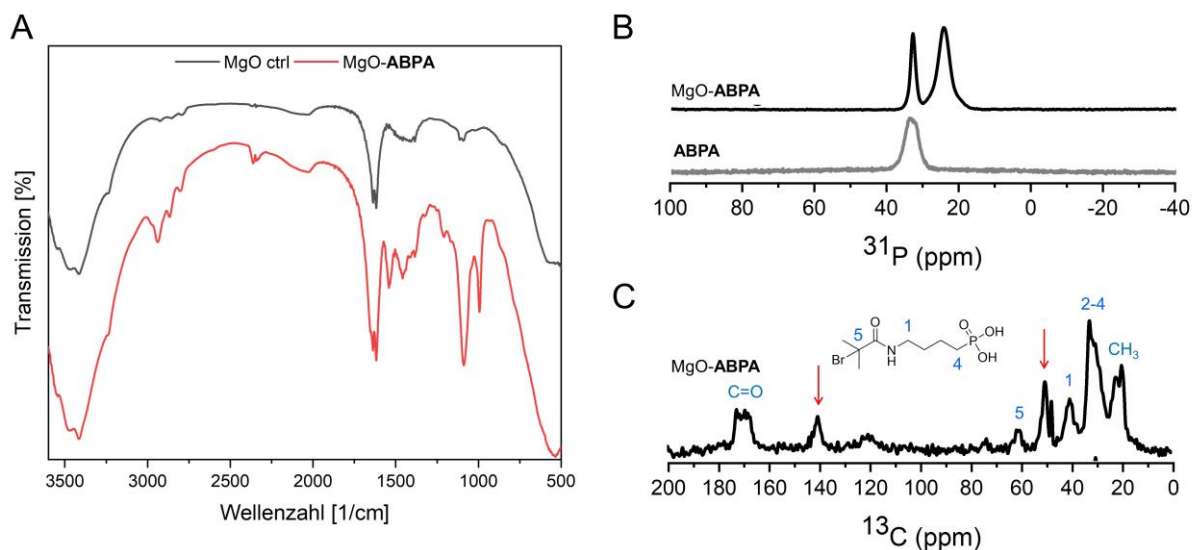


Abbildung 17: A) FT-IR Spektrum von MgO ctrl und MgO-**ABPA**, B) ^{31}P -Festphasen-NMR von MgO-**ABPA** und **ABPA**, C) ^{13}C -Festphasen-NMR von MgO-**ABPA**. Im ^{13}C -Spektrum werden zusätzliche Signale beobachtet, die nicht zugeordnet werden können (durch einen roten Pfeil gekennzeichnet). Dies kann auf Verunreinigungen im Reaktionsgemisch zurückzuführen sein

Festphasen NMR

Für MgO-**ABPA** wurden zusätzlich ^{31}P und ^{13}C Festphasen NMR Spektren (Abbildung 17B und C) aufgenommen, um die Immobilisierung näher zu untersuchen. Das Festphasen-NMR sollte hier die Ordnung der organischen Schicht aufklären sowie Rückschlüsse auf freie, ungebundene Phosphonsäure ermöglichen.

In dem ^{31}P -NMR-Spektrum von MgO-**ABPA** sind zwei Peaks zu erkennen (Abbildung 17B). Ein scharfer Peak bei 33.1 ppm und ein breiterer bei 24.5 ppm. Der erste, scharfe Peak liegt bei derselben Verschiebung wie nicht gebundenes **ABPA** und kann auf nicht vollständig entferntes, ungebundenes **ABPA** oder auf eine ausgebildete Doppellage der Phosphonsäure deuten. Letzteres ist aber für diese Phosphonsäure sehr unwahrscheinlich. Der zweite, breitere Peak bei 24.5 ppm zeigt eine kovalente Bindung der Phosphonsäure auf der MgO-Oberfläche an, eine Verschiebung des P-Peaks zu niedrigeren Frequenzen zeigt die Bindung über die Phosphonsäure an.

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von MgO-**ABPA** (Abbildung 17C) bestätigt die Immobilisierung der Phosphonsäure auf den MgO Nanopartikeln, da alle für **ABPA** charakteristischen Signale zu erkennen sind. Eine Intaktheit des Moleküls kann zusätzlich durch die Carbonylbande bestätigt werden. Bei diesem Spektrum ist eine starke Linienverbreiterung, insbesondere bei dem Carbonylsignal, zu erkennen. Dies hängt wahrscheinlich mit der Verteilung des H-Bindungsnetzwerks zusammen.

Immobilisierung der Phosphonsäuren auf Titan Bulkoberflächen

Alle bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** wurden auf Reintitanträgern (20 mm x 10 mm x 1 mm) immobilisiert und wurden über Kontaktwinkel analysiert. Ti-**AHPA** wurde exemplarisch auch mit XPS charakterisiert.

Kontaktwinkel

Der Kontaktwinkel wird bestimmt zwischen einer Festphase und einem Flüssigkeitstropfen, welcher die Oberfläche benetzt, in diesem Fall Wasser. Es wird der Winkel zwischen der Tangente an der Tropfenoberfläche in unmittelbarer Nähe der Festphase und der Festphasenoberfläche bestimmt (Abbildung 18).

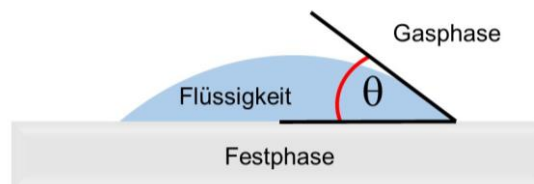


Abbildung 18: Definition des Kontaktwinkels θ .

Mathematisch definiert wird er mit der Young'schen Gleichung:

$$\cos \theta = \frac{\sigma_s - \sigma_{LS}}{\sigma_L}$$

Formel 3 mit dem Kontaktwinkel θ , der Oberflächenenergie des Festkörpers σ_s , der Oberflächenspannung der benetzenden Flüssigkeit σ_L und der Grenzflächenenergie zwischen der Flüssigkeit und dem Festkörper σ_{LS} .

Mit dem Goniometer wird ein vorrückender (engl.: *advancing*) Kontaktwinkel bestimmt, welcher den größten auftretenden anscheinenden Kontaktwinkel darstellt. Wenn als benetzende Flüssigkeit bei allen Experimenten Wasser verwendet wird, kann die Benetzbarkeit der Festphase beurteilt werden. Je niedriger der Kontaktwinkel ist, desto hydrophiler ist die Oberfläche, je höher desto hydrophober ist die Oberfläche. Kontaktwinkel sollten immer als Vergleich zum Kontrollträger oder als Veränderung zwischen zwei Modifizierungsschritten beurteilt werden.

Für alle vier Titanträger mit immobilisierten Phosphonsäuren ist eine eindeutige Veränderung im Vergleich zur Kontrolle festzustellen, was auf eine erfolgreiche Immobilisierung von **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** schließen lässt. Als Kontrolle dient ein Träger, der unter denselben Immobilisierungsbedingungen behandelt wurde, nur ohne Zugabe von Phosphonsäuren (Experimental Teil). Ti-**ABPA**, Ti-**AHPA**, Ti-**AOPA** und Ti-**ADPA** zeigen Kontaktwinkel über 60° (Tabelle 3). Die erfolgreiche SAM-Bildung wird dadurch bestätigt, da hier der

Bromisobutyrylrest auf der Oberfläche präsentiert wird, was zu einer hydrophoberen Oberfläche führt als bei der Kontrolle, welche Ti-OH Gruppe präsentiert (48.1°).

Tabelle 3: Kontaktwinkel der modifizierten Titanträger und der Titankontrolle.

Ti ctrl	Ti- ABPA	Ti- AHPA	Ti- AOPA	Ti- ADPA
48.1° ± 9	67.3° ± 6	60.4° ± 1	65.8° ± 4	64.8° ± 1

Anmerkung: Kontaktwinkel der Titanträger sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen ± Standardabweichung angegeben.

XPS

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie XPS (engl.: *X-ray photoelectron spectroscopy*) ist eine Methode zur zerstörungsfreien Bestimmung der chemischen Zusammensetzung einer Oberfläche. Hierbei wird Röntgenstrahlung auf einen Festkörper gestrahlt und es lösen sich Photoelektronen aus den inneren Atomorbitalen. Aus der kinetischen Energie des rausgelösten Photoelektrons kann eine Bindungsenergie bestimmt werden, die charakteristisch für das Atomorbital, aus der das Photoelektron stammt, ist. Elektronen bestimmter Energie werden durch einen geeigneten Analysator selektiert und über einen Sekundärelektronenvervielfacher detektiert. Am Ende wird ein Spektrum erhalten, bei welchem die Bindungsenergie gegen die Intensität aufgetragen wird (Abbildung 19). Hier werden die detektierten Energien mit dem Element und dem Orbital, aus dem das Photoelektron stammt, beschriftet. Ein Photoelektron aus dem s-Orbital der K-Schale des Sauerstoffs würde die Beschriftung O 1s erhalten. Die ermittelte Bindungsenergie ist durch ihre chemische Umgebung beeinflusst. Beispielsweise Nachbaratomen und die Hybridisierung der Bindung führen zu einer charakteristischen chemischen Verschiebung. Durch Auswertung dieser chemischen Verschiebungen der Bindungsenergie lassen sich exakte Aussagen zur chemischen Zusammensetzung der analysierten Oberfläche treffen. Als Beispiel eignet sich die Bindungsenergie von dem C 1s Orbital, welche normalerweise 284.6 eV beträgt, eine CH-Bindung würde die Energie zu 285.5 eV verschieben. Zusätzlich kann die gemessene Intensität der Elementorbitale zur quantitativen Auswertung verwendet werden, indem die erhaltenen Atomverhältnisse mit den theoretischen verglichen werden. Die XPS Aufnahmen werden im Hochvakuum durchgeführt und meist lassen sich nur die obersten Nanometer der Probe vermessen. Tiefer liegende Schichten lassen sich z.B. durch Ätzen mit Argon freilegen und analysieren.

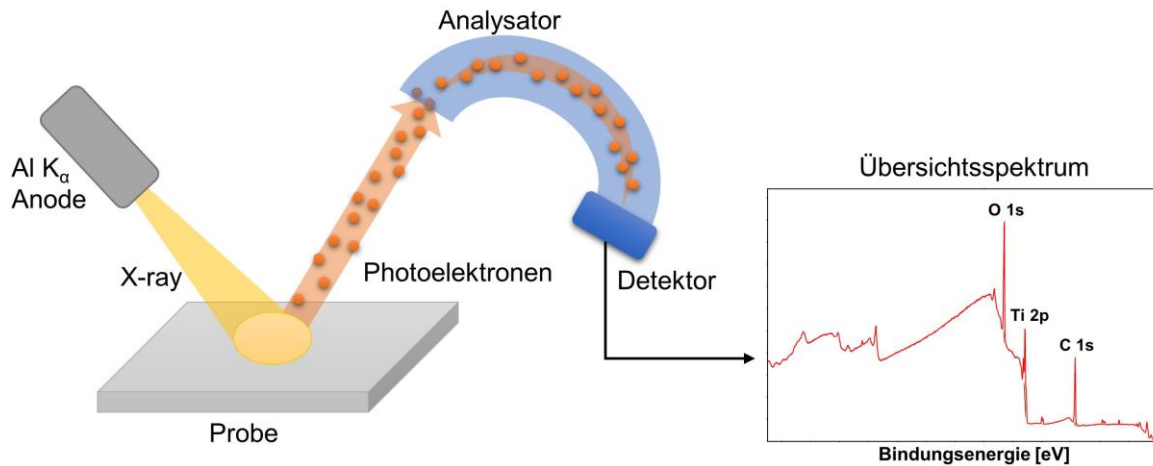


Abbildung 19: Röntgenphotoelektronenspektroskopie: Es wird Röntgenstrahlung auf die Probe gestrahlt, wobei Photoelektronen aus den inneren Elementorbitalen der Probe rausgelöst werden. Diese werden mit einem geeigneten Analysator selektiert und detektiert. Es wird die Bindungsenergie gegen die Intensität aufgetragen.

Exemplarisch wurden XPS Spektren für den Träger Ti-**AHPA** aufgenommen, als Kontrolle dient ein gereinigter Titanträger. Die Übersichtsspektren der Titankontrolle und von Ti-**AHPA** zeigen charakteristische Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Oberfläche, was die erfolgreiche Immobilisierung von **AHPA** auf dem Titanbulkmaterial bestätigt (Abbildung 20A und B). Zusätzlich sind noch hochenergetische Spektren für einige Elementorbitale aufgenommen worden (Abbildung 20C). In dem P 2p Spektrum lassen sich nach Dekonvolution die Peaks bei 133.4 und 132.6 eV den charakteristischen P 2p $_{3/2}$ und P 2p $_{1/2}$ Spin Bahnen Kopplungen zuordnen ($\Delta = 0.87$ eV). Dieses Muster lässt auf eine kovalente SAM-Bildung über die Phosphonsäure auf dem Titan schließen.¹⁰⁶ Die SAM-Bildung über die Phosphonsäure ist auch in dem O 1s-Spektrum zu erkennen. Der aufgespaltene Peak bei 530.7 eV ist charakteristisch für die kovalente Bindung von Phosphonaten über eine P-O-Ti-Bindung.⁹⁷ Ein zweiter Peak bei 529.6 eV entspricht der TiO $_2$ -Schicht des Titanträgers.^{97, 121} Ein dritter Peak bei 532.6 eV weist auf die PO-Einfach- oder Doppelbindungen hin, was auf einen bidentaten oder tridentaten Bindungsmodus der Phosphonsäuren zur Oberfläche deutet. Das hochenergetische C 1s Spektrum lässt sich in drei Peaks bei 284.5, 285.5 und 287.5 eV aufspalten. Der Peak bei 284.5 eV ist wahrscheinlich eine Verunreinigung, die sich durch die Reinigung nicht entfernen lässt, da diese auch bei der gereinigten Titankontrolle zu erkennen ist. Die CH-Bindung der Alkylketten von **AHPA** sind der Bindungsenergie von 285.5 eV zuzuordnen und der kleinere Peak bei 287.5 eV kann der Carbonylgruppen des Amids zugeordnet werden.¹²² Für die anschließende SI-ATRP ist eine intakte CBr-Bindung essentiell. Diese kann durch den Peak bei 190 eV im hochaufgelösten Spektrum vom Br 3p Orbital bestätigt werden. Das N 1s Orbitalspektrum zeigt einen Peak bei 399.7 eV, welcher dem Amid Stickstoff von **AHPA** zugeordnet werden kann, das zweite Signal im N 1s Spektrum

ist wahrscheinlich eine Verunreinigung.¹²³ Das hochaufgelöste Spektrum von Ti 2p zeigt das typische Muster einer TiO₂ Schicht mit einem Peak bei 458.1 eV und 463.8 eV für Ti 2p_{1/2} und Ti 2p_{3/2}.¹¹² Da die XPS Analyse meist mehrere Nanometer tief vermisst, ist es nicht auszuschließen, dass bei einer Monolage von **AHPA** der Titan Untergrund auch mit erfasst wird. Abschließend wurden noch die Atomverhältnisse über die Intensität der Signale bestimmt und mit den theoretischen Verhältnissen verglichen (Abbildung 20B). Die ermittelten Verhältnisse von P/Br und P/C stimmen weitgehend gut überein, was die intakte Immobilisierung von **AHPA** zusätzlich bestätigt. Die Verhältnisse von P/N und P/O weichen leicht ab, was auf leichte Verunreinigungen schließen lässt, welche schon bei dem gereinigten Titanträger zu erkennen sind (Abbildung 20A). Es ist also von einer ausreichenden Immobilisierung für die anschließenden SI-ATRP der Initiatoren auf der Titanoberflächen auszugehen.

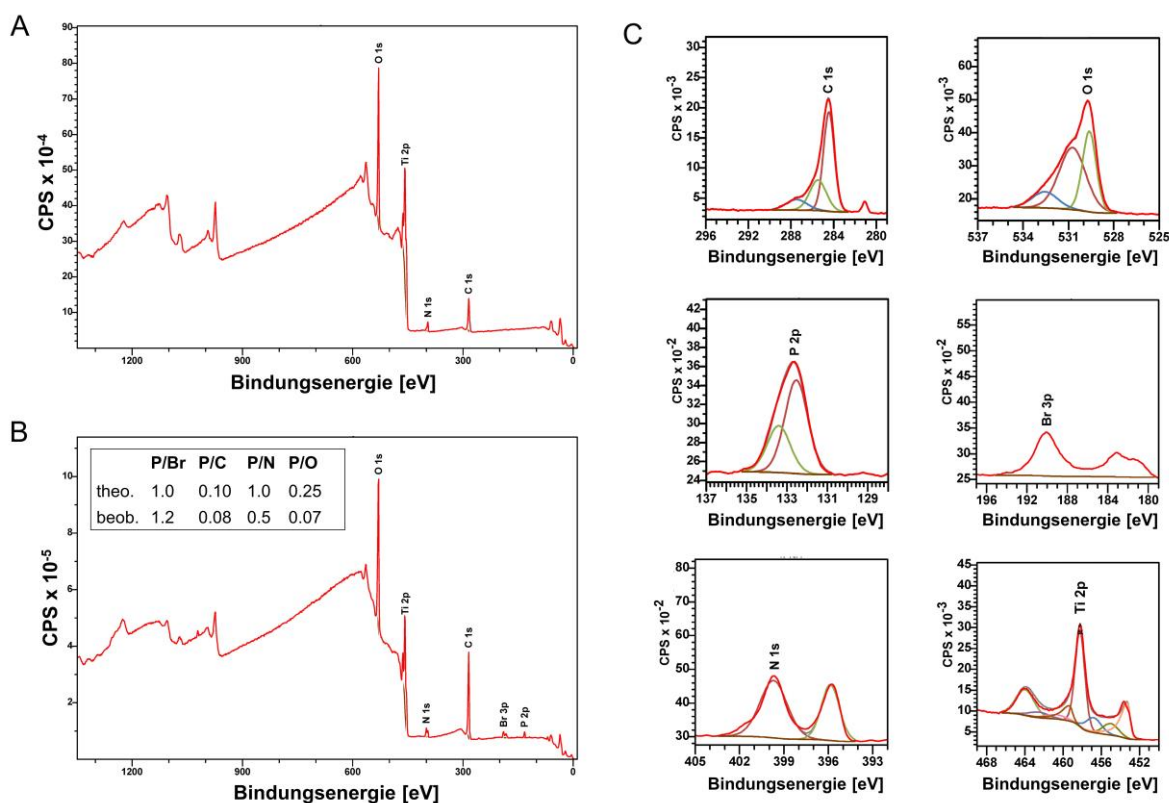


Abbildung 20: Ergebnisse der XPS Analytik, A) Übersichtsspektrum der Titankontrolle, B) Übersichtsspektrum von Ti-AHPA, theoretische und beobachtete Atomverhältnisse von Ti-AHPA für P/Br, P/C, P/N und P/O, C) hochaufgelöste Orbitalspektren von Ti-AHPA für P 2p, O 1s.

Immobilisierung der Phosphonsäuren auf Magnesium Bulkoberflächen

Exemplarisch wurde die bifunktionale Phosphonsäure **ADPA** auf Magnesiumträgern mit der Legierung AZ31 (Größe: 30 mm x 10mm x 2 mm) immobilisiert und mittels Kontaktwinkel analysiert. Hierbei wurden zwei Methoden zur Reinigung der Träger verwendet und auf ihre Wirkung auf den Kontaktwinkel von Mg-**ADPA** verglichen: chemische Reinigung nach KORRAPATI¹²⁴ oder Reinigung durch Schleifen. Bei der chemischen Reinigung werden die Träger eine Minute in NaOH inkubiert, mit Wasser gewaschen, eine Minute Essigsäure/Ca(NO₃)₂-Lösung inkubiert und wieder mit Wasser gewaschen. Anschließend werden die Träger in Ethanol unter Ultraschall inkubiert. Bei der Schleifmethode werden die Träger mit fünf verschiedenen Schleifpapiergrößen geschliffen und dann erst in Pentan und abschließend mit Wasser unter Ultraschall inkubiert. Als Immobilisierungsmethode wurde eine Methode verwendet, welche im Zuge der Masterarbeit von Michelle Kobus¹²⁵ entwickelt wurde. Hier werden die Träger zunächst für drei Tage in einer 10 mM **ADPA**-Lösung in Ethanol bei 60 °C inkubiert und anschließend für zwei Stunden bei 110 °C in einem Ofen erhitzt.¹²⁶

Die Kontaktwinkel zeigen für beide Reinigungsmethoden eine erfolgreiche Immobilisierung mit **ADPA** durch eine deutliche Erhöhung des Kontaktwinkels für die Mg-**ADPA** Träger, was eine Modifizierung der Oberfläche mit organischen Molekülen nahelegt (Tabelle 4). Bei der chemischen Methode wurden Kontaktwinkel um 80° ermittelt, bei der Schleifmethode sogar um 125°. Zu beachten ist zudem die Standardabweichung der Kontaktwinkel. Hier werden nach der Schleifmethode gleichmäßigere Kontaktwinkel erhalten (Mg ctrl ± 4°, Mg-**ADPA** ± 5°) als bei der chemischen Methode (Mg ctrl ± 14°, Mg-**ADPA** ± 20°). Die Schleifmethode ermöglicht also eine gleichmäßigere Immobilisierung der Initiatoren und sollte deshalb bevorzugt verwendet werden.

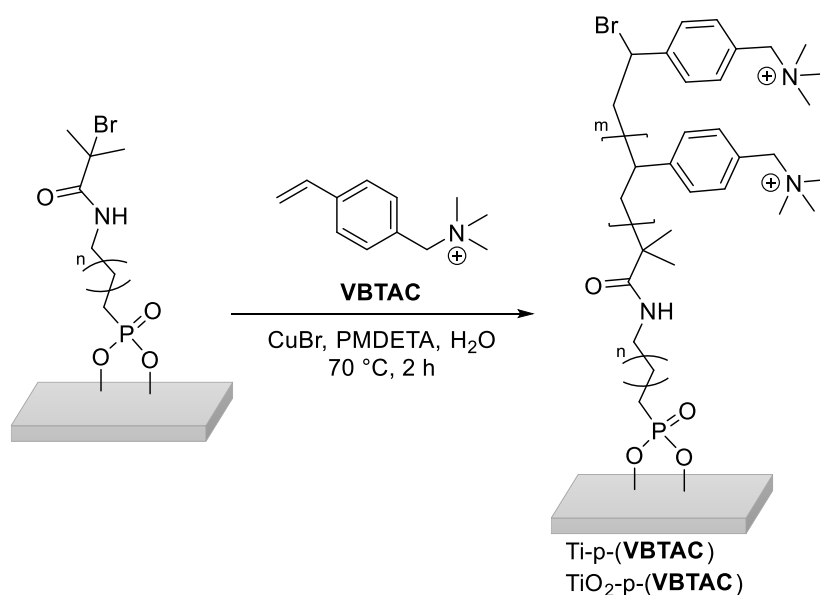
Tabelle 4: Kontaktwinkel der Magnesiumträger

Chemische Reinigung		Schleifen	
Mg ctrl	Mg- ADPA	Mg ctrl	Mg- ADPA
26.3° ± 14	82.4° ± 20	13.2° ± 4	125.9° ± 5

Anmerkung: Kontaktwinkel der Titanträger sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen ± Standardabweichung angegeben.

5.1.4 SI-ATRP mit dem kationischen Monomer **VBTAC**

Ausgehend von den immobilisierten bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** wurde die SI-ATRP von dem kationischen Monomer **VBTAC** durchgeführt. Hier sollte untersucht werden, ob die Beladungsdichte der verankerten Initiatoren einen Einfluss auf die anschließende Polymerisation hat. Zunächst wurde die SI-ATRP auf TiO_2 -Nanopartikeln (21 nm) durchgeführt und diese wurden mittels TGA und FT-IR analysiert. Anschließend wurde eine SI-ATRP von **VBTAC** auf Titanträgern (20 mm x 10 mm x 1 mm) durchgeführt und charakterisiert (Schema 6).



Schema 6: SI-ATRP mit **VBTAC** auf TiO_2 oder Titanoberflächen.

VBTAC wurde hier exemplarisches, als kationisches Monomer verwendet, um eine polykationische Oberfläche mit einem kontaktbioziden Effekt zu generieren. Hierbei soll bei dem Protokoll direkt das Polykation erzeugt werden, um eine Postmodifikation mit toxischen Alkylanzien zu umgehen. Bisher wurde eine polykationische Oberfläche über einen phosphonatbasierten Initiator nur durch eine Postmodifikation erhalten.⁸⁹

Ein weiterer Vorteil der kationischen Ladung ist die Ermöglichung von zusätzlichen qualitativen und quantitativen Analysemöglichkeiten im Gegensatz zu einem ungeladenen Polymer wie Polystyrol. Der Kontaktwinkel sollte bei einem Polykation durch die hydrophile Schicht typischerweise sehr niedrig sein, was eine einfache und schnelle, qualitative Aussage zum Erfolg der SI-ATRP erlaubt. Weiter sind polykationische Oberflächen über einen Fluorescein Assay^{43, 46} über die Dichte der lösungsmittelzugänglichen Ladungen zu vergleichen.

SI-ATRP auf TiO₂-Nanopartikeln

Zunächst wurde die SI-ATRP mit **VBTAC** auf den TiO₂-Nanopartikeln mit immobilisierten bifunktionalen Phosphonsäuren durchgeführt. Hierbei wurde als Katalysator CuBr mit PMDETA als Ligand verwendet. Die SI-ATRP wurde in Wasser bei 70 °C durchgeführt, was zu dichten Polymerschichten auf den Nanopartikeln führte. Die Polymerisationslösung war über die gesamte Reaktionszeit hellgrün gefärbt, was auf das Vorhandensein von Cu(I) hindeutet. Zu einer Verfärbung zu dunkelblau und Bildung von Cu(II)-Spezies kam es erst nach der Belüftung der Bördelgefäße und Entnahme der Träger. Somit ist garantiert, dass der Katalysator die ganze Reaktionszeit vorhanden war. Die erhaltenen Nanopartikel wurden mit Wasser gewaschen und nach Gefriertrocknung mit TGA und FT-IR analysiert.

TGA

TGA der erhaltenen TiO₂-Nanopartikel zeigen eine erfolgreiche SI-ATRP mit **VBTAC** über alle Initiatoren. Alle zeigen einen für ammoniumhaltige Polymere charakteristischen zweistufigen Verlauf (Abbildung 21A). Die erste Stufe ist die Abspaltung der quartären Ammoniumgruppe über eine Hoffmann-Eliminierung oder S_N2 Reaktion.^{127, 128} Die zweite Stufe ist die thermische Zersetzung des restlichen Polymers über eine β-Spaltung, Disproportionierung oder Wasserstoffabstraktion. Das Polymerrückgrat zersetzt sich dabei vorrangig in Styrol Monomere, Dimere und Trimere.¹²⁹ Es verbleiben somit nicht zersetzbare aromatische Reste, sowie die TiO₂-Nanopartikel als Rückstand.¹³⁰ Aber auch stickstoffhaltige, zyklische Komponenten könnten als Rückstand verbleiben, solche wurden bereits in anderen Polymeren mit quartären Ammoniumgruppen gefunden.¹³¹

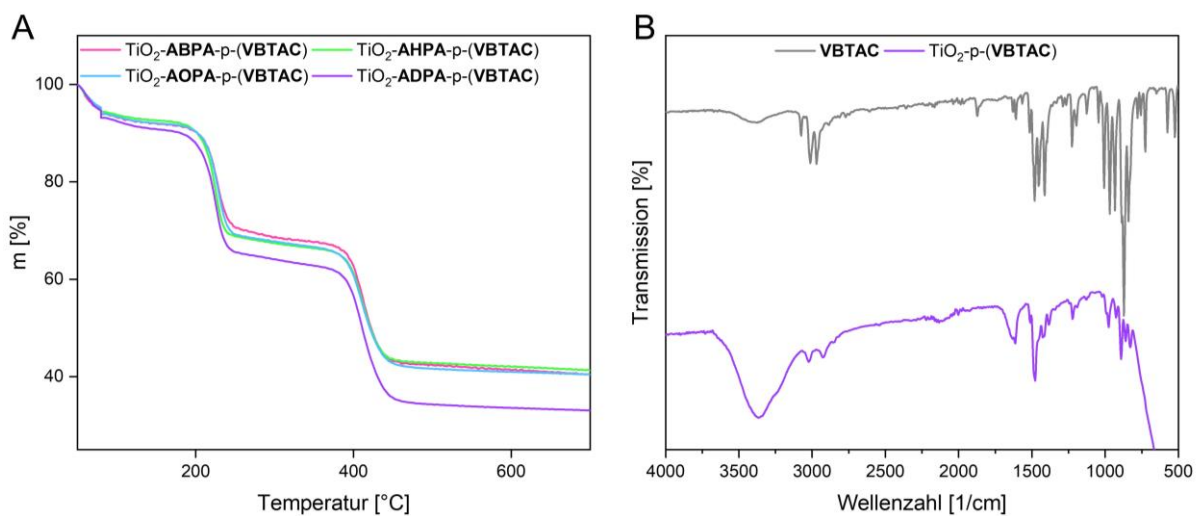


Abbildung 21: A) TGA-Kurven von TiO₂-ABPA-p-(VBTAC), TiO₂-AHPA-p-(VBTAC), TiO₂-AOPA-p-(VBTAC) und TiO₂-ADPA-p-(VBTAC), B) FT-IR Spektrum von TiO₂-ADPA-p-VBTAC im Vergleich zum Spektrum von VBTAC.

Die ermittelten Massenverluste sind der Tabelle 5 zu entnehmen. Die Masse des Polymers nahm mit der Länge der Alkylkette zu und war bei **ADPA** am höchsten.

Tabelle 5: Massenverlust Δm , Polymerisationsausbeute des Polymers σ , Schichtdicke d und theoretische Ladungsdichte.

	Δm [%] ^a	σ [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$] ^b	d [nm] ^c	Ladungsdichte [$10^5 \text{ N}^+/\text{cm}^2$] ^d
TiO ₂ - ABPA -p-(VBTA C)	50.70	1.98	19	5.64
TiO ₂ - AHPA -p-(VBTA C)	50.77	1.99	19	5.66
TiO ₂ - AOPA -p-(VBTA C)	51.41	2.04	19	5.81
TiO ₂ - ADPA -p-(VBTA C)	57.34	2.59	25	7.38

Anmerkungen: **a:** Massenverluste sind aus drei unabhängigen Messungen im Mittel kalkuliert, **b:** Polymerisationsausbeute wurde mit Formel 4 berechnet, **c:** Schichtdicke wurde mit Formel 5 bestimmt, **d:** Ladungsdichte der Ammoniumgruppe wurde mit der Formel 6 berechnet.

Anhand der ermittelten Massenverluste kann die Polymerisationsausbeute σ des Polymers mit der Formel 4 berechnet werden:

$$\sigma(p\text{VBTA}C) = \frac{m(p - \text{VBTA}C)}{(m(\text{TiO}_2 - p - \text{VBTA}C) - m(p - \text{VBTA}C)) * S_m}$$

Formel 4 mit der Polymerisationsausbeute σ , der Masse des Polymer $m(p\text{-VBTA}C)$, der Masse der analysierten Nanopartikel $m(\text{TiO}_2\text{-}p\text{-}(\text{VBTA}C))$ und der spezifischen Oberfläche der TiO₂-Nanopartikel $S_m = 51.82 \text{ m}^2/\text{g}$.

Mit der Polymerisationsausbeute lässt sich eine theoretische Schichtdicke des Polymers mit der Formel 5 berechnen:

$$d = \frac{\sigma(p - \text{VBTA}C)}{\rho * 1 \text{ cm}^2}$$

Formel 5 mit der Schichtdicke d , der Polymerisationsausbeute des Polymers σ und der Dichte des Polymers $\rho = 1.05 \text{ g}/\text{cm}^3$.¹¹⁴

Zusätzlich kann die erwartete Ladungsdichte der Ammoniumionen pro cm^2 mit Formel 6 berechnet werden:

$$\frac{N^+}{\text{cm}^2} = \frac{\sigma(p\text{VBTA}C) * N_A}{M(\text{VBTA}C) * 10^4}$$

Formel 6 mit der Polymerisationsausbeute des Polymers σ , der Avogadro-Konstante N_A und der molaren Masse des Monomers $M(\text{VBTA}C) = 11.73 \text{ g}/\text{mol}$.

Für TiO_2 -**ABPA**-p-(**VBTA**C), TiO_2 -**AHPA**-p-(**VBTA**C), TiO_2 -**AOPA**-p-(**VBTA**C) und TiO_2 -**ADPA**-p-(**VBTA**C) ergab sich eine Polymerisationsausbeute zwischen 1.98 bis 2.59 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und eine Polymerschichtdicke von 19 bis 25 nm (Tabelle 5). Beide Werte nahmen mit der Alkyllänge der Initiatoren zu und war für **ADPA** am höchsten. Somit führt eine höhere Beladungsdichte der Oberfläche mit Initiatoren auch zu einer höheren Polymerisationsausbeute sowie zu dickeren Schichtdicken.

FT-IR

Die erfolgreiche SI-ATRP mit dem Monomer **VBTA**C konnte für alle vier bifunktionalen Initiatoren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** durch FT-IR Spektren bestätigt werden (siehe Anhang). Exemplarisch ist in Abbildung 21B das Spektrum von TiO_2 -**ADPA**-p-(**VBTA**C) im Vergleich zum Spektrum vom Monomer **VBTA**C aufgetragen. Es sind keine für **ADPA** charakteristischen Banden mehr zu erkennen, was auf eine homogene und dichte Polymerschicht deutet. Die breite Bande bei 3375 cm^{-1} der OH-Streckschwingung ist im Polymer gebundenem Wasser zuzuordnen. Aromatische bzw. aliphatische CH-Streckschwingungen des Polymers sind bei den Banden bei 3375 bzw. 3020 cm^{-1} zu erkennen. Die NH-Valenzschwingung der Ammoniumgruppe ist bei 2846 cm^{-1} zu erkennen, zusätzlich sind die Schwingungen der Ammoniumgruppe bei 1480 cm^{-1} zu erkennen.^{128, 132} Bei 1647 cm^{-1} sind aromatische CC-Streckschwingungen und bei 1230 cm^{-1} sind CN-Streckschwingungen zu erkennen.

SI-ATRP auf Titanbulkmaterial

Auf den mit Initiatoren modifiziertem Titanbulkmaterial wurde SI-ATRP mit **VBTA**C durchgeführt. Es wurde CuBr als Katalysator verwendet und PMDETA als Ligand. Nach zwei Stunden bei $37\text{ }^\circ\text{C}$ wurden dichte Polymerschichten erhalten, welche mit unterschiedlichen Methoden analysiert und verglichen wurden. Die Polymerisationslösung war die ganze Zeit hellgrün gefärbt, was das Vorhandensein von Cu(I)-Spezies garantiert. Die Träger wurden nach Entfernen aus der Lösung mehrmals gewaschen.

Kontaktwinkel

Zunächst wurde die erfolgreiche SI-ATRP mittels Kontaktwinkelbestimmung bestätigt. Für Ti -**ABPA**-p-(**VBTA**C), Ti -**AHPA**-p-(**VBTA**C), Ti -**AOPA**-p-(**VBTA**C) und Ti -**ADPA**-p-(**VBTA**C) wurden niedrige Kontaktwinkel unter 20° ermittelt (Tabelle 6), was auf eine sehr hydrophile Oberfläche hinweist und typisch ist für ein Polykation wie p-(**VBTA**C). Der Kontaktwinkel hängt

bei den Kationen auch von dem Gegenion ab, welches in dem Fall des verwendeten **VBTAC** Chlorid ist. Bei anderen Gegenionen wie z.B. Perchlorat können auch höhere Kontaktwinkel beobachtet werden.¹³³ Dies sollte bei der Beurteilung der Kontaktwinkel immer berücksichtigt werden.

Tabelle 6: Kontaktwinkel nach Immobilisierung der bifunktionalen Phosphonsäuren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** und nach SI-ATRP mit **VBTAC**.

Ti- ABPA	67.3° ± 6	Ti- ABPA -p- (VBTAC)	12.2° ± 1
Ti- AHPA	60.4° ± 1	Ti- AHPA -p- (VBTAC)	15.6° ± 3
Ti- AOPA	65.8° ± 4	Ti- AOPA -p- (VBTAC)	12.6° ± 3
Ti- ADPA	64.8° ± 1	Ti- ADPA -p- (VBTAC)	13.5° ± 3

Anmerkung: Kontaktwinkel sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen ± Standardabweichung angegeben.

XPS

Die chemische Zusammensetzung des gebildeten Polymers wurde durch XPS-Messungen bestätigt. Beispielhaft wurde hier Ti-**AHPA**-p-(**VBTAC**) vermessen. Im Übersichtsspektrum sind keine charakteristischen Peaks vom Titan Untergrund oder von der immobilisierten Phosphonsäure **AHPA** mehr zu erkennen, was auf eine flächendeckende Polymerisation mit Schichtdicken von mindestens einigen Nanometern schließen lässt (Abbildung 22A und Anhang). Die chemische Zusammensetzung von dem gebildeten Polymer p-(**VBTAC**) kann durch die hochaufgelösten Spektren von N 1s und C 1s und durch die Atomverhältnisse bestätigt werden. Das hochaufgelöste Spektrum von N 1s zeigt einen Peak bei 402.2 eV, was auf eine Ammoniumgruppe schließen lässt.^{114, 134} Das C 1s Spektrum kann in drei Peaks bei 284.5, 285.9 und 291.1 eV aufgespalten werden. Die Signale bei 284.5 und 285.9 eV weisen auf aliphatische CH-Bindung hin, aromatische C=C Bindungen sind dem Signal bei 291.1 eV zuzuordnen.¹¹⁴ Im Polymer eingeschlossenes Wasser kann durch schwache Peaks im O 1s Spektrum bei 531.6 und 530.2 eV nachgewiesen werden (siehe Anhang). Der Peak bei 197.6 eV für das Cl 2p Orbital ist dem Chloridgegenion zuzuordnen. Ein sehr schwaches Signal kann noch dem S 2p Orbital zugeordnet werden, was auf Verunreinigungen durch Verpackungsmaterialien deuten könnte. Weitere Elemente wurden nicht nachgewiesen. Es wäre noch ein Signal für das Br 3p Orbital zu erwarten gewesen, da die Polymerketten bei der

SI-ATRP typischerweise durch die Kettenabbruchreaktion eine CBr-Bindung ausbildet. Ein fehlendes Signal für das Br 3p Orbital (siehe Anhang) kann auf zwei Phänomene deuten: entweder liegen die Enden der Polymerketten nicht im gemessenen Bereich oder es sind nur für die Polymerisation nicht mehr verfügbare Polymerenden zu erkennen. Ein Fehlen der Brom-Endgruppe nach SI-ATRP wurde bereits in der Literatur beobachtet.¹³⁵ Weiter ist noch zu beachten, dass kein Signal auf ein Vorhandensein von Resten des Kupferkatalysator hindeutet (siehe Anhang). Dies ist wichtig um auszuschließen, dass eine antibakterielle Aktivität durch das Kupfer hervorgerufen wird.¹³⁶ Das beobachtete Atomverhältnis für N/C liegt bei 0.06 und ist somit im erwarteten Bereich des berechneten Verhältnis von 0.08.

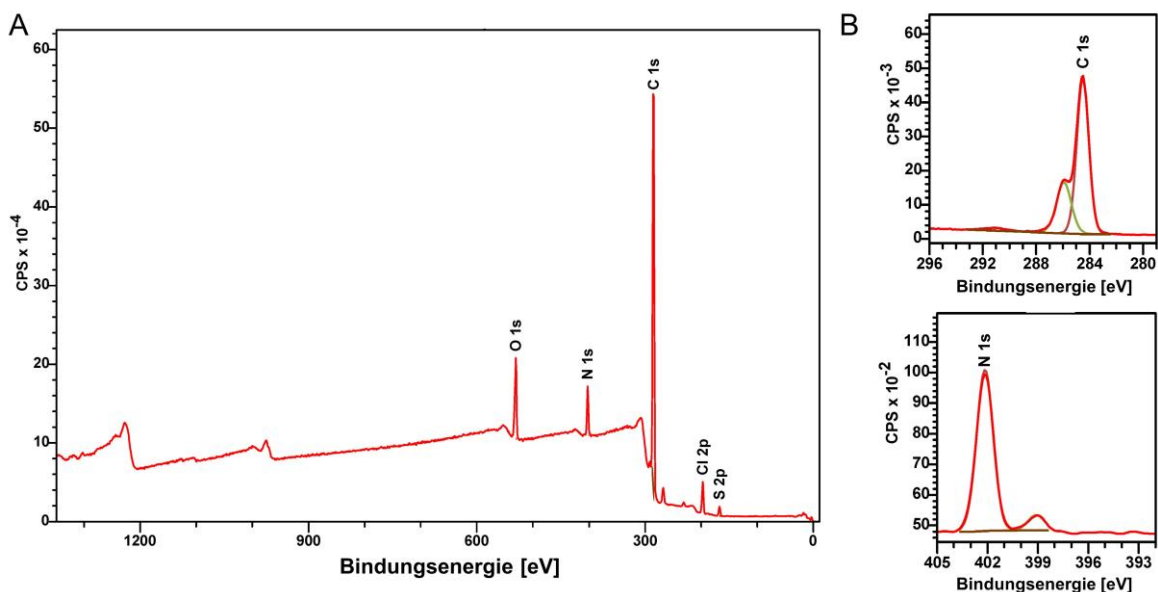


Abbildung 22: Ergebnisse der XPS Analytik, A) Übersichtsspektrum von Ti-AHPA-p-(VBTA), B) hochaufgelöste Spektren für C 1s und N 1s.

Fluorescein Assay

Zur Quantifizierung der lösungsmittelzugänglichen Kationen kann der Fluorescein Assay von TILLER *et al.*⁴³ und MURATA *et al.*⁴⁶ verwendet werden. In Abbildung 23 ist das Prinzip des Assays gezeigt. Das Polymer mit den Kationen wird zunächst mit einer Fluoresceinlösung behandelt. Hierbei kommt es zu einem Anionenaustausch, wobei ein Fluorescein an einem Kation adsorbiert. Nicht gebundenes Fluorescein wird dann abgewaschen. Typischerweise färbt sich ein modifizierter Träger dann grünlich bis rötlich, was bereits eine qualitative Kontrolle ermöglicht. Anschließend wird das adsorbierte Fluorescein mit Cetyltrimethylammoniumchlorid (CTAC) desorbiert.

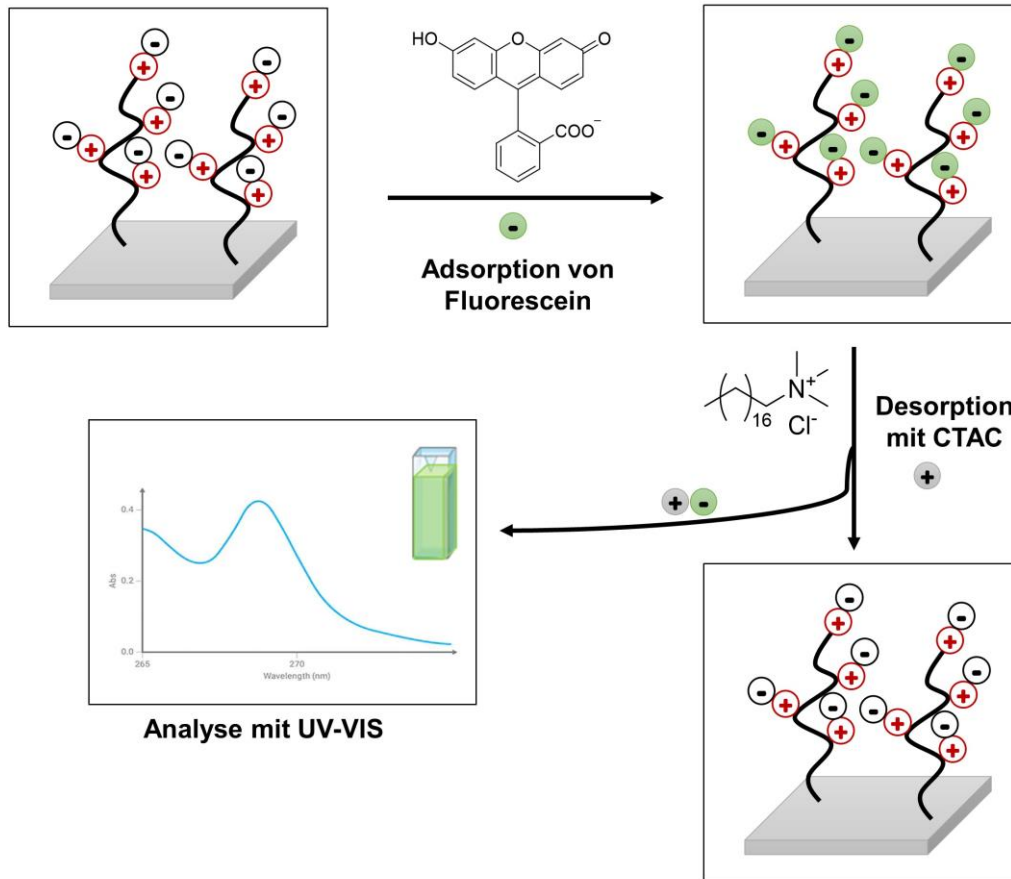


Abbildung 23: Fluorescein Assays nach Tiller *et al.*⁴³ und Murata *et al.*⁴⁶. Zunächst werden die Träger mit einer wässrigen Fluoresceinlösung behandelt, es kommt zu einem Anionenaustausch. Anschließend wird das Fluorescein mit Cetyltrimethylammoniumchlorid (CTAC) desorbiert. Die erhaltene Fluoresceinlösung wird dann bei einer UV-Länge von 501 nm quantifiziert. Die ermittelte Konzentration korreliert mit der Ladungsdichte der Kationen im Polymer, wenn von einem 1:1 Verhältnis des Fluorescein und der Ammoniumgruppen ausgegangen wird.

Das desorbierte Fluorescein kann dann mittels UV-VIS Spektroskopie quantifiziert werden und über das Lambert-Beersche-Gesetz wird die Fluoresceinkonzentration c erhalten.

$$c = \frac{(A - A_0)}{d * \varepsilon}$$

Formel 7 mit der Konzentration c , der gemessenen Absorption A bei 501 nm der Lösung des Trägers, der Absorption bei 501 nm einer Lösung eines Kontrollträgers A_0 , die Schichtdicke d und des Extinktionskoeffizienten von Fluorescein $\varepsilon = 77,000 \text{ 1/M*cm}$.

Über die Fluoresceinkonzentration kann dann die Ladungsdichte der Kationen über folgende Formel berechnet werden:

$$\frac{N^+}{\text{cm}^2} = \frac{c * V * N_A}{A}$$

Formel 8 mit der Konzentration c , dem Volumen der Desorptionslösung V , der Avogadro-Konstante N_A und der beschichteten Oberfläche des Trägers A .

Für die Träger Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**), Ti-**AHPA**-p-(**VBTAC**), Ti-**AOPA**-p-(**VBTAC**) und Ti-**ADPA**-p-(**VBTAC**) ergab der Fluorescein Assay zwischen 10^{15} und 10^{16} N⁺ pro cm² (Tabelle 7). Als Kontrollträger wurde ein gereinigter Träger ohne immobilisierte Initiatoren mit SI-ATRP Bedingungen behandelt, dieser ist als Ti_{ATRP} ctrl bezeichnet. In der Dichte der lösungsmittelzugänglichen Ladungen sind keine großen Unterschiede zwischen den Initiatoren festzustellen, wobei Ti-**ADPA**-p-(**VBTAC**) die höchste Ladungsdichte mit $14.2 \cdot 10^{15}$ N⁺ pro cm² aufweist. Die Ladungsdichte von Ammoniumgruppen im Polymer lässt sich nicht nur zum Vergleich der Polymerisationsketten verwenden, sondern kann auch zur Abschätzung der möglichen antimikrobiellen Wirkung dienen. MURATA *et al.*⁴⁶ haben verschiedene Ladungsdichten von quartären Ammoniumgruppen verglichen und festgestellt, dass Ladungsdichten von größer als $5 \cdot 10^{15}$ N⁺ pro cm² ausreichen, um eine Monolage des gramnegativen Keims *E. coli* abzutöten. Für die Träger Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**), Ti-**AOPA**-p-(**VBTAC**) und Ti-**ADPA**-p-(**VBTAC**) kann also eine antimikrobielle Aktivität vermutet werden. Die ermittelte Ladungsdichte für Ti-**AHPA**-p-(**VBTAC**) liegt leicht unter dem Grenzwert.

Tabelle 7: Ladungsdichten der quartären Ammoniumgruppen N⁺ pro cm² bestimmt mit dem Fluorescein Assay.

Ti _{ATRP} ctrl	Ti- ABPA -p-(VBTAC)	Ti- AHPA -p-(VBTAC)	Ti- AOPA -p-(VBTAC)	Ti- ADPA -p-(VBTAC)
-0.1 ± 0.0	8.8 ± 4.2	2.4 ± 0.2	9.8 ± 2.3	14.2 ± 3.0

Anmerkung: Die Werte sind in 10^{15} und als Mittelwert ± Standardabweichung von drei Trägern angegeben und berechnet aus drei Bestimmungen der UV-VIS Absorption.

SIMS-ToF gekoppelt mit SPM

Zur Analyse der chemischen Zusammensetzung und Ermittlung des Tiefenprofils der Oberfläche einer Probe kann SIMS-ToF gekoppelt mit SPM verwendet werden. SIMS-ToF steht für die Kombination aus Sekundärionenmassenspektrometrie (SIMS) und Flugzeit-Massenanalysator (engl. *time of flight detector* = TOF). SPM (engl. *scanning probe microscopy*) ist die Abkürzung für Rastersondenmikroskopie.

Das Prinzip der SIMS-ToF Analytik ist in Abbildung 24 dargestellt. Zunächst wird eine Probe mit Primärionen, z.B. Bi₃⁺-Clusterionen, einer bestimmten Energie, z.B. 30 keV, beschossen. Es kommt zu einer Stoßkaskade, wobei einzelne Oberflächenatome, -moleküle, Cluster oder Fragmente aus der Oberfläche herausgelöst werden. Diese Sekundärpartikel können auch geladene Teilchen darstellen, welche als Sekundärionen bezeichnet werden. Diese Sekundärionen können durch einen geeigneten Massenanalysator nach ihrer Masse getrennt werden. Als Massenanalysator kann u.a. ein ToF-Analysator verwendet werden, welcher eine Massenauflösung von $m/\Delta m > 10^5$ erreichen kann. Hierbei werden die Teilchen nach ihrer

Flugzeit getrennt, welche durch die Masse bestimmt ist. Die einzelnen Sekundärionen erreichen dann den Detektor zu unterschiedlichen Zeiten und sind somit zu unterscheiden. Die bestimmte Signalintensität dient zur Auswertung der chemischen Zusammensetzung und es wird ein sehr genaues Abbild der Probenoberfläche erhalten. Mittels SIMS-ToF können die ersten atomaren Schichten nahezu zerstörungsfrei analysiert werden. Um ein Tiefenprofil zu erhalten, kann ein zusätzlicher zweiter Ionenstrahler als Sputterquelle verwendet werden (Abbildung 24 in rot). Die Sputterquelle erzeugt, z.B. mit Argonclustern, einen Krater, während die Analysequelle gleichzeitig den Kraterboden analysiert.

Wenn die SIMS-ToF noch mit einer Mikroskopie, wie der SPM gekoppelt wird, kann eine 3D-Analyse der Probe durchgeführt werden. Die Topographie und Schichtdicke der vermessenen Probe kann zusätzlich ermittelt werden.

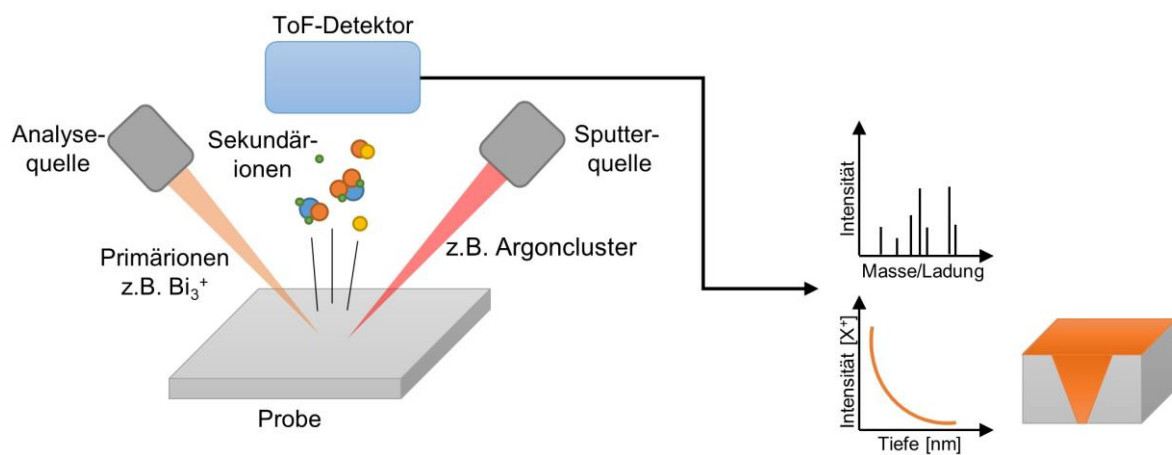


Abbildung 24: Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS) mit Flugzeitdetektor (ToF). Mit der Analysequelle werden Primärionen auf die Probe geschossen und es kommt zur Ablösung von Sekundärionen und weiteren Fragmenten. Die Sekundärionen können mit dem ToF-Analysator und einem geeigneten Detektor analysiert werden. Es wird die Intensität gegen die Masse/Ladung aufgetragen. Durch Zuschaltung einer Sputterquelle kann ein Krater erzeugt werden und ein Tiefenprofil der Probe erhalten werden.

Für die Träger Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**), Ti-**AHPA**-p-(**VBTAC**), Ti-**AOPA**-p-(**VBTAC**) und Ti-**ADPA**-p-(**VBTAC**) wurden SIMS-ToF Analysen der Oberfläche durchgeführt (Abbildung 25). Als Analysequelle wurde eine 25 keV Bismutquelle und als Sputterquelle ein Argoncluster verwendet. Beispielhaft wurde für Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**) eine korrelative 3D-Analyse mit SIMS-ToF und SPM durchgeführt (Abbildung 25B). In diesem Fall wurden SPM Aufnahmen der Oberfläche vor und nach der Tiefenprofilanalyse durchgeführt. Diese zeigen eine durchgehende Polymerschicht auf der gesamten Oberfläche, was eine erfolgreiche, flächendeckende SI-ATRP auf der Oberfläche bestätigt.

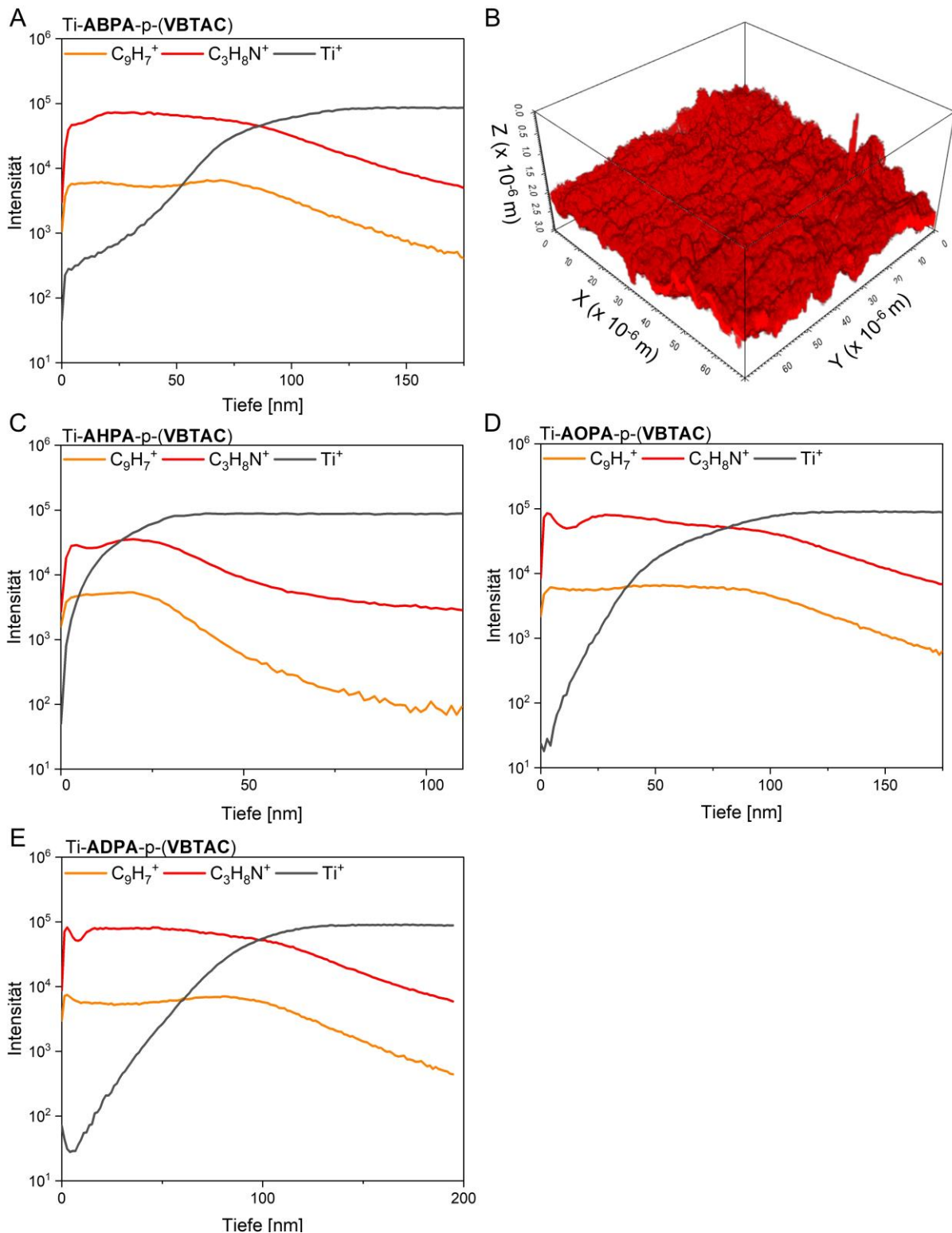


Abbildung 25: 3D Massenspektrometrie von Ti-ABPA-p-(VBTAC). A) Plot der charakteristischen Signale des Polymers p-(VBTAC) $C_9H_7^+$ (orange) und $C_3H_8N^+$ (rot) gegen die Schichtdicke. Für den Titanträger wurde Ti^+ als charakteristisches Signal gewählt (schwarz). B) Korrelative SPM/SIMS-3D Aufnahme von Ti-ABPA-p-(VBTAC) mit Darstellung der räumlichen Verteilung des intensivsten Signals $C_3H_8N^+$ (rot). SIMS-ToF Plot für C) Ti-AHPA-p-(VBTAC), D) Ti-AOPA-p-(VBTAC), E) Ti-ADPA-p-(VBTAC).

Für alle Träger wurden in hoher Intensität charakteristische Signale für das Polymer p-(VBTAC) nachgewiesen ($C_9H_7^+$ (orange) und $C_3H_8N^+$ (rot) (Abbildung 25A, C-E)). Dies stellt

einen qualitativen Nachweis der chemischen Zusammensetzung der gebildeten Polymere dar. Die charakteristischen Signale wurden gegen die Schichtdicke aufgetragen.

Anhand der Intensität des intensivsten Signals $C_3H_8N^+$ (rot) wurde eine durchschnittliche Schichtdicke des gebildeten Polymers geschätzt. Dies ergab Schichtdicken zwischen 25 und 100 nm (Tabelle 8), die höchste Schichtdicke wurde für Ti-**AOPA-p-(VBTAC)** und Ti-**ADPA-p-(VBTAC)** ermittelt, also den Polymeren ausgehend von den zwei Initiatoren mit den längsten Alkylketten.

Tabelle 8: Schichtdicke, Polymerisationsausbeute und gesamte Ladungsdichte für die Träger Ti-**ABPA-p-(VBTAC)**, Ti-**AHPA-p-(VBTAC)**, Ti-**AOPA-p-(VBTAC)** und Ti-**ADPA-p-(VBTAC)**.

	d [nm] ^a	σ [μg/cm ²] ^b	Ladungsdichte [10 ⁵ N ⁺ /cm ²] ^c
Ti- ABPA-p-(VBTAC)	75	7.88	22.4
Ti- AHPA-p-(VBTAC)	25	2.63	7.5
Ti- AOPA-p-(VBTAC)	100	10.5	29.9
Ti- ADPA-p-(VBTAC)	100	10.5	29.9

Anmerkung: **a:** Schichtdicke d wurde aus der SIMS-ToF Messung geschätzt, **b:** Polymerisationsausbeute σ wurde mit Formel 9 berechnet, **c:** Ladungsdichte der Ammoniumgruppen wurde mit der Formel 10 berechnet.

Aus den ermittelten Schichtdicken wurde die Polymerisationsausbeute in $\mu\text{g pro cm}^2$ mit der Formel 9 berechnet.

$$\sigma (\text{p} - \text{VBTAC}) = d * 1 \text{ cm}^2 * \rho$$

Formel 9 mit der Polymerisationsausbeute σ , der Schichtdicke d und der Dichte des Polymers **VBTAC** ρ , hier wurde die Dichte eines styrolbasierten Polymers verwendet = 1.05 g/cm^3 .¹¹⁴

Anhand der Polymerisationsausbeute kann zusätzlich die gesamte Ladungsdichte der Ammoniumionen pro cm^2 mit Formel 10 berechnet werden.

$$\frac{N^+}{\text{cm}^2} = \frac{\sigma (\text{p} - \text{VBTAC}) * N_A}{M(\text{VBTAC}) * 10^4}$$

Formel 10 mit der Ladungsdichte der gesamten Kationen im Polymer N^+/cm^2 , der Polymerisationsausbeute σ , der Avogadro-Konstante N_A und der molaren Masse des Monomers **VBTAC** $M = 211.73 \text{ g/mol}$.

Für Ti-**AOPA-p-(VBTAC)** und Ti-**ADPA-p-(VBTAC)** konnte eine Polymerisationsausbeute von $10.5 \mu\text{g pro cm}^2$ erreicht werden. Dies ist damit deutlich höher als die Ausbeute der SI-ATRP auf TiO_2 -Nanopartikeln (Vergleich Tabelle 5). Bei den Ladungsdichten konnte ein ähnlicher Trend wie bei den lösungsmittelzugänglichen Ladungsdichten bestimmt über den Fluorescein Assay beobachtet werden (Vergleich Tabelle 7). Die niedrigste Ladungsdichte wurde für Ti-

AHPA-p-(VBTAC) während die höchste für **Ti-ADPA-p-(VBTAC)** ermittelt wurde. Alle, durch den Fluorescein Assay bestimmten, Werte (2.4 bis $14.2 \cdot 10^{15} \text{ N}^+$ pro cm^2) liegen aber wesentlich unter den durch die Schichtdicke berechneten Werten (7.5 bis $29.9 \cdot 10^{15} \text{ N}^+$ pro cm^2). Dies bestätigt nochmal, dass durch den Fluorescein Assay wirklich nur die lösungsmittelzugänglichen Ladungen bestimmt werden.

Mikrobiologische Evaluierung mit ASTM E2149-13a

Für die Evaluierung der kontaktbioziden Eigenschaften von modifizierten Oberflächen können verschiedene Methoden verwendet werden.¹³⁷ Die Methoden zur Bestimmung der kontaktbioziden Eigenschaften sind der Abbildung 26 zu entnehmen. Bei der Petrifilm® Methode wird der modifizierte Träger zwischen zwei transparenten Filmen eingeschlossen. Der untere Film beinhaltet Nährstoffe, einen Gelbildner und einen Indikatorfarbstoff. Auf diesen Film wird der Träger aufgebracht und die Bakteriensuspension auf den Träger getropft. Der obere Film verschließt das System. Bei der *Japanese Industrial Standard* (JIS) Methode wird auf den Träger eine Bakteriensuspension getropft und diese in einem abgeschlossenen Gefäß inkubiert. Anschließend wird die Bakteriensuspension auf einem Agar bebrütet. Bei der modifizierten JIS Methode werden Bakterien auf einen Filter gegeben. Auf die Träger werden in einem abgeschlossenen Gefäß zunächst ein Nährboden getropft und anschließend der Filter mit dem Bakterien Inokulum aufgebracht. Nach Inkubation werden die Bakterien aus dem Filter gelöst und auf einem Agar bebrütet. Bei der Bakteriensprühmethode wird eine Bakteriensuspension auf den Träger aufgesprüht. Nach Bebrüten wird ein Life-Dead-Staining durchgeführt und unter einem Fluoreszenz-Mikroskop ausgewertet. Bei dem ASTM Assay E2149-13a wird der kontaktbiozide Träger in einer Bakteriensuspension inkubiert und die anschließend noch wachsenden Kolonien durch Bebrüten auf Agar bestimmt (Abbildung 26E). In dieser Arbeit wurde der ASTM Assay E2149-13a in leicht abgewandelter Form verwendet, da sich mit dieser Methode viele Proben in kurzer Zeit testen lassen. Zudem kann hier ein antimikrobieller Effekt quantifiziert und gut verglichen werden. Alle getesteten Modifikationen wurden immer im Vergleich zu einem unmodifizierten Kontrollträger beurteilt.

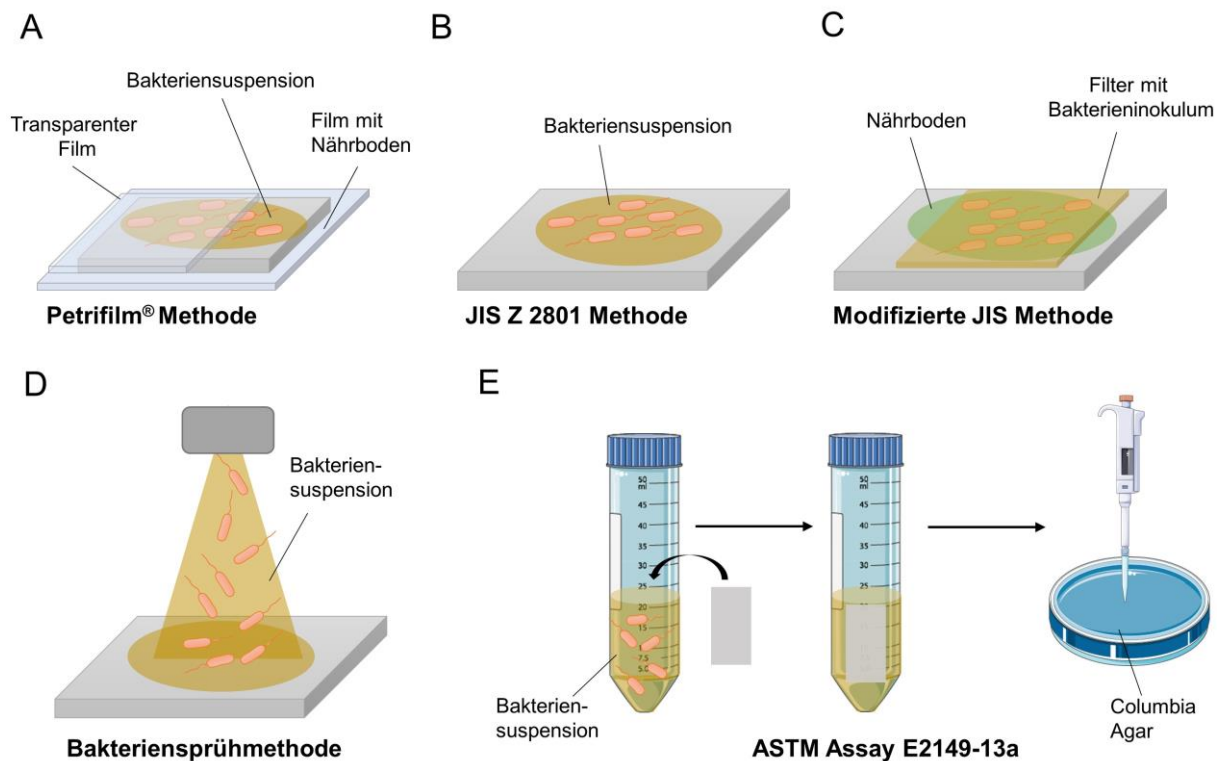


Abbildung 26: Methoden zur Testung der kontaktbioziden Eigenschaften nach VAN DE LAGEMAAT *et al.*¹³⁷ A) Petrifilm® Methode, B) JIS Z 2801 Methode, C) modifizierte JIS Methode und D) Bakteriensprühmethode und E) ASTM Assay E2149-13a. In einer definierten Bakteriensuspension wird der modifizierte Träger bei 37 °C für 2 h inkubiert, anschließend wird eine bestimmte Menge der Bakteriensuspension auf einem Columbia-Agar bebrütet und die KBE gezählt.

Ti-ABPA-p-(VBTAC), Ti-AHPA-p-(VBTAC), Ti-AOPA-p-(VBTAC) und Ti-ADPA-p-(VBTAC) und Kontrollträger wurden mit dem ASTM Assay E2149-13a getestet. Alle Träger wurden vor der Testung desinfiziert. Als Testpathogen wurde zunächst der grampositive *Staph. aureus* ATCC 25923 verwendet. Dieser wurde für 12 h auf Columbia Agar bebrütet und auf eine Konzentration von 10^5 KBE/mL mit steriler NaCl-Lösung verdünnt. Die Titanträger (Oberfläche = 4.6 cm^2) wurden zu der Bakteriensuspension gegeben und für zwei Stunden bei 37 °C auf einem Schüttler (120 pm) inkubiert. Dies entspricht einer exponierten Bakterienkonzentration von $0.9 \cdot 10^5$ KBE/cm². Nach Entfernung der Träger wurde von der Bakteriensuspension 100 µL und 100 µL von zwei Verdünnung der Suspension auf Columbia Agar für 18 h bei 37 °C bebrütet. Als Kontrolle diente ein gereinigter Titanträger (Ti ctrl) und ein SI-ATRP-Kontroll-Träger ohne immobilisierten Initiator, welcher unter SI-ATRP Bedingungen mit VBTAC behandelt wurde (Ti_{ATRP} ctrl). Zusätzlich wurde eine Wachstumskontrolle und eine Sterilkontrolle durchgeführt. Die KBE wurden gezählt und die log₁₀-Reduktion mit der Formel 11 berechnet.

$$\text{Bakterien } \log_{10} - \text{Reduktion} = \log_{10} \left(\frac{N_0}{N} \right)$$

Formel 11 mit der Bakterien \log_{10} -Reduktion, der Nummer der KBE vor der Inkubation N_0 und der Nummer der KBE nach der Inkubation N .

Für Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**) ergibt sich im Mittel eine \log_{10} -Reduktion von 3.4, für Ti-**AHPA**-p-(**VBTAC**) eine von 3.7, für Ti-**AOPA**-p-(**VBTAC**) eine von 3.2 und für Ti-**ADPA**-p-(**VBTAC**) ergibt sich eine \log_{10} -Reduktion von 3.2. Für alle Träger ist somit eine signifikante Reduktion der KBE im Vergleich zu den Kontrollen bestätigt und ein kontaktbiozider Effekt gegen *Staph. aureus* nachgewiesen. Diese liegen auch über dem gewünschten Schwellenwert von 2.¹³⁸ Die Auftragung der \log_{10} -Reduktion im Vergleich zu den Kontrollträgern ist der Abbildung 27 zu entnehmen.

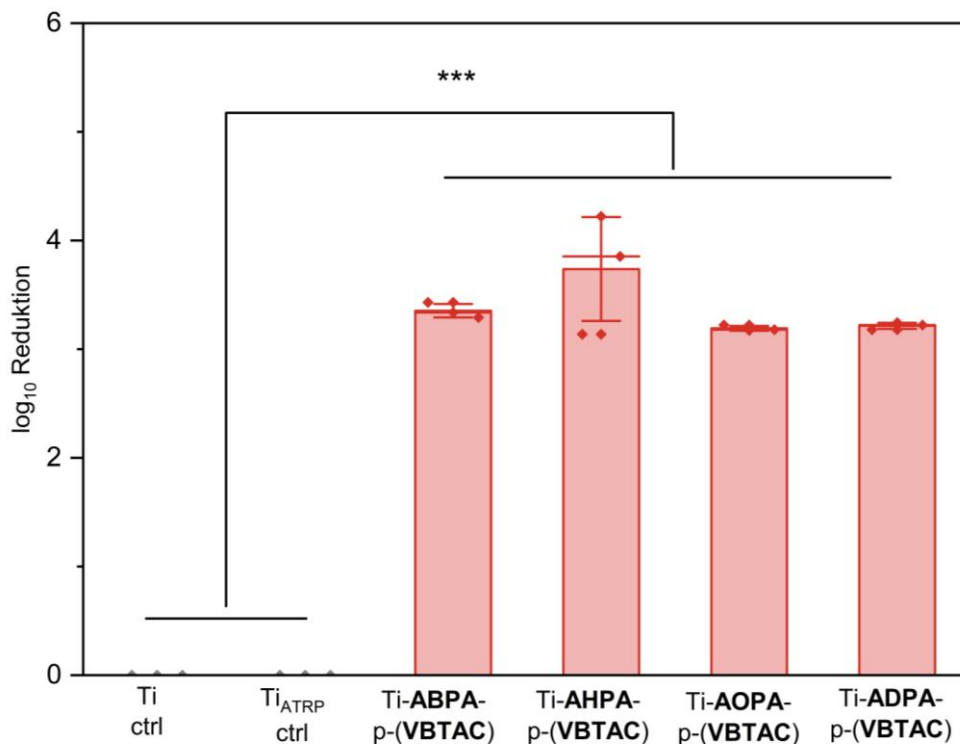


Abbildung 27: Ergebnisse des ASTM Assay E2149-13a mit *Staph. aureus* ATCC 25923 angegeben als \log_{10} -Reduktion für Ti ctrl, Ti_{ATRP} ctrl, Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**), Ti-**AHPA**-p-(**VBTAC**), Ti-**AOPA**-p-(**VBTAC**) und Ti-**ADPA**-p-(**VBTAC**). Die Balken zeigen die Mittelwerte einer Dreifachbestimmung mit der Standardabweichung (als Fehlerbalken), dem Median (als Strich) und den einzelnen Messwerten (als Kubus). Statistische Signifikanz wurde durch paarweisen Vergleich mittels Tukey Test ermittelt, $p < 0.001$ (***).

Mit dem Träger Ti-**ADPA**-p-(**VBTAC**) wurde der ASTM Assay noch auf kontaktbiozide Eigenschaft gegen weitere Bakterienstämme getestet. Es wurde ein weiterer *Staph. aureus* Stamm (ATCC 29213) und die gramnegativen Stämme *P. aeruginosa* (PA01) und *E. coli* (ATCC 25922) getestet (Abbildung 28). Für alle Stämme konnte ein signifikanter Effekt nachgewiesen werden. Gegen *E. coli* wurde mit 4.5 die beste \log_{10} -Reduktion erhalten. Gegen

den zweiten *Staph. aureus* Stamm und gegen *P. aeruginosa* wurden etwas geringe antimikrobielle Effekte nachgewiesen (\log_{10} -Reduktion von 2.2 bzw. 1.5).

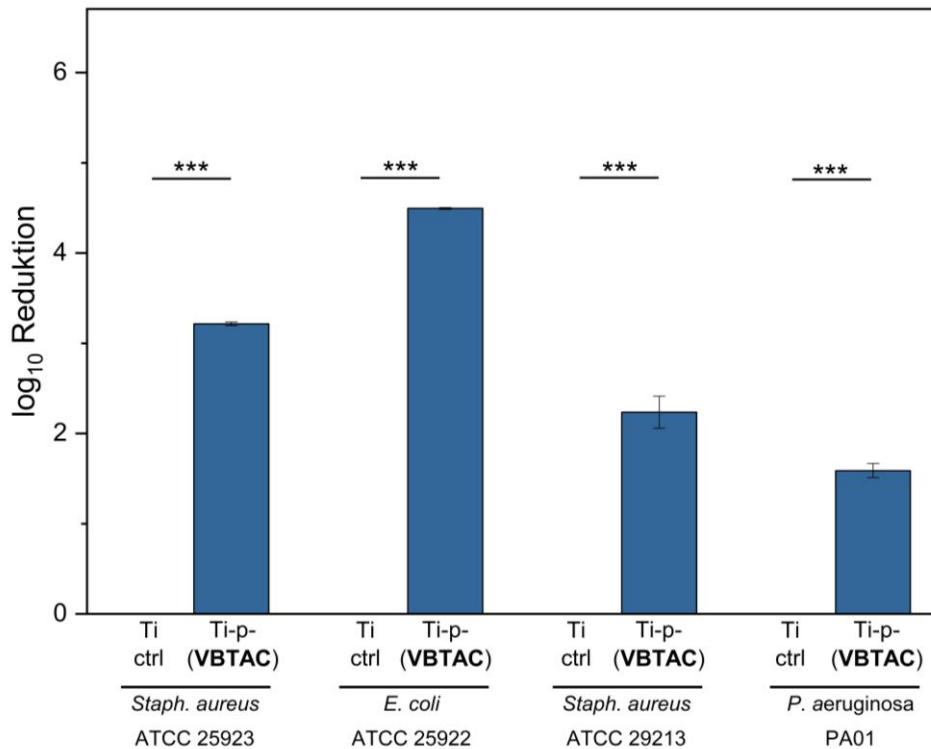


Abbildung 28: Vergleich der Ergebnisse des ASTM Assay E2149-13a für Ti-ADPA-p-(VBTAC), folgende Stämme wurden untersucht: *Staph. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *Staph. aureus* ATCC 29213 und *P. aeruginosa* PA01. Die Balken zeigen die Mittelwerte einer Dreifachbestimmung mit der Standardabweichung. Statistische Signifikanz wurde durch paarweisen Vergleich mittels Tukey Test ermittelt, $p < 0.001$ (***).

Zur Interpretation der unterschiedlichen \log_{10} -Reduktionen der einzelnen Stämme gibt es unterschiedliche Ansätze, die auf die postulierten Wirkmechanismen der kontaktbioziden Polymere eingehen. Kontaktbiozide können mit drei verschiedenen Bakterienbestandteilen interagieren: extrazellulären Komponenten, der Zytoplasmamembran oder den zytoplasmatischen Bestandteilen.¹³⁹

Zur Beurteilung der Interaktion der Kontaktbiozide mit der Zytoplasmamembran kann das Oberflächenpotential der Bakterien herangezogen werden. Eine größere elektrostatische Interaktion zwischen dem positiv-geladenem Polymer und der negativ-geladenen Bakterienmembran führt zu einem stärkeren kontaktbioziden Effekt.^{44, 138} Dies ist bei *E. coli* mit einem stark negativen Oberflächenpotential (ζ -Potential = -40 bis -60 mV)¹⁴⁰ gut zu erkennen. Auch zwischen gramnegativen und grampositiven ist eine unterschiedliche Interaktion der Polymere mit den Bakterien zu erkennen. KELLY *et al.*¹³⁸ zeigten, dass bei gramnegativen Bakterien ein kontaktbiozider Effekt allein durch die quartären Ammoniumgruppen ausgelöst wird und bei grampositiven Bakterien zusätzliche hydrophobe Seitengruppen nötig sind. Dies erklärt, warum ein signifikanter Effekt bei den beiden *Staph. aureus* Stämmen zu erkennen ist,

da durch das Styrolrückgrat im Ti-p-(**VBTAC**) auch ein großer hydrophober Anteil vorhanden ist.

Zytoplasmatische Bestandteile, wie Lipopolysaccharide, Fettsäuren, Phospholipide oder Proteine in der äußeren Membran, können die Wirkung von quartären Ammoniumgruppen abschwächen.¹³⁹ Dies könnte die leicht geringeren Effekte bei *P. aeruginosa* und dem zweiten *Staph. aureus* ATCC 29213 erklären. Gegen *P. aeruginosa* konnte schon in anderen Untersuchungen nur ein geringerer Effekt im Vergleich zu anderen Bakterienstämmen nachgewiesen werden.¹⁴¹ Um abschließend die leichten Unterschiede bei den log₁₀-Reduktionen zu erklären, müssten die verschiedenen Stämme näher auf ihre zytoplasmatischen Zusammensetzungen untersucht werden.

Um sicherzustellen, dass tatsächlich ein kontaktbiozider Mechanismus für den antimikrobiellen Effekt verantwortlich ist und keine antimikrobiellen Substanzen in die Umgebung freigesetzt werden, wurde zusätzlich ein Agarplatten-Diffusionstest durchgeführt. Hierfür wurde eine Bakterienkultur auf einer Agarplatte ausgestrichen, der Träger auf die Platte gegeben und bei 37 °C für 16 h inkubiert. Für den Test wurde der Stamm *Staph. aureus* ATCC 29213 verwendet, beispielhaft wurde der Träger Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**) als Testträger verwendet. Als Kontrollträger wurde ein gereinigter Titanträger gewählt, Ti ctrl. Wie in Abbildung 29 zu erkennen, wurde kein Hemmhof detektiert. Es ist somit von einem kontaktbioziden Wirkmechanismus auszugehen, bei dem kein Biozid in die Umgebung freigesetzt wird.

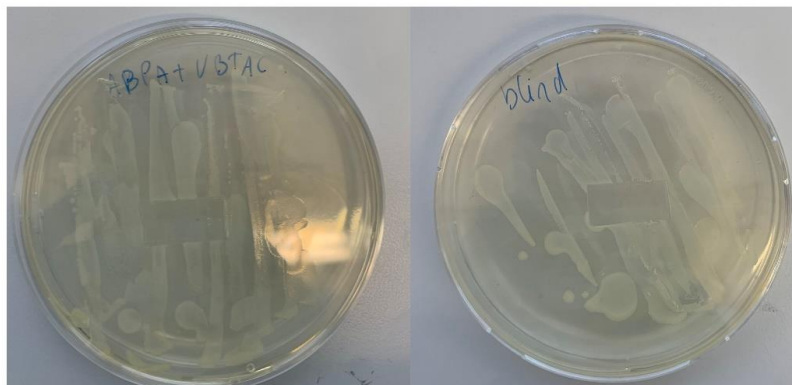


Abbildung 29: Agarplatten-Diffusionstest mit *Staph. aureus* ATCC 29213, links Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**) und rechts Ti ctrl.

5.2 Polymerisation weiterer ionischer Monomere über SI-ATRP

Durch die vorhergehenden Untersuchungen der dargestellten Initiatoren **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA** wurde festgestellt, dass **ADPA** der vielversprechendste Initiator ist. Für die nachfolgenden SI-ATRP Experimente wurde somit nur noch **ADPA** als Initiator verwendet, wenn nicht anders erwähnt.

In der AG Maison wurden im Rahmen dieser Arbeit und der Dissertation von Nils Burmeister¹⁴² neue ionische Monomere wie **VBSB**¹⁴³, **VBD** und **VBDSB**¹⁴⁴ entwickelt und dargestellt. Die entwickelten SI-ATRP Konditionen wurden verwendet, um diese neuen Monomere zu polymerisieren und zu testen. Zusätzlich wurde das kommerziell zu erwerbende Monomer **METAC** getestet.

Ionische Polymere werden in der Literatur in der Regel durch einen zwei Stufen Prozess dargestellt. Hierfür wird zunächst ein ungeladenes Monomer polymerisiert und im zweiten Schritt zu dem gewünschten geladenen Polymer umgesetzt.^{89, 145-147} Für die Postmodifikation von Polymeren werden meist toxische Reagenzien, wie Alkylanzien, verwendet. Durch die direkte Polymerisation von ionischen Monomeren kann dies umgangen werden.

5.2.1 Darstellung kontaktbiozider Modifikationen von Titanoberflächen

Als Alternative zu p-(**VB**TAC) wurden zwei weitere Monomere mit quartären Ammoniumgruppen über SI-ATRP polymerisiert. **METAC** als Methacrylderivat, welches REACH gelistet und kommerziell zu erhalten ist.⁸⁹ Dieses wurde bereits von DONG *et al.*⁸⁹ durch eine Postmodifikation des Polymers der tertiären Amine auf Eisenoxidnanopartikeln dargestellt. Außerdem wurde **VBD** als weiteres kationisches styrolbasiertes Monomer entwickelt (Abbildung 30).

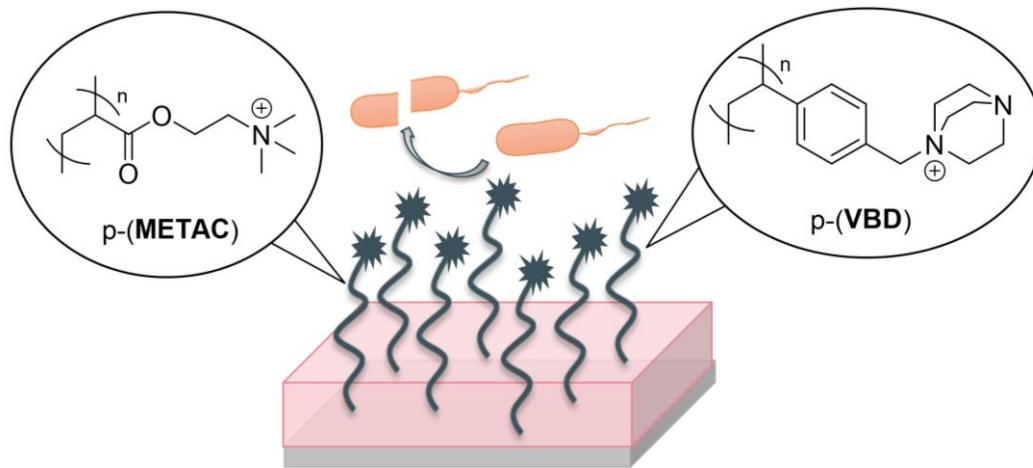
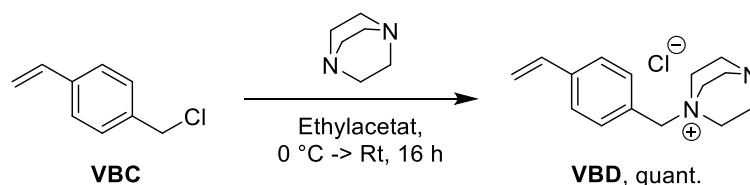


Abbildung 30: Titanmodifizierung mit den kationischen Polymeren p-(**METAC**) und p-(**VBD**).

Darstellung **VBD**

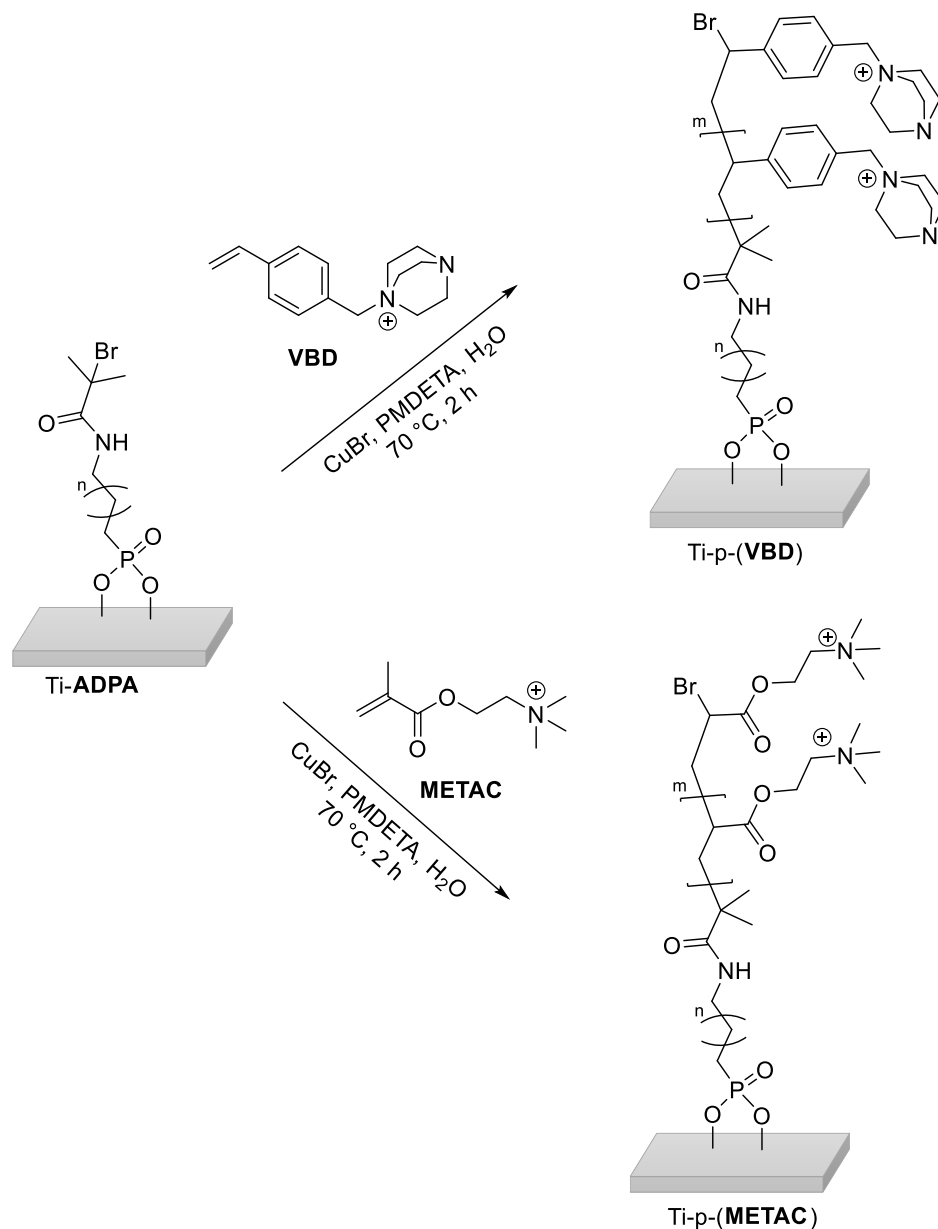
Die Darstellung von **VBD** wurde durch eine nukleophile Substitution von 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) über eine MENSCHUTKIN¹⁴⁸ Reaktion an **VBC** realisiert (Schema 7). Zunächst wurde eine Lösung von DABCO in Ethylacetat auf 0 °C gekühlt und das **VBC** tropfenweise hinzugegeben, wobei sich die Lösung orange färbte. Der leicht orangefarbene Feststoff **VBD** wurde nach Waschen mit Ethylacetat und Trocknen im Vakuum in ausgezeichneter Ausbeute erhalten.



Schema 7: Synthese von **VBD** über eine nukleophile Substitution an **VBC** mit DABCO.

SI-ATRP mit METAC und VBD

Die Modifizierung der Titanträger wurde über den Initiator **ADPA** durch SI-ATRP mit dem Monomer **VBD** oder **METAC** erreicht, wodurch ein polykationisches Polymer erhalten wurde (Schema 8).



Schema 8: SI-ATRP mit **VBD** und **METAC** auf Titan.

Evaluierung

Die erfolgte SI-ATRP über Ti-**ADPA** mit den beiden kationischen Monomeren **METAC** und **VBD** wurde durch die Messung des Kontaktwinkels bestätigt (Tabelle 9). Für die polykationische Modifikation Ti-p-(**VBD**) ergaben sich sehr niedrige Kontaktwinkel von unter 10°. Für Ti-p-(**METAC**) wurden etwas höhere Kontaktwinkel von ~ 27° detektiert. Vergleichend

wurden die Kontaktwinkel für Ti-p-(**VB**TAC) mit aufgenommen, diese liegen im selben Bereich. Für alle polykationischen Modifikationen auf Titan wurden somit niedrige Kontaktwinkel gemessen.

Tabelle 9: Vergleich der Kontaktwinkel von Ti ctrl, Ti-ADPA, Ti-p-(**VB**TAC), Ti-p-(**V**BD) und Ti-p-(**ME**TAC).

Ti ctrl	Ti-ADPA	Ti-p-(VB TAC)	Ti-p-(V BD)	Ti-p-(ME TAC)
48.1° ± 9	64.8° ± 1	13.5° ± 3	5.8° ± 1	26.8° ± 13

Kontaktwinkel sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen ± Standardabweichung angegeben.

Für die Ladungsdichtebestimmung der beiden Modifikationen Ti-p-(**V**BD) und Ti-p-(**ME**TAC) wurde der Fluorescein Assay verwendet. Für Ti-p-(**V**BD) wurde eine hohe Ladungsdichte von $9.7 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ ermittelt, was über dem postulierten Wert für einen kontaktbioziden Effekt von $5 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ liegt.⁴⁶ Für Ti-p-(**ME**TAC) dagegen wurde eine nur sehr geringe Ladungsdichte von unter $10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ ermittelt. Somit sollte Ti-p-(**ME**TAC) keinen kontaktbioziden Effekt aufweisen (Tabelle 10).

Tabelle 10: Ladungsdichten der quartären Ammoniumgruppen in N^+ pro cm^2 bestimmt mit dem Fluorescein Assay.

Ti ctrl	Ti-p-(VB TAC)	Ti-p-(V BD)	Ti-p-(ME TAC)
-	14.2 ± 3.0	9.7 ± 0.8	0.1 ± 0.1

Anmerkung: Die Werte sind in 10^{15} und als Mittelwert ± Standardabweichung von drei Trägern angegeben und berechnet aus drei Bestimmungen der UV-VIS Absorption.

Da bei dem Fluorescein Assay für Ti-p-(**ME**TAC) kaum relevante Ladungsdichten nachgewiesen werden konnten und auch die Kontaktwinkel nicht sehr vielversprechend sind, wurde keine mikrobiologische Evaluierung mit Ti-p-(**ME**TAC) durchgeführt. Es wurde daher nur Ti-p-(**V**BD) auf eine antibakterielle Aktivität mit dem ASTM E2149-13a getestet. Der Assay wurde mit dem grampositiven *Staph. aureus* ATCC 25923 durchgeführt und es wurde ein signifikanter antibakterieller Effekt nachgewiesen. Die \log_{10} -Reduktion lag bei 2.7 ± 0.3 und liegt damit unter der ermittelten \log_{10} -Reduktion von Ti-p-(**VB**TAC) gegen *Staph. aureus* ATCC 25923 (3.2 ± 0.0). Ti-p-(**V**BD) ist somit gegen diesen Bakterienstamm schwächer wirksam. Zu beachten ist, dass bei **V**BD zusätzlich zum quartären Ammonium noch ein tertiäres Amin und ein sperriger Ring vorliegt und somit nur eine geringere Ladungsdichte generiert werden kann. Eine Verbesserung könnte durch eine Alkylierung des tertiärenamins erreicht werden. Dies generiert eine zweite Ammoniumgruppe und zeigte in der Literatur einen positiven Effekt auf die kontaktbiozide Eigenschaft.¹⁴⁹ Um eine abschließende Bewertung zu dieser polykationischen Modifikation abzugeben, sollte der kontaktbiozide Effekt gegen andere Bakterienstämme getestet werden.

5.2.2 Darstellung zwitterionischer Modifikationen auf Titan

Zur *low-fouling* Modifizierung der Titanoberfläche über SI-ATRP können verschiedene Monomere angewendet werden. In der Literatur wurden auf Metalloxidoberflächen bereits Polysulfobetaine^{78, 91} oder Polyphosphorylcholinderivate^{83, 150} dargestellt. In dieser Arbeit wurde als zwitterionisches Monomer 4-Vinylbenzylsulfobetain **VBSB** verwendet. Zur Darstellung des Monomers wurde die Syntheseroute von BURMEISTER *et al.*¹⁴³ verwendet. Das, durch eine SI-ATRP dargestellte, Polymer ist der Abbildung 31 zu entnehmen.

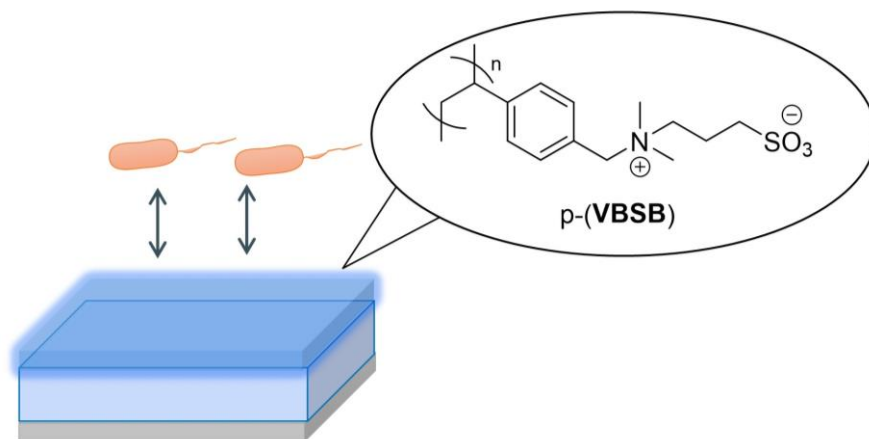
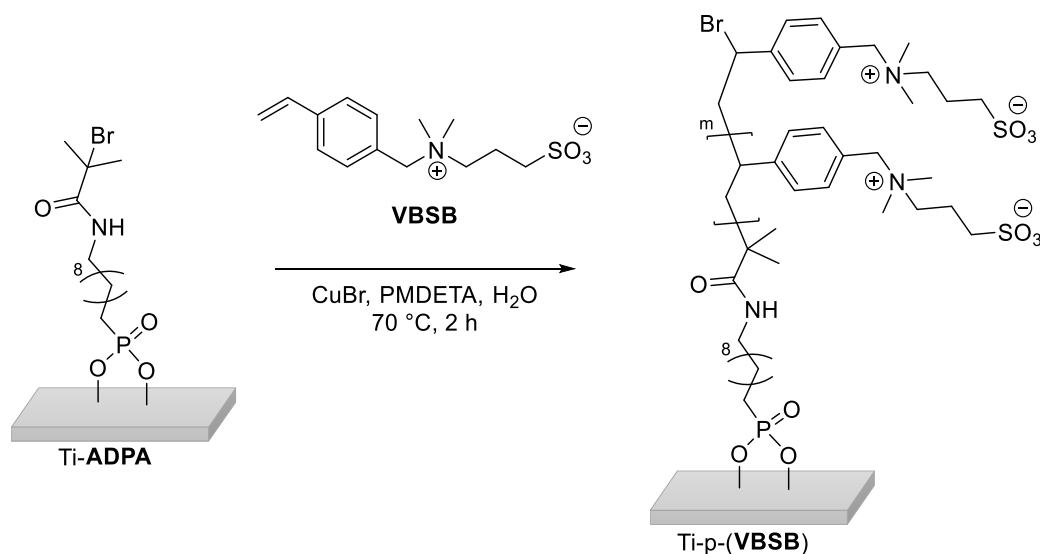


Abbildung 31: Titanmodifizierung mit dem zwitterionischen Monomer **VBSB**.

SI-ATRP mit **VBSB**

Die Modifizierung der Titanträger mit einem zwitterionischen Polymer wurde über den Initiator **ADPA** durch SI-ATRP mit dem Monomer **VBSB** erreicht (Schema 9).



Schema 9: SI-ATRP mit dem Monomer **VBSB**.

Kontaktwinkel

Die erfolgreiche SI-ATRP von **VBSB** über Ti-**ADPA** wurde durch einen erniedrigten Kontaktwinkel nach der Polymerisation bestätigt. Für Ti-p-(**VBSB**) ergab sich ein Kontaktwinkel von $35.5^\circ \pm 12$, was eine Erniedrigung des Kontaktwinkels zur Vorstufe Ti-**ADPA** ($64.8^\circ \pm 1$) darstellt. Da das zwitterionische Polymer eine sehr hydrophile Modifikation darstellt, ist von einer erfolgreichen Modifizierung der Oberfläche mit p-(**VBSB**) auszugehen.

Kristallviolett Assay

Zur Quantifizierung der lösungsmittelzugänglichen Zwitterionen wurde ein neuer Assay entwickelt, der Kristallviolett Assay von BURMEISTER *et al.*¹⁴³. Dieser ist angelehnt an den Fluorescein Assay von TILLER *et al.*⁴³ und MURATA *et al.*⁴⁶. In Abbildung 32 ist das Prinzip des Kristallviolett Assay gezeigt. Bei diesem werden die lösungsmittelzugänglichen Anionen quantifiziert und dadurch auf die Zwitterionen geschlossen. Das Polymer mit dem Zwitterion wird zunächst mit einer Kristallviolettlösung behandelt. Hierbei kommt es zu einem Kationenaustausch, indem ein positiv geladenes Kristallviolett an ein Anion adsorbiert. Die Farbstoffadsorption wird zusätzlich durch Kationen- π -Interaktionen des aromatischen Systems von Kristallviolett mit den Ammoniumgruppen des Zwitterions verstärkt.¹⁵¹ Nicht adsorbiertes Kristallviolett wird dann abgewaschen. Typischerweise färbt sich ein modifizierter Träger dann violett bis bläulich, was eine zusätzliche qualitative Kontrolle ermöglicht. Anschließend wird das adsorbierte Kristallviolett mit Natriumdodecylsulfat (SDS) desorbiert (Abbildung 32). Das desorbierte Kristallviolett kann dann mittels UV-VIS Spektroskopie quantifiziert werden und über das Lambert-Beersche-Gesetz wird die Kristallviolettkonzentration c errechnet.

$$c = \frac{(A - A_0)}{d * \varepsilon}$$

Formel 12 mit der Konzentration c , der gemessenen Absorption A bei 590 nm der Lösung des Trägers, der Absorption bei 590 nm einer Lösung eines Kontrollträgers A_0 , die Schichtdicke d und des Extinktionskoeffizienten von Kristallviolett $\varepsilon = 87,000 \text{ 1/M*cm}$.

Über die Kristallviolettkonzentration kann dann die Ladungsdichte der Anionen, z.B. Sulfonatgruppen, über folgende Formel berechnet werden:

$$\frac{SO_3^-}{cm^2} = \frac{c * V * N_A}{A}$$

Formel 13 mit der Konzentration c , dem Volumen der Desorptionslösung V , der Avogadro-Konstante N_A und der beschichteten Oberfläche des Trägers A .

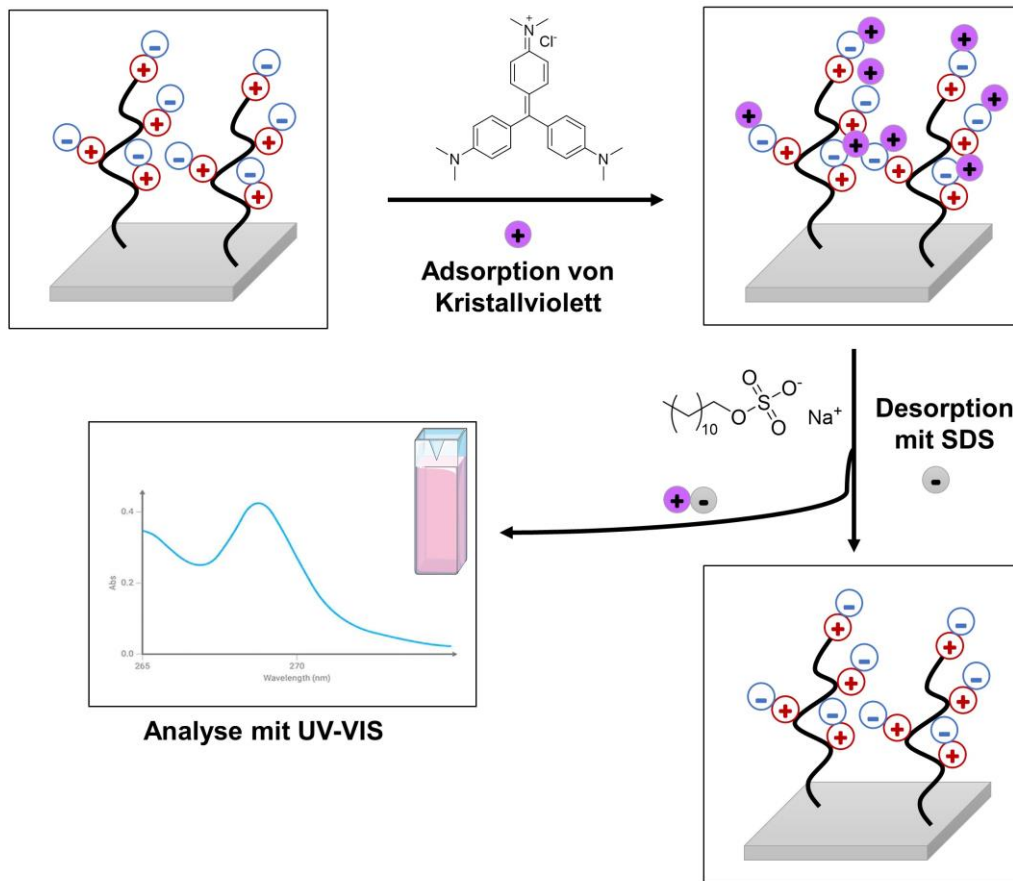


Abbildung 32: Kristallviolett Assays nach BURMEISTER *et al.*¹⁴³. Zunächst werden die Träger mit einer wässrigen Kristallviolettlösung behandelt, es kommt zu einem Kationenaustausch bzw. Adsorption an der anionischen Gruppe z.B. Sulfonat. Anschließend wird das Kristallviolett mit Natriumdodecylsulfat (SDS) desorbiert. Die erhaltene Kristallviolettlösung wird dann bei einer UV-Länge von 590 nm quantifiziert. Die ermittelte Konzentration korreliert mit der Ladungsdichte der Anionen (= Zwitterionen) im Polymer, wenn von einem 1:1 Verhältnis des Kristallvioletts und der anionischen Gruppen ausgegangen wird.

Für den Träger Ti-p-(**VBSB**) ergab sich eine Ladungsdichte von $7.5 \cdot 10^{15}$ Sulfonatgruppen pro cm^2 (Standardabweichung ± 0.9). Dieser Wert liegt in einem ähnlichen Ladungsdichtebereich wie die quartären Ammoniumgruppen von Ti-p-(**VBTA**C). Wenn man von einem 1:1 Verhältnis von Kristallviolett und Sulfonatgruppen ausgeht, sowie bei dem Fluorescein Assay von einem 1:1 Verhältnis zwischen Fluorescein und quartärem Ammonium ausgegangen wird, kann man für **VBSB** auf eine ähnlich erfolgreiche Polymerisation wie bei **VBTA**C schließen und ähnliche Polymerkettenlängen vermuten. Die ermittelte Ladungsdichte ist zudem vergleichbar mit in der Literatur beobachteten, Ladungsdichten von *grafting-from* Modifikationen, die einen *low-fouling* Effekt aufweisen.¹⁴³ Somit kann eine *low-fouling* Aktivität für Ti-p-(**VBSB**) vermutet werden, welche über einen bakteriellen Adhäsionstest evaluiert wurde.

Bestimmung der *low-fouling* Aktivität mit dem bakteriellen Adhäsionstest

Zur Bestimmung der *low-fouling* Aktivität werden die Träger nach einem bewährten Prüfprotokoll evaluiert (Abbildung 33).¹⁴³ Die Träger werden in einer Lösung mit Bakterien (10^5 KBE/mL) in Müller-Hinton-Brühe für 24 h bei 37 °C unter Schütteln inkubiert. Um ein exponentielles Wachstum zu ermöglichen, wird hier nicht wie beim ASTM Assay in steriler Kochsalzlösung, sondern in Müller-Hinton-Brühe gearbeitet. Nach der Inkubation werden die Träger in sterile Kochsalzlösung getaucht, um lose anhaftende planktonische Bakterien zu desorbieren. Anschließend wird die Probe 30 s lang auf einen Columbia-Agar gedrückt, um die anhaftenden Bakterien zu übertragen. Nach Entfernen des Trägers wird der Agar für 20 h bei 37 °C bebrütet und zur Auswertung die Kolonien ausgezählt.

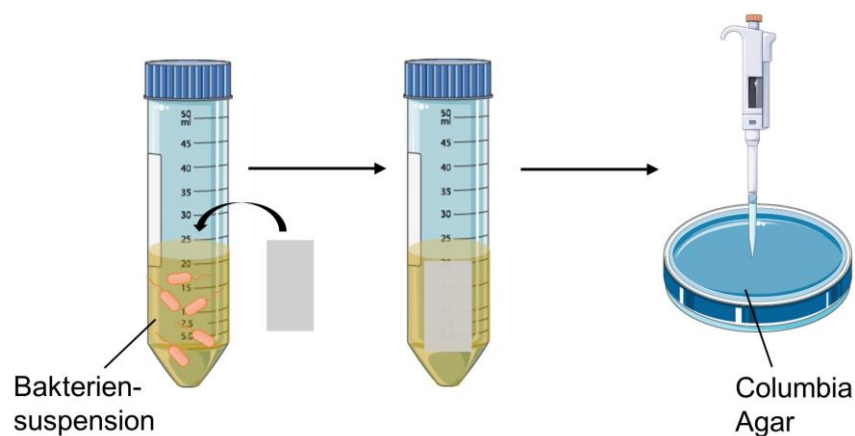


Abbildung 33: Durchführung des bakteriellen Adhäsionstest. Der Träger wird in einer definierten Bakteriensuspension bei 37 °C inkubiert, anschließend wird der Träger auf einem Columbia-Agar gedrückt und wieder entfernt. Nach Bebrüten werden die gewachsenen Kolonien ausgezählt.

Für Ti-p-(**VBSB**) konnte eine signifikante *low-fouling* Aktivität gegen den Biofilmbildner und gramnegativen Stamm *P. aeruginosa* (PA01) festgestellt werden. Hier wurde nach Abklatschen des Trägers kein Wachstum von anhaftenden Bakterien ($\text{KBE pro cm}^2 = 0.0 \pm 0$) festgestellt im Gegensatz zu einem unbehandelten Kontrollträger, bei dem über 250 KBE pro cm^2 detektiert wurden.

5.2.3 Modifikation der Titanoberflächen mit kombinierter kontaktbiozider und *low-fouling* Aktivität

Nachdem erfolgreich gezeigt werden konnte, dass sich unterschiedliche Kationen und Zwitterionen mit der SI-ATRP Methode darstellen lassen, sollte nun eine Kombination aus beiden entwickelt und dargestellt werden. Hier sollte überprüft werden, ob sich die Kombination aus kontaktbioziden und *low-fouling* Eigenschaften in einem Monomer vereinbaren lässt und zu einer vergleichbaren oder verbesserten Wirkung führt.

Quartäre Ammoniumgruppen zeigen exzellente kontaktbiozide Eigenschaften, doch nach längerem Kontakt mit Bakterien kommt es zu einer Anhäufung von Zellbestandteilen der abgestorbenen Bakterien und zu einer Absättigung der Oberfläche mit diesen.⁵⁶ Wenn diese nicht mechanisch entfernt werden, kommt es mit der Zeit zu einem Wirkverlust der kontaktbioziden Oberflächen und wiederum zu einer Biofilmbildung. Ein multifunktionaler Ansatz mit *low-fouling* und kontaktbioziden Eigenschaften könnte diesem Problem entgegensteuern.

Um die Oberfläche mit bi- oder multifunktionalen Eigenschaften zu modifizieren, werden in der Literatur bereits verschiedene Strategien angewandt. Ein möglicher Weg ist die Copolymerisation oder Blockpolymerisation von zwei verschiedenen Monomeren, von denen eines eine kontaktaktive/kationische Funktionalität und eines eine *low-fouling* Eigenschaft aufweist.⁴⁸⁻⁵¹ Eine gemischte Modifikation mit Antibiotika bzw. Desinfektionsmitteln und *low-fouling* Monomeren wurde ebenfalls durch Blockpolymerisation durchgeführt.⁵²⁻⁵⁴ Eine weitere Strategie ist die Aktivierung der Oberfläche für zwei verschiedene oberflächeninitiierte Polymerisationstechniken, die zu gemischten Polymerbürsten mit unterschiedlichen Funktionalitäten auf der Oberfläche führen.^{34, 55-57} Daneben wurden auch einige *grafting to* Strategien angewandt, um der Oberfläche eine gemischte Funktionalität zu verleihen.³⁷

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neues Monomer entwickelt und dargestellt, welches eine quartäre Ammoniumgruppen in Nachbarschaft zu einem Sulfobetain trägt (Abbildung 34). Entwickelt wurde es ausgehend von den kontaktbioziden Modifikationen p-(**VBTA**C) und p-(**VBDN**)¹⁴⁹ und der *low-fouling* Modifikation p-(**VBSB**). Als polymerisierbare Einheit wurde ein Styrolderivat gewählt. Das quartäre Ammonium fungiert als Kontaktbiozid und das Sulfobetain vermittelt die *low-fouling* Funktionalität. Als Verbindungsfunktion zwischen den Effektorgruppen wurde ein DABCO-Gerüst verwendet, wie in p-(**VBDN**). ZHANG¹⁴⁹ konnte durch die Verwendung von DABCO-Derivaten als Monomere eine wesentlich thermostabilere Modifikation erreichen, was sich hier zu Nutze gemacht werden soll.

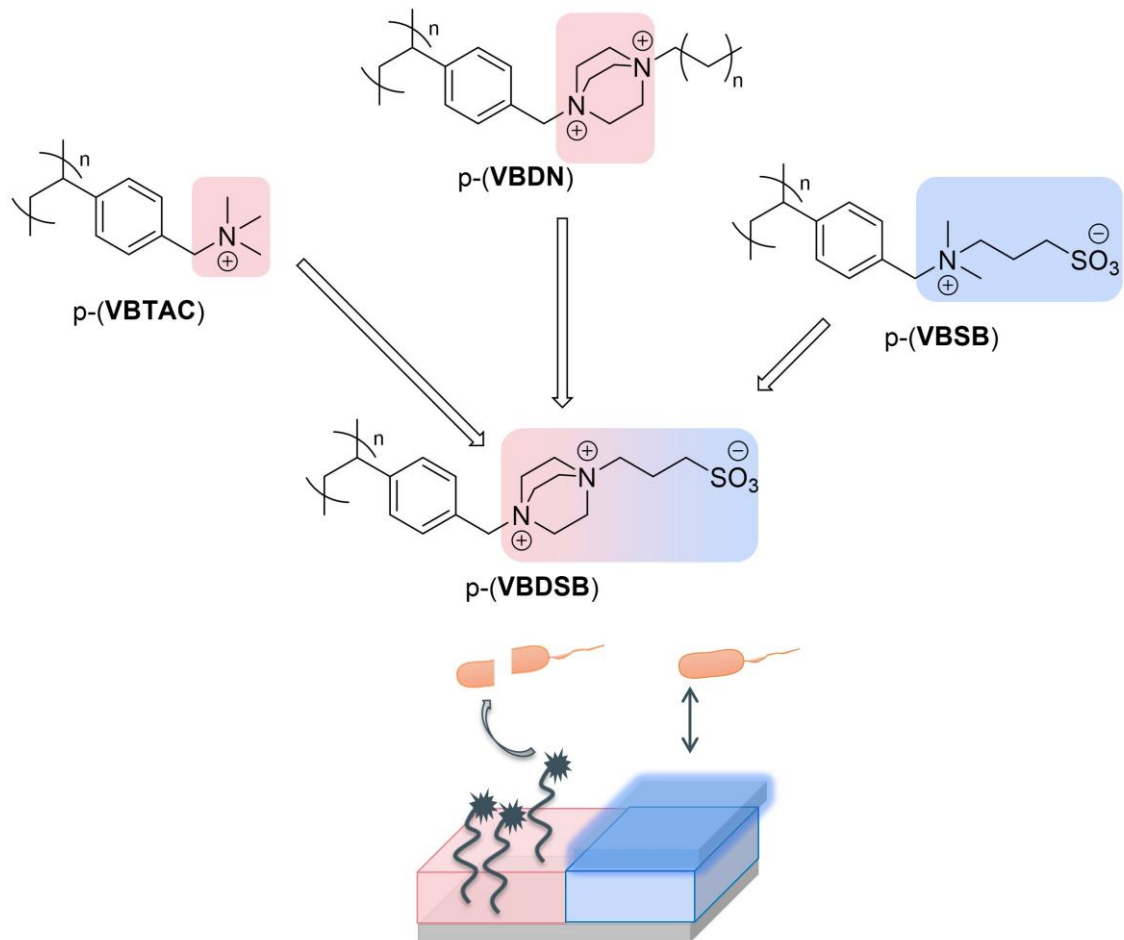
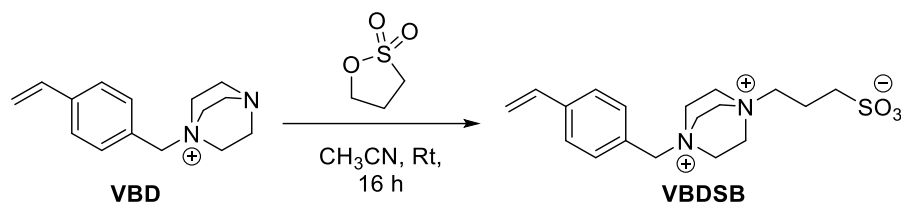


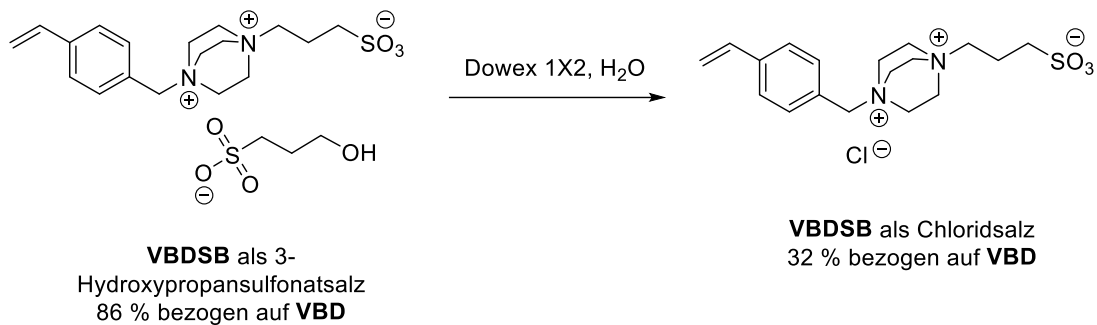
Abbildung 34: Design von p-(VBDSB) mit kontaktbiozider und *low-fouling* Aktivität ausgehend von den kontaktbioziden Modifikationen p-(VBTAC) und p-(VBDN)¹⁴⁹ und der *low-fouling* Modifikation p-(VBSB).

Darstellung VBDSB

Die Darstellung des gemischten Monomers **VBDSB** ließ sich über Alkylierung des tertiärenamins von **VBD** mit 1,3-Propanthionsulfon realisieren, wie in Schema 15 dargestellt. **VBD** wurde in Acetonitril gelöst und das 1,3-Propanthionsulfon dazu getropft. **VBDSB** fiel als farbloses Hydroxypropansulfonatsalz aus, welches in sehr guter Ausbeute erhalten und für die nachfolgenden Experimente ohne Reinigung verwendet wurde. Für die Analytik wurde **VBDSB** als 3-Hydroxypropansulfonatsalz mit einem Anionentauscher (Dowex 1X2) in ein Chloridsalz überführt (Schema 16).



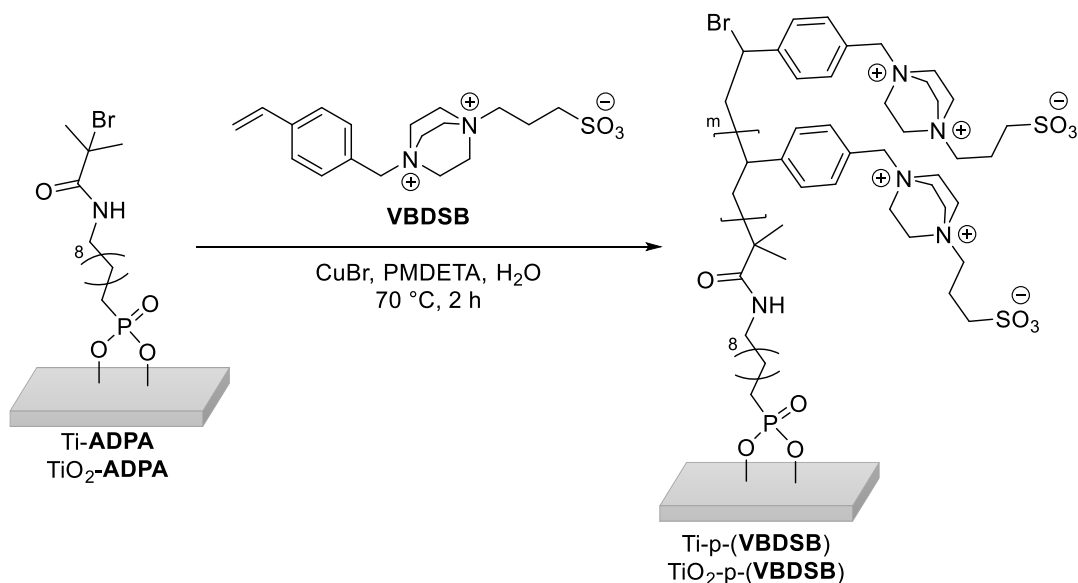
Schema 15: Synthese von **VBDSB** über die Reaktion von **VBD** mit 1,3-Propansulfon.



Schema 16: **VBDSB** mit unterschiedlichen Gegenionen

SI-ATRP auf TiO_2 -Nanopartikeln und auf Titan

Die Modifizierung der Titanträger und TiO_2 -Nanopartikeln wurde über den Initiator ADPA durch SI-ATRP mit dem Monomer **VBDSB** erreicht, wodurch ein polyionisches Polymer erhalten wurde (Schema 17).



Schema 17: SI-ATRP mit **VBDSB** auf Titan und TiO_2 .

TGA und FT-IR

Zunächst wurden die modifizierten $\text{TiO}_2\text{-p-(VBDSB)}$ Nanopartikel mittels TGA und FT-IR untersucht (Abbildung 35). Thermogravimetrische Analysen der erhaltenden $\text{TiO}_2\text{-}$

Nanopartikel zeigen eine erfolgreiche SI-ATRP mit **VBDSB** mit dem charakteristischen zweistufigen Verlauf. Die erste Stufe zeigt zunächst die Abspaltung der Propylsulfonsäure über eine Hoffmann-Eliminierung oder S_N2 Reaktion und zusätzlich die Abspaltung von DABCO.¹⁴⁹ Die zweite Stufe ab 400 °C ist die Zersetzung des Polymerrückgrates. Da zwischen den beiden Stufen kein Plateau zu erkennen ist, werden die Reaktionen teilweise simultan ablaufen.¹³¹ Als Vergleich wurden der Verlauf der TiO_2 -p-(**VBTAC**) Nanopartikel aufgetragen. Hier ist eindeutig eine Verschiebung der Kurve für TiO_2 -p-(**VBDSB**) zu höheren Temperaturen zu erkennen. Beim Polymer p-(**VBDSB**) setzt die Zersetzung erst 100 °C (220 °C bei p-(**VBTAC**) vs. 320 °C für p-(**VBDSB**)) später ein und ist somit wie erhofft eine thermisch stabilere Modifizierung der Oberfläche. Die thermische Stabilität stellt einen Vorteil in Sterilisationsprozessen mit Hitze dar, welche typischerweise bei 200 bis 250 °C durchgeführt wird. Zusätzlich kann die Hitzebeständigkeit aber auch für die weitere Modifizierung der Oberfläche oder des Materials ein Vorteil sein. FT-IR Messungen der TiO_2 -p-(**VBDSB**) im Vergleich zum Monomer **VBDSB** bestätigen die erfolgreiche Polymerisation des Monomers (Abbildung 35B). Charakteristische Banden für die Sulfonatgruppe sind als SO_3 -Streckschwingung bei 1038 cm^{-1} und 1176 cm^{-1} zu erkennen. Die Ammoniumgruppen sind durch die charakteristische N-H Valenzschwingung bei 2847 cm^{-1} zu erkennen.

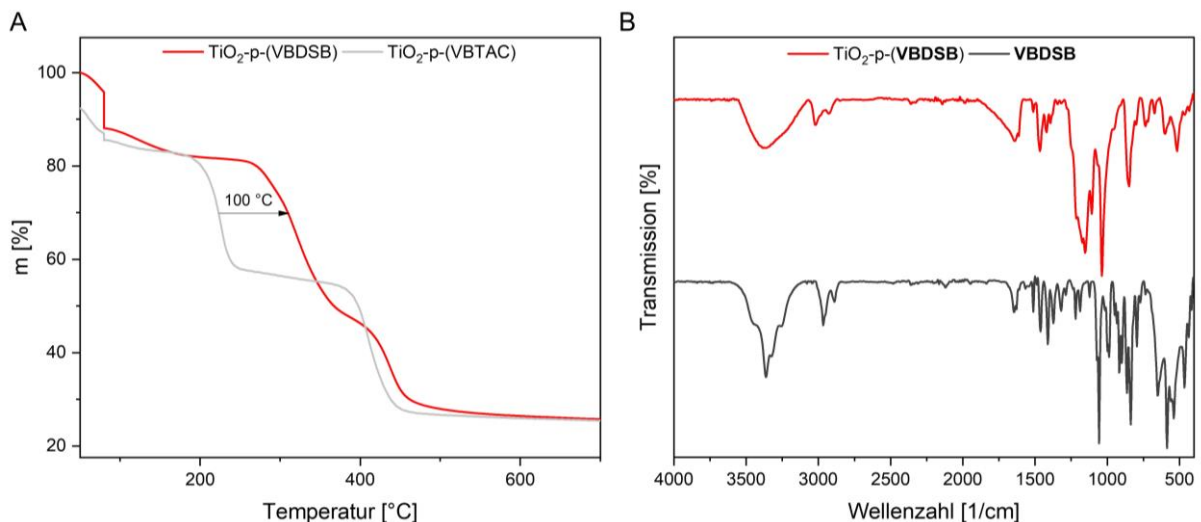


Abbildung 35: A) Ergebnisse der TGA Analyse für TiO_2 -p-(**VBDSB**) und TiO_2 -p-(**VBTAC**) und B) Ergebnisse der FT-IR Spektroskopie für TiO_2 -p-(**VBDSB**) im Vergleich zum Monomer **VBDSB**.

Kontaktwinkel

Nach erfolgter SI-ATRP auf TiO_2 -Nanopartikeln wurde auf Titanträgern SI-ATRP mit **VBDSB** durchgeführt. Die erfolgreiche Darstellung von Ti-p-(**VBDSB**) konnte durch Messung des Kontaktwinkels bestätigt werden. Es wurde ein verringerter Kontaktwinkel von ca. 45° gemessen (Tabelle 11), im Gegensatz zu der mit **ADPA** aktivierten Oberfläche. Bei dem

gebildeten Polymer sind zum einen viele Ladungen enthalten, aber auch hydrophobe Teile durch das DABCO-Grundgerüst. Deswegen sind hier im Gegensatz zu der vorhergegangenen Modifizierung nicht so niedrige Kontaktwinkel zu erwarten. Der relativ hohe Kontaktwinkel im Vergleich zu anderem polyionischen Polymer lässt im Gegensatz sogar auf sehr dichte und tiefe Polymerbürsten schließen. Die unterschiedlichen Ladungen innerhalb der einzelnen Monomere führen in diesem Fall nicht nur zu Abstoßungen, sondern auch zu Anziehungen zwischen den einzelnen Molekülen. Diese Kräfte haben wiederum einen großen Einfluss auf die Polymerisation und auf die Hydrophilie gegenüber der Umgebung. CHENG *et al.*¹⁵² stellen die Hypothese auf, dass es ab einer bestimmten Polymerdicke und -dichte zu einem superkollabierten Zustand der Polymerbürsten kommt und der Kontaktwinkel somit ab einer bestimmten Polymerdicke bzw. -länge wieder schlagartig zunimmt. Dies wurde vor allem für zwitterionische Polymerbürsten beobachtet, da es hier zu intra- und intermolekularen Interaktionen kommen kann. Dies könnte auch die hohen beobachteten Kontaktwinkel mit dem zwitterionischen Monomer **VBSB** auf Titan (vgl. Ti-p-(**VBSB**)) erklären.

Tabelle 11: Vergleich der Kontaktwinkel unterschiedlicher polyionischer Modifikationen.

Ti ctrl	Ti-ADPA	Ti-p-(VBTA C)	Ti-p-(VBSB)	Ti-p-(VBDSB)
48.1° ± 9	64.8° ± 1	13.5° ± 3	35.5° ± 12	44.5° ± 10

Anmerkung: Kontaktwinkel sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen ± Standardabweichung angegeben.

XPS

Die chemische Zusammensetzung des gebildeten Polymers wurde durch XPS-Messungen bestätigt. In Abbildung 36 sind die Ergebnisse für Ti-p-(**VBDSB**) dargestellt. Die beobachteten Atomverhältnisse stimmen nahezu perfekt mit den theoretisch erwarteten überein, was die Integrität des gebildeten Polymers bestätigt. Das ermittelte N/S Atomverhältnis für Ti-p-(**VBDSB**) liegt bei 2.02 (theoretisch: 2.00), das N/C Verhältnis liegt bei 0.09 (theoretisch: 0.11) und das O/C Verhältnis liegt bei 0.25 (theoretisch: 0.33). Die hochaufgelösten Spektren für C 1s, N 1s, S 2p und O 1s bestätigen die chemische Zusammensetzung des Polymers. Das C 1s Spektrum zeigt zwei überlappende Signale bei 284.5 eV und 286.3 eV. Das Signal mit der höheren Energie lässt sich den CN⁺- und CSO₃⁻-Bindung zuordnen und das tiefere Signal zeigt aliphatische CC- und CH-Bindungen.¹⁵³ Das Signal im N 1s Spektrum bei 402.3 eV ist der quartären Ammoniumgruppe zuzuordnen.^{114, 154} Ein weiteres Signal im N 1s Spektrum bei 399.3 eV ist zurückzuführen auf im Polymer eingeschlossenes N₂ der Polymerisationsatmosphäre. Das S 2p Spektrum kann in zwei Signale bei 168.4 eV und 167.2 eV aufgespalten werden, die der charakteristischen S 2p_{1/2} und S 2p_{3/2} Spinspaltung der Sulfonatgruppe

zuzuordnen ist. Im O 1s Spektrum ist ein Signal mit *Tailing* zum Hochenergiebereich bei 530.8 eV zu erkennen, was sich der SO-Bindung zuordnen lässt. Zusätzlich sind noch Signale im Ti 2p und Cl 2s zu erkennen (siehe Anhang).

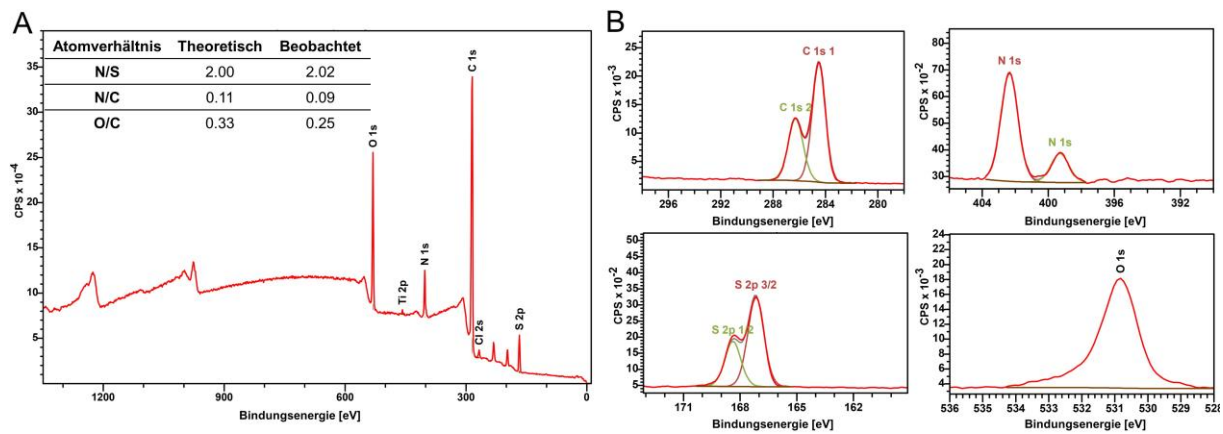


Abbildung 36: Ergebnisse der XPS Analytik, A) Übersichtsspektrum von Ti-p-(**VBDSB**) mit Atomverhältnissen, B) hochaufgelöste Spektren für C 1s, N 1s, S 2p und O 1s.

Ladungsdichtebestimmung

Zur Bestimmung der lösungsmittelzugänglichen Ladungen auf dem Ti-p-(**VBDSB**) Träger wurden der Fluorescein Assay^{43, 46} (Abbildung 23) und der Kristallviolett Assay¹⁴³ (Abbildung 32) verwendet. Über den Fluorescein Assay wurde eine, dem Lösungsmittel zugängliche, Ladungsdichte von $8.55 \cdot 10^{15} \text{ N}^+$ pro cm^2 bestimmt (Tabelle 12). Die Ladungsdichte liegt somit in einem ähnlichen Bereich wie die für Ti-p-(**VBTAC**), was auf einen kontaktbioziden Effekt hindeutet. Im Gegensatz dazu ließ sich mit dem Kristallviolett Assay keine nennenswerte Adsorption des kationischen Farbstoffes feststellen. Dies könnte vermutlich an der zusätzlich positiven Ladung im **VBDSB** Polymer liegen, was zu einer elektrostatischen Abstoßung des kationischen Farbstoffes Kristallviolett führt. Es könnte aber auch die stabilisierende Kation- π -Interaktion fehlen, da die Styrolgruppe nicht mehr in unmittelbarer Nachbarschaft liegt. Dadurch lässt sich eine Quantifizierung der lösungsmittelzugänglichen Ladungen für Ti-p-(**VBDSB**) nur über den Fluorescein Assay bestimmen.

Tabelle 12: Vergleich der Ladungsdichten unterschiedlicher polyionischer Modifikationen von Titan.

	Ti ctrl	Ti-p-(VBTAC)	Ti-p-(VBSB)	Ti-p-(VBDSB)
$10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ ^a	-	14.2 ± 3.0	-	8.55 ± 3.4
$10^{15} \text{ SO}_3^-/\text{cm}^2$ ^b	-	-	7.5 ± 0.9	-

Anmerkung: **a:** Bestimmt mit dem Fluorescein Assay⁴³, **b:** Bestimmt mit dem Kristallviolett Assay¹⁴³. Die Werte sind in 10^{15} und als Mittelwert \pm Standardabweichung von drei Trägern angegeben und berechnet aus drei Bestimmungen der UV-VIS Absorption.

ζ -Potential Messung

Das ζ -Potential ist das elektrostatische Potential an einer geladenen Grenzfläche und kann verwendet werden, um eine Ladungsdichte an der Oberfläche abzuleiten. Zusätzlich kann über die Bestimmung des ζ -Potentials der isoelektrische Punkt eines Materials ermittelt werden. Die Oberflächenladung von Ti-p-(**VBDSB**) wurde mit einer ζ -Potentialmessung im pH-Bereich von 3 bis 10 bestimmt und verglichen mit einer Titankontrolle (Abbildung 37). Zusätzlich wurden der polykationische Träger Ti-p-(**VBTAC**) (Abbildung 37, violette Kurve) und der zwitterionische Träger Ti-p-(**VBSB**) (Abbildung 37, blaue Kurve) als Vergleich vermessen. Für das Basismaterial Titan (Ti ctrl, Abbildung 37, graue Kurve) ergibt sich eine typische Kurve. Bei alkalischen und neutralen pH-Werten wurde eine stark negative Oberflächenladung detektiert, die auf die Adsorption von Hydroxidionen zurückzuführen ist. Die Oberflächenpotenziale bei sauren pH-Werten von 4 und niedriger verändern sich zu leicht positiven Werten.¹⁵⁵ Für den polykationischen Träger Ti-p-(**VBTAC**) ist das ζ -Potential über alle gemessenen pH-Werte, wie zu erwarten, positiv (Abbildung 37, violette Kurve). Der polyzwitterionische Träger Ti-p-(**VBSB**) ist über alle pH-Bereiche neutral geladen, da sich die Ladung des Kations (quartäre Ammoniumgruppe) und des Anions (Sulfonatgruppe) aufheben und im netto neutral sind.¹⁵⁶ Die Sulfonatgruppe weist einen pKs Wert von ca. 1-2 auf, wodurch bei niedrigeren pH-Werten eine positive Ladung zu erwarten wäre. Um diesen Verlauf zu erkennen, reicht der niedrigste Messwert bei einem pH-Wert von 4 allerdings nicht aus. Interessant ist jedoch, dass in der Literatur ähnliche zwitterionische Polymere einen anderen Verlauf aufzeigen. Bei diesen wurde eine negative Ladung in alkalischen bis neutralen pH-Bereichen gemessen, welche bei sauren pH-Werten zu einem positiven Oberflächenpotential wechseln.^{38, 50} Hier könnte die Schichtdicke des gebildeten Polymers eine große Rolle spielen: bei dichteren Schichten würde primär das Zwitterion die Oberflächenladung beeinflussen, wohingegen sich bei dünneren Polymerschichten die Eigenschaften der Basismaterialien bemerkbar machen und das Oberflächenpotential dadurch maßgeblich beeinflussen. Für eine abschließende Beurteilung sollten hier die Schichtdicken verschiedener geladener Polymerbürsten vergleichend analysiert werden.

Die Ergebnisse der Oberflächenpotentialmessungen weisen, genau wie die der XPS, FT-IR, Goniometrie und Adsorptionsassays, auf eine sehr effiziente Oberflächenbeschichtung mit allen geladenen Polystyrolderivaten in dieser Arbeit hin. Die Messungen des Oberflächenpotentials ergaben für den Titanträger mit dem gemischten Monomer Ti-p-(**VBDSB**) (Abbildung 37, rote Kurve) einen ähnlichen Kurvenverlauf wie der Verlauf des polykationischen Trägers Ti-p-(**VBTAC**) (Abbildung 37, violette Kurve). Es ist über den gesamten pH-Bereich eine positive Oberflächenladung festzustellen, was die zusätzliche positive Ladung des Diammoniumsulfonats bestätigt. Diese Ergebnisse sind auch im Einklang mit der Ladungsdichtebestimmung, bei der keine Adsorption eines kationischen Farbstoffes möglich war.

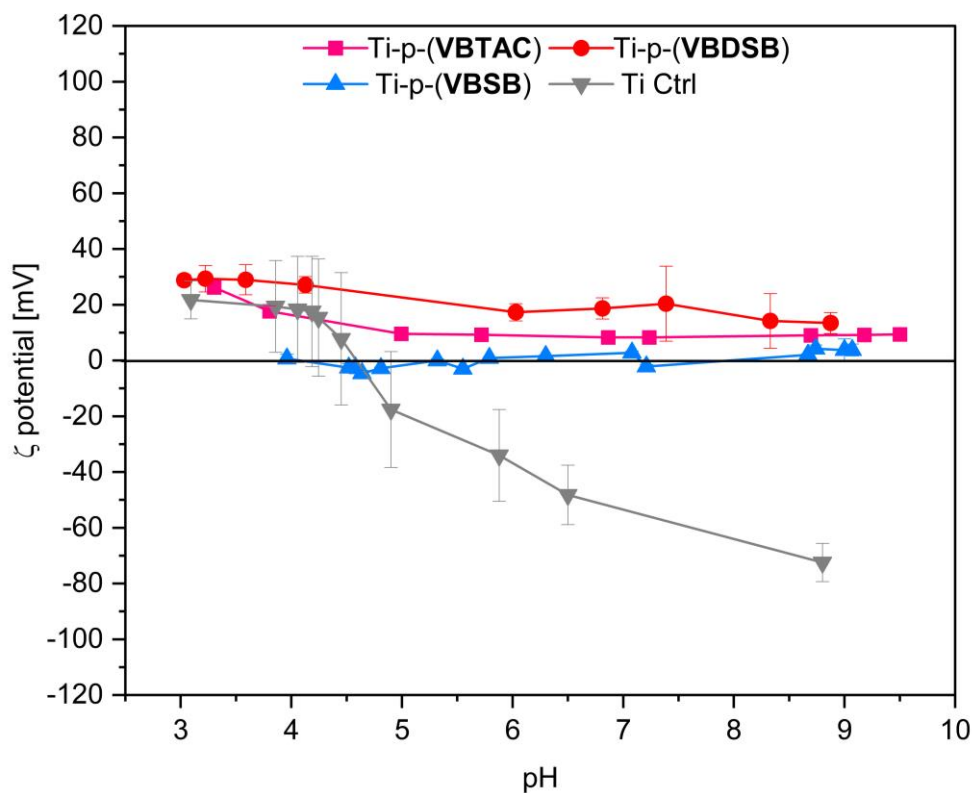


Abbildung 37: ζ -Potential Messungen über den pH-Wert Bereich 3 bis 10 für Ti-p-(**VBTAC**) (violett), Ti-p-(**VBDSB**) (rot), Ti-p-(**VBSB**) (blau) und Ti ctrl (grau). Ergebnisse sind als Mittelwert einer vierfachen Bestimmung \pm Standardabweichung dargestellt.

SIMS-ToF gekoppelt mit SPM

Zur 3D-Charakterisierung von Ti-p-(**VBDSB**) wurde SIMS-ToF gekoppelt mit SPM verwendet (Abbildung 38). Als Vergleich sind die Ergebnisse für dasselbe Polymer auf PE, PE-p-(**VBDSB**) dargestellt (vgl. Dissertation von Nils Burmeister).¹⁴² In beiden Tiefenprofilen wurden die für das Polymer p-(**VBDSB**) charakteristischen Signale $C_{16}N_2H_{23}SO_3^-$ (rot) und $C_2H_3SO_3^-$ (gelb) nachgewiesen, was einen qualitativen Nachweis für die Integrität des Polymers darstellt

(Abbildung 38A und B). Anhand der Intensität der beiden Signale wurde eine durchschnittliche Schichtdicke des gebildeten Polymers abgeschätzt, welche für Ti-p-(**VBDSB**) bei etwa 750 nm und für PE-p-(**VBDSB**) bei etwa 1500 nm liegt. Diese außergewöhnlich hohen Schichtdicken decken sich mit den Ergebnissen der Kontaktwinkelmessung für Ti-p-(**VBDSB**). Mit der Formel 9 lässt sich die Polymerisationsausbeute berechnen, welche für Ti-p-(**VBDSB**) bei $78.8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ liegt und somit deutlich höher ist als die ermittelten Polymerisationsausbeute für Ti-p-(**VBTAC**) (Tabelle 13).

Tabelle 13: Vergleich der Schichtdicke und Polymerisationsausbeute σ von Ti-p-(**VBTAC**), PE-p-(**VBTAC**), Ti-p-(**VBDSB**) und PE-p-(**VBDSB**)

	Ti-p- (VBTAC)	PE-p- (VBTAC)	Ti-p- (VBDSB)	PE-p- (VBDSB)
Schichtdicke [nm]	100	100	750	1500
σ [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	10.5	10.5	78.8	157.5

Anmerkung: Schichtdicke d wurde aus der SIMS-ToF Messung geschätzt und Polymerisationsausbeute σ wurde mit Formel 9 berechnet.

Die Dicke der Polymerschicht erscheint verblüffend, da bei solch hohen Ladungsdichten eigentlich eine Abstoßung zwischen den einzelnen Monomeren und Polymerbürsten zu erwarten wäre. Zwitterionische Polymere lassen sich durch SI-ATRP in den meisten Fällen nur mit bis zu 100 nm Polymerdicke synthetisieren, da die Polymerbürsten danach eine so große sterische Repulsion gegenüber den Monomeren ausüben, dass die Polymerisation gestoppt wird.¹⁵² Bei **VBDSB** scheinen die benachbarten Ammoniumgruppen allerdings einen positiven Effekt auf die Polymerisation auszuüben. Bereits in anderen Experimenten konnte gezeigt werden, dass die Polymerisation von Monomeren mit zwei benachbarten Ammoniumgruppen zu sehr dichten Polymerschichten führen kann.¹⁵⁷ Hierbei wurde postuliert, dass es zu einem sogenannten Geleffekt kommt, welcher zu einer Autobeschleunigung der Polymerisation führt.¹⁵⁸ Zusätzlich wird angeführt, dass es bei polyionischen Strukturen während der Polymerisation zu einer Kondensation der Gegenionen kommt und sich somit die Viskosität und Ionenstärke um die Polymere ändert.¹⁵⁹ Eine höhere Viskosität führt zu einer geringeren Abbruchrate mit einer Autobeschleunigung.¹⁶⁰ Dadurch können Polymerketten mit einer höheren Molarmasse erhalten werden. Wahrscheinlich spielt bei der SI-ATRP mit **VBDSB** zusätzlich die Polymerisationsgeschwindigkeit und -kontrolle eine Rolle. In der Literatur konnte nachgewiesen werden, dass Polymerketten, die ähnliche Molekulargewichte und Längen aufweisen, eher erhalten werden, je kontrollierter die Polymerisation abläuft.¹⁵² Dies führt auch zu einer sehr ebenen und flächigen Oberflächenmorphologie wie bei Ti-p-(**VBDSB**) und PE-p-(**VBDSB**) durch SPM Aufnahmen bestätigt wurde (Abbildung 38C und D). Die rau erscheinende Oberfläche bei Ti-p-(**VBDSB**) ist in diesem Fall nur auf das darunter liegende

Titan-Grundmaterial zurückzuführen. Für die SPM Aufnahmen wurde die Oberfläche vor und nach der Tiefenprofilanalyse vermessen. Das Fragment SO_3^- wurde für die Visualisierung ausgewählt, da es eine hohe Sekundärionenzählrate aufweist und somit eine gute Auflösung liefert.

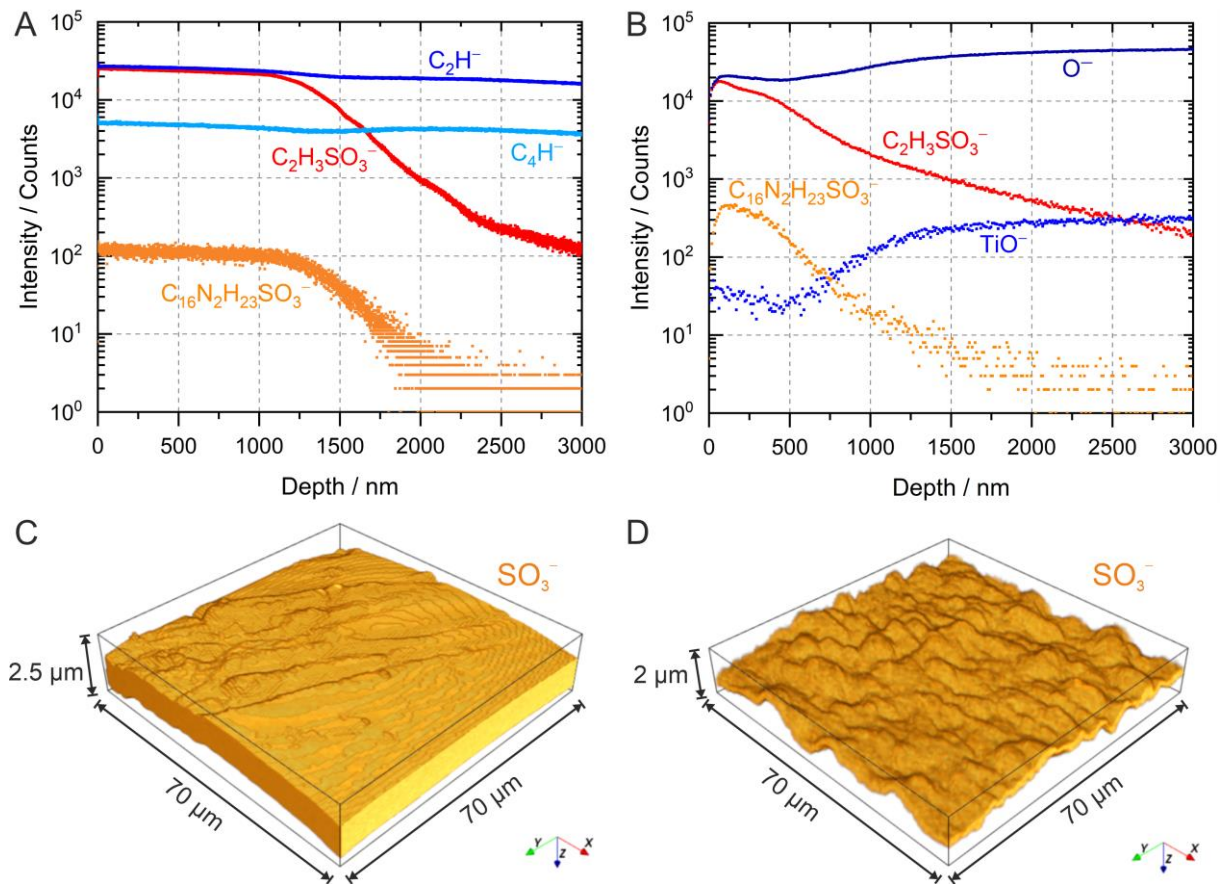


Abbildung 38: SIMS-ToF Tiefenprofile von A) PE-p-(VBDSB) und B) Ti-p-(VBDSB). Die SIMS-Analysen wurden mit Bi_3^{++} -Ionen im negativen Ionenmodus durchgeführt. Zur Bestimmung der Polymerdicke wurde zwischen den Analysescans ein Ar_{3000}^+ Clusterstrahl als Sputterquelle eingesetzt. Als charakteristische Signale für das Polymer p-(VBDSB) sind $\text{C}_2\text{H}_3\text{SO}_3^-$ (rot) und $\text{C}_{16}\text{N}_2\text{H}_{23}\text{SO}_3^-$ (gelb) aufgetragen. Zusätzlich sind korrelierte SPM und massenspektrometrische 3D-Daten der Polymerschichten von C) PE-p-(VBDSB) und D) Ti-p-(VBDSB) dargestellt. Als repräsentatives Massenfragment wurde SO_3^- (gelb) gewählt.

Laserscanmikroskopie

Zusätzlich wurden noch Laserscanaufnahmen von PE-p-(VBDSB) und Ti-p-(VBDSB) aufgenommen (Abbildung 39). Die Oberflächen zeigen, wie schon in den SPM Aufnahmen, (Abbildung 38C und D) unterschiedliche Oberflächenstrukturierungen. PE-p-(VBDSB) zeigt Strukturen, die über größere Flächen ebenmäßig sind, während bei Ti-p-(VBDSB) die Strukturierung kleinflächiger ist. Eine starke Nanostrukturierung kann sich positiv auf einen *low-fouling* Charakter auswirken, was anhand der mikrobiologischen Evaluierung bestätigt werden soll. Bakterien neigen, dazu sich an Oberflächen festzuhalten, die größer als sie selbst

sind. Nanostrukturierung einer Oberfläche kann damit ein Vorteil sein, da diese keine gute Besiedlungsfläche für Bakterien bietet.²⁵

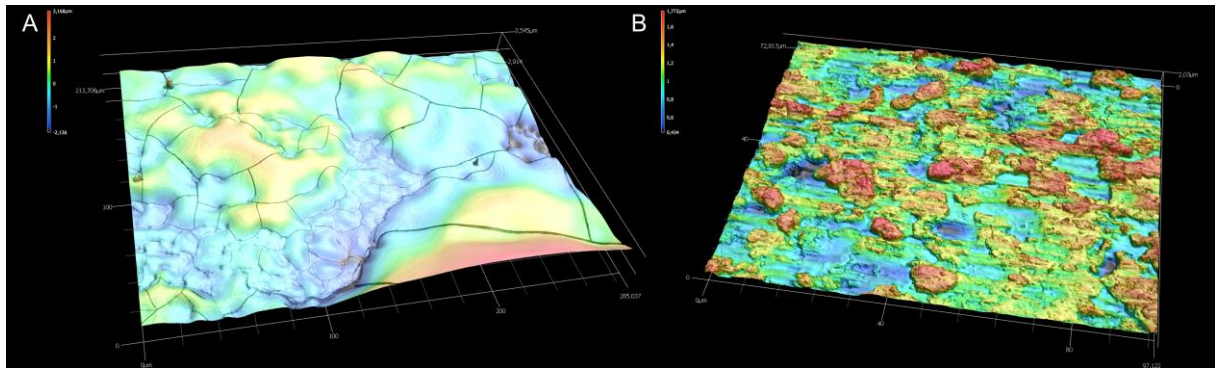


Abbildung 39: Aufnahmen der Laserscanmikroskopie von A) PE-p-(VBDSB) und B) Ti-p-(VBDSB).

Mikrobiologische Evaluierung

Zur Einordnung der mikrobiologischen Aktivität der bifunktionalen Modifikation Ti-p-(VBDSB) müssen die antimikrobielle Aktivität über die quartären Ammoniumgruppen zusammen mit der *low-fouling* Aktivität des Sulfobetains beurteilt werden. Hierfür wurden die Träger auf ihre antimikrobielle Aktivität mit dem ASTM Assay E2149-13a und auf die *low-fouling* Aktivität mit dem bakteriellen Adhäsionstest evaluiert.

ASTM Assay E2149-13a

Ti-p-(VBDSB) wurde mit dem ASTM Assay E2149-13a auf die kontaktbiozide Aktivität gegen verschiedene Bakterienstämme getestet. Hierfür wurden zwei Stämme des grampositiven *Staph. aureus* (ATCC 25923 und ATCC 29213) und zwei gramnegative Stämme *E. coli* (ATCC 25922) und *P. aeruginosa* (PA01) verwendet. Für einen *Staph. aureus* Stamm und gegen *E. coli* konnten \log_{10} -Reduktionen über dem Threshold von 2 (Tabelle 14) und somit eine kontaktbiozide Aktivität nachgewiesen werden. Gegen *P. aeruginosa* und für den zweiten *Staph. aureus* Stamm wurden \log_{10} -Reduktionen unter 2 festgestellt.¹³⁸ Alle ermittelten \log_{10} -Reduktionen liegen allerdings unter denen für das polykationische Ti-p-(VBTAC) ermittelten Werten, was auf eine geringere kontaktbiozide Aktivität hindeutet. Die geringeren Werte für die \log_{10} -Reduktion könnten durch einen geringeren Kontakt mit den Bakterien durch die zusätzliche *low-fouling* Modifikation erklärt werden. Für die Gesamtbeurteilung sollten also die kontaktbiozide Wirkung und die antiadhäsive Wirkung berücksichtigt werden. Da Ti-p-(VBDSB) eine größere hydrophobe Seitengruppe aufweist, kann dies den stärkeren Effekt gegen den grampositiven *Staph. aureus* ATCC 25923 erklären. Bei grampositiven Bakterien

wurde gezeigt, dass für einen ausreichend kontaktbioziden Effekt zusätzlich zu den quartären Ammoniumgruppen eine hydrophobe Seitengruppen vorhanden sein sollte.^{44, 138}

Tabelle 14: log₁₀-Reduktion von Ti-p-(**VBTAC**) und Ti-p-(**VBDSB**) gegen verschieden Bakterienstämme

	<i>Staph. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Staph. aureus</i> ATCC 29213	<i>P. aeruginosa</i> PA01
Ti ctrl	0 ± 0.0	0 ± 0.0	0 ± 0.0	0 ± 0.0
Ti-p-(VBTAC)	3.2 ± 0.0***	4.5 ± 0.0***	2.2 ± 0.3***	1.6 ± 0.1***
Ti-p-(VBDSB)	3.0 ± 0.1***	2.6 ± 0.1***	1.6 ± 0.1***	1.6 ± 0.0***

Anmerkung: Werte sind als Mittelwert einer dreifachen Bestimmung ± Standardabweichung angegeben. Statistische Signifikanz wurde durch paarweisen Vergleich mittels Tukey Test ermittelt, p < 0.001 (***).

Bakterieller Adhäsionstest

Zur Bewertung der *low-fouling* Eigenschaften von Ti-p-(**VBDSB**) wurde der bakterielle Adhäsionstest mit verschiedenen Bakterienstämmen durchgeführt. Als grampositiver Stamm wurden *Staph. aureus* (ATCC 29213) und als gramnegative *E. coli* (ATCC 25922) und *P. aeruginosa* (PA01) verwendet. Die geringe Zahl der anhaftenden Bakterien bestätigt einen signifikanten *low-fouling* Effekt gegen alle getesteten Stämme (Abbildung 40). Erwähnenswert ist, dass der *low-fouling* Effekt von Ti-p-(**VBDSB**) gegen *P. aeruginosa* am stärksten ist, der antimikrobielle Effekt aber nicht so ausgeprägt ist (Tabelle 14). Dies könnte dadurch erklärt werden, dass die Pseudomonaden durch den ausgeprägten *low-fouling* Effekt nicht dicht genug an die kontaktbiozide Funktionalität kommen, um abgetötet zu werden. In Anbetracht der Oberflächenpotenziale (ζ -Potential) der unterschiedlichen getesteten Bakterienstämme können diese die Ergebnisse des bakteriellen Adhäsionstest erklären. *E. coli* weist das negativste ζ -Potential (-40 bis -60 mV)¹⁴⁰ auf, *Staph. aureus* (-2 bis -5 mV)¹⁶¹ und *P. aeruginosa* (-9 mV)¹⁶¹ weisen deutlich geringer negative Oberflächenpotenziale auf. Das stark positive ζ -Potential von Ti-p-(**VBDSB**) (+18 mV, Abbildung 37) könnte damit die hohe *low-fouling* Aktivität gegen *P. aeruginosa* erklären.

Um abschließend die Unterschiede in den mikrobiologischen Wirkungen zu klären, müssten, wie schon in Abschnitt 5.1.4 erwähnt, die verschiedenen Stämme näher auf ihre zytoplasmatischen Zusammensetzungen untersucht werden, um den Einfluss dieser genau zu verstehen. Zusätzlich wäre es sinnvoll den Einfluss der Topographien der Modifikationen näher zu untersuchen. Weiter könnten die Anordnung der Polymerketten und eventueller hydrophober Ketten einen Einfluss auf die mikrobiologische Wirkung haben. Dies sollte alles Gegenstand zukünftiger Forschung sein.

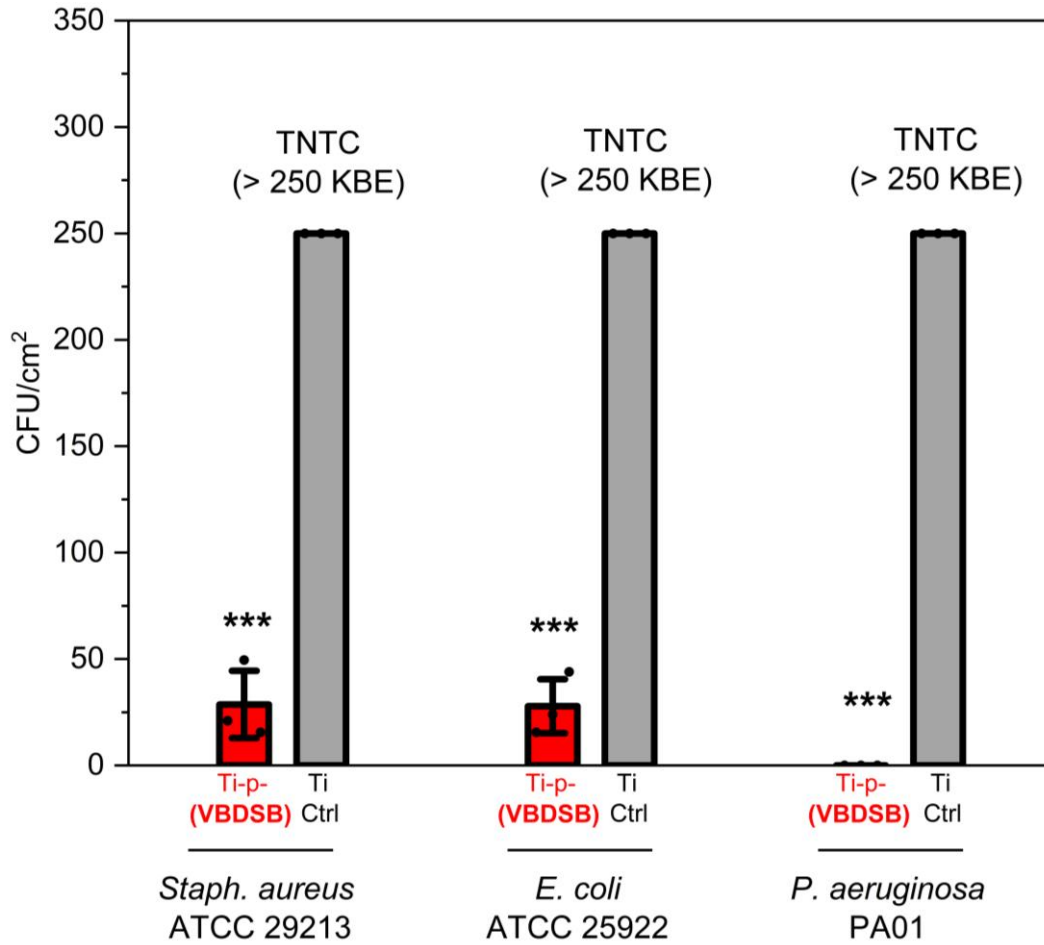
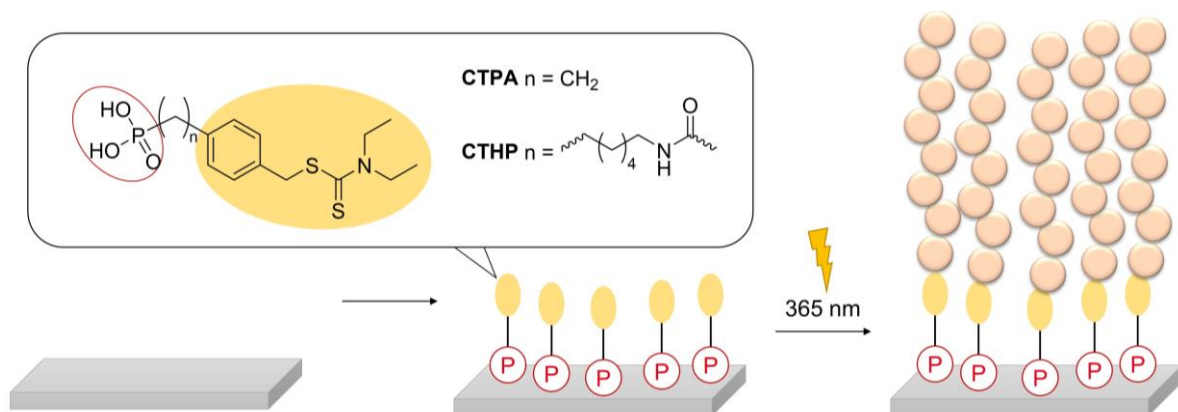


Abbildung 40: Ergebnisse des bakteriellen Adhäsionstests für Ti-p-(VBDSB) gegen *Staph. aureus* (ATCC 29213), *E. coli* (ATCC 25922) und *P. aeruginosa* (PA01). KBE über 250 Kolonien wurde als nicht zählbar (engl. *too numerous to count* (TNTC)) angesehen. Die Balken zeigen die Mittelwerte einer Dreifachbestimmung mit der Standardabweichung und den einzelnen Messwerten. Statistische Signifikanz wurde durch paarweisen Vergleich mittels Tukey Test ermittelt, $p < 0.001$ (***).

5.3 SI-PIMP mit Phosphonsäuren als Anker

SI-PIMP wurde bereits erfolgreich mit Anker-molekülen, die über Silanylderivate oder Thiole immobilisiert werden, als Modifikationsmethode getestet.^{34, 55, 94, 95, 162-168} Derzeit gibt es in der Literatur aber noch keine Beispiele für eine Verwendung von Phosphonsäuren als Anker-moleküle für eine SI-PIMP. Vorteil der SI-PIMP ist, dass kein Übergangsmetall als Katalysator nötig ist und die Polymerisation allein durch UV-Licht angeregt wird. Da z.B. Kupfer selbst antimikrobiell ist und in antimikrobiellen Beschichtungen verwendet wird, wird durch eine katalysatorfreie Polymerisation ein eventueller Konflikt bezüglich des Wirkmechanismus umgangen. Ein weiterer Vorteil stellt der schnelle und einfache Polymerisationsvorgang dar (Schema 10).

SI-PIMP konnte in der Literatur bereits erfolgreich angewandt werden um Oberflächen mit Polyphosphorylcholin¹⁶⁹, Polysulfobetainen³⁴, Polycarboxybetainen^{163, 164} und Polykationen⁵⁵ zu modifizieren und ist somit eine vielversprechende Methode.



Schema 10: schematische Darstellung der Vorgehensweise. 1. Schritt: Immobilisierung der bifunktionalen Anker, 2. Schritt: SI-PIMP mit verschiedenen Monomeren.

5.3.1 Design der Photoiniferter

Um eine SI-PIMP auf Titanoberflächen durchzuführen, muss zunächst die Oberfläche aktiviert werden. Dafür wurden bifunktionale Anker designt, welche als Anker-molekül eine Phosphonsäuregruppe enthalten (Abbildung 41). In der Literatur sind Silanylchloride, Silanylester^{34, 55, 94, 166-168} und Thiole^{95, 162-164} bereits etabliert, Phosphonsäuren wurden als Anker-moleküle für SI-PIMP noch nicht verwendet. Als Effektorgruppe für die SI-PIMP wird eine Photoinifertergruppe in das Molekül eingeführt (Abbildung 41). Dafür wird eine (Diethylthiocarbamoyl)thiobenzylgruppe verwendet. Als *Spacing* zwischen den funktionellen

Gruppen sollen unterschiedliche Gruppen verwendet werden. Bei dem Design neuer SI-PIMP Initiatoren wurden literaturbekannte Photoiniferter als Designvorbilder verwendet.¹⁶⁶

Zunächst soll die sehr einfach gehaltene bifunktionale Phosphonsäure **CTPA** (Abbildung 41) dargestellt, immobilisiert und als SI-PIMP Initiator getestet werden. Diese wurde in ihrem Design an schon verwendete SI-PIMP Initiatoren angelehnt, welche als Ankergruppe einen Silanylester verwenden.^{34, 55, 94, 166, 168}

Um eine noch bessere Immobilisierung der Anker zu garantieren, soll zusätzlich noch ein *Spacer* eingebaut werden, wie bei **CTHP** gezeigt (Abbildung 41). Als Vorbild dient wieder ein, in der Literatur erfolgreich angewandter, Photoiniferter mit einem Silanylester.¹⁶⁷ Eine längere Alkylkette zwischen den funktionellen Gruppen vermittelt hierbei die Bildung geordneter, selbstorganisierender Monolagen. Grund hierfür sind vor allem die VAN-DER-WAALS-Kräfte, die zwischen benachbarten Alkylketten wirken. Zusätzlich kommt es bei allen Photoiniftern über die Benzylgruppen zu einem π -Stacking der Aromaten, was die Bildung von geordneten Monolagen weiter begünstigt. Als Verbindung zwischen der Alkylkette und dem Benzylrest, wird eine hydrolysestabile Amidgruppe verwendet, welche sich einfach darstellen lässt.

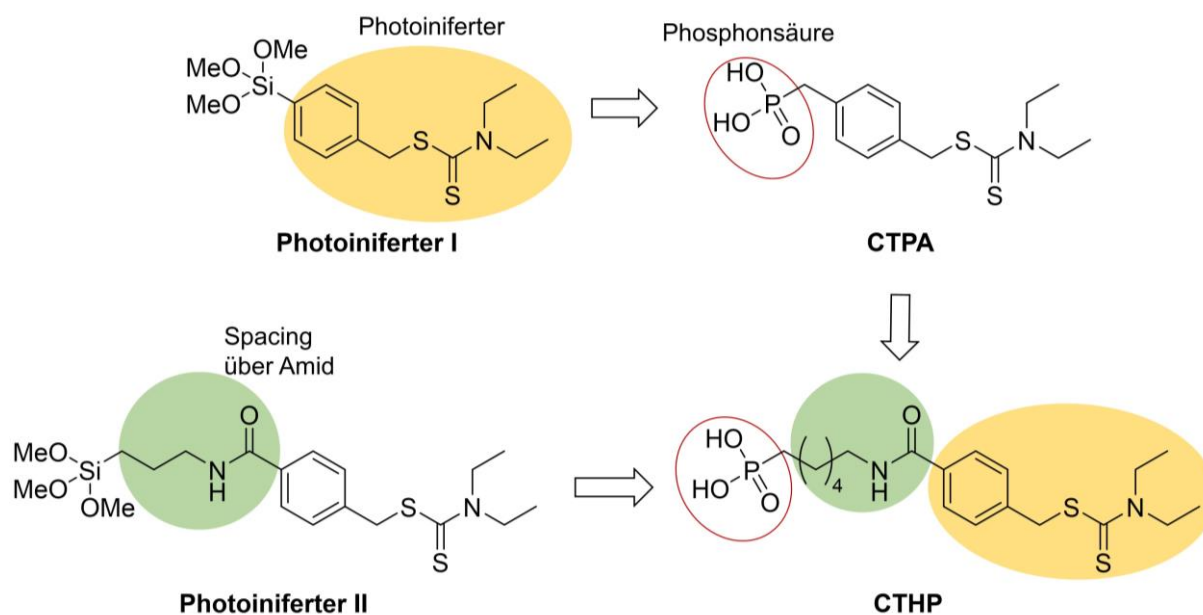
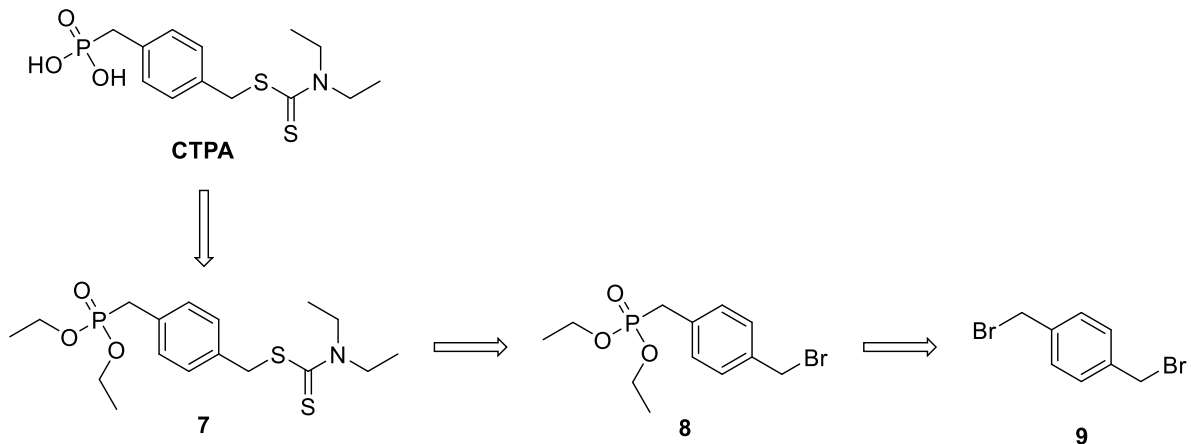


Abbildung 41: Design des bifunktionalen Ankers für SI-PIMP ausgehend von dem literaturbekannten Photoiniferter I¹⁶⁶ zu **CTPA** und aus dem Photoiniferter II¹⁶⁷ zu **CTHP**.

5.3.2 Darstellung der bifunktionalen Phosphonsäuren

Retrosyntheseweg

Zur Darstellung der gewünschten bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** wurden einfache und gut realisierbare Syntheserouten gewählt. Die Retrosynthese von **CTPA** ist in Schema 11 und die für **CTHP** in Schema 12 gezeigt.

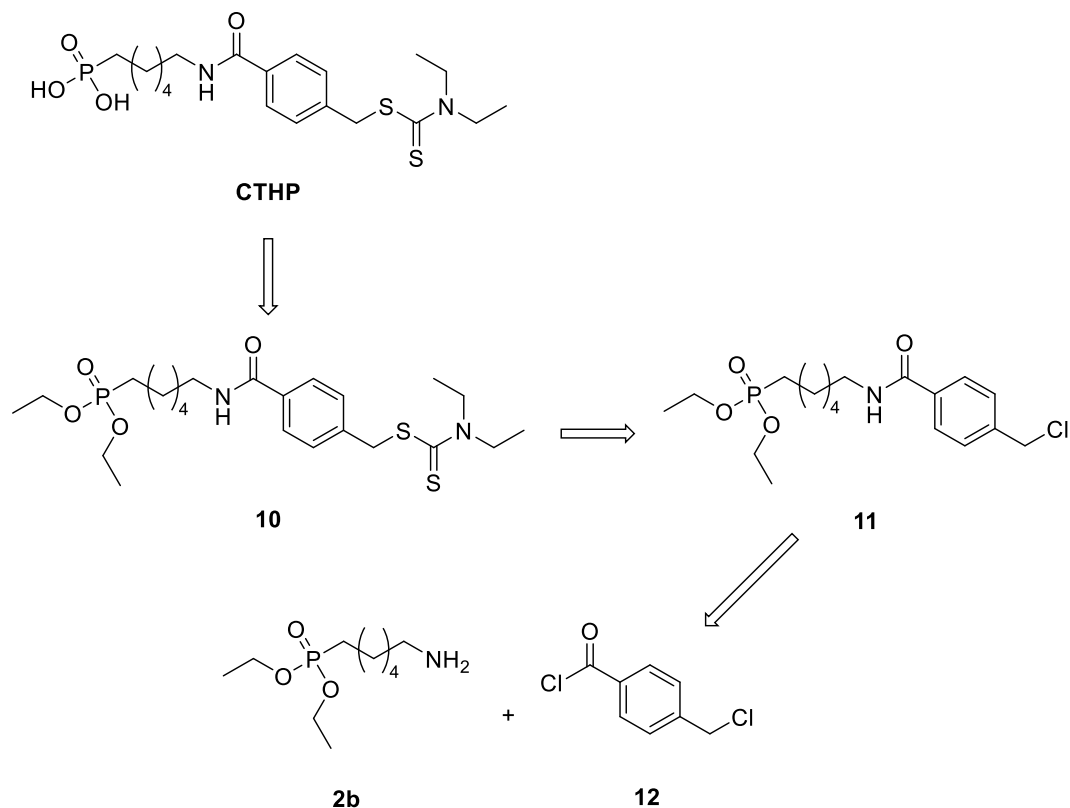


Schema 11: Retrosyntheseplan für **CTPA**.

Die freie Phosphonsäure **CTPA** lässt sich durch eine Entschützung der Phosphonsäurediethylester **7** realisieren. Hierfür bieten sich die milden Hydrolyse-Bedingungen der MCKENNA Methode¹⁰² an, bei der die Phosphonsäureester zu den korrespondierenden Bis(trimethylsilyl)phosphonsäureestern umgesetzt werden und diese anschließend mit Wasser hydrolysiert werden.

Phosphonsäurediethylester **7** lässt sich durch eine nukleophile Substitution von Natriumdiethyldithiocarbamat an Diethyl(4-Bromomethyl)benzylphosphonsäure **8** darstellen. Hierbei entsteht NaBr, was sich durch eine Filtration und Waschen mit Wasser leicht abtrennen lässt.

Die Diethyl(4-Bromomethyl)benzylphosphonsäure **8** lässt sich durch eine MICHAELIS-ARBUZOV-Reaktion^{170, 171} an Dibromxylylene **9** darstellen.



Schema 12: Retrosyntheseplan für **CTHP**.

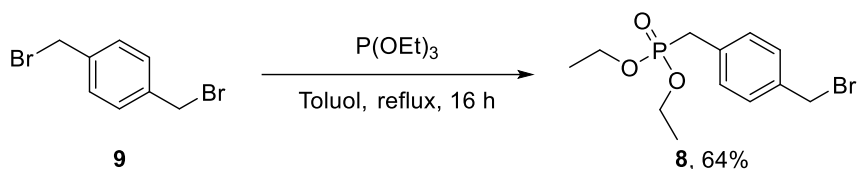
Die bifunktionale Phosphonsäure **CTHP** lässt sich ebenfalls über eine Hydrolyse mit der MCKENNA Methode¹⁰² aus dem Diethylphosphonsäureester **10** darstellen. Da das Endprodukt **CTHP** empfindliche funktionelle Gruppen aufweist, sollte hier eine milde Hydrolysemethode gewählt werden.

Der Phosphonsäurediethylester **10** lässt sich durch eine nukleophile Substitution von Natriumdiethyldithiocarbamat an dem Benzamid **11** darstellen.

Das Benzamid **11** kann aus der Kupplung des Aminophosphonates **2b** und dem Benzoylchlorid **12** dargestellt werden. Das Benzoylchlorid **12** stellt eine hydrolyselabile Verbindung dar, weshalb wasserfrei gearbeitet werden sollte.

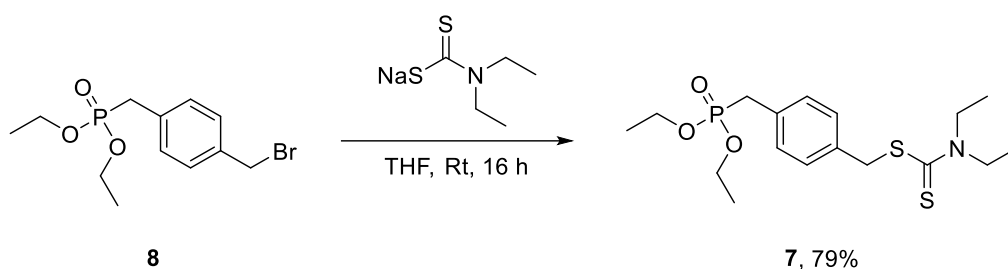
Synthese von CTPA und CTHP

Die erfolgreiche Desymmetrisierung des Dibromxylene konnte über die MICHAELIS-ARBUZOV-Reaktion^{170, 171} erreicht werden (Schema 21). Hierbei wurde das Syntheseprotokoll an ein Literaturprotokoll von BIGGE¹⁷² vereinfacht und optimiert. Das Dibromxylene wurde im Überschuss eingesetzt und der Überschuss konnte durch eine säulenchromatographische Aufreinigung abgetrennt werden, wodurch sich das Produkt **8** in befriedigender Ausbeute erhalten ließ.



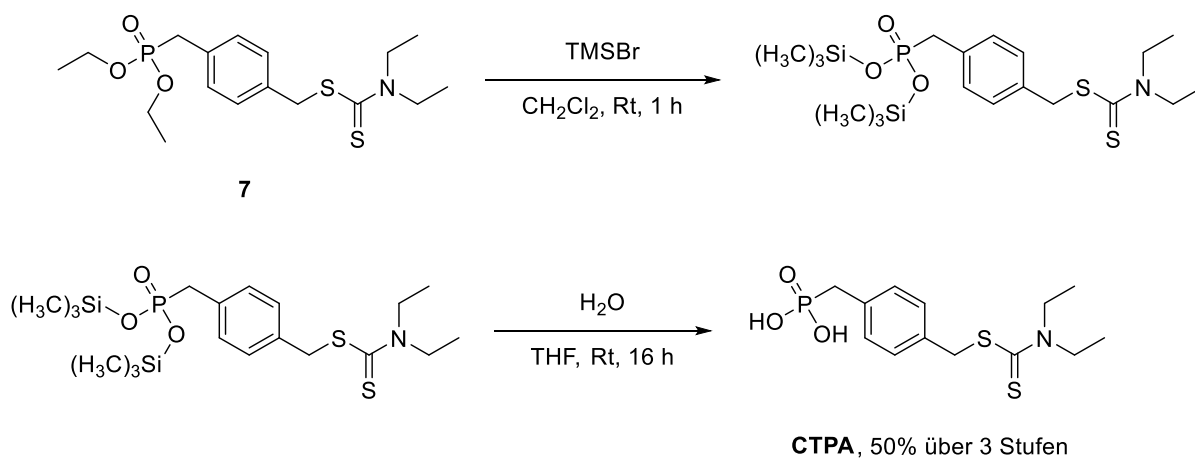
Schema 21: Synthese von **8** über eine MICHAELIS-ARBUZOV-Reaktion^{106, 107} mit Triethylphosphit.

Die Darstellung des Phosphonsäurediethylesters **7** ließ sich durch eine nukleophile Substitution von Natriumdiethyldithiocarbamat an **8** realisieren (Schema 22). Dafür wurde das Literaturprotokoll von KESSLER¹⁸¹ mit Modifikationen an der Reinigung verwendet. Als Nebenprodukt wurde NaBr gebildet, welches sich durch eine Extraktion mit Wasser und Ethylacetat abtrennen ließ. **7** wurde in guter Ausbeute erhalten.



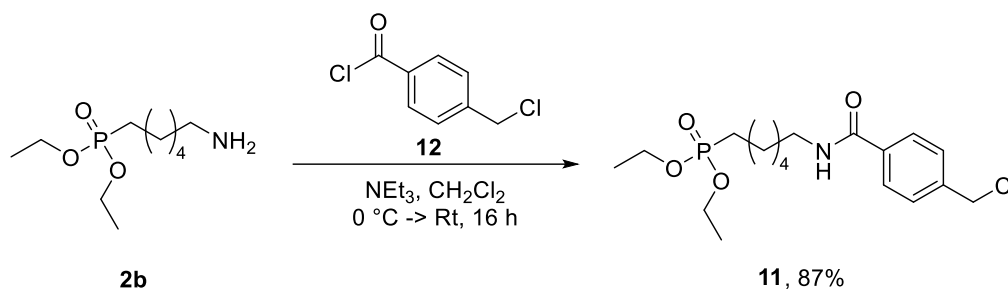
Schema 22: Synthese von **7** über eine nukleophile Substitution von Natriumdiethyldithiocarbamat an **8**.

Die bifunktionale Phosphonsäure **CTPA** wurde durch die Entschützung des Phosphonsäurediethylester **7** mit der MCKENNA¹⁰³ Methode in ausgezeichneter Ausbeute erhalten (Schema 23). Zunächst wurden die Bis(trimethylsilyl)phosphonsäureester unter Wasser- und Luftausschluss durch die Zugabe von Bromtrimethylsilan erhalten. Alle flüchtigen Verunreinigungen und Lösungsmittel wurden im Vakuum entfernt. Anschließend wurden die Bis(trimethylsilyl)phosphonsäureester mit Wasser hydrolysiert und nach Gefriertrocknung wurde **CTPA** über drei Stufen in einer Gesamtausbeute von 50% erhalten.



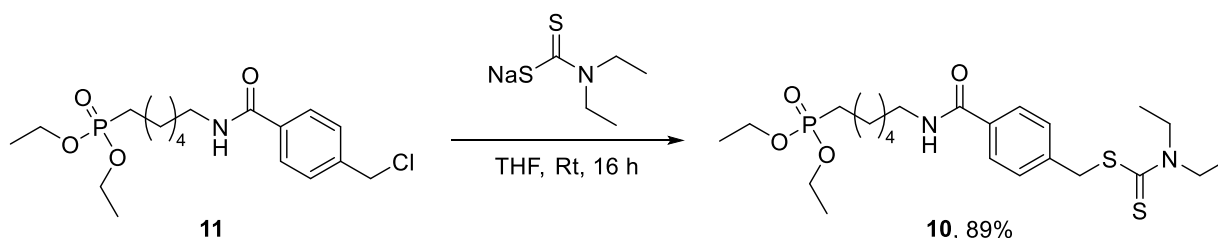
Schema 13: Hydrolyse von **7** mit Bromotrimethylsilan zu **CTPA** mit der McKenna¹⁰² Methode.

Die Amidkupplung des Amines **2b** mit dem Benzoylchlorid **12** konnte unter Wasser- und Luftausschluss realisiert werden (Schema 24). Das Rohprodukt wurde mit Säure und Base gewaschen, um das gebildete HCl und überschüssiges Triethylamin zu entfernen. Um noch geringe Reste des Nebenproduktes 4-(Chlormethyl)benzoesäure zu entfernen, wurde eine chromatographische Reinigung an Kieselgel durchgeführt. Das Benzamid **11** konnte in sehr guter Ausbeute erhalten werden.



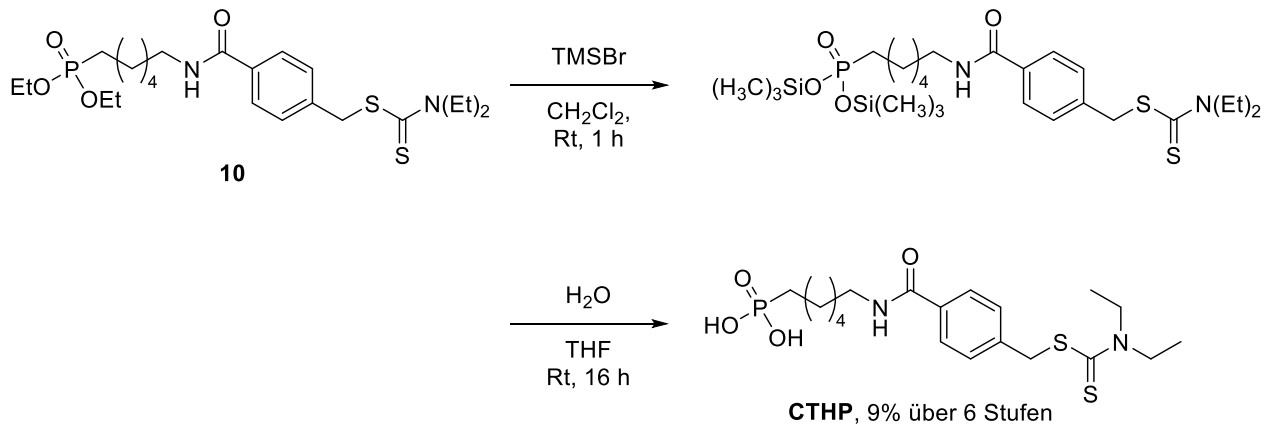
Schema 24: Synthese von Benzamid **11** über die Kupplung von dem Amin **2b** an Benzoylchlorid **12**.

Die Darstellung des Phosphonsäurediethylesters **10** ließ sich durch eine nukleophile Substitution von Natriumdiethyldithiocarbamat an **11** realisieren (Schema 25). Dafür wurde das Literaturprotokoll von KESSLER¹⁸¹ mit Modifikationen an der Reinigung verwendet. Als Nebenprodukt wurde NaBr gebildet, welches sich durch eine Extraktion mit Wasser und Ethylacetat abtrennen ließ. **10** wurde in sehr guter Ausbeute erhalten.



Schema 25: Synthese von **10** über eine nukleophile Substitution von Natriumdiethyldithiocarbamat an **11**.

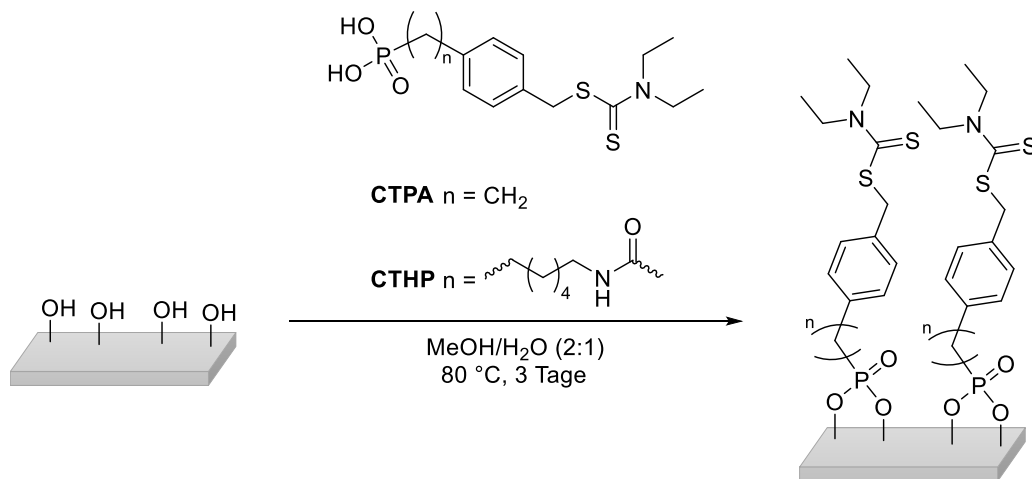
Die bifunktionale Phosphonsäure **CTHP** wurde durch die Entschützung des Phosphonsäurediethylester **10** mit der MCKENNA¹⁰³ Methode erhalten (Schema 26). Zunächst wurden unter Wasser- und Luftausschluss die Bis(trimethylsilyl)phosphonsäureester durch die Zugabe von Bromtrimethylsilan erhalten. Alle flüchtigen Verunreinigungen und Lösungsmittel wurden im Vakuum entfernt. Anschließend wurden der Bis(trimethylsilyl)phosphonsäureester mit Wasser hydrolysiert und nach Gefriertrocknung wurde das Rohprodukt erhalten. Nach säulenchromatographischer Reinigung an einer RP18-Umkehrphase, wurde **CTPA** in einer optimierungsbedürftigen Gesamtausbeute von 9% erhalten.



Schema 26: Hydrolyse von **10** mit Bromotrimethylsilan zu **CTHP** mit der McKenna¹⁰³ Methode.

5.3.3 Immobilisierung der bifunktionalen Phosphonsäuren CTPA und CTHP

Die Immobilisierung der dargestellten bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** wurde nach einer etablierten Methode von MAISON *et al.*^{110, 114, 115} durchgeführt und ist dem Schema 27 zu entnehmen. Die Nanopartikel wurden ohne vorherige Reinigung verwendet, die Titanträger wurden vor der Beschichtung gereinigt. Für die Nanopartikel wurde eine 10 mM Lösung der Phosphonsäuren in Methanol und Wasser verwendet, für die Träger wurde eine 1 mM Lösung verwendet. Die Nanopartikel bzw. Träger wurden in der Lösung bei 80 °C für 3 Tage inkubiert, um eine maximale Beladung mit Phosphonsäuren zu erreichen.



Schema 14: Immobilisierung der bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** auf Titanoxidnanopartikeln und Titanträgern.

Immobilisierung auf TiO₂-Nanopartikeln

Zunächst wurden die bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** auf TiO₂-Nanopartikeln (21 nm) immobilisiert und mittels TGA und FT-IR charakterisiert.

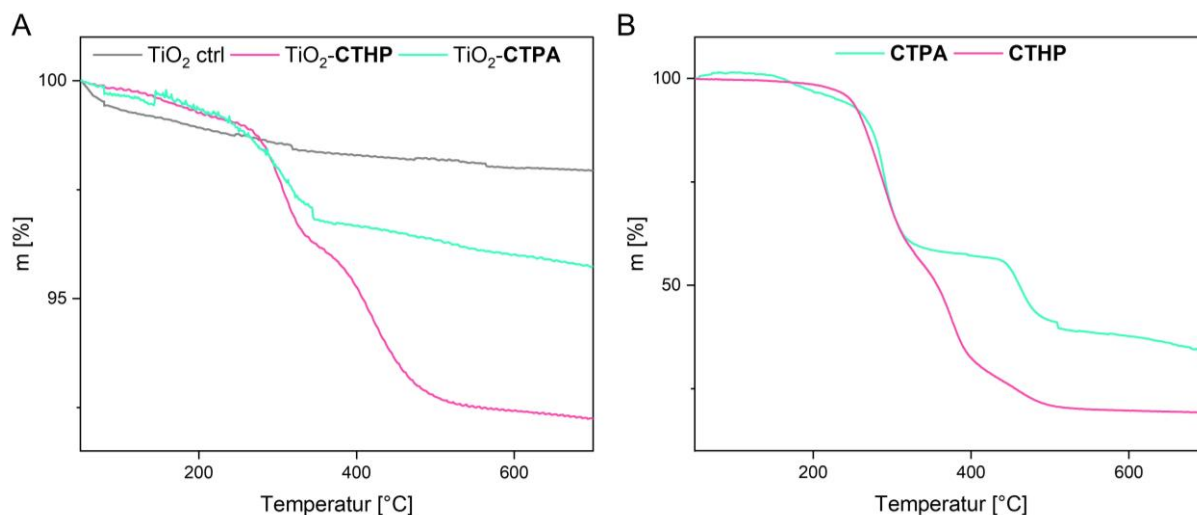


Abbildung 42: TGA Kurven, A) von TiO₂-Nanopartikeln (TiO₂ ctrl) und TiO₂-CTPA und TiO₂-CTHP₂-AOPA und B) von freien bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP**.

Anhand der TGA-Daten (Abbildung 42A) konnte gezeigt werden, dass beide bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** kovalente Bindungen zur TiO₂ Oberfläche ausbilden. Die thermische Zersetzung von TiO₂-CTPA und TiO₂-CTHP folgt einem zweistufigen Verlauf. Zunächst wird bei ca. 300 °C die CS-Bindung zum Thiocarbamat gespalten. Bei 300-500 °C wird über eine β -Eliminierung der Alkylgruppe die CP-Bindung gespalten.¹⁰⁶ Zusätzlich kommt es zur Spaltung der CC-Bindung zum aromatischen Ring.^{110, 173} Hier ist auch eine wesentlich kleinere zweite Stufe bei den Kurven der TiO₂-CTPA Nanopartikel und **CTPA** (Abbildung 42) zu erkennen. Bei Temperaturen bis 700 °C werden das Phosphat auf der Oberfläche und der aromatische Ring als Verkohlungsrückstand mit ~20% verbleiben.¹³⁰

Die Massenverluste der freien Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** und der korrigierte Massenverlust (Formel 1) für TiO₂-CTPA, TiO₂-CTHP sind der Tabelle 15 zu entnehmen. Mit Formel 2 ergibt sich eine Beladungsdichte von 1.68 Phosphonsäuren pro nm² für **CTPA** auf TiO₂ und von 2.88 Phosphonsäuren pro nm² für **CTHP** auf TiO₂-Nanopartikeln. Eine maximale Beladung wird mit vier Phosphonsäuren pro nm² angenommen und ist meistens nur bei idealen Bedingungen zu finden. Der sperrige Rest der Diethyldithiocarbamatgruppe verhindert ein enges Packen der Phosphonsäuren, was zu niedrigeren Beladungsdichten von **CTPA** führt.¹¹² Wie bei der Entwicklung von **CTHP** angenommen, wirken sich die zusätzlichen VAN-DEER-WAALS-Kräfte des längeren Alkylrestes positiv auf die Beladungsdichte aus. Dies übersteigt sogar die Beladungsdichte der SI-ATRP Initiatoren (vgl. Kapitel 5.1.3).

Tabelle 15: Massenverluste Δm durch TGA ermittelt, korrigierte Massenverluste m_{korr} und berechnete Beladungsdichten σ_i .

	Δm [%] ^a	Δm_{korr} [%] ^b	σ_i [1/nm ²] ^c
TiO ₂ -CTPA	4.00	6.06	1.68
TiO ₂ -CTHP	8.04	9.96	2.88
CTPA	66.06		
CTHP	80.73		

Anmerkung: **a:** Massenverluste sind aus drei unabhängigen Messungen als Mittelwert ermittelt, **b:** korrigierter Massenverlust wurde mit Formel 1 berechnet, **c:** Beladungsdichte σ_i wurde mit Formel 2 berechnet.

FT-IR Spektren der kovalent gebundenen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** unterstreichen die TGA Ergebnisse. Für **CTHP** lassen sich intensive Banden erkennen, was auf eine flächendeckende und dichte Beladung hinweist (Abbildung 43A). Für **CTPA** lassen sich nur minimale Banden erkennen, was eine schlechtere Beladung bestätigt. In Abbildung 43A sind die Übersichtsspektren der TiO₂ Kontrolle (TiO₂ ctrl), TiO₂-**CTPA** und TiO₂-**CTHP** dargestellt. Alle TiO₂-Nanopartikel zeigen eine breite TiO-Streckschwingung mit Absorption unterhalb von 890 cm⁻¹.¹¹⁵ Für **CTHP** lassen sich zwei Carbonylbanden bei 1639 cm⁻¹ für die Amidgruppe und 1547 cm⁻¹ für die Dithiocarbamatgruppe erkennen, was die Intaktheit des Moleküls bestätigt.

Weiter lassen sich die IR-Spektren verwenden, um die gebildeten selbstorganisierten Monolagen auf ihre Ordnung zu untersuchen. Zur Beurteilung der Ordnung wurden die Banden der CH-Streckschwingung von der freien, ungebundenen Phosphonsäure und der oberflächengebundenen Phosphonsäure verglichen. Eine Verschiebung der Banden zu niedrigeren Wellenzahlen deutet auf eine geordnete Monolage hin.^{96, 97} Da in dem Molekül **CTPA** nur eine CH₂ Gruppe vorhanden ist, kann sich hier keine Kettenordnung ergeben. Hier sind asymmetrische Streckschwingungen ν_a bei höheren Wellenlängen von 2930 cm⁻¹ zu erkennen, die symmetrische Streckschwingungen ν_s sind aber kaum zu detektieren (Abbildung 43B). Bei **CTHP** deuten die CH-Streckschwingungen auf ungeordnetere Monolagen hin, die asymmetrische Streckschwingung ν_a liegt bei 2928 cm⁻¹ und die symmetrische Streckschwingung ν_s bei 2854 cm⁻¹ (Abbildung 43B). Im Vergleich zu den SI-ATRP Initiatoren sind somit für **CTHP** ungeordnetere Lagen festzustellen (vgl. Kapitel 5.1.3). Bei **CTHP** scheint die Ordnung der Alkylketten aber keinen großen Einfluss auf die Beladung zu haben, wie die Beladungsdichtermittlung über TGA zeigt.

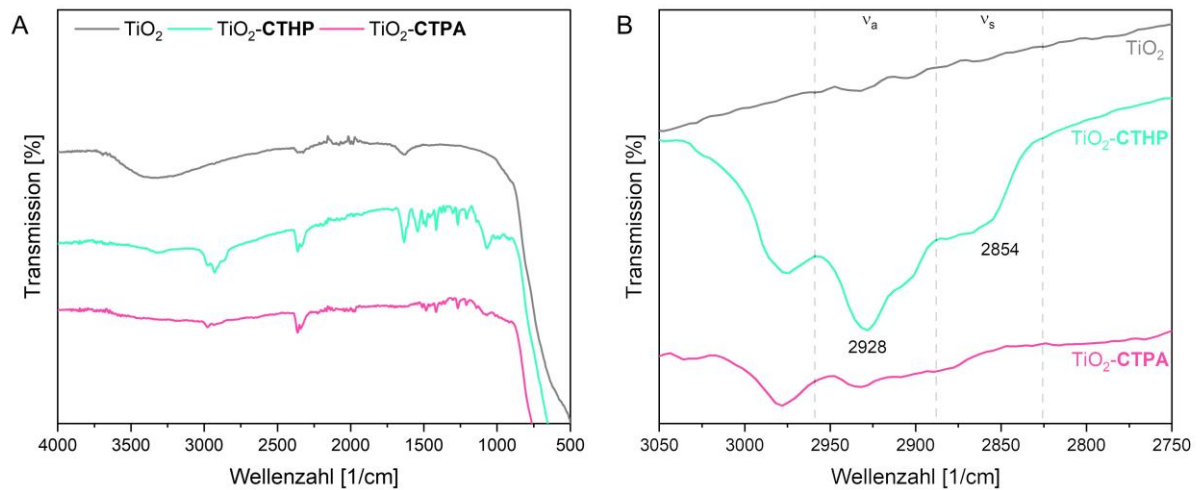


Abbildung 43: FT-IR Spektren A) von TiO_2 -Nanopartikeln und $\text{TiO}_2\text{-CTPA}$ und $\text{TiO}_2\text{-CTHP}$, B) Bereich der CH -Streckschwingung ν_a und ν_s .

Immobilisierung auf Titan Bulkoberflächen

Die bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** wurden auf Reintitanträgern (20 mm x 10 mm x 1 mm) immobilisiert und über Kontaktwinkel analysiert. Für beide SI-PIMP Initiatoren ergaben sich Kontaktwinkel über 60° (Tabelle 16), was eine Immobilisierung der Initiatoren auf den Titanträgern bestätigt. Für beide ergeben sich vergleichsweise hohe Kontaktwinkel, die durch die unpolaren organischen Reste auf der Oberfläche erklärt werden können.

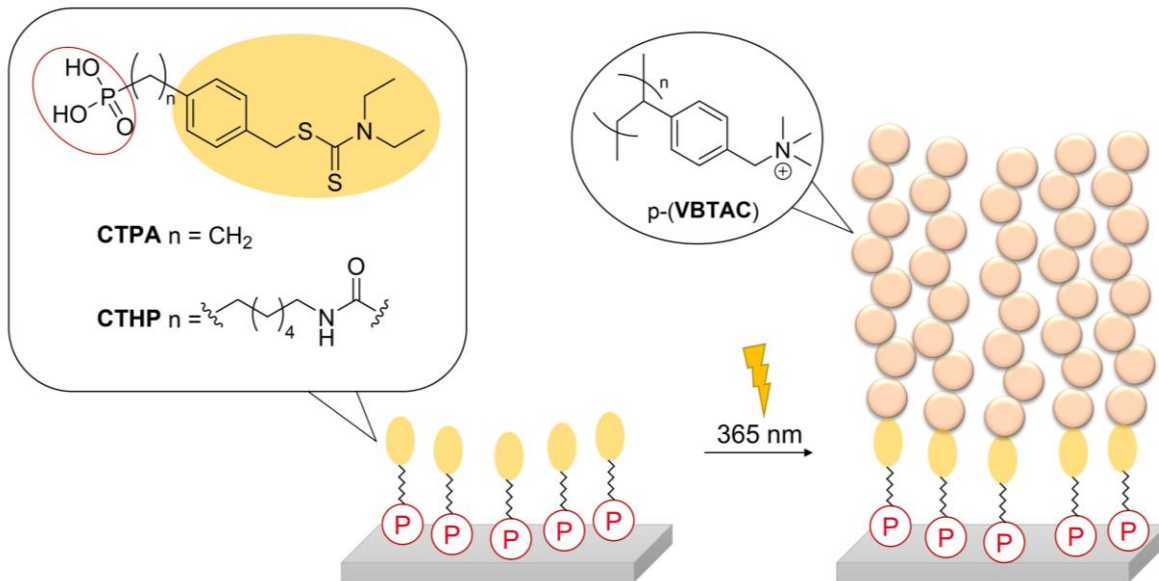
Tabelle 16: Kontaktwinkel nach Immobilisierung von Ti ctrl, Ti-CTPA und Ti-CTHP

Ti ctrl	Ti-CTPA	Ti-CTHP
$48.1^\circ \pm 9$	$68.5^\circ \pm 5$	$61.5^\circ \pm 5$

Anmerkung: Kontaktwinkel sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen \pm Standardabweichung angegeben.

5.3.4 SI-PIMP über Ti-CTPA und Ti-CTHP mit VBTA

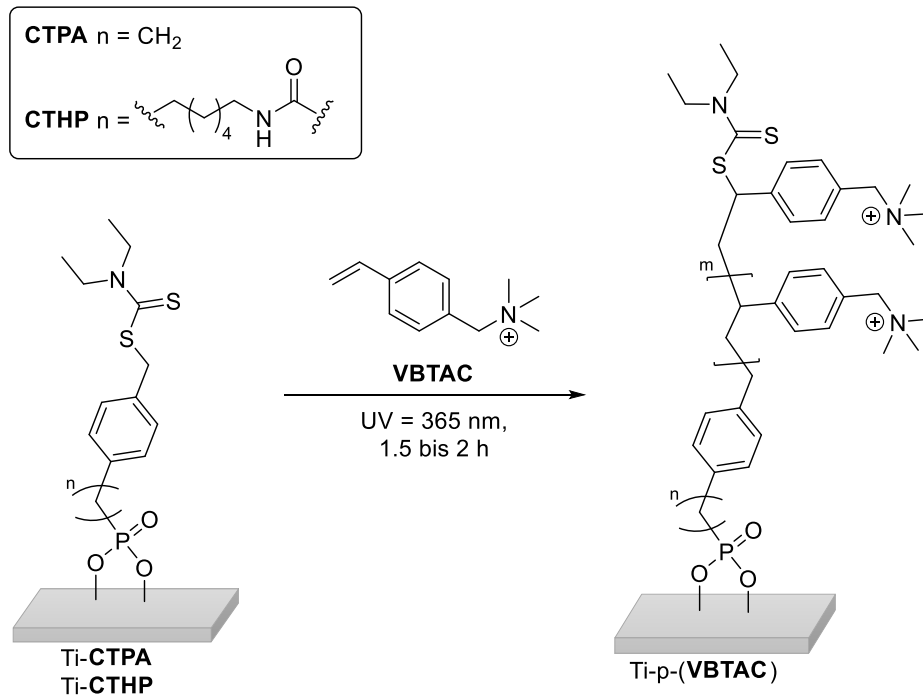
Ausgehend von den immobilisierten, bifunktionalen Phosphonsäuren **CTPA** und **CTHP** wurde eine SI-PIMP mit dem kationischen Monomer **VBTA** durchgeführt. Hier wurde untersucht, ob die unterschiedlichen Initiatoren und ihre Immobilisierung einen Einfluss auf die anschließende Polymerisation haben. Die SI-PIMP von **VBTA** wurde auf Titanträgern (20 mm x 10 mm x 1 mm) durchgeführt und das Material anschließend charakterisiert (Schema 15).



Schema 15: Vergleich der SI-PIMP Initiatoren **CTPA** und **CTHP** über Polymerisation des kationischen Monomers **VBTA**.

SI-PIMP ausgehend von Ti-CTPA und Ti-CTHP

Auf den mit Initiator modifizierten Trägern wurde die SI-PIMP mit dem kationischen Monomer **VBTA** durchgeführt (Schema 16). Hierbei wurde in Wasser gearbeitet und kein zusätzlicher Katalysator verwendet. Nach Entgasen der Monomerlösung mit N_2 wurden die Träger zu der Lösung gegeben. Das Reaktionsgefäß wurde in einen UV-Reaktor gegeben und die Lösung wurde mit UV-Licht (365 nm) bestrahlt. Nach der Bestrahlung wurde die Polymerisation gestoppt, indem das Reaktionsgefäß geöffnet wurde. Bei beiden Initiatoren sowie bei der Titankontrolle, kam es in der Lösung auch zu einer Bildung von Homopolymer. Der Erfolg der oberflächeninitiierten Polymerisation über **Ti-CTPA** und **Ti-CTHP** wurde über den Kontaktwinkel evaluiert.



Schema 16: SI-PIMP mit **VBTAAC** über Ti-CTPA und Ti-CTHP.

Kontaktwinkel und Ladungsdichte

Zunächst wurden ausgehend von Ti-CTPA verschiedene SI-PIMP Bedingungen getestet und verglichen; diese sind der Abbildung 44 zu entnehmen. Es wurde sowohl die Monomerkonzentration, als auch die Polymerisationszeit variiert. Da das gebildete p-(VBTAAC) als Polykation den Kontaktwinkel stark herabsetzt, kann der Erfolg der Polymerisation anhand des Kontaktwinkels bestimmt werden. Bei Ti-CTPA sind auf den Trägern teilweise sehr hydrophile Kontaktwinkel von ca. 20° zu beobachten. Allerdings wurde bei allen Trägern festgestellt, dass es sich nicht um eine flächendeckende und gleichmäßige Modifikation der Oberfläche handelt und sich die Kontaktwinkel innerhalb eines Trägers stark unterscheiden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Immobilisierung von CTPA auf TiO_2 -Nanopartikeln. Hier konnte durch TGA eine sehr geringe Beladungsdichte von 1.7 Phosphonsäuren pro nm^2 festgestellt werden, was für eine flächendeckende und einheitliche SI-PIMP offenbar nicht ausreicht.

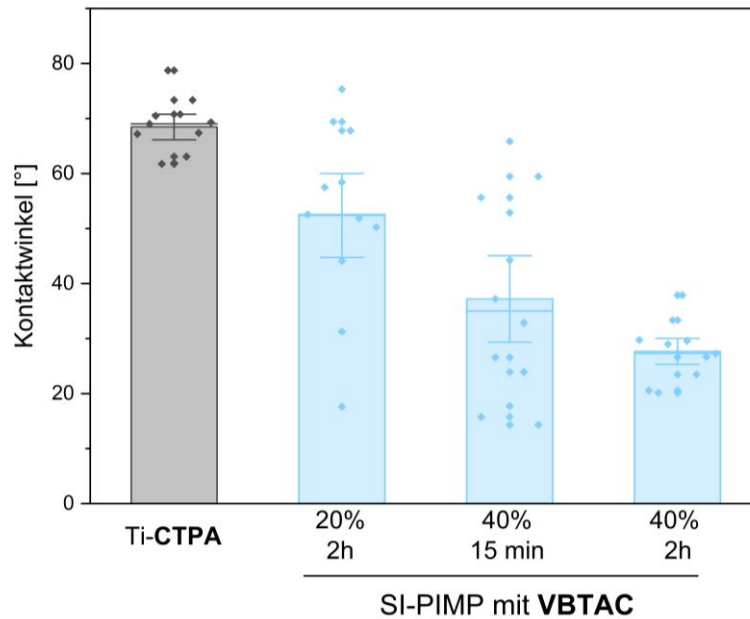


Abbildung 44: Ergebnisse der Testung verschiedener SI-PIMP Bedingungen über Ti-CTPA. Balken zeigen die gemessenen Kontaktwinkel für Ti-CTPA (grau) und Ti-CTPA-p-(VBTAC) bei verschiedenen SI-PIMP Bedingungen (blau) als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen \pm Standardabweichung an. Die einzelnen Messwerte (\blacklozenge) sind mit eingezeichnet, um die Streuung dieser zu verdeutlichen. Es wurde 20% oder 40% von VBTAC und die Zeit zwischen 15 min und 2 h variiert.

Für Ti-CTHP wurde ausgehend von den besten Bedingungen für Ti-CTPA (40% VBTAC, 2 h) die Polymerisation weiter optimiert und schon nach 1.5 h ergab sich ausgehend von Ti-CTHP eine flächendeckend einheitliche Modifizierung durch p-(VBTAC) auf der Oberfläche, was sich in einem niedrigen Kontaktwinkel $\sim 20^\circ$ widerspiegelt (Tabelle 17). Für Ti-CTHP-p-(VBTAC) wurde über den Fluorescein Assay^{43, 46} (Abbildung 23) die lösungsmittelzugängliche Ladungsdichte der quartären Ammoniumgruppen bestimmt. Visuell konnte nach der Adsorption mit Fluorescein schon eine gleichförmige Färbung des Trägers nachgewiesen werden, was auf eine einheitliche polykationische Modifizierung des Trägers hinweist. Nach Desorption und Quantifizierung der quartären Ammoniumgruppen, ergab sich für Ti-CTHP-p-(VBTAC) eine Ladungsdichte von $20.1 \pm 1.7 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$, was deutlich über dem für kontaktbiozide Aktivität postulierten Wert von $5 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ liegt. Somit lässt sich die polykationische Titanmodifizierung Ti-p-(VBTAC) aus dem Kation VBTAC auch erfolgreich über Ti-CTHP mit SI-PIMP darstellen.

Tabelle 17: Kontaktwinkel von Ti ctrl, Ti-CTPA, Ti-CTPA-(VBTAC), Ti-CTHP und Ti-CTHP-(VBTAC).

Ti ctrl	Ti-CTPA	Ti-CTPA-p-(VBTAC)	Ti-CTHP	Ti-CTHP-p-(VBTAC)
48.1° \pm 9	68.5° \pm 5	27.7° \pm 5	61.5° \pm 5	20.7° \pm 7

Anmerkung: Kontaktwinkel sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen \pm Standardabweichung angegeben.

5.3.5 SI-PIMP über Ti-CTHP mit weiteren ionischen Monomeren

Durch die Ergebnisse der Immobilisierung von **CTPA** und **CTHP** auf TiO₂-Nanopartikeln und Titanträgern konnte ermittelt werden, dass **CTHP** eine sehr viel bessere Beladung der Oberfläche vermittelt als **CTPA**. Durch die ersten SI-PIMP Versuche mit **VBTA** über Ti-**CTPA** und Ti-**CTHP** konnte auch deutlich gemacht werden, dass eine flächendeckende oberflächeninitiierte Polymerisation nur über Ti-**CTHP** erfolgreich durchgeführt werden konnte. Deshalb wurde für die weiteren SI-PIMP Versuche nur noch Ti-**CTHP** verwendet. Hier sollte wieder wie bei der SI-ATRP getestet werden, ob sich weitere ionische Monomere über SI-PIMP auf Titan oberflächeninitiiert polymerisieren lassen.

Es wurden zwei weitere kationische Monomere **METAC** und **VBD** polymerisiert und mit den Ergebnissen über SI-ATRP verglichen. Weiter wurde das neue, kombiniert wirkende Monomer **VBDSB** getestet. Abschließend wurde das von BURMEISTER *et al.* neu entwickelte Monomer **VBNOx**, über SI-PIMP auf Titan polymerisiert (Abbildung 45).³⁸ Es wurde gezeigt, dass Polymere *N*-oxide sowohl *low-fouling* Aktivität gegen verschiedene Stämme zeigen, als auch über eine ROS Bildung und Freisetzung Bakterien in unmittelbarer Umgebung abtöten.

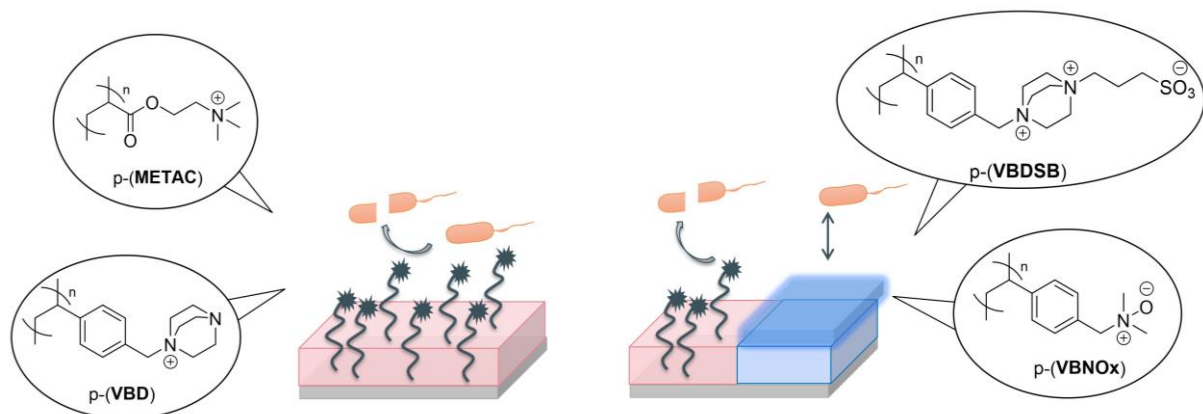
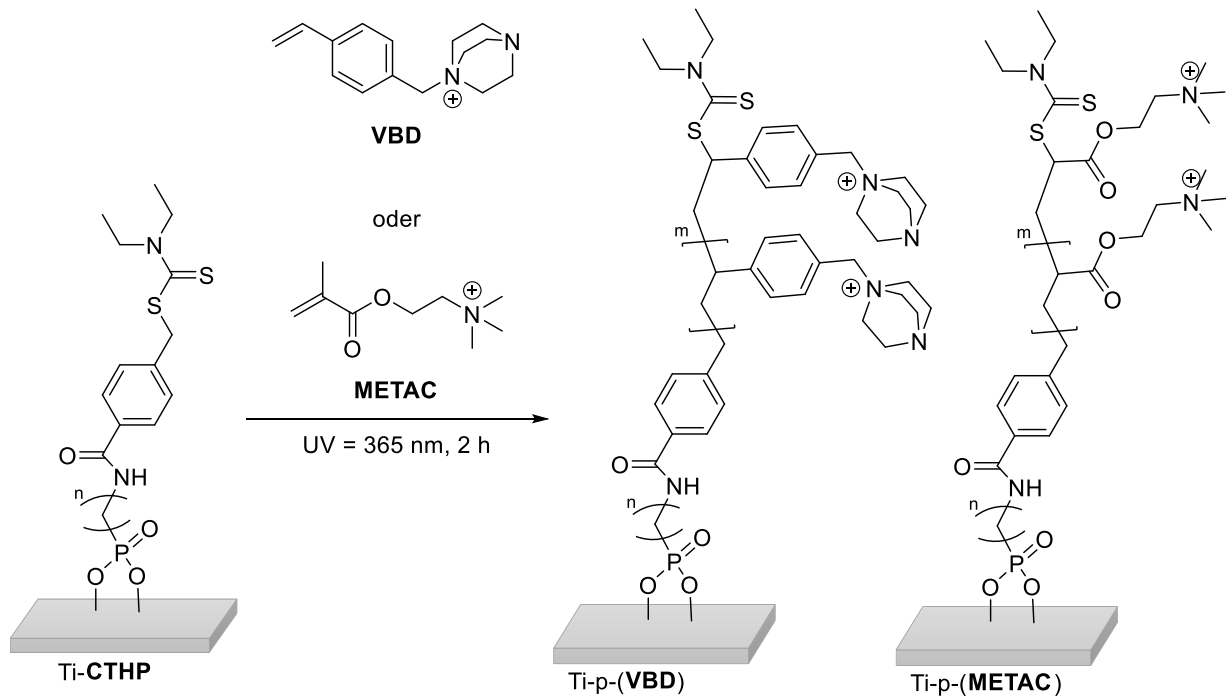


Abbildung 45: SI-PIMP über Ti-CTHP mit verschiedenen Monomeren zur Darstellung von den polykationischen Ti-p-(**METAC**), Ti-p-(**VBD**), dem polyzwitterionischen Ti-p-(**VBNOx**) und dem kombinierten Ti-p-(**VBDSB**).

Darstellung polykationischer Modifikationen über Ti-CTHP mit SI-PIMP

Zunächst wurden weitere polykationische Modifikationen über Ti-**CTHP** mit SI-PIMP dargestellt. Dafür wurden das Methacrylderivat **METAC** und das neu dargestellte **VBD** als Monomere verwendet (Schema 17). Hier wurde auf einen externen Katalysator verzichtet und die Polymerisation in Wasser unter Luftausschluss bei UV-Strahlung (365 nm) durchgeführt.



Schema 17: SI-PIMP mit **VBD** und **METAC** auf Titan.

Evaluierung

Für die Modifizierungen **Ti-p-(VBD)** und **Ti-p-(METAC)** wurden zunächst Kontaktwinkel bestimmt. Hier konnten für beide sehr niedrige Kontaktwinkel von unter 20° festgestellt werden, was eine polykationische Modifizierung bestätigt (Tabelle 18). Für beide Modifizierungen wurden zudem auch niedrigere Kontaktwinkel gemessen als für das zuvor dargestellte **Ti-p-(VBTAC)**.

Tabelle 18: Vergleich der Kontaktwinkel von Ti ctrl, **Ti-CTHP**, **Ti-p-(VBTAC)**, **Ti-p-(VBD)** und **Ti-p-(METAC)**.

Ti ctrl	Ti-CTHP	Ti-p-(VBTAC)	Ti-p-(VBD)	Ti-p-(METAC)
$48.1^\circ \pm 9$	$61.5^\circ \pm 5$	$20.7^\circ \pm 7$	$16.3^\circ \pm 7$	$13.7^\circ \pm 5$

Anmerkung: Kontaktwinkel sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen \pm Standardabweichung angegeben.

Für beide polykationischen Modifizierungen **Ti-p-(VBD)** und **Ti-p-(METAC)** wurde die Ladungsdichte mit dem Fluorescein Assay^{43, 46} bestimmt. Für **Ti-p-(VBD)** konnten nur unter $1 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ festgestellt werden, wohingegen für **Ti-p-(METAC)** $4.7 \cdot 10^{15} \text{ N}^+/\text{cm}^2$ gemessen wurden. Anhand der Ladungsdichten wäre eine kontaktbiozide Aktivität somit nur für **Ti-p-(METAC)** zu erwarten. Vergleichend wurden in Tabelle 19 die Ladungsdichten für alle kationischen Modifizierungen über beide Techniken SI-ATRP und SI-PIMP dargestellt. Hier ergibt sich ein interessantes Bild. **Ti-p-(VBTAC)** lässt sich über beide Polymerisations-

techniken mit sehr guten Ladungsdichten an quartären Ammoniumgruppen darstellen. Ti-p-(**METAC**) lässt sich nur mit SI-PIMP über Ti-**CTHP** mit guten Ladungsdichten darstellen. Für Ti-p-(**VBD**) lassen sich keine hohen Ladungsdichten detektieren.

Tabelle 19: Ladungsdichte der Ammoniumgruppen $N^+ 10^{15}$ pro cm^2 bestimmt über den Fluorescein Assay

	Ti-p-(VB TAC)	Ti-p-(V BD)	Ti-p-(M ETAC)
über Ti- CTHP	20.1 ± 1.7	0.4 ± 0.3	4.7 ± 2.1
über Ti- ADPA	14.2 ± 3.0	9.7 ± 0.8	0.1 ± 0.1

Anmerkung: Die Werte sind in 10^{15} und als Mittelwert ± Standardabweichung von drei Trägern angegeben und berechnet aus drei Bestimmungen der UV-VIS Absorption. Die Modifikationen über Ti-**CTHP** wurde mit SI-PIMP darstellt, über Ti-**ADPA** mit SI-ATRP.

Für alle polykationischen Modifikationen Ti-p-(**VB**TAC), Ti-p-(**V**BD) und Ti-p-(**M**ETAC) wurde mit dem ASTM Assay E2149-13a auf eine kontaktbiozide Aktivität gegen *Staph. aureus* (ATCC 25923) getestet. Für alle drei konnte eine signifikante Reduktion der KBE nachgewiesen werden und es wurden \log_{10} -Reduktionen von 2.6 bis 2.8 erhalten (Tabelle 20).

Sogar für Ti-p-(**V**BD), wo nur eine geringe Ladungsdichte ermittelt wurde, konnte ein signifikanter Effekt nachgewiesen werden. Dies unterstützt wieder den Punkt, dass bei grampositiven Bakterien zusätzliche hydrophobe Seitengruppen nötig sind für einen kontaktbioziden Effekt.¹³⁸ Bei **VBD** ist eine große hydrophobe Seitengruppe durch das DABCO-Gerüst gegeben und dementsprechend reichen auch geringe Ladungsdichten der Ammoniumgruppen für einen Effekt. Hier wäre es sinnvoll zu überprüfen, ob sich die über SI-PIMP dargestellten Polymerbürsten anders anordnen als die über SI-ATRP dargestellten. Es könnte vermutet werden, dass die Ammoniumgruppen nicht lösungsmittelzugänglich sind und deswegen nicht detektiert worden sind. Hier wären tiefergehende Untersuchung über beispielsweise SIMS-ToF sinnvoll.

Somit lassen sich kontaktbiozide Modifikationen erfolgreich mit verschiedenen kationischen Monomeren über Ti-**CTHP** mit SI-PIMP darstellen. Folglich stellt SI-PIMP eine gute katalysatorfreie Alternative zur SI-ATRP auf Titan dar.

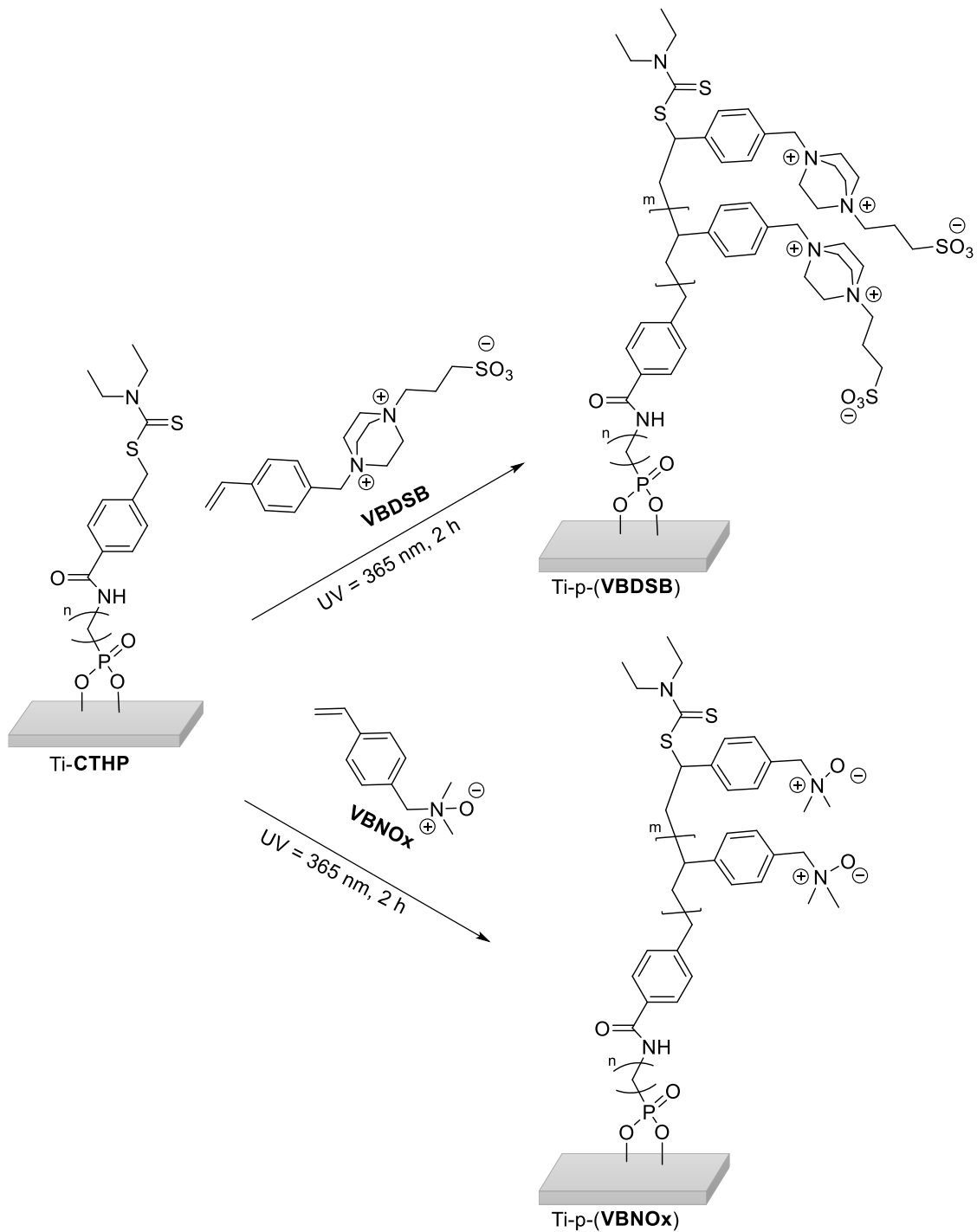
Tabelle 20: Ergebnisse des ASTM Assays E2149-13a als \log_{10} -Reduktion gegen *Staph. aureus* ATCC 25923

	Ti-p-(VB TAC)	Ti-p-(V BD)	Ti-p-(M ETAC)
über Ti- CTHP	2.7 ± 0.0***	2.6 ± 0.1***	2.8 ± 0.0***
über Ti- ADPA	3.2 ± 0.0***	2.7 ± 0.3***	-

Anmerkung: Werte sind als Mittelwert einer dreifachen Bestimmung ± Standardabweichung angegeben. Statistische Signifikanz wurde durch paarweisen Vergleich mittels Tukey Test ermittelt, $p < 0.001$ (***). Die Modifikationen über Ti-**CTHP** wurden mit SI-PIMP erstellt, über Ti-**ADPA** über SI-ATRP.

Darstellung polyzwitterionischer Modifikationen über Ti-CTHP mit SI-PIMP

Da sich die polykationischen Modifikationen erfolgreich über Ti-CTHP mit SI-PIMP darstellen lassen, sollte Ti-CTHP verwendet werden, um das zwitterionische **VBNOx** und das kombiniert wirkende **VBDSB** auf Titan zu polymerisieren (Schema 18). Hier wurde auf einen externen Katalysator verzichtet und die Polymerisation in Wasser unter Luftausschluss bei UV-Strahlung (365 nm) durchgeführt.



Schema 18: SI-PIMP über Ti-CTHP mit **VBDSB** und **VBNOx**.

Evaluierung

Die Titanmodifizierung Ti-p-(**VBNOx**) und Ti-p-(**VBDSB**) ließen sich erfolgreich über eine SI-PIMP darstellen, was sich über die Kontaktwinkel bestätigen lässt (Tabelle 21). Hierbei liegt der Kontaktwinkel für Ti-p-(**VBDSB**) in einem ähnlichen Bereich wie die Modifikation über Ti-**ADPA** mit SI-ATRP, was für eine ähnlich erfolgreiche Modifizierung steht. Die Kontaktwinkel für Ti-p-(**VBNOx**) sind auch vergleichbar mit Kontaktwinkeln, die in der Literatur³⁸ ermittelt wurden, was eine erfolgreiche Polymerisation bestätigt. Zur Interpretation der Kontaktwinkel sollten die Ergebnisse von CHENG *et al.*¹⁵² berücksichtigt werden, da es bei beiden Polymeren wahrscheinlich zu einem superkollabierten Zustand durch intra- und intermolekulare Interaktionen der Polymerbürsten kommt und der Kontaktwinkel somit nicht so niedrig ist, wie bei polyionischen Modifikationen auf den ersten Blick zu erwarten wäre.

Tabelle 21: Vergleich der Kontaktwinkel von Ti ctrl, Ti-CTHP, Ti-p-(**VBNOx**) und Ti-p-(**VBDSB**).

Ti ctrl	Ti-CTHP	Ti-p-(VBNOx)	Ti-p-(VBDSB)
48.1° ± 9	61.5° ± 5	24.7° ± 9	32.6° ± 3

Anmerkung: Kontaktwinkel sind als Mittelwert von drei Trägern mit jeweils drei Messungen an unterschiedlichen Positionen ± Standardabweichung angegeben.

Antimikrobiologische Evaluierung mit ASTM Assay E2149-13a

Für Ti-p-(**VBNOx**) wurde eine antimikrobiologische Evaluierung mit dem ASTM Assay E2149-13a durchgeführt und es wurde ein leichter, aber signifikanter, antibakterieller Effekt gegen *Staph. aureus* festgestellt. Die log₁₀-Reduktion liegt bei 1.95 ± 0.1*. Es konnten also nicht so hohe antibakterielle Effekte wie bei BURMEISTER *et al.*³⁸ festgestellt werden und diese lagen zudem unter dem Threshold von einer log₁₀-Reduktion von 2.00.¹³⁸ Eine Erklärung hierfür könnte eine Instabilität der N-oxid Struktur gegenüber UV-Licht sein.¹⁷⁴ KONKIN *et al.*¹⁷⁵ zeigten, dass N-Methylmorpholine-N-oxid unter Lichteinstrahlung Radikale bildet und sich zersetzt. Wenn es während der Polymerisation zur partiellen Zersetzung der N-oxide kommt, hätte das einen Verlust an biologischer Aktivität zur Folge. Um dies abschließend zu klären, müssten genauere Analysen des gebildeten Polymers auf der Titan Oberfläche durchgeführt werden. Mit XPS oder SIMS-ToF könnte die chemische Zusammensetzung ermittelt und ein Verhältnis von tertiären Aminen und eventuell noch vorhandenen N-oxiden bestimmt werden. Wenn eine Zersetzung der N-oxide festgestellt werden würde, könnte eine oberflächeninitiierte Polymerisation der tertiären Amine mit anschließender Postmodifizierung mit Wasserstoffperoxid zu den gewünschten N-oxiden erwogen werden. Dies wurde bereits erfolgreich in der Literatur gezeigt.^{36, 38, 176}

6. Experimentalteil

6.1 Methoden und Materialien

6.1.1 Allgemeine Anmerkung

Alle Standardchemikalien wurden in Reagenzienqualität bei *ABCR*, *Acros*, *Alfa Aesar*, *Fluka*, *Sigma Aldrich*, *Merck*, *Roth* oder *TCI* erworben und, falls nicht anders erwähnt, ohne weitere Reinigung vor der Verwendung eingesetzt. (Vinylbenzyl)trimethylammoniumchlorid (**VBTA**C, 97%) wurde von *Santa Cruz Biotechnology, Inc.* erworben. Die Synthese der verwendeten Monomere (Vinylbenzyl)dimethylamin **VBDMA**, (Vinylbenzyl)sulfobetain **VBSB** und (Vinylbenzyl)dimethylaminoxid **VBNOx** wurden nach Literaturprotokollen durchgeführt.¹⁴³ Titanträger aus Reintitan 3.7025 Grad 1 (Größe: 20 mm x 10 mm x 1.0 mm) und Magnesiumträger mit der Legierung AZ31 (Größe: 30 mm x 10 mm x 2 mm) wurden von *Rocholl GmbH* bezogen. TiO₂-Nanopartikel (Aeroxide P25, 21 nm) wurden von *Sigma-Aldrich* bezogen. MgO-Nanopartikel (35 nm) wurden von *Chempur* bezogen. Sofern nicht anders angegeben, wurden Lösungsmittel vor der Verwendung destilliert oder in HPLC-Qualität verwendet. Wasser wurde in Milli-Q Qualität verwendet, wenn nicht anders angegeben. Reaktionen unter Wasser- und Luftausschluss wurden unter Verwendung von trockenen Lösungsmitteln und in ausgeheizten Glasapparaturen unter einer trockenen Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Dabei wurden feste Reagenzien im Vakuum getrocknet und trockene, flüssige Reagenzien sowie trockene Lösungsmittel über eine mit Stickstoffgas konditionierte Spritze zugegeben.

6.1.2 Instrumentelle Analytik

Kernresonanzspektroskopie

¹H-, ¹³C-, und ³¹P-NMR-Messungen wurden bei Raumtemperatur in Probenröhrchen mit 5 mm Außendurchmesser in einem Bruker Avance III HD 400 MHz oder Bruker Avance I HD 500 MHz Spektrometer (AV400 und AV500, Bruker Biospin GmbH, Ettlingen, Deutschland) aufgenommen. ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren wurden gegen deuterierte Lösungsmittel kalibriert. ¹³C-NMR und ³¹P-NMR wurden mit ¹H-Entkopplung aufgenommen. Für die ³¹P-NMR-Spektren wurde als externer Standard 85% H₃PO₄ verwendet. Zusätzlich wurden zweidimensionale Experimente (HSQC, *H,H*-COSY und HMBC) zur Peak Zuordnung gemessen. Zur Auswertung wurde Mestre Nova verwendet.

Festphasen-NMR

³¹P und ¹³C CP MAS NMR Spektren von mit Phosphonsäuren modifizierten Nanopartikeln wurden bei Raumtemperatur mit MAS (magic angle spinning) Frequenz bei 13 kHz gemessen.

^{31}P NMR Spektren der freien Phosphonsäuren wurden unter statischen Konditionen ohne ^1H -Entkopplung aufgenommen.

Massenspektroskopie

Hochauflösende Massenspektren wurden mit einem MicroTOF-Q mit ESI-Quelle von Bruker Daltonik GmbH (Bremen, Deutschland) gemessen. Zur Auswertung wurde Mestre Nova verwendet.

Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden mit einem C/H/N/S-Analysator EA3000 von EuroVektor durchgeführt.

UV/vis-Spektroskopie.

Die UV/vis-Spektren wurden mit einem Genesys 10S-Spektrophotometer von Thermo Scientific (Waltham, USA) aufgenommen und mit der Visionlite-Software ausgewertet.

Messungen des Kontaktwinkels

Die Wasserkontaktwinkel wurden mit einem OCA 20-Goniometer von DataPhysics (Filderstadt, Deutschland) gemessen. Dieses Goniometer ist ausgestattet mit drei automatisierten Dosiereinheiten für verschiedene Flüssigkeitssonden, einem Hochgeschwindigkeits-Videosystem mit einer CCD-Kamera, einem Messtisch und einer Halogenbeleuchtung für statische und dynamische Kontaktwinkelmessungen. Zur Auswertung wurden drei unabhängige Messungen an drei verschiedenen Punkten der Oberfläche jedes Probekörpers durchgeführt. Advancing Kontaktwinkel wurden mit deionisiertem H_2O nach der statischen Sessile-Drop-Methode mit einem Dosiervolumen von $5\ \mu\text{L}$ gemessen. Die Dosierrate der automatischen Spritze wurde auf $1\ \mu\text{L}/\text{min}$ eingestellt. Der erhaltene Winkel wurde mit der OCA-Software berechnet.

IR-Spektroskopie

Die Infrarotspektren wurden mit einem gedämpften Totalreflexions-Fourier-Transformations-Infrarotsystem (ATR-FTIR), Modell "IRAffinity-1S" von Shimadzu (Kyoto, Japan) aufgenommen, unter Verwendung eines "Quest"-ATR-Zubehörs von Specac. Der Spektralbereich wurde von 4000 bis $400\ \text{cm}^{-1}$ mit einer Auflösung von $0.5\ \text{cm}^{-1}$ im Transmissionsmodus vermessen. Die Spektren wurden mit OriginPro 9 (2021) Software ausgewertet.

Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS)

XPS-Messungen wurden mit einem KRATOS AXIS Ultra DLD (Kratos Analytical, Manchester, Vereinigtes Königreich) durchgeführt, das mit einer monochromatischen $\text{Al K}\alpha$ -Anode, die bei

15 kV (225 W) arbeitet. Für die Übersichtsspektren wurde eine Durchlassenergie von 160 eV und für die Regionalspektren eine Durchgangsenergie von 20 eV verwendet. Es wurde eine Fläche von $700 \times 300 \mu\text{m}$ vermessen. Für die Bestimmung der Schichtdicke wurde eine Argonätzung durchgeführt. Die Ätzrate betrug 8 nm/min bezogen auf Ta_2O_5 (Beschleunigungsspannung 3.8 kV mit einem Extraktionsstrom von 160 μA). Die Auswertung und Validierung der Daten erfolgten mit der Software CASA-XPS Version 2.3.24. Die Kalibrierung der Spektren erfolgte durch Einstellung des C 1s-Signals auf 284.5 eV. Für die Dekonvolution der einzelnen Elementregionen wurde vor der Berechnung eine Hintergrundsubtraktion (U 2 Tougaard oder Shirley) durchgeführt.

Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS-ToF) und Rastersondenmikroskopie (SPM)

Korrelierte Massenspektrometrie und topographische Analyse der Polymerbeschichtungen wurde mit einem M6 Plus-Gerät (IONTOF GmbH, Münster, Deutschland) durchgeführt. Dieses Gerät ist sowohl mit einem Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometers (SIMS-ToF) und zusätzlich mit einem Rastersondenmikroskop (SPM) für die korrelative Bildgebung ausgestattet.

Alle Ti-p-(**VBTAC**) Proben wurden in 3D durch schichtweise ablösen des Polymers mit einer 5 keV Ar_{3058}^+ -Clusterstrahl ($I = 0.231 \text{ nA}$) analysiert. Analysiert wurde mit 30 keV Bi_3^{++} -Ionen in positiver Polarität auf einer Fläche von $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ (128×128 Pixel, $I = 0.045 \text{ pA}$ bei einer Zykluszeit von 200 μs , 700 μm LMIG-Apparatur, Spektrometriemodus) alternierend und zentriert zum Ar-Strahl, welcher ein $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ großen Sputterkrater erzeugte. Es wurde nach jedem Analysescan fünf Sputterscans durchgeführt, gefolgt von 0.5 s Pause für den Ladungsausgleich mit niederenergetischen Elektronen. Die erzielte Massenauflösung betrug $m/\Delta m > 9.150$ FWHM für $\text{C}_3\text{H}_8\text{N}^+$.

Von Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**) wurden beispielhaft SPM-Linienscans vor und nach dem *depth profiling* im *tapping* modus durchgeführt, um die Kratertiefen aus der Differenz der Profile zu ermitteln. Die Werte wurden zur Kalibrierung der Sputter-Zeitachse verwendet. Für Ti-**ABPA**-p-(**VBTAC**) wurden Topographie-Bilder mit SPM vor und nach dem *depth profiling* aufgenommen. Dazu wurde der 400 μm -Strahl, der LMIG-Apparatur verwendet und die Anzahl der Analyse-Scans wurde auf fünf zwischen den Sputterzyklen erhöht. Dies wurde getan, um die laterale Auflösung zu verbessern und die Zählstatistiken aufgrund des niedrigeren Strahlstroms Strom zu kompensieren.

Ti-p-(**VBDSB**) wurde in 3D durch schichtweise ablösen des Polymers mit einer 5 keV Ar_{3058}^+ -Clusterstrahl ($I = 0.21 \text{ nA}$) analysiert. Analysiert wurden mit 60 keV Bi_3^{++} -Ionen in positiver Polarität auf einer Fläche von $75 \times 75 \mu\text{m}^2$ (128×128 Pixel, $I = 0.09 \text{ pA}$ bei einer Zykluszeit

von 200 μs , 700 μm LMIG-Apparatur, Spektrometriemodus) alternierend und zentriert zum Ar-Strahl, welcher ein 140 x 140 μm^2 großen Sputterkrater erzeugte. Es wurden nach drei Analysen zwei Sputterscans durchgeführt, gefolgt von zwei Pausen für den Ladungsausgleich mit niederenergetischen Elektronen. Die erzielte Massenauflösung betrug $m/\Delta m > 4.740$ FWHM für $\text{C}_{16}\text{N}_2\text{H}_{23}\text{SO}_3^-$.

Von Ti-p-(**VBDSB**) wurden SPM-Linienescans vor und nach dem *depth profiling* im *tapping* modus durchgeführt, um die Kratertiefen aus der Differenz der Profile zu ermitteln. Für Ti-p-(**VBDSB**) wurde eine Erosionsrate von 1.489 nm/s berechnet und zur Kalibrierung der Sputteraxen verwendet. Für das korrelative 3D-Bild wurde eine SPM-Bildgebung des untersuchten Bereichs vor und nach dem SIMS-*depth profiling* durchgeführt und korreliert.

Die gesamte Datenauswertung erfolgte mit der Software Surface Lab 7.3 Software (IONTOF GmbH, Münster, Deutschland).

Laserscanmikroskopie

Die Oberflächenaufnahmen wurden mit einem Keyence 3D Laserscanning-Mikroskop der Modellreihe VK-X3000 durchgeführt.

Elektrokinetische ζ -Potential Bestimmungen

Die Bestimmung des Zetapotentials (ζ -Potential) der Oberfläche wurde als Strömungspotential mit einem elektrokinetischen Surpass analyzer (Anton Paar, Graz, Österreich) durchgeführt. Die Messungen wurden mit einer einstellbaren Spaltzelle durchgeführt, in der zwei Proben mit einer rechteckigen Größe von 1 cm x 2 cm eingespannt wurden. Der Mikroschlitz zwischen den beiden Proben wurden auf 110 μm vis-à-vis eingestellt. Für jede Messung wurde die Ausgangsleitfähigkeit auf 17 $\mu\text{S/m}$ mit KCl als Elektrolyt eingestellt. Der Ausgangs pH-Wert wurde mit KOH auf 9.5 eingestellt. Automatische pH-Titration wurde durch Zugabe von 0.05 M wässriger HCl schrittweise zwischen pH 9.5 bis pH 2.5 durchgeführt. Die dargestellten Werte der ζ -Potenziale wurden als Mittelwert von vier Messungen für jede pH-Stufe ermittelt.

Thermogravimetrische Analyse

Thermogravimetrische Analysen (TGA) wurde mit einer TGA 2 (Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland) unter Verwendung von Alox-Tiegeln durchgeführt. Ein Temperaturprogramm mit einer Heizrate von 10 K/min (50 bis 80 °C, 80 °C für 10 min, 80 bis 700 °C) wurde unter Stickstoffatmosphäre betrieben.

Der Gewichtsverlust Δm_{korr} der immobilisierten bifunktionalen Phosphonsäuren (PA) in Gewichtsprozent wurde mit folgender Formel 1 berechnet, hierbei wurde der Gewichtsverlust der freien PA als Korrektur mit einberechnet:

$$\Delta m_{\text{korr}} = \frac{\Delta m (\text{TiO}_2/\text{MgO} - \text{PA})}{\Delta m (\text{PA})} * 100\%$$

Formel 1 mit dem korrigiertem Gewichtsverlust Δm_{korr} dem gemessenen Gewichtsverlust $\Delta m_{(\text{TiO}_2-\text{PA})}$ und dem Gewichtsverlust der freien Phosphonsäuren $\Delta m_{(\text{PA})}$.

Aus dem Gewichtsverlust $\Delta m_{(\text{korr})}$ wurde die Beladungsdichte der PAs auf den Nanopartikeln σ_i in Molekülen PA pro nm^2 nach der folgenden Gleichung berechnet:

$$\sigma_i = \frac{\Delta m_{\text{korr}}}{(100 - \Delta m_{\text{korr}})} * \frac{N_A}{S_m * M_{\text{PA}}} * 10^{-18}$$

Formel 2 mit der Beladungsdichte σ_i , dem korrigiertem Massenverlust Δm_{korr} , der Avogadro Nummer N_A , der molaren Masse der immobilisierten Phosphonsäure M_{PA} und der spezifischen Oberfläche der TiO_2 -Nanopartikeln S_m bestimmt über BET.

Brunauer-Emmett-Teller-Methode (BET)

Die Bestimmung der spezifischen Oberfläche S_m mittels Gasadsorption wurde auf einem Thermo Scientific Surfer von Thermo Fisher Scientific unter Verwendung von Stickstoff durchgeführt. Vor der Messung wurden die Proben im Vakuum bei 40 °C getrocknet.

Statistik

Die statische Auswertung wurde mit OriginPro 9 (2021) Software durchgeführt. Die Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung für kontinuierliche Variablen oder als selektive Häufigkeit für kategoriale Variablen angegeben. Zur Bewertung des antimikrobiellen Tests und des Adhäsionstest wurde ein paarweiser Vergleich mittels Tukey-Tests durchgeführt. Ein p-Wert von weniger als 0.05 wurde als signifikant angesehen.

6.1.3 Chromatographische Methoden

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel (Korngröße: 60 – 200 μm) oder RP-18-Kieselgel (40 – 63 μm , 60 Å) der Firma *Machery-Nagel* verwendet.

Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Kieselgel-Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Kieselgel 60 F 254) verwendet. Als Färbereagenz wurde Molybdätosphorsäure-Lösung (5 g Molybdätosphorsäure, 100 mL EtOH) verwendet.

6.1.4 Methoden zur Immobilisierung

Immobilisierung auf Nanopartikeln

Die Immobilisierung von bifunktionalen Phosphonsäuren wurde nach Gao *et al.*¹⁷⁷ mit geringfügigen Änderungen in einem 20-mL-Bördelgefäß mit Septum durchgeführt. Die bifunktionalen Phosphonsäuren (100 µmol) wurden in 10 mL eines MeOH/H₂O-Gemisch (2:1 V/V) gelöst. Die TiO₂ oder MgO Nanopartikel (50 mg) wurden hinzugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde 3 Tage lang auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Mischung zentrifugiert (600 U/min, 10 min) und die Nanopartikel dekantiert. Danach wurden die Nanopartikel in MeOH (10 mL) suspendiert und anschließend erneut zentrifugiert (600 U/min, 10 min) und dekantiert, dieser Reinigungsschritt wurde dreimal wiederholt. Die resultierenden Partikel wurden anschließend gefriergetrocknet.

Wasserfreie Immobilisierungsbedingungen wurde für MgO Nanopartikel verwendet. Die bifunktionalen Phosphonsäuren (100 µmol) wurden in 10 mL CH₂Cl₂ oder THF oder EtOH gelöst. MgO Nanopartikel (50 mg) wurden hinzugegeben, und das Reaktionsgemisch wurde drei Tage lang bei 40 °C (CH₂Cl₂) bzw 60 °C (THF oder EtOH) erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Mischung zentrifugiert (600 U/min, 10 min) und die Nanopartikel dekantiert. Danach wurden die Nanopartikel in MeOH (10 mL) suspendiert und anschließend erneut zentrifugiert (600 U/min, 10 min) und dekantiert, dieser Reinigungsschritt wurde dreimal wiederholt. Die resultierenden Partikel wurden anschließend gefriergetrocknet.

Immobilisierung auf Bulkmaterialien

Titanträger wurden für jeweils 10 min in einem Ultraschallbad gereinigt, erst mit Aceton (10 mL), dann mit MeOH (10 mL) und schließlich mit entionisiertem H₂O (10 mL). Danach wurden die Träger für 1 h mit „Piranhasäure“ behandelt (H₂SO₄:H₂O₂ (3:1 V/V)). Anschließend wurden die Träger mit entionisiertem H₂O gespült und im Vakuum getrocknet.

Magnesium Träger wurden entweder chemisch gereinigt nach KORRAPATI¹²⁴ oder durch schleifen (Nassschleifpapier Körnung 240, 600, 1200, 2400) und anschließender jeweils 10 min Reinigung in einem Ultraschallbad in Pentan (10 mL) und in entionisiertem H₂O (10 mL).

Die anschließende Immobilisierung der gereinigten Träger erfolgte in einem 20-mL-Bördelgefäß mit Septum. Die bifunktionalen Phosphonsäuren (10 µmol) wurden in 10 mL EtOH gelöst. Die Träger wurden in die Lösung getaucht und 3 Tage lang auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurden die Träger aus der Lösung entfernt und für 2 h bei 110 °C gebacken. Danach wurden die Träger dreimal für 10 min im Ultraschallbad gereinigt (EtOH, 10 mL), um nicht kovalent gebundene Liganden zu entfernen.

6.1.5 Methoden für die oberflächeninitiierte Polymerisation

SI-ATRP

Die SI-ATRP auf Trägern wurde nach eine Methode von FAN *et al.*¹⁷⁸ mit kleinen Änderungen durchgeführt. In einem geschlossenen 10-mL-Bördelgefäß mit Septum für die Gaszufuhr wurde CuBr (3 mg, 20 µmol) mit Stickstoff inkubiert. Eine Lösung des Monomers (1.00 g, 25% (m/m)) und *N,N,N',N',N''*-Pentamethyldiethylentriamin (10 µL, 48 µmol) in 4.0 mL H₂O wurden über eine Spritze hinzu gegeben und die resultierende Lösung wurde 1 h lang mit Stickstoff entgast. Die Titanträger mit den immobilisierten PAs wurden hinzugefügt und es wurde nochmal für 5 min mit Stickstoff entgast. Die Mischung wurde für 2 h auf 70 °C erhitzt. Anschließend wurden die Titanträger aus der Mischung entfernt und gründlich mit entionisiertem H₂O gespült. Die Träger wurden im Ultraschallbad, zunächst 10 min in H₂O (10 mL) und dann 10 min in MeOH (10 mL) gereinigt, um das nicht kovalent gebundene Material zu entfernen. Danach wurden die Träger im Stickstoffstrom getrocknet.

Für SI-ATRP auf TiO₂-Nanopartikeln wurden TiO₂-Nanopartikel mit immobilisierten PAs (20 mg) und CuBr (3 mg, 20 µmol) in einem geschlossenen 20-mL-Bördelgefäß mit Septum mit Stickstoff inkubiert. Eine Lösung von VBTAC (1.00 g, 4.72 mmol) und *N,N,N',N',N''*-Pentamethyldiethylentriamin (10 µL, 48 µmol) in 4.0 mL H₂O wurde über eine Spritze zugegeben und die Lösung wurde 1 h lang mit Stickstoff entgast. Das Gemisch wurde dann unter Rühren auf 70 °C erhitzt. Nach 2 h wurde die Lösung mit 5 mL H₂O verdünnt, zentrifugiert (600 U/min., 10 min) und dekantiert. Anschließend wurden die Nanopartikel in H₂O (10 mL) suspendiert, zentrifugiert (600 U/min, 10 min) und dekantiert. Der Reinigungsschritt wurde dreimal wiederholt. Die resultierenden Partikel wurde vor der Analyse gefriergetrocknet.

SI-PIMP

Für die SI-PIMP wurden 10-mL-Bördelgefäße mit Septum verwendet. Eine Lösung aus Monomer (1.00 g, 25% (m/m)) in 4.0 mL H₂O wurde für 30 min mit Stickstoff entgast. Titanträger mit immobilisierten PAs wurden zur Lösung gegeben und diese noch einmal für 5 min mit Stickstoff entgast. Die Mischung wurde dann in den Photoreaktor (365 nm) gestellt. Nach einer Reaktionszeit von 2 h wurden die Objektträger herausgenommen und mit entionisiertem H₂O gespült, um nicht gebundenes Monomer und Polymer zu entfernen. Anschließend wurden die Titanträger im Ultraschallbad gereinigt, zunächst 10 min in H₂O (10 mL) und dann 10 min in MeOH oder EtOH (10 mL).

6.1.6 Methoden um die Ladungsdichte zu ermitteln

Fluorescein Assay

Die lösungsmittelzugänglichen kationischen Ladungen wurden mit einem leicht abgewandelten Fluorescein-Assay nach TILLER *et al.*⁴³ und MURATA *et al.*⁴⁶ bestimmt. Titanträger mit einer Oberfläche von 4.6 cm² wurden mit 10.0 mL einer 1 %igen (m/m) wässrigen Natriumfluoresceinlösung für 20 min auf einem Schüttler bei 100 U/min inkubiert. Die Titanträger wurden anschließend aus der Lösung genommen und mit H₂O abgespült. Anschließend wurde das nicht adsorbierte Fluorescein entfernt, indem die Träger für dreimal 10 min in H₂O (10 mL) im Ultraschallbad gereinigt wurden. Zur Desorption des immobilisierten Fluoresceins wurden die Träger in 9.0 mL einer 0.1 %igen (m/m) Cetyltrimethylammoniumchlorid (CTAC)-Lösung für 30 min auf einem Schüttler bei 100 U/min inkubiert. Nach dem die Träger aus der Lösung entfernt worden, wurden 1.00 mL PBS-Puffer (0.1 M, pH 8.0) hinzugegeben, und die Absorption der resultierenden Lösung wurde bei 501 nm gemessen. Als Kontrolle wurde ein gereinigter Titanträger verwendet und die Absorption als Blindwert subtrahiert. Alle Messungen wurden als Triplikat durchgeführt. Die Konzentration an desorbiertem Fluorescein wurde mit einem Extinktionskoeffizient von 77,000 1/M*cm berechnet nach dem Lambert-Beerschen-Gesetz:

$$c = \frac{(A - A_0)}{d * \varepsilon}$$

Formel 7 mit der Konzentration c , der gemessenen Absorption A bei 501 nm der Lösung des Trägers, der Absorption bei 501 nm einer Lösung eines Kontrollträgers A_0 , die Schichtdicke d und des Extinktionskoeffizienten von Fluorescein $\varepsilon = 77,000$ 1/M*cm.

Kristallviolett Assay

Die lösungsmittelzugänglichen anionischen Ladungen wurden mit einem leicht abgewandelten Kristallviolett Assay nach BURMEISTER *et al.*¹⁴³ bestimmt. Titanträger mit einer Oberfläche von 4.6 cm² wurden mit 10.0 mL einer 1 %igen (m/m) wässrigen Kristallviolettlösung für 30 min auf einem Schüttler bei 100 U/min inkubiert. Die Titanträger wurden anschließend aus der Lösung genommen und mit H₂O abgespült. Anschließend wurde das nicht adsorbierte Kristallviolett entfernt, indem die Träger für dreimal 10 min in H₂O (10 mL) im Ultraschallbad gereinigt wurden. Zur Desorption des immobilisierten Kristallvioletts wurden die Träger in 10.0 mL einer 0.1 %igen (m/m) Natriumdodecylsulfat (SDS)-Lösung für 30 min auf einem Schüttler bei 100 U/min inkubiert. Nach dem die Träger aus der Lösung entfernt worden, wurde die Absorption der resultierenden Lösung bei 590 nm gemessen. Als Kontrolle wurde ein gereinigter Titanträger verwendet und die Absorption als Blindwert subtrahiert. Alle Messungen wurden als Triplikat durchgeführt. Die Konzentration an desorbiertem Kristallviolett wurde mit einem Extinktionskoeffizient von 87,000 1/M*cm berechnet nach dem Lambert-Beerschen-Gesetz:

$$c = \frac{(A - A_0)}{d * \varepsilon}$$

Formel 12 mit der Konzentration c , der gemessenen Absorption A bei 590 nm der Lösung des Trägers, der Absorption bei 590 nm einer Lösung eines Kontrollträgers A_0 , die Schichtdicke d und des Extinktionskoeffizienten von Kristallviolett $\varepsilon = 87,000 \text{ 1/M*cm}$.

6.1.7 Mikrobiologische Methoden

Bestimmung der Antimikrobiellen Aktivität – ASTM Assay E21 49-13a

Die Evaluation der antimikrobiellen Aktivität wurde mit einem modifizierten ASTM-Test E21 49-13a durchgeführt. Alle Titanträger wurden vor dem Assay mit 70 %igem (V/V) Isopropylalkohol desinfiziert und bei Raumtemperatur getrocknet. Die Testmikroorganismen (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 oder 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PA01) wurden über Nacht auf Columbia-Agar kultiviert und auf ein Inokulum von 10^5 KBE/mL mit steriler Kochsalzlösung (0.9 % (m/m)) verdünnt. Die Titanträger (mit einer Oberfläche von 4.6 cm^2) wurden mit 4 mL der verdünnten Bakteriensuspension (10^5 KBE/mL) in einem 5-mL-Falkontube oder einem 15-mL-Falkontube für 2 h auf einem Schüttler (120 rpm) bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubiert. Dies entspricht einer Bakterienchallenge von $0.9 * 10^5$ KBE/ cm^2 Titanträger. Nach der Inkubation wurde die Bakterienlösung und zwei Verdünnungen (100 μL der Inkubationslösung Lösung, 1:10-Verdünnung und 1:100-Verdünnung) auf Columbia-Agar 18 h lang bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ bebrütet. Nach Bebrütung wurden die Kolonien gezählt. Eine Positivprobe und eine Negativ-Steril-Kontrolle wurden ebenfalls bestimmt. Messungen wurden für jeden Träger in dreifacher Ausführung durchgeführt. \log_{10} -Reduktion wurden mit der folgenden Formel berechnet:

$$\log_{10} \text{Reduktion} = \log_{10} \left(\frac{N_0}{N} \right)$$

Formel 14 mit der Anzahl der KBE vor der Inkubation N_0 und der Nummer der KBE nach der Inkubation N .

Bestimmung der *Low-Fouling*-Aktivität (bakterieller Adhäsionstest)

Alle Titanträger wurden mit 70 %igem (V/V) Isopropylalkohol desinfiziert und vor dem Test im Laminar Airflow (LAF) getrocknet. Die Testmikroorganismen (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PA01) wurde über Nacht auf Columbia-Agar kultiviert. Die Übernachtkultur wurde suspendiert und in steriler Kochsalzlösung (0.9% (m/m)) auf ein Inokulum von 10^4 KBE/mL verdünnt. Titanträger wurden mit jeweils 1980 μL Mueller-Hinton-Bouillon (MHB) bedeckt. 20 μL der verdünnten Bakteriensuspension wurden zugegeben, um eine Ausgangszell-dichte von 10^2 KBE/mL zu erhalten. Die Proben wurden 24 Stunden lang bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ in der Bakterienlösung bebrütet und anschließend ohne Rühren oder Schütteln für 10 min in 3 mL sterile Kochsalzlösung überführt, um lose anhaftende Bakterien zu entfernen. Jeder Träger wurde leicht auf eine Agarplatte

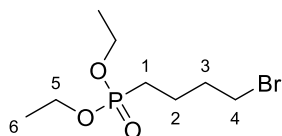
(Columbia-Agar) gedrückt und nach 30 s entfernt. Die übertragenen Zellen wurden vor der Zellzählung 20 Stunden lang bei 37 °C bebrütet. Von jedem Inkubationsexperiment wurde ein Aliquot von 100 µl Überstand entnommen und im Hinblick auf das Bakterienwachstum im Vergleich zu einer Positivkontrolle aus MHB, die die ursprüngliche Bakteriensuspension ohne zugesetzte Prüfkörper enthielt, analysiert. Eine Kolonieanzahl von über 250 KBE wurde als zu groß zum Zählen angesehen.

Agarplatten-Diffusionstest nach DIN EN ISO 20645:2002-02

Die Titanträger wurden mit 70 %igem (V/V) Isopropylalkohol desinfiziert und vor dem Test im Laminar Airflow (LAF) getrocknet. Eine Columbia-Agarplatte wurde mit 20 µL einer Bakteriensuspension von *Staph. aureus* ATCC 25922 mit einer Konzentration von $1.5 \cdot 10^8$ KBE/mL bedeckt. Der modifizierte Titanträger wurde anschließend auf die Agarplatte gelegt und die Platte 20 h bei 37 °C bebrütet. Anschließend wurden die Platten auf die Entwicklung einer Hemmhofzone untersucht. Die Inhibitionszone wurde durch eine dreifache Messung im Mittel bestimmt.

6.2 Synthesevorschriften der bifunktionalen Phosphonsäuren

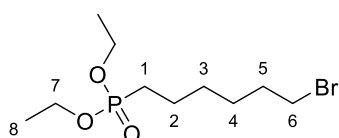
Diethyl-(ω -(α -brombutyl)phosphonsäure **4a**¹¹¹



Allgemeine Synthesevorschrift **V1** für **4a-d**, beispielhaft an **4a**: Die Synthese wurde nach der Vorschrift von PODRUGIAN¹¹¹ mit modifizierter Reinigung durchgeführt. Triethylphosphit (5.00 mL, 29.0 mmol, 1.00 Äq.) wurden in α,ω -Dibrombutan (11.0 mL, 92.1 mmol, 3.17 Äq.) gelöst. Die Reaktionslösung wurde 16 h auf 150 °C erhitzt. Anschließend wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Pentan \rightarrow Ethylacetat, SiO₂) wurden 4.97 g von **4a** als farbloses Öl (18.2 mmol, 63%) erhalten.

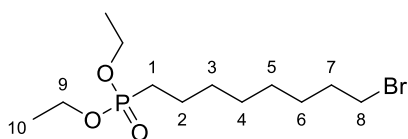
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, δ): 4.14-4.01 (m, 4 H, 5-H), 3.39 (t, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 2 H, 4-H), 1.98-1.89 (m, 2 H, 3-H), 1.82-1.66 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.30 (t, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 6 H, 6-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 61.7 (d, ²J_{C,P} = 5.8 Hz, C5), 33.2 (d, ³J_{C,P} = 4.1 Hz, C3), 32.9 (C4), 25.2 (d, ¹J_{C,P} = 147.0 Hz, C1), 21.3 (d, ²J_{C,P} = 4.4 Hz, C2), 16.6 (d, ³J_{C,P} = 5.5 Hz, C6). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 31.4. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₈H₁₈BrO₃P: 273.0250; gef.: 273.0256.

Diethyl-(ω -(α -bromhexyl)phosphonsäure **4b**¹⁸⁸



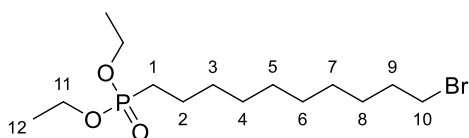
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V1** wurde Triethylphosphit (6.00 mL, 35.0 mmol, 1.00 Äq.) in α,ω -Dibromhexan (16.8 mL, 105 mmol, 3.01 Äq.) gelöst. Es wurden 5.50 g von **4b** als farbloses Öl (18.3 mmol, 52%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 4.15-4.03 (m, 4 H, 7-H), 3.40 (t, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 2 H, 6-H), 1.88-1.83 (m, 2 H, 5-H), 1.76-1.69 (m, 2 H, 1-H), 1.66-1.57 (m, 2 H, 2-H), 1.49-1.39 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.32 (t, ³J_{H,H} = 7.04 Hz, 6 H, 8-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 61.6 (d, ²J_{C,P} = 6.5 Hz, C7), 33.9 (C6), 32.6 (C5), 29.9 (d, ³J_{C,P} = 16.7 Hz, C3), 27.8 (C4), 25.8 (d, ¹J_{C,P} = 140.2 Hz, C1), 22.4 (d, ²J_{C,P} = 5.8 Hz, C2), 16.6 (d, ³J_{C,P} = 5.8 Hz, C8). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.2. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₁₀H₂₂BrO₃P: 301.0563; gef.: 301.0560.

Diethyl-(ω -(α -bromooctyl)phosphonsäure **4c¹⁸⁹**

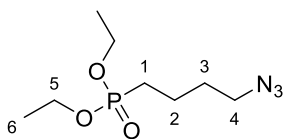
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V1** wurde Triethylphosphit (5.00 mL, 29.0 mmol, 1.00 Äq.) in α,ω -Dibromooctan (17.0 mL, 92.3 mmol, 3.18 Äq.) gelöst. Es wurden 7.47 g von **4c** als farbloses Öl (7.47 mmol, 78%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 4.13-4.04 (m, 4 H, 9-H) 3.39 (t, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 2 H, 8-H), 1.87-1.81 (m, 2 H, 7-H), 1.74-1.67 (m, 2 H, 1-H), 1.63-1.54 (m, 2 H, 2-H), 1.44-1.27 (m, 14 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 10-H). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 33.5. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+Na]⁺ berechnet für C₁₂H₂₆BrO₃P: 351.0695; gef.: 351.0691.

Diethyl-(ω -(α -bromodecyl)phosphonsäure **4d¹⁸⁸**

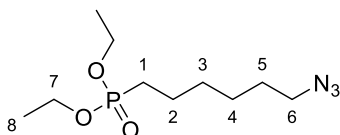
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V1** wurde Triethylphosphit (4.00 mL, 23.3 mmol, 1.00 Äq.) in α,ω -Dibromodecan (16.0 mL, 71.2 mmol, 3.05 Äq.) gelöst. Es wurden 5.27 g von **4d** als farbloses Öl (14.8 mmol, 63%) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.15-4.03 (m, 4 H, 11-H), 3.40 (t, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 2 H, 10-H), 1.88-1.81 (m, 2 H, 9-H), 1.76-1.53 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.46-1.24 (m, 18 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 12-H). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.6. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+Na]⁺ berechnet für C₁₄H₃₀BrO₃P: 379.1008; gef.: 379.1014.

Diethyl-(ω -(α -azidobutyl)phosphonsäure **3a¹¹²**

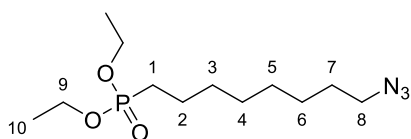
Allgemeine Synthesevorschrift **V2** für **3a-d**, beispielhaft an **3a**: Die Synthese wurde nach einer leicht modifizierten Vorschrift nach JANCZEWSKI¹¹² durchgeführt. **4a** (4.43 g, 16.2 mmol, 1.00 Äq.) und Natriumazid (2.64 g, 40.6 mmol, 2.50 Äq.) wurden in 20 mL DMF gelöst. Die Lösung wurde 16 h auf 80 °C erhitzt. Alle flüchtigen Bestandteile wurden unter verminderten Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter verminderten Druck wurden 3.21 g von **3a** als leicht gelbes Öl (13.6 mmol, 84%) erhalten.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, δ): 4.14-4.01 (m, 4 H, 5-H), 3.27 (t, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 2 H, 4-H), 1.79-1.63 (m, 6 H, 1-H, 2-H, 3-H), 1.30 (t, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 6 H, 6-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 61.7 (d, ²J_{C,P} = 6.6 Hz, C5), 51.0 (C4), 29.7 (d, ³J_{C,P} = 15.9 Hz, C3), 25.4 (d, ¹J_{C,P} = 141.7 Hz, C1), 20.0 (d, ²J_{C,P} = 5.1 Hz, C2), 16.6 (d, ³J_{C,P} = 5.5 Hz, C6). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 31.4. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₈H₁₈N₃O₃P: 263.1159; gef.: 263.1158.

Diethyl-(ω -(α -azidohexyl)phosphonsäure **3b¹¹²**

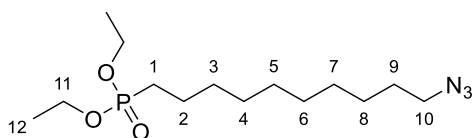
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V2** wurde **4b** (6.20 g, 20.6 mmol, 1.00 Äq.) mit Natriumazid (3.35 g, 51.5 mmol, 2.50 Äq.) versetzt. Es wurden 4.81 g von **3b** als farbloses Öl (18.3 mmol, 89%) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.15-4.03 (m, 4 H, 7-H), 3.25 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 2 H, 6-H), 1.76-1.68 (m, 2 H, 5-H), 1.64-1.56 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.45-1.37 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.31 (t, ³J_{H,H} = 7.09 Hz, 6 H, 8-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 61.6 (d, ²J_{C,P} = 6.5 Hz, C7), 51.5 (C6), 30.2 (d, ³J_{C,P} = 16.6 Hz, C3), 28.8 (C5), 26.4 (C4), 25.7 (d, ¹J_{C,P} = 140.8 Hz, C1), 22.5 (d, ²J_{C,P} = 5.5 Hz, C2), 16.6 (d, ³J_{C,P} = 5.9 Hz, C8). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.3. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₁₀H₂₂N₃O₃P: 286.1291; gef.: 286.1282.

Diethyl-(ω -(α -azidooctyl)phosphonsäure **3c¹⁹⁰**

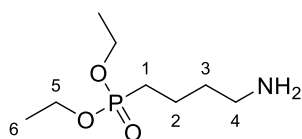
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V2** wurde **4c** (4.00 g, 12.2 mmol, 1.00 Äq.) mit Natriumazid (1.98 g, 30.5 mmol, 2.50 Äq.) versetzt. Es wurden 3.02 g von **3c** als farbloses Öl (10.4 mmol, 85%) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.15-4.01 (m, 4 H, 9-H), 3.24 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2 H, 8-H), 1.75-1.66 (m, 2 H, 7-H), 1.63-1.53 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.40-1.29 (m, 14 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 10-H). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.5. **HRMS** (ESI⁺): *m/z* = [M+Na]⁺ berechnet für C₁₂H₂₆N₃O₃P: 314.1604; gef.: 314.1597.

Diethyl-(ω -(α -azidodecyl)phosphonsäure **3d¹⁹⁰**

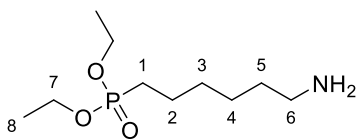
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V2** wurde **4d** (5.27 g, 14.8 mmol, 1.00 Äq.) mit Natriumazid (2.40 g, 36.9 mmol, 2.50 Äq.) versetzt. Es wurden 3.87 g von **3d** als farbloses Öl (12.1 mmol, 82%) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.14-4.03 (m, 4 H, 11-H), 3.25 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2 H, 10-H), 1.76-1.65 (m, 2 H, 9-H), 1.63-1.53 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.37-1.28 (m, 18 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 12-H). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.6. **HRMS** (ESI⁺): *m/z* = [M+H]⁺ berechnet für C₁₄H₃₀N₃O₃P: 320.2098 ; gef.: 320.2090.

Diethyl-(ω -(α -aminobutyl)phosphonsäure **2a)¹⁹¹**

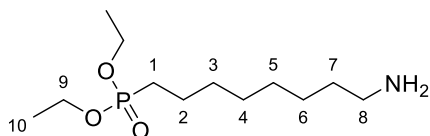
Allgemeine Synthesevorschrift **V3** für **2a-d**, beispielhaft an **2a**: Die Reduktion des Azides wurde nach einem Protokoll von HAELTERS¹¹³ durchgeführt. **3a** (3.61 g, 15.4 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 125 mL THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Triphenylphosphin (4.03 g, 14.4 mmol, 1.00 Äq.) wurde hinzugegeben und die Lösung 30 min auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde die Lösung 16 h auf 65 °C erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktionslösung wurden 20 mL Wasser hinzugeben und die Lösung für weitere 2 h gerührt. Nachdem alle flüchtigen Substanzen unter vermindertem Druck entfernt wurden, wurde der Rückstand in 2 M wässriger HCl aufgenommen und zweimal mit CH₂Cl₂ gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit festem K₂CO₃ auf einen pH-Wert von 12 gebracht und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurden 1.46 g von **2a** als leicht gelbes Öl (7.00 mmol, 46%) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.08-3.95 (m, 4 H, 5-H), 2.64 (t, $^3J_{H,H} = 6.9$ Hz, 2 H, 4-H), 2.22 (bs, 2 H, NH₂), 1.75-1.43 (m, 6 H, 1-H, 2-H, 3-H), 1.25 (t, $^3J_{H,H} = 7.1$ Hz, 6 H, 6-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 61.4 (C5), 42.6 (s, C4), 34.2 (d, $^3J_{C,P} = 15.9$ Hz, C3), 26.0 (d, $^1J_{C,P} = 141.6$ Hz, C1), 19.9 (d, $^2J_{C,P} = 6.0$ Hz, C2), 16.4 (d, $^3J_{C,P} = 5.9$ Hz, C6). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.1. **HRMS** (ESI⁺): $m/z = [M+H]^+$ berechnet für C₈H₂₀NO₃P: 210.1254; gef.: 210.1257.

Diethyl-(ω -(α -aminoethyl)phosphonsäure **2b)¹⁹²**

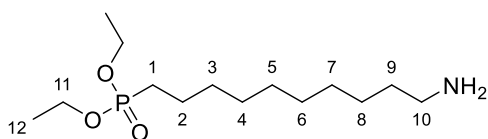
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V3** wurde **3b** (4.00 g, 15.2 mmol, 1.00 Äq.) mit Triphenylphosphin (3.99 g, 15.2 mmol, 1.00 Äq.) versetzt. Es wurden 2.28 g von **2b** als leicht gelbes Öl (9.60 mmol, 63%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 4.13-4.01 (m, 4 H, 7-H), 3.40 (bs, 2 H, NH₂), 2.76 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2 H, 6-H), 1.77-1.69 (m, 2 H, 5-H), 1.65-1.51 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.42-1.36 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.31 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 6 H, 8-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 61.6 (d, ²J_{C,P} = 6.5 Hz, C7), 41.5 (C6), 31.7 (C5), 30.3 (d, ³J_{C,P} = 16.6 Hz, C3), 26.3 (C4), 25.6 (d, ¹J_{C,P} = 140.4 Hz, C1), 22.4 (d, ²J_{C,P} = 5.46 Hz, C2), 16.6 (d, ³J_{C,P} = 6.00 Hz, C8). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.4. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₁₀H₂₄NO₃P: 238.1567; gef.: 238.1568.

Diethyl-(ω -(α -aminoethyl)phosphonsäure **2c)¹⁹³**

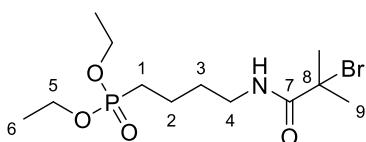
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V3** wurde **3c** (2.07 g, 7.11 mmol, 1.00 Äq.) mit Triphenylphosphin (1.86 g, 7.11 mmol, 1.00 Äq.) versetzt. Es wurden 1.56 g von **2c** als leicht gelbes Öl (5.88 mmol, 83%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 4.12-4.03 (m, 4 H, 9-H), 2.67 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2 H, 8-H), 1.74-1.67 (m, 2 H, 7-H), 1.62-1.54 (m, 2 H, 1-H), 1.45-1.35 (m, 6 H, 2-H, 3-H, 6-H), 1.31 (m, 10 H, 4-H, 5-H, 10-H). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 33.8. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₁₂H₂₈NO₃P: 266.1880; gef.: 266.1880.

Diethyl-(ω -(α -aminodecyl)phosphonsäure **2d)¹⁹⁴**

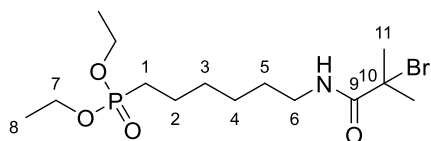
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V3** wurde **3d** (3.86 g, 12.1 mmol, 1.00 Äq.) mit Triphenylphosphin (3.17 g, 12.1 mmol, 1.00 Äq.) versetzt. Es wurden 2.19 g von **2d** als farbloses Öl (7.46 mmol, 62%) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.14-4.03 (m, 4 H, 11-H), 2.67 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2 H, 10-H), 1.74-1.68 (m, 2 H, 9-H), 1.62-1.55 (m, 2 H, 1-H), 1.50 (bs, 2 H, NH₂), 1.45-1.40 (m, 2 H, 2-H), 1.37-1.27 (m, 18 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 12-H). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 33.9. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₁₄H₃₂NO₃P: 294.2193; gef.: 294.2195.

Diethyl-(ω -(α -bromisobutyramido)butyl)phosphonsäure **1a**

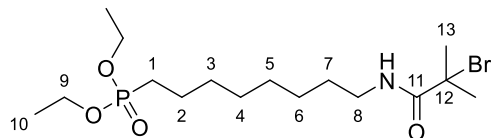
Allgemeine Synthesevorschrift **V4** für **1a-d**, beispielhaft an **1a**: Unter Wasser- und Luftausschluss wurde eine Lösung von **1a** (1.33 g, 6.33 mmol, 1.00 eq.) und NEt₃ (1.20 mL, 8.61 mmol, 1.36 Äq.) in 20 mL trockenem CH₂Cl₂ auf 0 °C gekühlt und Bromisobutyrylbromid (1.03 mL, 8.36 mmol, 1.30 Äq.) tropfenweise hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde anschließend bei Raumtemperatur für 16 h gerührt. Nach Zugabe von 20 mL H₂O wurde das CH₂Cl₂ unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 2 M wässriger NaOH-Lösung gelöst und die wässrige Lösung dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden anschließend mit 2 M wässriger HCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurden 1.16 g von **1a** als leicht-gelbes Öl erhalten. (3.24 mmol, 51%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 6.83 (bs, 1 H, N-H), 4.16-4.04 (m, 4 H, 5-H), 3.30-3.25 (m, 2 H, 4-H), 1.94 (s, 6 H, 9-H), 1.80-1.72 (m, 2 H, 1-H), 1.70-1.61 (m, 4 H, 2-H, 3-H), 1.31 (t, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, 6 H, 6-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 172.2 (C7), 63.3 (C8), 61.8 (d, ²J_{C,P} = 6.6 Hz, C5), 39.9 (C4), 32.7 (C9), 30.0 (d, ³J_{C,P} = 15.2 Hz, C3), 25.2 (d, ¹J_{C,P} = 141.2 Hz, C1), 19.9 (d, ²J_{C,P} = 5.0 Hz, C2), 16.6 (d, ³J_{C,P} = 5.7 Hz, C6). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 31.8. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₁₂H₂₅BrNO₄P: 358.0777; gef.: 358.0778.

Diethyl-(ω -(α -bromisobutyramido)hexyl)phosphonsäure **1b**

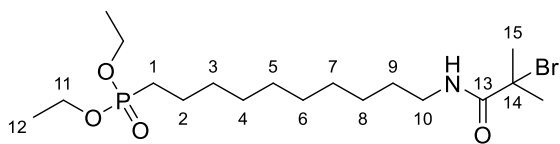
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V4** wurde **2b** (2.28 g, 9.61 mmol, 1.00 Äq.) mit NEt_3 (1.75 mL, 12.6 mmol, 1.31 Äq.) und Bromisobutyrylbromid (1.55 mL, 12.6 mmol, 1.31 Äq.) versetzt. Es wurden 2.80 g von **1b** als leicht gelbes Öl erhalten (7.24 mmol, 75%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ): 6.75 (bs, 1 H, N-H), 4.13-4.05 (m, 4 H, 7-H), 3.27-3.23 (m, 2 H, 6-H), 1.95 (s, 6 H, 11-H), 1.76-1.69 (m, 2 H, 5-H), 1.63-1.58 (m, 2 H, 1-H), 1.56-1.51 (m, 2 H, 2-H), 1.44-1.34 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.32 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.0$ Hz, 6 H, 8-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (^1H) (101 MHz, CDCl_3 , δ): 172.1 (C9), 63.6 (C10), 61.7 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 6.7$ Hz, C7), 40.4 (C6), 32.8 (C11), 30.2 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 16.5$ Hz, C3), 29.2 (C5), 26.4 (C4), 25.7 (d, $^1J_{\text{C,P}} = 141.0$ Hz, C1), 22.4 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 5.1$ Hz, C2), 16.6 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 6.0$ Hz, C8). **$^{31}\text{P-NMR}$** (^1H) (162 MHz, CDCl_3 , δ): 31.9. **HRMS** (ESI⁺): $m/z = [\text{M}+\text{H}]^+$ berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{29}\text{BrNO}_4\text{P}$: 386.1090; gef.: 386.1081.

Diethyl-(ω -(α -bromisobutyramido)octyl)phosphonsäure **1c**

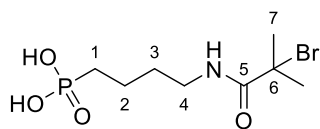
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V4** wurde **2c** (2.00 g, 7.54 mmol, 1.00 Äq.) mit NEt_3 (1.30 mL, 9.85 mmol, 1.31 Äq.) und Bromisobutyrylbromid (1.20 mL, 9.71 mmol, 1.29 Äq.) versetzt. Es wurden 2.99 g von **1c** als leicht gelbes Öl erhalten (7.22 mmol, 96%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ): 6.72 (bs, 1 H, N-H), 4.13-4.03 (m, 4 H, 9-H), 3.27-3.22 (m, 2 H, 8-H), 1.95 (s, 6 H, 13-H), 1.78-1.67 (m, 2 H, 7-H), 1.62-1.51 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.40-1.29 (m, 14 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 10-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** (^1H) (101 MHz, CDCl_3 , δ): 172.1 (C11), 63.8 (C12), 61.6 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 6.6$ Hz, C9), 40.5 (C8), 32.8 (C13), 30.7 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 16.9$ Hz, C3), 29.4 (C7), 29.1 (C5, C6), 26.9 (C4) 25.8 (d, $^1J_{\text{C,P}} = 140.8$ Hz, C1), 22.5 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 5.3$ Hz, C2), 16.6 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 5.9$ Hz, C10). **$^{31}\text{P-NMR}$** (^1H) (162 MHz, CDCl_3 , δ): 32.5.

Diethyl-(ω -(α -bromisobutyramido)decyl)phosphonsäure **1d¹⁰⁸**

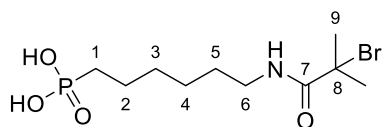
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V4** wurde **2d** (1.35 g, 4.60 mmol, 1.00 Äq.) mit NEt₃ (0.90 mL, 6.46 mmol, 1.40 Äq.) und Bromisobutyrylbromid (0.80 mL, 6.47 mmol, 1.41 Äq.) versetzt. Es wurden 1.63 g von **1d** als leicht gelbes Öl erhalten (3.68 mmol, 80%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 6.72 (bs, 1 H, N-H), 4.15-4.02 (m, 4 H, 11-H), 3.27-3.22 (m, 2 H, 10-H), 1.95 (s, 6 H, 15-H), 1.77-1.67 (m, 2 H, 9-H), 1.63-1.49 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.41-1.27 (m, 18 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H, 12-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 172.0 (C13), 63.8 (C14), 61.6 (d, ²J_{C,P} = 6.6 Hz, C11), 40.6 (C10), 32.8 (C15), 30.7 (d, ³J_{C,P} = 16.9 Hz, C3), 29.5 (C9), 29.4 (C6, C7, C8), 29.3 (C5), 29.2 (C4), 26.9 (C4) 25.8 (d, ¹J_{C,P} = 140.8 Hz, C1), 22.5 (d, ²J_{C,P} = 5.3 Hz, C2), 16.6 (d, ³J_{C,P} = 5.9 Hz, C12). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.7. **HRMS** (ESI⁺): *m/z* = [M+H]⁺ berechnet für C₁₈H₃₇BrNO₄P: 442.1716; gef.: 442.1700.

ω -(α -bromisobutyramido)butylphosphonsäure ABPA

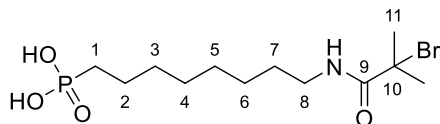
Allgemeine Synthesevorschrift **V5** für **ABPA**, **AHPA**, **AOPA** und **ADPA**, beispielhaft an **ABPA**: Für die Entfernung der Schutzgruppe von **1a-d** wurde ein Protokoll nach MARMA¹⁹⁵ verwendet. Unter Wasser- und Luftausschluss wurde zu einer Lösung von **1a** (1.16 g, 3.24 mmol, 1.00 Äq.) in 20 mL CH₂Cl₂ Bromtrimethylsilane (1.70 mL, 12.9 mmol, 3.98 Äq.) tropfenweise hinzugegeben. Die Lösung wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und alle flüchtigen Substanzen im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 20 mL eines THF/H₂O-Gemisches (1:1 (v/v)) aufgenommen und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Gefriertrocknung wurden 0.96 g von **ABPA** als leicht gelben Feststoff erhalten (3.2 mmol, 98%).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 3.18 (t, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, 2 H, 4-H), 1.86 (s, 6 H, 7-H), 1.72-1.63 (m, 2 H, 1-H), 1.62-1.54 (m, 4 H, 2-H, 3-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CD₃OD, δ): 174.3 (C5), 60.5 (C6), 40.5 (C4), 32.1 (C7), 31.0 (d, $^3J_{C,P} = 16.2$ Hz, C3), 27.6 (d, $^1J_{C,P} = 138.1$ Hz, C1), 21.2 (d, $^2J_{C,P} = 4.6$ Hz, C2). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CD₃OD, δ): 29.9. **HRMS** (ESI⁺): $m/z = [M+Na]^+$ berechnet für C₈H₁₆BrNO₄P: 302.0151; gef.: 302.0156. **IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 3325.28 (OH), 2927.94 (CH₂), 2866.22 (CH₂), 1643.35 (C=O), 1539.20 (NH), 1107.14 (P=O), 995.27 (POH), 933.55 (POH), 756.10, 567.07, 520.78. **Elementaranalyse** berechnet für C₈H₁₆BrNO₄P: C, 31.81; H, 5.67; N, 4.64, gef.: C, 31.16; H, 5.71; N, 4.48. (Alle Werte sind in Prozent angegeben.)

ω -(α -Bromisobutyramido)hexylphosphonsäure AHPA

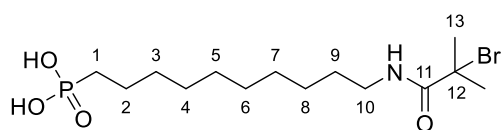
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V5** wurde **1b** (2.81 g, 7.27 mmol, 1.00 Äq.) mit Bromtrimethylsilan (3.80 mL, 28.8 mmol, 3.96 Äq.) versetzt. Es wurden 2.40 g von **AHPA** als leicht gelben Feststoff erhalten (7.27 mmol, quant.).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , δ): 3.19 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.2$ Hz, 2 H, 6-H), 1.88 (s, 6 H, 9-H), 1.71-1.58 (m, 4 H, 1-H, 5-H), 1.54-1.49 (m, 2 H, 2-H), 1.44-1.40 (m, 2 H, 4-H), 1.36-1.31 (m, 2 H, 3-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, CD_3OD , δ): 174.2 (C7), 60.6 (C8), 41.0 (C6), 32.1 (C9), 31.3 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 16.5$ Hz, C3), 30.0 (C5), 28.0 (d, $^1J_{\text{C,P}} = 137.7$ Hz, C1), 27.4 (C4), 23.8 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 4.8$ Hz, C2). **$^{31}\text{P-NMR}$** $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CD_3OD , δ): 30.2. **HRMS** (ESI⁺): $m/z = [\text{M}+\text{Na}]^+$ berechnet für $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{BrNO}_4\text{P}$: 352.0289; gef.: 352.0295. **IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}): 3321.42 (OH), 2935.66 (CH_2), 2870.08 (CH_2), 1635.64 (C=O), 1527.62 (NH), 1103.28 (P=O), 999.13 (POH), 929.69 (POH), 775.38, 532.35. **Elementaranalyse** berechnet für $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{BrNO}_4\text{P}$: C, 36.38; H, 6.41; N, 4.24, gef.: C, 37.28; H, 6.64; N, 4.39. (Alle Werte sind in Prozent angegeben.)

 ω -(α -Bromisobutyramido)octylphosphonsäure AOPA

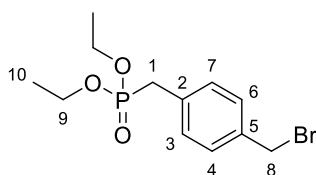
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V5** wurde **1c** (3.28 g, 7.92 mmol, 1.00 Äq.) mit Bromtrimethylsilan (4.25 mL, 32.2 mmol, 4.07 Äq.) behandelt. Es wurden 2.84 g von **AOPA** als leicht gelben Feststoff erhalten (7.92 mmol, quant.).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , δ): 3.17 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz, 2 H, 8-H), 1.88 (s, 6 H, 11-H), 1.69-1.48 (m, 6 H, 1-H, 2-H, 7-H), 1.40-1.32 (m, 8 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H). **$^{13}\text{C-NMR}$** $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, CD_3OD , δ): 174.2 (C9), 60.7 (C10), 41.1 (C8), 32.1 (C11), 31.7 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 16.6$ Hz, C3), 30.2 (C4, C5, C6), 28.1 (d, $^1J_{\text{C,P}} = 137.1$ Hz, C1), 27.8 (C7), 23.9 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 4.9$ Hz, C2). **$^{31}\text{P-NMR}$** $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CD_3OD , δ): 30.2 (s). **HRMS** (ESI⁺): $m/z = [\text{M}+\text{Na}]^+$ berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{BrNO}_4\text{P}$: 380.0597; gef.: 380.0585. **IR** $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}): 3313.71 (OH), 2927.94 (CH_2), 2858 (CH_2), 1639.49 (C=O), 1531.48 (NH), 1107.14 (P=O), 1002.98 (POH), 945.12 (POH), 775.38, 624.94. **Elementaranalyse** berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{BrNO}_4\text{P}$: C, 40.24; H, 7.03; N, 3.91, gef.: C, 40.47; H, 7.05; N, 4.01. (Alle Werte sind in Prozent angegeben.)

ω -(α -Bromisobutyramido)decylphosphonsäure ADPA¹⁰⁸

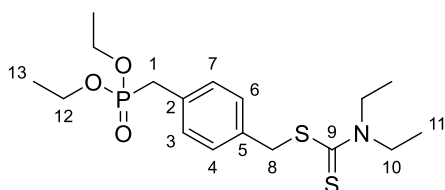
Entsprechend der allgemeinen Vorschrift **V5** wurde **1d** (1.63 g, 3.68 mmol, 1.00 Äq.) mit Bromtrimethylsilan (1.95 mL, 14.7 mmol, 4.00 Äq.) behandelt. Es wurden 1.29 g von **ADPA** als farbloser Feststoff erhalten (3.34 mmol, 91%).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD, δ): 3.17 (t, $^3J_{H,H} = 7.1$ Hz, 2 H, 10-H), 1.88 (s, 6 H, 13-H), 1.69-1.48 (m, 6 H, 1-H, 2-H, 9-H), 1.39-1.30 (m, 12 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H, 8-H). **¹³C-NMR** (δ) (101 MHz, CD₃OD, δ): 174.2 (C11), 60.7 (C12), 41.2 (C10), 32.1 (C13), 31.8 (d, $^3J_{C,P} = 16.6$ Hz, C3), 30.6 (C4), 30.4 (C5), 30.4 (C6), 30.3 (C7), 30.2 (C8), 28.1 (d, $^1J_{C,P} = 137.7$ Hz, C1), 27.7 (C9), 23.9 (d, $^2J_{C,P} = 4.9$ Hz, C2). **³¹P-NMR** (δ) (162 MHz, CD₃OD, δ): 30.2. **HRMS** (ESI+): $m/z = [M+Na]^+$ berechnet für C₁₄H₂₉BrNO₄P: 408.0910; gef.: 408.0900. **IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 3329.14 (OH), 2916.37 (CH₂), 2854.65 (CH₂), 1639.49 (C=O), 1527.62 (NH), 1107.14 (P=O), 1006.84 (POH), 933.55 (POH), 779.24, 462.92. **Elementaranalyse** berechnet für C₁₄H₂₉BrNO₄P: C, 43.53; H, 7.57; N, 3.63, gef.: C, 44.06; H, 7.68; N, 3.59. (Alle Werte sind in Prozent angegeben.)

Diethyl(4-Bromomethyl)benzyl)phosphonsäure 8¹⁸⁰

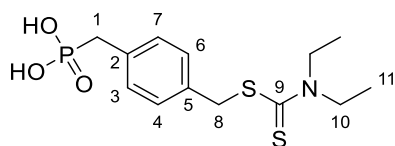
α,α -Dibromxylene (7.38 g, 28.0 mmol, 3.00 Äq.) und Triethylphosphit (1.60 mL, 9.24 mmol, 1.00 Äq.) wurden in Toluol (20 mL) gelöst. Die Mischung wurde 16 h auf 110 °C erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wurde das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Pentan:Ethylacetat 1:1 → Ethylacetat, SiO₂). 1.90 g von **8** wurden als farbloses Öl erhalten (5.92 mmol, 64%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.34 (d, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, 2 H, 3-H, 7-H), 7.29-7.26 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 4.48 (s, 2 H, 8-H), 4.07-3.97 (m, 4 H, 9-H), 3.17 (s, 1 H, 1-Ha), 3.12 (s, 1 H, 1-Hb), 1.25 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 6 H, 10-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 136.6 (d, ⁵J_{C,P} = 3.9 Hz, C5), 132.2 (d, ²J_{C,P} = 3.2 Hz, C2), 130.4 (d, ³J_{C,P} = 6.7 Hz, C3, C7), 129.4 (d, ⁴J_{C,P} = 3.1 Hz, C4, C6), 62.4 (d, ²J_{C,P} = 6.7 Hz, C9, C11), 34.4 (d, ¹J_{C,P} = 138.3 Hz, C1), 33.4 (C8), 16.5 (d, ³J_{C,P} = 6.0 Hz, C10, C12). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 26.0.

4-((Diethoxyphosphoryl)methyl)benzyl diethylcarbamidithioat 7

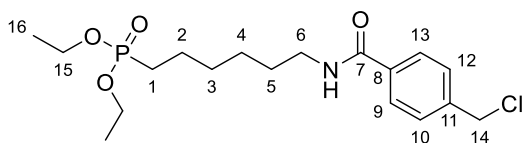
Zu einer Lösung von Natriumdiethylthiocarbamat (2.00 g, 11.7 mmol, 1.50 Äq.) in THF (20 mL) wurde **8** (2.50 g, 7.78 mmol, 1.00 Äq.) tropfenweise hinzugegeben. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Pentan → Ethylacetat, SiO₂). Es wurden 2.38 g von **7** als farbloses Öl erhalten (6.11 mmol, 79%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.32 (d, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, 2 H, 3-H, 7-H), 7.25-7.22 (m, 2 H, 4-H, 6-H), 4.55 (s, 2 H, 8-H), 4.07-3.97 (m, 6 H, 10-H, 12-H), 3.74-3.69 (m, 2 H, 10-H), 3.15 (s, 1 H, 1-Ha), 3.09 (s, 1 H, 1-Hb), 1.29-1.22 (m, 12 H, 11-H, 13-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 195.3 (C9), 134.9 (d, ⁵J_{C,P} = 3.9 Hz, C5), 130.9 (d, ²J_{C,P} = 9.0 Hz, C2), 130.1 (d, ³J_{C,P} = 6.5 Hz, C3, C7), 129.7 (d, ⁴J_{C,P} = 2.9 Hz, C4, C6), 62.3 (d, ²J_{C,P} = 7.0 Hz, C12), 49.6 (C10), 46.8 (C10), 41.9 (C8), 32.9 (d, ¹J_{C,P} = 138.3 Hz, C1), 16.5 (d, ³J_{C,P} = 6.1 Hz, C13), 12.6 (C11), 11.7 (C11). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 26.3 (s).

4-(Phosphorylmethyl)benzyl diethylcarbamodithioat CTPA

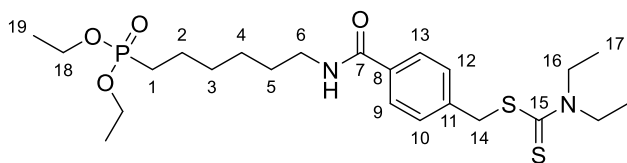
Unter Wasser- und Luftausschluss wurde zu einer Lösung von **7** (1.70 g, 4.37 mmol, 1.00 Äq.) in 20 mL CH₂Cl₂ Bromtrimethylsilan (2.30 mL, 17.4 mmol, 4.00 Äq.) tropfenweise hinzugegeben. Die Lösung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden alle flüchtigen Substanzen im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in einem THF/H₂O-Gemisch (1:1 (v/v)) aufgenommen und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Gefriertrocknung wurden 1.43 g von **CTPA** als farbloser Feststoff erhalten (4.29 mmol, 98%).

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD, δ): 7.30 (d, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, 2 H, 3-H, 7-H), 7.23 (dd, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2.5 Hz, 2 H, 4-H, 6-H), 4.50 (s, 2 H, 8-H), 4.02 (q, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 2 H, 10-H), 3.75 (q, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 2 H, 10-H), 3.09 (s, 1 H, 1-Ha), 3.05 (s, 1 H, 1-Hb), 1.23 (t, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 6 H, 11-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CD₃OD, δ): 196.3 (C9), 136.3 (d, ²J_{C,P} = 4.0 Hz, C2), 133.7 (d, ⁵J_{C,P} = 9.2 Hz, C5) 131.0 (d, ³J_{C,P} = 6.4 Hz, C3, C7), 130.3 (d, ⁴J_{C,P} = 3.4 Hz, C4, C6), 50.5 (C10), 47.7 (C10), 42.3 (C8), 35.6 (d, ¹J_{C,P} = 134.0 Hz, C1), 12.8 (C11), 11.7 (C11). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CD₃OD, δ): 25.2. **HRMS** (ESI+): m/z = [M+Na]⁺ berechnet für C₁₃H₂₀NO₃PS₂: 334.0656, gef.: 334.0639. IR $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 2974.23 (CH₂), 2858.50 (CH₂), 1492.90, 1419.60 (NH), 1269.16 (CN) 1138.00 (P=O), 995.27, 937.40 (POH), 829.39 (CS), 715.5.

Diethyl-(6-(4-(chloromethyl)benzamid)hexyl)phosphonsäure **11**

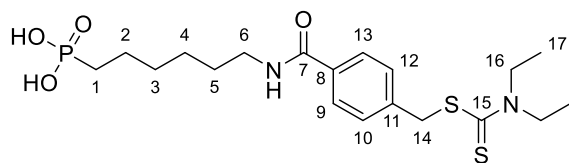
Unter Wasser- und Luftausschluss wurde zu einer Lösung von 4-(Chlormethyl)benzoylchlorid **12** (1.54 mL, 8.13 mmol, 1.00 Äq.) in 20 mL CH₂Cl₂, NEt₃ (1.20 mL, 8.61 mmol, 1.06 Äq.) hinzugegeben. Nach Kühlen der Lösung auf 0 °C wurde Diethyl-(6-aminohexyl)phosphonat **2b** (1.93 g, 8.13 mmol, 1.00 Äq.) in CH₂Cl₂ (10 mL) tropfenweise zugegeben. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur 16 h gerührt. Nach Zugabe von 20 mL H₂O wurde das CH₂Cl₂ unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 2 M wässriger NaOH-Lösung aufgenommen und die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden anschließend mit 2 M wässriger HCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Pentan → Ethylacetat, SiO₂) wurden 2.76 g von **11** als farbloses Öl (7.08 mmol, 87%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ): 7.77 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 9-H, 13-H), 7.44 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 10-H, 12-H), 6.39 (t, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 1 H, NH), 4.60 (s, 2 H, 14-H), 4.13-4.02 (m, 4 H, 15-H), 3.46-3.42 (m, 2 H, 6-H), 1.76-1.69 (m, 2 H, 5-H), 1.65-1.57 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.47-1.36 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.31 (t, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 6 H, 16-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 167.0 (C7), 140.7 (C8), 134.9 (C11), 128.8 (C10, C12), 127.5 (C9, C13), 61.6 (d, ²J_{C,P} = 6.7 Hz, C15), 45.6 (C14), 40.0 (C6), 30.0 (d, ³J_{C,P} = 15.9 Hz, C3), 29.4 (C5), 26.3 (C4), 25.5 (d, ¹J_{C,P} = 140.8 Hz, C1), 22.4 (d, ²J_{C,P} = 5.2 Hz, C2), 16.6 (d, ²J_{C,P} = 5.8 Hz, C16). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 33.6. **HRMS** (ESI⁺): m/z = [M+H]⁺ berechnet für C₁₈H₂₉ClNO₄P: 390.1596; gef.: 390.1602.

4-((6-(Diethoxyphosphoryl)hexyl)carbamoyl)benzyl-diethylcarbamodithioat 10

Eine Lösung aus **11** (2.70 g, 6.93 mmol, 1.00 Äq) in 10 mL THF wurde tropfenweise zu Natriumcarbamoyldithionat (1.78 g, 10.39 mmol, 1.50 Äq.) in 20 mL THF dazu gegeben. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur für 16 h gerührt. Anschließend wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 2 M wässriger NaOH-Lösung aufgenommen und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurden 3.10 g von **10** als farbloses Öl (6.17 mmol, 89%) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 7.71 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 9-H, 13-H), 7.43 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 10-H, 12-H), 6.39 (t, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 1 H, NH), 4.57 (s, 2 H, 14-H), 4.13-4.00 (m, 4 H, 18-H), 3.72 (q, ³J_{H,H} = 7.2, 2 H, 16-H) 3.45-3.40 (m, 2 H, 6-H), 1.75-1.67 (m, 2 H, 5-H), 1.65-1.55 (m, 4 H, 1-H, 2-H), 1.46-1.36 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.32-1.23 (m, 12 H, 17-H, 19-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, CDCl₃, δ): 194.8 (C15), 167.3 (C7), 140.3 (C8), 134.0 (C11), 129.6 (C10, C12), 127.3 (C9, C13), 61.6 (d, ²J_{C,P} = 6.5 Hz, C18), 49.8 (C16), 46.9 (C16), 41.6 (C14), 40.0 (C6), 30.1 (d, ³J_{C,P} = 16.0 Hz, C3), 29.5 (C5), 26.4 (C4), 25.6 (d, ¹J_{C,P} = 140.8 Hz, C1), 22.4 (d, ²J_{C,P} = 5.1 Hz, C2), 16.6 (d, ²J_{C,P} = 6.0 Hz, C19), 12.6 (C17), 11.7 (C17). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, CDCl₃, δ): 32.3. **HRMS** (ESI⁺): *m/z* = [M+Na]⁺ berechnet für C₂₃H₃₉N₂O₄PS₂: 525.1981; gef.: 525.1995.

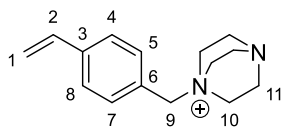
(6-(4-(((Diethylcarbamothioyl)thio)methyl)benzamido)hexyl)phosphonsäure CTHP

Unter Wasser- und Luftausschluss wurde zu einer Lösung von **10** (0.980 g, 1.95 mmol, 1.00 Äq.) in 20 mL CH₂Cl₂ Bromtrimethylsilan (1.00 mL, 7.58 mmol, 3.89 Äq.) tropfenweise hinzugeben. Die Lösung wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und alle flüchtigen Substanzen unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in einem THF/H₂O-Gemisch (1:1 (v/v)) aufgenommen und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und Gefriertrocknung wurden das Rohprodukt erhalten. Nach säulenchromatographischer Reinigung an RP-18-Kieselgel (H₂O/CH₃CN mit 0.1% HCO₂H) wurden 0.327 g von **CTHP** als farbloser Feststoff (0.73 mmol, 38%) erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, δ): 8.43 (t, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, 1 H, NH), 7.76 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 9-H, 13-H), 7.45 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 10-H, 12-H), 4.56 (s, 2 H, 14-H), 3.96 (q, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2 H, 16-H), 3.73 (q, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2 H, 16-H), 3.24-3.20 (m, 2 H, 6-H), 1.52-1.41 (m, 6 H, 1-H, 2-H, 5-H), 1.37-1.25 (m, 4 H, 3-H, 4-H), 1.18 (dt, ³J_{H,H} = 11.1 Hz, 7.0 Hz, 6 H, 17-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, DMSO-d₆, δ): 193.2 (C16), 165.8 (C8), 139.8 (C12), 133.7 (C8), 129.0 (C10, C12), 127.3 (C9, C13), 49.3 (C16), 46.6 (C16), 40.2 (C14), 39.2 (C6), 29.7 (C3), 29.0 (C5), 27.6 (d, ¹J_{C,P} = 136.3 Hz, C1), 26.2 (C4), 22.8 (d, ²J_{C,P} = 5.0 Hz, C2), 12.5 (C17), 11.4 (C17). **³¹P-NMR** {¹H} (162 MHz, DMSO-d₆, δ): 27.8. **HRMS** (ESI+): m/z = [M+Na]⁺ berechnet für C₁₉H₃₁N₂O₄PS₂: 447.1536, gef.: 447.1523. **IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 3360.00 (NH), 2931.80 (CH₂), 2862.36 (CH₂), 1600.92 (C=O), 1546.91 (NH), 1489.05, 1415.75, 1141.86 (P=O), 1002.98 (POH), 937.40 (POH), 864.11 (CS), 717.52, 524.64.

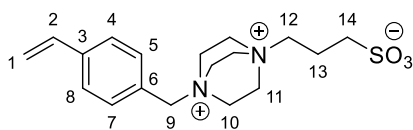
6.3 Synthesevorschriften der Monomere

1-(4-Vinylbenzyl)-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octan-1-ium VBD



Eine Lösung von 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (22.00 g, 196 mmol, 3.07 Äq.) in 250 mL Ethylacetat wurde auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde tropfenweise 4-Vinylbenzylchlorid (10.0 mL, 63.9 mmol, 1.00 Äq.) zugegeben. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Der leicht orangefarbene Feststoff wurde über Vakuum filtriert und mit Ethylacetat (1 L) gewaschen. Nach dem Trocknen des Feststoffes unter Vakuum wurden 15.79 g von **VBD** als leicht orangefarbener Feststoff (14.65 g, 63.86 mmol, quant.) erhalten. Das hygroskopische Produkt war bei – 18 °C für einige Wochen stabil.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O, δ): 7.64 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 5-H, 7-H), 7.49 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 4-H, 8-H), 6.86 (dd, ³J_{H,H} = 17.7 Hz, 11.0 Hz, 1 H, 2-H), 5.97 (d, ³J_{H,H} = 17.7 Hz, ²J_{H,H} = 0.8 Hz, 1 H, 1-Ha), 5.44 (d, ³J_{H,H} = 11.0 Hz, ²J_{H,H} = 0.8 Hz, 1 H, 1-Hb), 4.49 (s, 1 H, H-9), 3.47-3.44 (m, 6 H, 10-H), 3.20-3.16 (m, 6 H, 11-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, D₂O, δ): 139.7 (C3), 135.7 (C2), 133.4 (C4, C8), 126.8 (C5, C7), 125.3 (C6), 116.3 (C1), 68.0 (C9), 52.0 (C10), 44.2 (C11). **HRMS** (ESI⁺): *m/z* = [M+H]⁺ berechnet für C₁₅H₂₁N₂⁺: 229.1705 ; gef.: 229.1698.

3-(4-(4-Vinylbenzyl)-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octan-1-yl)propylsulfonat VBDSB

Zu einer Lösung von 1-(4-Vinylbenzyl)-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octan-1-ium (10.0 g, 43.6 mmol, 1.00 Äq.) in 150 mL CH₃CN wurde tropfenweise 1,3-Propansulfon (7.80 mL, 88.8 mmol, 2.04 Äq.) zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der farblose Feststoff wurde über Vakuum filtriert und mit CH₃CN (500 mL) gewaschen. Nach Ionenaustauschchromatographie (Dowex 1X2, H₂O) und Gefriertrocknung wurden 4.78 g von **VBDSB** als farbloser Feststoff (13.6 mmol, 32%) erhalten. Das Produkt wurde vor Gebrauch bei – 18 °C gelagert.

¹H-NMR (500 MHz, D₂O, δ): 7.67 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 5-H, 7-H), 7.54 (d, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, 2 H, 4-H, 8-H), 6.88 (dd, ³J_{H,H} = 17.7 Hz, 11.0 Hz, 1 H, 2-H), 6.00 (dd, ³J_{H,H} = 17.7 Hz, ²J_{H,H} = 0.8 Hz, 1 H, 1-Ha), 5.48 (d, ³J_{H,H} = 11.0 Hz, ²J_{H,H} = 0.8 Hz, 1 H, 1-Hb), 4.84 (s, 1 H, H-9), 4.06 (s, 12 H, 10-H, 11-H), 3.83-3.73 (m, 2 H, 12-H), 3.03 (t, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, 2 H, 13-H), 2.36-2.24 (m, 2 H, 14-H). **¹³C-NMR** {¹H} (101 MHz, D₂O, δ): 140.5 (C3), 135.6 (C2), 133.3 (C4, C8), 127.2 (C5, C7), 124.1 (C6), 116.8 (C1), 68.6 (C9), 63.3 (C12), 51.3 (C10), 50.7 (C11), 46.8 (C14), 17.8 (C13). **HRMS** (ESI⁺): *m/z* = [M+H]⁺ berechnet für C₁₈H₂₇N₂O₃S⁺: 351.1737; gef.: 351.1728. **IR** $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹): 3390 (OH), 3024 (CH), 2920 (NR₄⁺), 1624 (C=C), 1388 (S=O), 1176 (SO₃⁻), 1038 (SO₃⁻), 860 (CH).

7. Literatur

- (1) Hall-Stoodley, L.; Costerton, J. W.; Stoodley, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* **2004**, *2* (2), 95-108. DOI: 10.1038/nrmicro821 From NLM Medline.
- (2) Flemming, H. C.; Wingender, J.; Szewzyk, U.; Steinberg, P.; Rice, S. A.; Kjelleberg, S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol* **2016**, *14* (9), 563-575. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94 From NLM Medline.
- (3) Flemming, H.-C.; Wingender, J. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* **2010**, *8* (9), 623-633. DOI: 10.1038/nrmicro2415.
- (4) Guilhen, C.; Forestier, C.; Balestrino, D. Biofilm dispersal: multiple elaborate strategies for dissemination of bacteria with unique properties. *Molecular Microbiology* **2017**, *105* (2), 188-210. DOI: <https://doi.org/10.1111/mmi.13698>.
- (5) Zhang, L.; Fritsch, M.; Hammond, L.; Landreville, R.; Slatculescu, C.; Colavita, A.; Mah, T.-F. Identification of Genes Involved in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm-Specific Resistance to Antibiotics. *PLOS ONE* **2013**, *8* (4), e61625. DOI: 10.1371/journal.pone.0061625.
- (6) Brauner, A.; Fridman, O.; Gefen, O.; Balaban, N. Q. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nature Reviews Microbiology* **2016**, *14* (5), 320-330. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.34.
- (7) Olsen, I. Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **2015**, *34* (5), 877-886. DOI: 10.1007/s10096-015-2323-z.
- (8) Mah, T.-F. Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiology* **2012**, *7* (9), 1061-1072. DOI: 10.2217/fmb.12.76.
- (9) Jefferson, K. K.; Goldmann, D. A.; Pier, G. B. Use of Confocal Microscopy To Analyze the Rate of Vancomycin Penetration through *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2005**, *49* (6), 2467-2473. DOI: doi:10.1128/aac.49.6.2467-2473.2005.
- (10) Harrison, J. J.; Ceri, H.; Turner, R. J. Multimetall resistance and tolerance in microbial biofilms. *Nature Reviews Microbiology* **2007**, *5* (12), 928-938. DOI: 10.1038/nrmicro1774.
- (11) Walker, C. B.; Tyler, K. Z.; Low, S. B.; King, C. J. Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* **1987**, *2* (3), 129-131. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.1987.tb00276.x>.
- (12) Khan, W.; Bernier, S. P.; Kuchma, S. L.; Hammond, J. H.; Hasan, F.; O'Toole, G. A. Aminoglycoside resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms modulated by extracellular polysaccharide. *Int Microbiol* **2010**, *13* (4), 207-212. DOI: 10.2436/20.1501.01.127 From NLM.
- (13) Brown, M. R. W.; Allison, D. G.; Gilbert, P. Resistance of bacterial biofilms to antibiotics a growth-rate related effect? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **1988**, *22* (6), 777-780. DOI: 10.1093/jac/22.6.777 (accessed 1/24/2024).
- (14) Savage, V. J.; Chopra, I.; O'Neill, A. J. *Staphylococcus aureus* Biofilms Promote Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2013**, *57* (4), 1968-1970. DOI: doi:10.1128/aac.02008-12.

- (15) Health, N. I. o. Research on microbial biofilms (PA-03-047). *National Institutes of Health* **2002**.
- (16) Health, N. I. o. *Immunology of Biofilms*; Report No. PA-06-537, 2006.
- (17) Percival, S. L.; Suleman, L.; Vuotto, C.; Donelli, G. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. *J Med Microbiol* **2015**, *64* (Pt 4), 323-334. DOI: 10.1099/jmm.0.000032 From NLM Medline.
- (18) Li, W.; Thian, E. S.; Wang, M.; Wang, Z.; Ren, L. Surface Design for Antibacterial Materials: From Fundamentals to Advanced Strategies. *Adv Sci (Weinh)* **2021**, *8* (19), e2100368. DOI: 10.1002/advs.202100368 From NLM Medline.
- (19) Rumbaugh, K. P.; Sauer, K. Biofilm dispersion. *Nature Reviews Microbiology* **2020**, *18* (10), 571-586. DOI: 10.1038/s41579-020-0385-0.
- (20) Tuson, H. H.; Weibel, D. B. Bacteria–surface interactions. *Soft matter* **2013**, *9* (17), 4368-4380.
- (21) Hermansson, M. The DLVO theory in microbial adhesion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **1999**, *14* (1), 105-119. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(99\)00029-6](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00029-6).
- (22) Araújo, E. A.; de Andrade, N. J.; da Silva, L. H. M.; de Carvalho, A. F.; de Sá Silva, C. A.; Ramos, A. M. Control of Microbial Adhesion as a Strategy for Food and Bioprocess Technology. *Food and Bioprocess Technology* **2009**, *3* (3), 321-332. DOI: 10.1007/s11947-009-0290-z.
- (23) Khatoon, Z.; McTiernan, C. D.; Suuronen, E. J.; Mah, T. F.; Alarcon, E. I. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon* **2018**, *4* (12), e01067. DOI: 10.1016/j.heliyon.2018.e01067 From NLM.
- (24) Zander, Z. K.; Becker, M. L. Antimicrobial and Antifouling Strategies for Polymeric Medical Devices. *Acs Macro Lett* **2018**, *7* (1), 16-25. DOI: 10.1021/acsmacrolett.7b00879.
- (25) Maan, A. M. C.; Hofman, A. H.; de Vos, W. M.; Kamperman, M. Recent Developments and Practical Feasibility of Polymer-Based Antifouling Coatings. *Advanced Functional Materials* **2020**, *30* (32), 2000936. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.202000936>.
- (26) Chapman, R. G.; Ostuni, E.; Takayama, S.; Holmlin, R. E.; Yan, L.; Whitesides, G. M. Surveying for surfaces that resist the adsorption of proteins. *Journal of the American Chemical Society* **2000**, *122* (34), 8303-8304. DOI: DOI 10.1021/ja000774f.
- (27) Chen, S.; Li, L.; Zhao, C.; Zheng, J. Surface hydration: Principles and applications toward low-fouling/nonfouling biomaterials. *Polymer* **2010**, *51* (23), 5283-5293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.08.022>.
- (28) Li, Q.; Wen, C.; Yang, J.; Zhou, X.; Zhu, Y.; Zheng, J.; Cheng, G.; Bai, J.; Xu, T.; Ji, J.; et al. Zwitterionic Biomaterials. *Chem Rev* **2022**, *122* (23), 17073-17154. DOI: 10.1021/acs.chemrev.2c00344 From NLM Medline.
- (29) Schlenoff, J. B. Zwitteration: Coating Surfaces with Zwitterionic Functionality to Reduce Nonspecific Adsorption. *Langmuir* **2014**, *30* (32), 9625-9636. DOI: 10.1021/la500057j.

- (30) Krishnan, S.; Weinman, C. J.; Ober, C. K. Advances in polymers for anti-biofouling surfaces. *J Mater Chem* **2008**, *18* (29), 3405-3413, 10.1039/B801491D. DOI: 10.1039/B801491D.
- (31) Ostuni, E.; Chapman, R. G.; Holmlin, R. E.; Takayama, S.; Whitesides, G. M. A Survey of Structure–Property Relationships of Surfaces that Resist the Adsorption of Protein. *Langmuir* **2001**, *17* (18), 5605-5620. DOI: 10.1021/la010384m.
- (32) Liu, P.-S.; Chen, Q.; Wu, S.-S.; Shen, J.; Lin, S.-C. Surface modification of cellulose membranes with zwitterionic polymers for resistance to protein adsorption and platelet adhesion. *J. Membr. Sci.* **2010**, *350* (1), 387-394. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.01.015>.
- (33) Wu, B.; Zhang, L.; Huang, L.; Xiao, S.; Yang, Y.; Zhong, M.; Yang, J. Salt-Induced Regenerative Surface for Bacteria Killing and Release. *Langmuir* **2017**, *33* (28), 7160-7168. DOI: 10.1021/acs.langmuir.7b01333 From NLM.
- (34) Fu, Y.; Wang, Y.; Huang, L.; Xiao, S.; Chen, F.; Fan, P.; Zhong, M.; Tan, J.; Yang, J. Salt-Responsive “Killing and Release” Antibacterial Surfaces of Mixed Polymer Brushes. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2018**, *57* (27), 8938-8945. DOI: 10.1021/acs.iecr.8b01730.
- (35) Chang, Y. Designs of zwitterionic polymers. *Journal of Polymer Research* **2022**, *29* (7). DOI: 10.1007/s10965-022-03041-2.
- (36) Dilly, S. J.; Beecham, M. P.; Brown, S. P.; Griffin, J. M.; Clark, A. J.; Griffin, C. D.; Marshall, J.; Napier, R. M.; Taylor, P. C.; Marsh, A. Novel Tertiary Amine Oxide Surfaces That Resist Nonspecific Protein Adsorption. *Langmuir* **2006**, *22* (19), 8144-8150. DOI: 10.1021/la060743j.
- (37) Li, B.; Jain, P.; Ma, J.; Smith, J. K.; Yuan, Z.; Hung, H. C.; He, Y.; Lin, X.; Wu, K.; Pfaendtner, J.; et al. Trimethylamine N-oxide-derived zwitterionic polymers: A new class of ultralow fouling bioinspired materials. *Sci Adv* **2019**, *5* (6), eaaw9562. DOI: 10.1126/sciadv.aaw9562 (accessed 2022/11/03). From NLM Medline.
- (38) Burmeister, N.; Zorn, E.; Farooq, A.; Preuss, L.; Vollstedt, C.; Friedrich, T.; Mantel, T.; Scharnagl, N.; Rohnke, M.; Ernst, M.; et al. Surface Grafted N-Oxides have Low-Fouling and Antibacterial Properties. *Advanced Materials Interfaces* **2023**, 2300505. DOI: 10.1002/admi.202300505.
- (39) Damodaran, V. B.; Murthy, N. S. Bio-inspired strategies for designing antifouling biomaterials. *Biomater Res* **2016**, *20*, 18. DOI: 10.1186/s40824-016-0064-4 From NLM.
- (40) Zhao, L.; Chu, P. K.; Zhang, Y.; Wu, Z. Antibacterial coatings on titanium implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **2009**, *91* (1), 470-480. DOI: 10.1002/jbm.b.31463 From NLM.
- (41) Timofeeva, L.; Kleshcheva, N. Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2011**, *89* (3), 475-492. DOI: 10.1007/s00253-010-2920-9.
- (42) Lewis, K.; Klibanov, A. M. Surpassing nature: rational design of sterile-surface materials. *Trends Biotechnol* **2005**, *23* (7), 343-348. DOI: 10.1016/j.tibtech.2005.05.004 From NLM Medline.
- (43) Tiller, J. C.; Liao, C.-J.; Lewis, K.; Klibanov, A. M. Designing surfaces that kill bacteria on contact. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2001**, *98* (11), 5981-5985.

- (44) Bieser, A. M.; Tiller, J. C. Mechanistic considerations on contact-active antimicrobial surfaces with controlled functional group densities. *Macromol Biosci* **2011**, *11* (4), 526-534. DOI: 10.1002/mabi.201000398 From NLM Medline.
- (45) Zhou, C.; Wang, F.; Chen, H.; Li, M.; Qiao, F.; Liu, Z.; Hou, Y.; Wu, C.; Fan, Y.; Liu, L.; et al. Selective Antimicrobial Activities and Action Mechanism of Micelles Self-Assembled by Cationic Oligomeric Surfactants. *ACS Appl Mater Interfaces* **2016**, *8* (6), 4242-4249. DOI: 10.1021/acsami.5b12688 From NLM Medline.
- (46) Murata, H.; Koepsel, R. R.; Matyjaszewski, K.; Russell, A. J. Permanent, non-leaching antibacterial surface--2: how high density cationic surfaces kill bacterial cells. *Biomaterials* **2007**, *28* (32), 4870-4879. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.06.012.
- (47) Kaur, R.; Liu, S. Antibacterial surface design - Contact kill. *Progress in Surface Science* **2016**, *91* (3), 136-153. DOI: 10.1016/j.progsurf.2016.09.001.
- (48) Ye, G.; Lee, J.; Perreault, F.; Elimelech, M. Controlled Architecture of Dual-Functional Block Copolymer Brushes on Thin-Film Composite Membranes for Integrated "Defending" and "Attacking" Strategies against Biofouling. *ACS Appl Mater Interfaces* **2015**, *7* (41), 23069-23079. DOI: 10.1021/acsami.5b06647.
- (49) Zhou, Z.; Yu, P.; Geller, H. M.; Ober, C. K. Biomimetic Polymer Brushes Containing Tethered Acetylcholine Analogs for Protein and Hippocampal Neuronal Cell Patterning. *Biomacromolecules* **2013**, *14* (2), 529-537. DOI: 10.1021/bm301785b.
- (50) Guo, S.; Jańczewski, D.; Zhu, X.; Quintana, R.; He, T.; Neoh, K. G. Surface charge control for zwitterionic polymer brushes: Tailoring surface properties to antifouling applications. *Journal of colloid and interface science* **2015**, *452*, 43-53.
- (51) Yan, S.; Luan, S.; Shi, H.; Xu, X.; Zhang, J.; Yuan, S.; Yang, Y.; Yin, J. Hierarchical Polymer Brushes with Dominant Antibacterial Mechanisms Switching from Bactericidal to Bacteria Repellent. *Biomacromolecules* **2016**, *17* (5), 1696-1704. DOI: 10.1021/acs.biomac.6b00115.
- (52) Friis, J. E.; Brøns, K.; Salmi, Z.; Shimizu, K.; Subbiahdoss, G.; Holm, A. H.; Santos, O.; Pedersen, S. U.; Meyer, R. L.; Daasbjerg, K.; et al. Hydrophilic Polymer Brush Layers on Stainless Steel Using Multilayered ATRP Initiator Layer. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2016**, *8* (44), 30616-30627. DOI: 10.1021/acsami.6b10466.
- (53) Zhi, Z.; Su, Y.; Xi, Y.; Tian, L.; Xu, M.; Wang, Q.; Padidan, S.; Li, P.; Huang, W. Dual-Functional Polyethylene Glycol-b-polyhexanide Surface Coating with in Vitro and in Vivo Antimicrobial and Antifouling Activities. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2017**, *9* (12), 10383-10397. DOI: 10.1021/acsami.6b12979.
- (54) Zeng, Q.; Zhu, Y.; Yu, B.; Sun, Y.; Ding, X.; Xu, C.; Wu, Y. W.; Tang, Z.; Xu, F. J. Antimicrobial and Antifouling Polymeric Agents for Surface Functionalization of Medical Implants. *Biomacromolecules* **2018**, *19* (7), 2805-2811. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b00399 From NLM.
- (55) Fu, Y.; Yang, Y.; Xiao, S.; Zhang, L.; Huang, L.; Chen, F.; Fan, P.; Zhong, M.; Tan, J.; Yang, J. Mixed polymer brushes with integrated antibacterial and antifouling properties. *Prog Org Coat* **2019**, *130*, 75-82. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.01.038>.

- (56) Yu, Q.; Cho, J.; Shivapooja, P.; Ista, L. K.; López, G. P. Nanopatterned smart polymer surfaces for controlled attachment, killing, and release of bacteria. *ACS applied materials & interfaces* **2013**, *5* (19), 9295-9304.
- (57) Xu, G.; Liu, P.; Pranantyo, D.; Xu, L.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T. Antifouling and Antimicrobial Coatings from Zwitterionic and Cationic Binary Polymer Brushes Assembled via "Click" Reactions. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2017**, *56* (49), 14479-14488. DOI: 10.1021/acs.iecr.7b03132.
- (58) Brunette, D.; Tengvall, P.; Textor, M.; Thomsen, P. Titanium in Medicine.– Springer-Verlag: Berlin Heidelberg. Germany: 2001.
- (59) Agarwal, S.; Curtin, J.; Duffy, B.; Jaiswal, S. Biodegradable magnesium alloys for orthopaedic applications: A review on corrosion, biocompatibility and surface modifications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* **2016**, *68*, 948-963. DOI: 10.1016/j.msec.2016.06.020 From NLM.
- (60) Boissezon, R.; Muller, J.; Beaugeard, V.; Monge, S.; Robin, J.-J. Organophosphonates as anchoring agents onto metal oxide-based materials: synthesis and applications. *Rsc Advances* **2014**, *4* (67), 35690-35707.
- (61) Dutta, S.; Shreyash, N.; Satapathy, B. K.; Saha, S. Advances in design of polymer brush functionalized inorganic nanomaterials and their applications in biomedical arena. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* **2023**, *15* (3), e1861. DOI: <https://doi.org/10.1002/wnan.1861>.
- (62) Zoppe, J. O.; Ataman, N. C.; Mocny, P.; Wang, J.; Moraes, J.; Klok, H. A. Surface-Initiated Controlled Radical Polymerization: State-of-the-Art, Opportunities, and Challenges in Surface and Interface Engineering with Polymer Brushes. *Chem Rev* **2017**, *117* (3), 1105-1318. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00314.
- (63) Matyjaszewski, K.; Xia, J. Atom Transfer Radical Polymerization. *Chemical Reviews* **2001**, *101* (9), 2921-2990. DOI: 10.1021/cr940534g.
- (64) Hui, C. M.; Pietrasik, J.; Schmitt, M.; Mahoney, C.; Choi, J.; Bockstaller, M. R.; Matyjaszewski, K. Surface-Initiated Polymerization as an Enabling Tool for Multifunctional (Nano-)Engineered Hybrid Materials. *Chem Mater* **2014**, *26* (1), 745-762. DOI: 10.1021/cm4023634.
- (65) Barbey, R.; Lavanant, L.; Paripovic, D.; Schuwer, N.; Sugnaux, C.; Tugulu, S.; Klok, H. A. Polymer brushes via surface-initiated controlled radical polymerization: synthesis, characterization, properties, and applications. *Chem Rev* **2009**, *109* (11), 5437-5527. DOI: 10.1021/cr900045a.
- (66) Otsu, T.; Yoshida, M.; Kuriyama, A. Living radical polymerizations in homogeneous solution by using organic sulfides as photoiniferters. *Polymer Bulletin* **1982**, *7*, 45-50.
- (67) Fouassier, J.; Allonas, X.; Burget, D. Photopolymerization reactions under visible lights: principle, mechanisms and examples of applications. *Prog Org Coat* **2003**, *47* (1), 16-36.
- (68) Chen, M.; Zhong, M.; Johnson, J. A. Light-Controlled Radical Polymerization: Mechanisms, Methods, and Applications. *Chemical Reviews* **2016**, *116* (17), 10167-10211. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00671.

- (69) Özçam, A. E.; Roskov, K. E.; Spontak, R. J.; Genzer, J. Generation of functional PET microfibers through surface-initiated polymerization. *J Mater Chem* **2012**, *22* (12), 5855-5864, 10.1039/C2JM16017J. DOI: 10.1039/C2JM16017J.
- (70) Kleijwegt, R. J. T.; Winkenwerder, W.; Baan, W.; van der Schaaf, J. Degradation kinetics and solvent effects of various long-chain quaternary ammonium salts. *International Journal of Chemical Kinetics* **2021**, *54* (1), 16-27. DOI: 10.1002/kin.21537.
- (71) Paniagua, S. A.; Giordano, A. J.; Smith, O. N. L.; Barlow, S.; Li, H.; Armstrong, N. R.; Pemberton, J. E.; Brédas, J.-L.; Ginger, D.; Marder, S. R. Phosphonic Acids for Interfacial Engineering of Transparent Conductive Oxides. *Chemical Reviews* **2016**, *116* (12), 7117-7158. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00061.
- (72) Pujari, S. P.; Scheres, L.; Marcelis, A. T. M.; Zuilhof, H. Covalent Surface Modification of Oxide Surfaces. *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53* (25), 6322-6356. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201306709>.
- (73) Queffelec, C.; Petit, M.; Janvier, P.; Knight, D. A.; Bujoli, B. Surface modification using phosphonic acids and esters. *Chem Rev* **2012**, *112* (7), 3777-3807. DOI: 10.1021/cr2004212.
- (74) Guerrero, G.; Alauzun, J. G.; Granier, M.; Laurencin, D.; Mutin, P. H. Phosphonate coupling molecules for the control of surface/interface properties and the synthesis of nanomaterials. *Dalton Transactions* **2013**, *42* (35), 12569-12585.
- (75) Hotchkiss, P. J.; Jones, S. C.; Paniagua, S. A.; Sharma, A.; Kippelen, B.; Armstrong, N. R.; Marder, S. R. The modification of indium tin oxide with phosphonic acids: mechanism of binding, tuning of surface properties, and potential for use in organic electronic applications. *Accounts of chemical research* **2012**, *45* (3), 337-346.
- (76) Guerrero, G.; Mutin, P. H.; Vioux, A. Organically modified aluminas by grafting and sol-gel processes involving phosphonate derivatives. *J Mater Chem* **2001**, *11* (12), 3161-3165. DOI: DOI 10.1039/b104411g.
- (77) Minet, I.; Delhalle, J.; Hevesi, L.; Mekhalif, Z. Surface-initiated ATRP of PMMA, PS and diblock PS-b-PMMA copolymers from stainless steel modified by 11-(2-bromoisobutyrate)-undecyl-1-phosphonic acid. *Journal of colloid and interface science* **2009**, *332* (2), 317-326.
- (78) Chu, C.-W.; Higaki, Y.; Cheng, C.-H.; Cheng, M.-H.; Chang, C.-W.; Chen, J.-T.; Takahara, A. Zwitterionic polymer brush grafting on anodic aluminum oxide membranes by surface-initiated atom transfer radical polymerization. *Polymer Chemistry* **2017**, *8* (15), 2309-2316.
- (79) Barthélémy, B.; Devillers, S.; Minet, I.; Delhalle, J.; Mekhalif, Z. Induction heating for surface triggering styrene polymerization on titanium modified with ATRP initiator. *Journal of Colloid and Interface Science* **2011**, *354* (2), 873-879. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.11.057>.
- (80) Vergnat, V.; Roland, T.; Pourroy, G.; Masson, P. Effect of covalent grafting on mechanical properties of TiO₂/polystyrene composites. *Materials Chemistry and Physics* **2014**, *147* (1), 261-267. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2014.04.038>.
- (81) Reggente, M.; Masson, P.; Dollinger, C.; Palkowski, H.; Zafeiratos, S.; Jacomine, L.; Passeri, D.; Rossi, M.; Vrana, N. E.; Pourroy, G.; et al. Novel Alkali Activation of Titanium Substrates To Grow Thick and Covalently Bound PMMA Layers. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2018**, *10* (6), 5967-5977. DOI: 10.1021/acsami.7b17008.

- (82) Kampferbeck, M.; Vossmeier, T.; Weller, H. Cross-Linked Polystyrene Shells Grown on Iron Oxide Nanoparticles via Surface-Grafted AGET-ATRP in Microemulsion. *Langmuir* **2019**, *35* (26), 8790-8798. DOI: 10.1021/acs.langmuir.9b01060.
- (83) Barthélémy, B.; Devillers, S.; Minet, I.; Delhalle, J.; Mekhalif, Z. Surface-initiated ATRP of 2-(methacryloyloxy)ethyl 2-(trimethylammonio)ethyl phosphate on Phynox. *Appl Surf Sci* **2011**, *258* (1), 466-473. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2011.08.091>.
- (84) Barthélémy, B.; Maheux, S.; Devillers, S. b.; Kanoufi, F. d. r.; Combellas, C.; Delhalle, J.; Mekhalif, Z. Synergistic effect on corrosion resistance of Phynox substrates grafted with surface-initiated ATRP (co) polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). *ACS Applied Materials & Interfaces* **2014**, *6* (13), 10060-10071.
- (85) Reggente, M.; Kriegel, S.; He, W.; Masson, P.; Pourroy, G.; Mura, F.; Faerber, J.; Passeri, D.; Rossi, M.; Palkowski, H.; et al. How alkali-activated Ti surfaces affect the growth of tethered PMMA chains: a close-up study on the PMMA thickness and surface morphology. *Pure and Applied Chemistry* **2019**, *91* (10), 1687-1694. DOI: [doi:10.1515/pac-2019-0223](https://doi.org/10.1039/c9py00022a) (accessed 2023-03-07).
- (86) Arrotin, B.; Delhalle, J.; Dubois, P.; Mespouille, L.; Mekhalif, Z. Electroassisted Functionalization of Nitinol Surface, a Powerful Strategy for Polymer Coating through Controlled Radical Surface Initiation. *Langmuir* **2017**, *33* (12), 2977-2985. DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b04536.
- (87) Vergnat, V.; Pourroy, G.; Masson, P. Enhancement of styrene conversion in organic/inorganic hybrid materials by using malononitrile in controlled radical polymerization. *Polymer International* **2013**, *62* (6), 878-883, <https://doi.org/10.1002/pi.4435>. DOI: <https://doi.org/10.1002/pi.4435> (accessed 2023/03/07).
- (88) Paniagua, S. A.; Kim, Y.; Henry, K.; Kumar, R.; Perry, J. W.; Marder, S. R. Surface-Initiated Polymerization from Barium Titanate Nanoparticles for Hybrid Dielectric Capacitors. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6* (5), 3477-3482. DOI: 10.1021/am4056276.
- (89) Dong, H.; Huang, J.; Koepsel, R. R.; Ye, P.; Russell, A. J.; Matyjaszewski, K. Recyclable Antibacterial Magnetic Nanoparticles Grafted with Quaternized Poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate) Brushes. *Biomacromolecules* **2011**, *12* (4), 1305-1311. DOI: 10.1021/bm200031v.
- (90) Basuki, J. S.; Esser, L.; Zetterlund, P. B.; Whittaker, M. R.; Boyer, C.; Davis, T. P. Grafting of P(OEGA) Onto Magnetic Nanoparticles Using Cu(0) Mediated Polymerization: Comparing Grafting "from" and "to" Approaches in the Search for the Optimal Material Design of Nanoparticle MRI Contrast Agents. *Macromolecules (Washington, DC, U. S.)* **2013**, *46* (15), 6038-6047. DOI: 10.1021/ma401250f.
- (91) Borozenko, O.; Machado, V.; Skene, W. G.; Giasson, S. Organophosphonic acids as viable linkers for the covalent attachment of polyelectrolyte brushes on silica and mica surfaces. *Polymer Chemistry* **2014**, *5* (19), 5740-5750, 10.1039/C4PY00492B. DOI: 10.1039/C4PY00492B.
- (92) Sunday, D.; Curras-Medina, S.; Green, D. L. Impact of Initiator Spacer Length on Grafting Polystyrene from Silica Nanoparticles. *Macromolecules* **2010**, *43* (11), 4871-4878. DOI: 10.1021/ma1004259.

- (93) Huang, C.; Tassone, T.; Woodberry, K.; Sunday, D.; Green, D. L. Impact of ATRP Initiator Spacer Length on Grafting Poly(methyl methacrylate) from Silica Nanoparticles. *Langmuir* **2009**, *25* (23), 13351-13360. DOI: 10.1021/la901918v.
- (94) Fu, Y.; Zhang, L.; Huang, L.; Xiao, S.; Chen, F.; Fan, P.; Zhong, M.; Yang, J. Salt- and thermo-responsive polyzwitterionic brush prepared via surface-initiated photoiniferter-mediated polymerization. *Appl Surf Sci* **2018**, *450*, 130-137. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.04.112>.
- (95) Sui, X.; Zapotoczny, S.; Benetti, E. M.; Memesa, M.; Hempenius, M. A.; Vancso, G. J. Grafting mixed responsive brushes of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(methacrylic acid) from gold by selective initiation. *Polymer Chemistry* **2011**, *2* (4), 879-884, 10.1039/C0PY00393J. DOI: 10.1039/C0PY00393J.
- (96) Dubois, L. H.; Nuzzo, R. G. Synthesis, structure, and properties of model organic surfaces. *Annual review of physical chemistry* **1992**, *43* (1), 437-463.
- (97) Canepa, P.; Gonella, G.; Pinto, G.; Grachev, V.; Canepa, M.; Cavalleri, O. Anchoring of Aminophosphonates on Titanium Oxide for Biomolecular Coupling. *The Journal of Physical Chemistry C* **2019**, *123* (27), 16843-16850.
- (98) Spori, D. M.; Venkataraman, N. V.; Tosatti, S. G. P.; Durmaz, F.; Spencer, N. D.; Zürcher, S. Influence of Alkyl Chain Length on Phosphate Self-Assembled Monolayers. *Langmuir* **2007**, *23* (15), 8053-8060. DOI: 10.1021/la700474v.
- (99) Ben Amara, F.; Dionne, E. R.; Kassir, S.; Pellerin, C.; Badia, A. Molecular Origin of the Odd–Even Effect of Macroscopic Properties of n-Alkanethiolate Self-Assembled Monolayers: Bulk or Interface? *Journal of the American Chemical Society* **2020**, *142* (30), 13051-13061. DOI: 10.1021/jacs.0c04288.
- (100) Wong, S.-S.; Takano, H.; Porter, M. D. Mapping Orientation Differences of Terminal Functional Groups by Friction Force Microscopy. *Analytical Chemistry* **1998**, *70* (24), 5209-5212. DOI: 10.1021/ac9807870.
- (101) Yan, J.; Pan, X.; Wang, Z.; Zhang, J.; Matyjaszewski, K. Influence of Spacers in Tetherable Initiators on Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization (SI-ATRP). *Macromolecules* **2016**, *49* (23), 9283-9286. DOI: 10.1021/acs.macromol.6b02273.
- (102) McKenna, C. E.; Higa, M. T.; Cheung, N. H.; McKenna, M.-C. The facile dealkylation of phosphonic acid dialkyl esters by bromotrimethylsilane. *Tetrahedron Lett* **1977**, *18* (2), 155-158. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)92575-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)92575-4).
- (103) Klitsche, F. Darstellung und Untersuchung von Phosphonsäuren zur stabilen Immobilisierung auf pharmazeutisch relevanten Metalloberflächen. Hamburg, Dr. Hut, München, 2017.
- (104) Özkayaalp, R. E. Synthese und Charakterisierung von Phosphonsäuren zur Modifikation von Metalloberflächen. Hamburg, 2020.
- (105) Ramcke, J. Synthese multivalenter Catecholderivate zur Beschichtung von Metalloberflächen. Hamburg, Dr. Hut, München, 2016.
- (106) Wan, X.; Lieberman, I.; Asyuda, A.; Resch, S.; Seim, H.; Kirsch, P.; Zharnikov, M. Thermal Stability of Phosphonic Acid Self-Assembled Monolayers on Alumina Substrates. *The Journal of Physical Chemistry C* **2020**, *124* (4), 2531-2542. DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b10628.

- (107) Schönherr, H.; Ringsdorf, H.; Jaschke, M.; Butt, H. J.; Bamberg, E.; Allinson, H.; Evans, S. D. Self-Assembled Monolayers of Symmetrical and Mixed Alkyl Fluoroalkyl Disulfides on Gold. 2. Investigation of Thermal Stability and Phase Separation. *Langmuir* **1996**, *12* (16), 3898-3904. DOI: 10.1021/la9601420.
- (108) Bhairamadgi, N. S.; Pujari, S. P.; Trovela, F. G.; Debrassi, A.; Khamis, A. A.; Alonso, J. M.; Al Zahrani, A. A.; Wennekes, T.; Al-Turaif, H. A.; van Rijn, C.; et al. Hydrolytic and Thermal Stability of Organic Monolayers on Various Inorganic Substrates. *Langmuir* **2014**, *30* (20), 5829-5839. DOI: 10.1021/la500533f.
- (109) Hoffmann, T.; Friedel, P.; Harnisch, C.; Häußler, L.; Pospiech, D. Investigation of thermal decomposition of phosphonic acids. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **2012**, *96*, 43-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2012.03.001>.
- (110) Jiang, D. D.; Yao, Q.; McKinney, M. A.; Wilkie, C. A. TGA/FTIR studies on the thermal degradation of some polymeric sulfonic and phosphonic acids and their sodium salts. *Polymer Degradation and Stability* **1999**, *63* (3), 423-434. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(98\)00123-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(98)00123-2).
- (111) Guerrero, G.; Mutin, P. H.; Vioux, A. Anchoring of phosphonate and phosphinate coupling molecules on titania particles. *Chem Mater* **2001**, *13* (11), 4367-4373. DOI: 10.1021/cm001253u.
- (112) Tosatti, S.; Michel, R.; Textor, M.; Spencer, N. D. Self-Assembled Monolayers of Dodecyl and Hydroxy-dodecyl Phosphates on Both Smooth and Rough Titanium and Titanium Oxide Surfaces. *Langmuir* **2002**, *18* (9), 3537-3548. DOI: 10.1021/la011459p.
- (113) Szillies, S.; Thissen, P.; Tabatabai, D.; Feil, F.; Fürbeth, W.; Fink, N.; Grundmeier, G. Formation and stability of organic acid monolayers on magnesium alloy AZ31: The role of alkyl chain length and head group chemistry. *Appl Surf Sci* **2013**, *283*, 339-347. DOI: 10.1016/j.apsusc.2013.06.113.
- (114) Demirci, S.; Caykara, T. High density cationic polymer brushes from combined "click chemistry" and RAFT-mediated polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2012**, *50* (15), 2999-3007. DOI: <https://doi.org/10.1002/pola.26087>.
- (115) Randon, J.; Blanc, P.; Paterson, R. Modification of ceramic membrane surfaces using phosphoric acid and alkyl phosphonic acids and its effects on ultrafiltration of BSA protein. *Journal of Membrane Science* **1995**, *98* (1), 119-129. DOI: [https://doi.org/10.1016/0376-7388\(94\)00183-Y](https://doi.org/10.1016/0376-7388(94)00183-Y).
- (116) Schilling, M. L.; Katz, H. E.; Stein, S. M.; Shane, S. F.; Wilson, W. L.; Ungashe, S. B.; Taylor, G. N.; Putvinski, T. M.; Chidsey, C. E. D.; Buratto, S. Structural studies of zirconium alkylphosphonate monolayers and multilayer assemblies. *Langmuir* **1993**, *9* (8), 2156-2160. DOI: 10.1021/la00032a042.
- (117) Zorn, G.; Gotman, I.; Gutmanas, E. Y.; Adadi, R.; Salitra, G.; Sukenik, C. N. Surface Modification of Ti45Nb Alloy with an Alkylphosphonic Acid Self-Assembled Monolayer. *Chem Mater* **2005**, *17* (16), 4218-4226. DOI: 10.1021/cm050477f.
- (118) Allara, D. L.; Parikh, A. N.; Judge, E. The existence of structure progressions and wetting transitions in intermediately disordered monolayer alkyl chain assemblies. *The Journal of Chemical Physics* **1994**, *100* (2), 1761-1764. DOI: 10.1063/1.466604 (accessed 8/29/2023).

- (119) Rani, N.; Chahal, S.; Kumar, P.; Shukla, R.; Singh, S. K. A comparative study on magnesium hydroxide and magnesium oxide nanostructures. *AIP Conference Proceedings* **2019**, *2115* (1). DOI: 10.1063/1.5113002 (accessed 10/24/2023).
- (120) Mahadevaiah, R.; Lalithamba, H. S.; Shekarappa, S.; Hanumanaika, R. Synthesis of N α -protected formamides from amino acids using MgO nano catalyst: Study of molecular docking and antibacterial activity. *Scientia Iranica* **2017**, *24* (6), 3002-3013. DOI: 10.24200/sci.2017.4491.
- (121) Adolphi, B.; Jähne, E.; Busch, G.; Cai, X. Characterization of the adsorption of ω -(thiophene-3-yl alkyl) phosphonic acid on metal oxides with AR-XPS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, *379* (4), 646-652. DOI: 10.1007/s00216-004-2634-x.
- (122) Adden, N.; Gamble, L. J.; Castner, D. G.; Hoffmann, A.; Gross, G.; Menzel, H. Phosphonic acid monolayers for binding of bioactive molecules to titanium surfaces. *Langmuir* **2006**, *22* (19), 8197-8204. DOI: 10.1021/la060754c.
- (123) Jansen, R. J. J.; van Bekkum, H. XPS of nitrogen-containing functional groups on activated carbon. *Carbon* **1995**, *33* (8), 1021-1027. DOI: [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(95\)00030-H](https://doi.org/10.1016/0008-6223(95)00030-H).
- (124) Korrapati, V. K.; Scharnagl, N.; Letzig, D.; Zheludkevich, M. L. Bilayer coatings for temporary and long-term corrosion protection of magnesium-AZ31 alloy. *Prog Org Coat* **2022**, *163*, 106608. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2021.106608>.
- (125) Kobus, M. Synthese und Immobilisierung von potenziell antivirulenten Phosphonsäuren und Alkylphosphonaten auf Magnesium. 2022.
- (126) Grubač, Z.; Metikoš-Huković, M.; Babić, R.; Rončević, I. Š.; Petravić, M.; Peter, R. Functionalization of biodegradable magnesium alloy implants with alkylphosphonate self-assembled films. *Materials Science and Engineering: C* **2013**, *33* (4), 2152-2158.
- (127) Galimberti, M.; Martino, M.; Guenzi, M.; Leonardi, G.; Citterio, A. Thermal stability of ammonium salts as compatibilizers in polymer/layered silicate nanocomposites. *e-Polymers* **2009**, *9* (1). DOI: [doi:10.1515/epoly.2009.9.1.686](https://doi.org/10.1515/epoly.2009.9.1.686) (accessed 2023-07-05).
- (128) Neblea, I. E.; Chiriac, A.-L.; Zaharia, A.; Sarbu, A.; Teodorescu, M.; Miron, A.; Paruch, L.; Paruch, A. M.; Olaru, A. G.; Iordache, T.-V. Introducing Semi-Interpenetrating Networks of Chitosan and Ammonium-Quaternary Polymers for the Effective Removal of Waterborne Pathogens from Wastewaters. *Polymers* **2023**, *15* (5), 1091.
- (129) Jang, B. N.; Wilkie, C. A. The thermal degradation of polystyrene nanocomposite. *Polymer* **2005**, *46* (9), 2933-2942. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.01.098>.
- (130) Ramani, A.; Dahoe, A. E. On the performance and mechanism of brominated and halogen free flame retardants in formulations of glass fibre reinforced poly(butylene terephthalate). *Polymer Degradation and Stability* **2014**, *104*, 71-86. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2014.03.021.
- (131) Lalani, R.; Liu, L. Synthesis, characterization, and electrospinning of zwitterionic poly(sulfobetaine methacrylate). *Polymer* **2011**, *52* (23), 5344-5354. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2011.09.015>.
- (132) Campos, C. H.; Urbano, B. F.; Rivas, B. L. Hybrid composites from poly[(4-vinylbenzyl)trimethylammonium chloride]-metal oxide using simultaneous radical

polymerization/sol-gel synthesis. *Materials Letters* **2014**, *131*, 198-202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.05.161>.

(133) Azzaroni, O.; Brown, A. A.; Huck, W. T. S. Tunable Wettability by Clicking Counterions Into Polyelectrolyte Brushes. *Advanced Materials* **2007**, *19* (1), 151-154. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.200601257>.

(134) Cheng, Z.; Zhu, X.; Shi, Z.; Neoh, K.; Kang, E. Polymer microspheres with permanent antibacterial surface from surface-initiated atom transfer radical polymerization. *Industrial & engineering chemistry research* **2005**, *44* (18), 7098-7104.

(135) Blanchard, A. B.; Mon, H. H.; Wang, Y.; Chapple, A.; Dupree, P.; Ballard, R.; Armbruster, P.; Xu, X. Formulation and characterization of experimental orthodontic adhesive containing antibacterial dimethacrylate DABCO monomers: An in vitro study. *International Orthodontics* **2022**, *20* (4), 100706. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ortho.2022.100706>.

(136) Arendsen, L. P.; Thakar, R.; Sultan, A. H. The Use of Copper as an Antimicrobial Agent in Health Care, Including Obstetrics and Gynecology. *Clinical Microbiology Reviews* **2019**, *32* (4), 10.1128/cmr.00125-00118. DOI: [doi:10.1128/cmr.00125-18](https://doi.org/10.1128/cmr.00125-18).

(137) van de Lagemaat, M.; Grotenhuis, A.; van de Belt-Gritter, B.; Roest, S.; Loontjens, T. J. A.; Busscher, H. J.; van der Mei, H. C.; Ren, Y. Comparison of methods to evaluate bacterial contact-killing materials. *Acta Biomater* **2017**, *59*, 139-147. DOI: [10.1016/j.actbio.2017.06.042](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.06.042).

(138) Kelly, A. M.; Kaltenhauser, V.; Mühlbacher, I.; Rametsteiner, K.; Kren, H.; Slugovc, C.; Stelzer, F.; Wiesbrock, F. Poly(2-oxazoline)-derived Contact Biocides: Contributions to the Understanding of Antimicrobial Activity. *Macromolecular Bioscience* **2013**, *13* (1), 116-125. DOI: <https://doi.org/10.1002/mabi.201200240>.

(139) Obłąk, E.; Futoma-Kołoch, B.; Wiczyńska, A. Biological activity of quaternary ammonium salts and resistance of microorganisms to these compounds. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2021**, *37* (2), 22. DOI: [10.1007/s11274-020-02978-0](https://doi.org/10.1007/s11274-020-02978-0).

(140) Schwegmann, H.; Feitz, A. J.; Frimmel, F. H. Influence of the zeta potential on the sorption and toxicity of iron oxide nanoparticles on *S. cerevisiae* and *E. coli*. *Journal of Colloid and Interface Science* **2010**, *347* (1), 43-48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.02.028>.

(141) Zhang, C.; Jiang, Y.; Ju, H.; Wang, Y.; Geng, T. "Organic counterion" modified quaternary ammonium salt: Impact on antibacterial activity & application properties. *Journal of Molecular Liquids* **2017**, *241*, 638-645. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.06.062>.

(142) Burmeister, N. Charged Polymer Brushes: Design, Synthesis and Microbiological Evaluation. Hamburg, 2024.

(143) Burmeister, N.; Vollstedt, C.; Kröger, C.; Friedrich, T.; Scharnagl, N.; Rohnke, M.; Zorn, E.; Wicha, S. G.; Streit, W. R.; Maison, W. Zwitterionic surface modification of polyethylene via atmospheric plasma-induced polymerization of (vinylbenzyl-) sulfobetaine and evaluation of antifouling properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2023**, *224*, 113195.

(144) Burmeister, N.; Zorn, E.; Preuss, L.; Timm, D.; Scharnagl, N.; Rohnke, M.; Wicha, S. G.; Streit, W. R.; Maison, W. Low-Fouling and Antibacterial Polymer Brushes via Surface-Initiated Polymerization of a Mixed Zwitterionic and Cationic Monomer. *Langmuir* **2023**. DOI: [10.1021/acs.langmuir.3c02657](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c02657).

- (145) Yuan, S.; Pehkonen, S.; Ting, Y.; Neoh, K.; Kang, E. Antibacterial inorganic– organic hybrid coatings on stainless steel via consecutive surface-initiated atom transfer radical polymerization for biocorrosion prevention. *Langmuir* **2010**, *26* (9), 6728-6736.
- (146) Pfaffenroth, C.; Winkel, A.; Dempwolf, W.; Gamble, L. J.; Castner, D. G.; Stiesch, M.; Menzel, H. Self-Assembled Antimicrobial and Biocompatible Copolymer Films on Titanium. *Macromolecular Bioscience* **2011**, *11* (11), 1515-1525. DOI: <https://doi.org/10.1002/mabi.201100124>.
- (147) Zhang, F.; Shi, Z. L.; Chua, P. H.; Kang, E. T.; Neoh, K. G. Functionalization of titanium surfaces via controlled living radical polymerization: From antibacterial surface to surface for osteoblast adhesion. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2007**, *46* (26), 9077-9086. DOI: 10.1021/ie070795j.
- (148) Menschutkin, N. Über die Affinitätskoeffizienten der Alkylhaloide und der Amine: Zweiter Teil. Über den Einfluss des chemisch indifferenten flüssigen Mediums auf die Geschwindigkeit der Verbindung des Triäthylamins mit den Alkyljodiden. *Zeitschrift für Physikalische Chemie* **1890**, *6* (1), 41-57.
- (149) Zhang, K.; Drummey, K. J.; Moon, N. G.; Chiang, W. D.; Long, T. E. Styrenic DABCO salt-containing monomers for the synthesis of novel charged polymers. *Polymer Chemistry* **2016**, *7* (20), 3370-3374. DOI: 10.1039/c6py00426a.
- (150) Barthelemy, B.; Maheux, S.; Devillers, S.; Kanoufi, F.; Combellas, C.; Delhalle, J.; Mekhalif, Z. Synergistic effect on corrosion resistance of Phynox substrates grafted with surface-initiated ATRP (co)polymerization of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). *ACS Appl Mater Interfaces* **2014**, *6* (13), 10060-10071. DOI: 10.1021/am500725d.
- (151) Martins, L. R.; Catone Soares, L.; Alves Gurgel, L. V.; Gil, L. F. Use of a new zwitterionic cellulose derivative for removal of crystal violet and orange II from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials* **2022**, *424*, 127401. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127401>.
- (152) Cheng, N.; Brown, A. A.; Azzaroni, O.; Huck, W. T. S. Thickness-Dependent Properties of Polyzwitterionic Brushes. *Macromolecules* **2008**, *41* (17), 6317-6321. DOI: 10.1021/ma800625y.
- (153) Zhang, Z.; Chao, T.; Chen, S.; Jiang, S. Superlow fouling sulfobetaine and carboxybetaine polymers on glass slides. *Langmuir* **2006**, *22* (24), 10072-10077.
- (154) Shan, B.; Yan, H.; Shen, J.; Lin, S. Ozone-induced grafting of a sulfoammonium zwitterionic polymer onto low-density polyethylene film for improving hemocompatibility. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *101* (6), 3697-3703. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.20860>.
- (155) Zangi, R.; Engberts, J. B. F. N. Physisorption of Hydroxide Ions from Aqueous Solution to a Hydrophobic Surface. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (7), 2272-2276. DOI: 10.1021/ja044426f.
- (156) Estephan, Z. G.; Jaber, J. A.; Schlenoff, J. B. Zwitterion-Stabilized Silica Nanoparticles: Toward Nonstick Nano. *Langmuir* **2010**, *26* (22), 16884-16889. DOI: 10.1021/la103095d.








- (157) Ahmadloo, H.; Losada, R.; Wandrey, C. Effect of Very High Charge Density and Monomer Constitution on the Synthesis and Properties of Cationic Polyelectrolytes. *Polymers (Basel)* **2016**, *8* (6). DOI: 10.3390/polym8060234 From NLM PubMed-not-MEDLINE.
- (158) O'Neil, G. A.; Wisnudel, M. B.; Torkelson, J. M. An Evaluation of Free Volume Approaches to Describe the Gel Effect in Free Radical Polymerization. *Macromolecules* **1998**, *31* (14), 4537-4545. DOI: 10.1021/ma9713670.
- (159) Suleimenov, I. E.; Rustemova, E. M.; Bekturov, E. A. Mechanisms of viscosity of polyacids and polybases in the region of pronounced polyelectrolyte effect. *Polymer Science Series A* **2007**, *49* (3), 320-327. DOI: 10.1134/S0965545X07030133.
- (160) de Kock, J. B. L.; Van Herk, A. M.; German, A. L. Bimolecular Free-Radical Termination at Low Conversion. *Journal of Macromolecular Science, Part C* **2001**, *41* (3), 199-252. DOI: 10.1081/MC-100107776.
- (161) Bruinsma, G. M.; van der Mei, H. C.; Busscher, H. J. Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials* **2001**, *22* (24), 3217-3224. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00159-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00159-4).
- (162) Benetti, E. M.; Reimhult, E.; de Bruin, J.; Zapotoczny, S.; Textor, M.; Vancso, G. J. Poly(methacrylic acid) Grafts Grown from Designer Surfaces: The Effect of Initiator Coverage on Polymerization Kinetics, Morphology, and Properties. *Macromolecules* **2009**, *42* (5), 1640-1647. DOI: 10.1021/ma8014678.
- (163) Krause, J. E.; Brault, N. D.; Li, Y.; Xue, H.; Zhou, Y.; Jiang, S. Photoiniferter-Mediated Polymerization of Zwitterionic Carboxybetaine Monomers for Low-Fouling and Functionalizable Surface Coatings. *Macromolecules* **2011**, *44* (23), 9213-9220. DOI: 10.1021/ma202007h.
- (164) Liu, Q.; Singh, A.; Liu, L. Amino Acid-Based Zwitterionic Poly(serine methacrylate) as an Antifouling Material. *Biomacromolecules* **2013**, *14* (1), 226-231. DOI: 10.1021/bm301646y.
- (165) Ali, A. M. I.; Mayes, A. G. Preparation of Polymeric Core-Shell and Multilayer Nanoparticles: Surface-Initiated Polymerization Using in Situ Synthesized Photoiniferters. *Macromolecules* **2010**, *43* (2), 837-844. DOI: 10.1021/ma9019812.
- (166) de Boer, B.; Simon, H. K.; Werts, M. P. L.; van der Vegte, E. W.; Hadziioannou, G. "Living" Free Radical Photopolymerization Initiated from Surface-Grafted Iniferter Monolayers. *Macromolecules* **2000**, *33* (2), 349-356. DOI: 10.1021/ma9910944.
- (167) Prasad, B. B.; Srivastava, A.; Tiwari, M. P. Highly selective and sensitive analysis of dopamine by molecularly imprinted stir bar sorptive extraction technique coupled with complementary molecularly imprinted polymer sensor. *Journal of Colloid and Interface Science* **2013**, *396*, 234-241. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.12.073>.
- (168) Rahane, S. B.; Kilbey, S. M.; Metters, A. T. Kinetics of Surface-Initiated Photoiniferter-Mediated Photopolymerization. *Macromolecules* **2005**, *38* (20), 8202-8210. DOI: 10.1021/ma0509661.
- (169) Chen, S.-H.; Fukazawa, K.; Inoue, Y.; Ishihara, K. Photoinduced Surface Zwitterionization for Antifouling of Porous Polymer Substrates. *Langmuir* **2019**, *35* (5), 1312-1319. DOI: 10.1021/acs.langmuir.8b01089.










- (170) Michaelis, A.; Kaehne, R. Ueber das Verhalten der Jodalkyle gegen die sogen. Phosphorigsäureester oder O-Phosphine. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1898**, 31 (1), 1048-1055.
- (171) AEJ, A. Michaelis-Arbuzov reaction. *J Russ Phys Chem Soc* **1906**, 38, 687.
- (172) Bigge, C. F.; Johnson, G.; Ortwine, D. F.; Drummond, J. T.; Retz, D. M.; Brahce, L. J.; Coughenour, L. L.; Marcoux, F. W.; Probert Jr, A. W. Exploration of N-phosphonoalkyl-, N-phosphonoalkenyl-, and N-(phosphonoalkyl) phenyl-spaced. alpha.-amino acids as competitive N-methyl-D-aspartic acid antagonists. *Journal of medicinal chemistry* **1992**, 35 (8), 1371-1384.
- (173) Yee Low, H.; Ishida, H. Structural effects of phenols on the thermal and thermo-oxidative degradation of polybenzoxazines. *Polymer* **1999**, 40 (15), 4365-4376. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(98\)00656-9](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(98)00656-9).
- (174) Albini, A.; Alpegiani, M. The photochemistry of the N-oxide function. *Chemical Reviews* **1984**, 84 (1), 43-71. DOI: 10.1021/cr00059a004.
- (175) Konkin, A.; Wendler, F.; Meister, F.; Roth, H.-K.; Aganov, A.; Ambacher, O. Degradation processes in the cellulose/N-methylmorpholine-N-oxide system studied by HPLC and ESR. Radical formation/recombination kinetics under UV photolysis at 77 K. *Cellulose* **2007**, 14 (5), 457-468. DOI: 10.1007/s10570-007-9140-1.
- (176) Dobrzanska, D. A.; Cooper, A. L.; Dowson, C. G.; Evans, S. D.; Fox, D. J.; Johnson, B. R.; Biggs, C. I.; Randev, R. K.; Stec, H. M.; Taylor, P. C.; et al. Oxidation of tertiary amine-derivatized surfaces to control protein adhesion. *Langmuir* **2013**, 29 (9), 2961-2970. DOI: 10.1021/la4003719 From NLM Medline.
- (177) Gao, W.; Dickinson, L.; Grozinger, C.; Morin, F. G.; Reven, L. Self-Assembled Monolayers of Alkylphosphonic Acids on Metal Oxides. *Langmuir* **1996**, 12 (26), 6429-6435. DOI: 10.1021/la9607621.
- (178) Fan, X.; Lin, L.; Dalsin, J. L.; Messersmith, P. B. Biomimetic anchor for surface-initiated polymerization from metal substrates. *J Am Chem Soc* **2005**, 127 (45), 15843-15847. DOI: 10.1021/ja0532638.
- (179) GESTIS-Stoffdatenbank. (accessed 20.02.2024).










8. Anhang











8.1 Gefahrstoffverzeichnis



Tabelle 22 verwendete Gefahrstoffe und ihre Einstufung und Kennzeichnung nach GHS gemäß CLP-Verordnung (Piktogramme, H- und P-Sätze).¹⁷⁹

Substanz	GHS- Gefahrstoff- kennzeichnung	H Sätze	P Sätze
1,3-Propanesulton		H301, H312, H315, H318, H350	P201, P202, P280, P301+P310, P302+P352+P312, P305+P351+P338
Acetonitril		H225, H302+H312+H332, H319	P210, P280, P301+P312, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338
Aceton		H225, H319, H336, EUH066	P210, P240, P305+P351+P338, P403+P233
α -Brom- isobutyrylbromid		H314	P280, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P363, P405
Bromtrimethylsilan		H226, H314, H335, H410 EUH014	P210, P233, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338
Cetyltrimethyl- ammoniumchlorid		H302, H311, H314, H410	P280, P301+P330+P331, P305+P351+P338, P310
4-(Chlormethyl)- benzoylchlorid		H314, H335	P261, P271, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338

Substanz	GHS-Gefahrstoffkennzeichnung	H Sätze	P Sätze
1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan		H228, H302, H315, H318	P210, P240, P280, P301+P312, P302, P305+P351+P338
1,4-Dibrombutan		H315, H319	P264, P280, P302+P352, P305+P351+P338, P332+P313, P373+P313
1,6-Dibromhexan		H302, H317, H411	P261, P280, P301+P312, P302+P352, P333+P313, P501
1,8-Dibromoctan		H315, H319, H335	P261, P280, P305+P351+P338, P304+P340, P405, P501
α,α' -Dibrom-p-xylene		H290, H330, H314	P260, P284, P301+P330+P331+P310, P303+P361+P353+ P310 P363, P304+P340, P305+P351+P338+P310
Dichlormethan		H315, H319, H336, H351	P201, P302+P352, P305+P351+P338, P308+P313
N,N-Dimethylformamid		H226, H312+H332, H319, H360D	P201, P210, P302+P352, P305+P351+P338, P308+P313
Essigsäure		H226, H314	P210, P233, P240, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338
Ethanol		H225, H319	P210, P233, P240, P241, P242, P305+P351+P338
Ethylacetat		H225, H319, H336, EUH066	P210, P233, P240, P305+P351, P338, P403+P235

Substanz	GHS- Gefahrstoff- kennzeichnung	H Sätze	P Sätze
Kristallviolett		H302, H318, H351, H410	P202, P273, P280, P301+P312, P305+P351+P338, P308+P313
Kupfer-(I)-bromid		HZ302+H312, H315, H318, H410	P264, P273, P280, P301+P312, P302+P352+P312, P305+P351+P338
Isopropylalkohol		H225, H319, H336	P210, P240, P305+P351+P338, P403+P233
Methanol		H225, H301+H311+H331, H370	P210, P233, P280, P301+P310, P303+P361+P353, P304+P340+P311
Molybdato- phosphorsäure		H272, H314	P210, P220, P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338
Natriumazid		H300+H310+H330, H410, EUH032	P262, P273, P280, P301+P310+P330, P302+P352+P310, P304+P340+P310
Natrium- dodecylsulfat		H228, H302+H332, H315, H318, H335, H412	P210, P261, P280, P301+P312+P330, P305+P351+P338+P310, P370+P378
Natriumhydroxid		H290, H314	P280, P301+P330+P331, P305+P351+P338, P308+P310
Natriumdiethyl- dithiocarbamat		H302, H315, H319, H335, H400	P261, P270, P273, P280, P305+P351+P338, P310

Substanz	GHS- Gefahrstoff- kennzeichnung	H Sätze	P Sätze
<i>N,N,N',N',N''</i> - Pentamethyl- diethylentriamin		H302, H311, H314	P280, P301+P312+P330, P303+P361+P353, P305+P351+P338+P310
Pentan	 	H225, H304, H336, H411, EUH066	P210, P273, P301+P310+P331
Salzsäure		H290, H314, H335	P280, P303+P361+P353, P303+P361+P353, P350+P351, P310
Schwefelsäure		H290, H314	P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P305+P351+P310
Tetrahydrofuran		H225, H302, H319, H335, H336, H351, EUH019	P210, P280, P301+P312+P330, 305+P351, P338, P370+P378, P403+P235
Triethylamin		H225, H302, H311+H331, H314, H335	P210, P280, P301+P312, P303+P361+P353, P304+P340+P311, P305+P351+P338+P310
Triethylphosphit		H226, H302, H317, H412	P210, P233, P273, P280, P301+P312, P303+P361+P353
Triphenylphosphin		H302, H317, H318, H372	P260, P280, P301+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P314
Toluol		H225, H315, H361d, H336, H373 H304, H412	P202, P210, P273, P301+P310, P303+P361+P353, P331

Substanz	GHS- Gefahrstoff- kennzeichnung	H Sätze	P Sätze
4-Vinylbenzylchlorid		H302, H311, H314, H317	P261, P270, P280, P301+P312, P303+P361+P353, P305+P351+P338
Wasserstoffperoxid 30%		H272, H302, H332, H318	P220, P261, P280, P305+P351+P338

8.2 Zusätzliche XPS Spektren

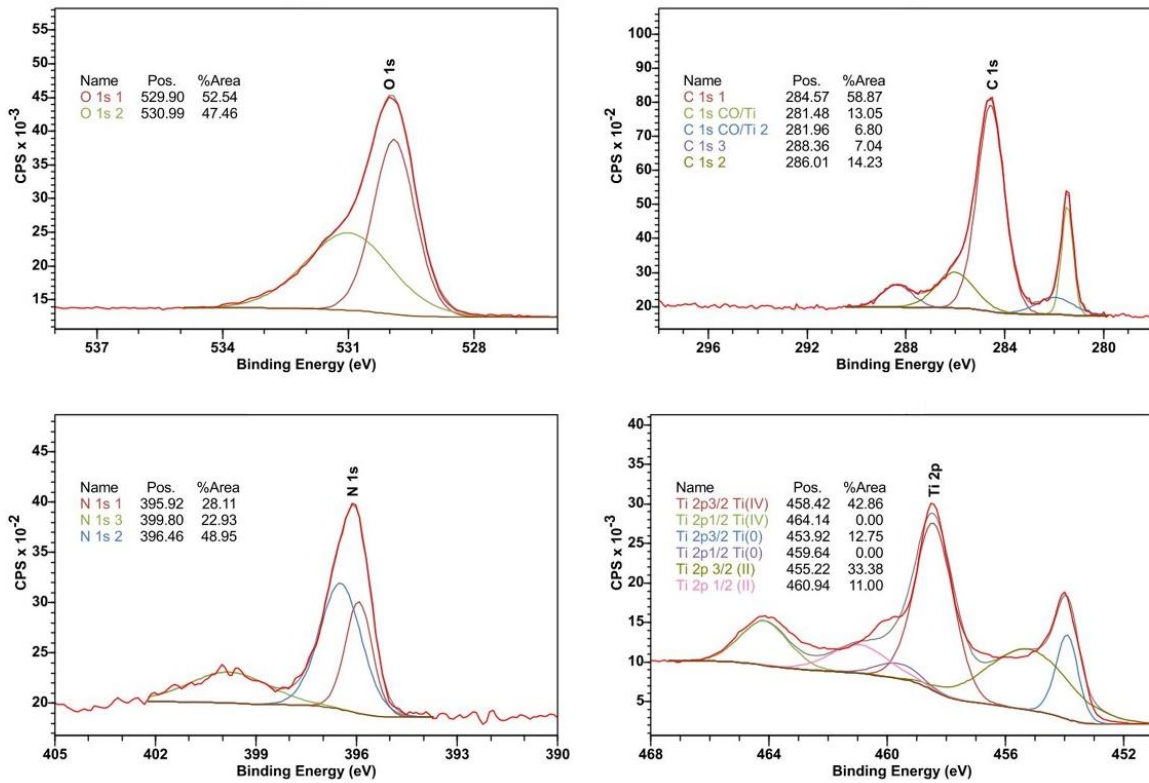


Abbildung 46: Ergebnisse der XPS Analyse eine gereinigten Titanträgers (Titan ctrl), hochaufgelöste Spektren für das O 1s, C 1s, N 1s und Ti 2p Orbital.

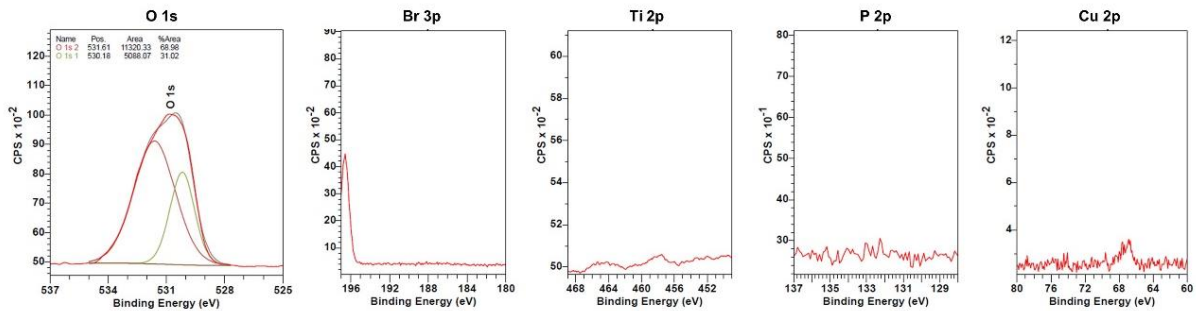


Abbildung 47: XPS Ergebnisse für Ti-AHPA-p-(VBTAC), hochaufgelöste Spektren für O 1s, Br 3p, Ti 2p, P 2p und Cu 2p.

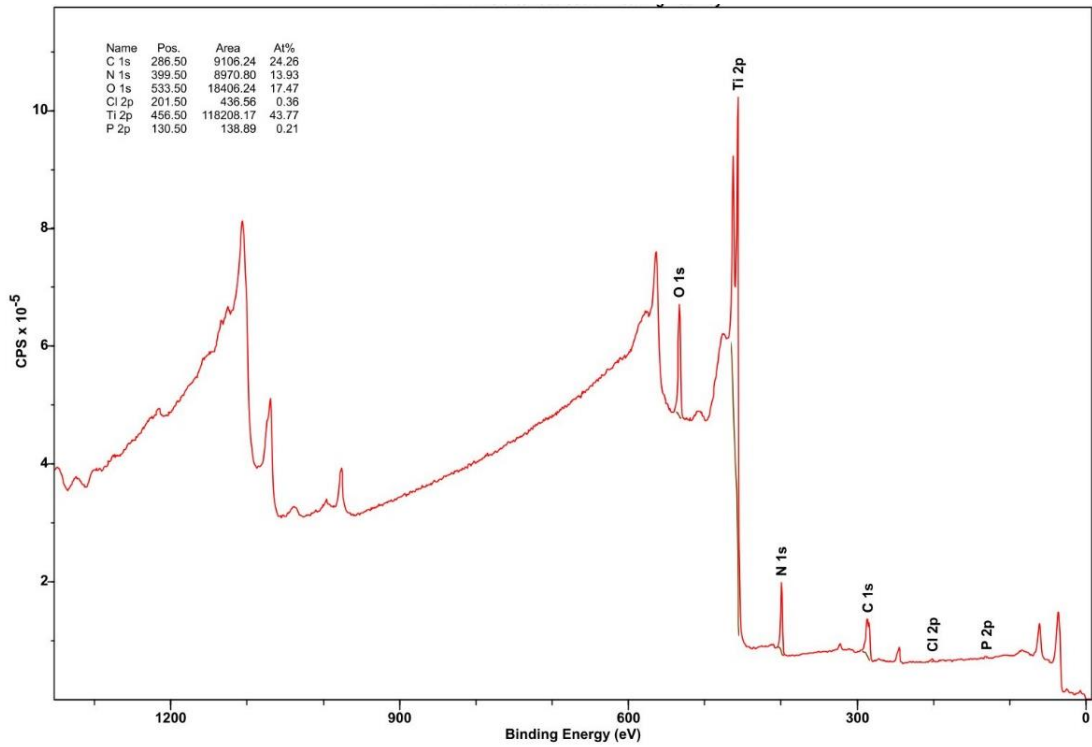


Abbildung 48: XPS Übersichtsspektrum für Ti-AHPA-p-(VBTAC) nach Argon Ätzen (8 nm/min) für 5 min.

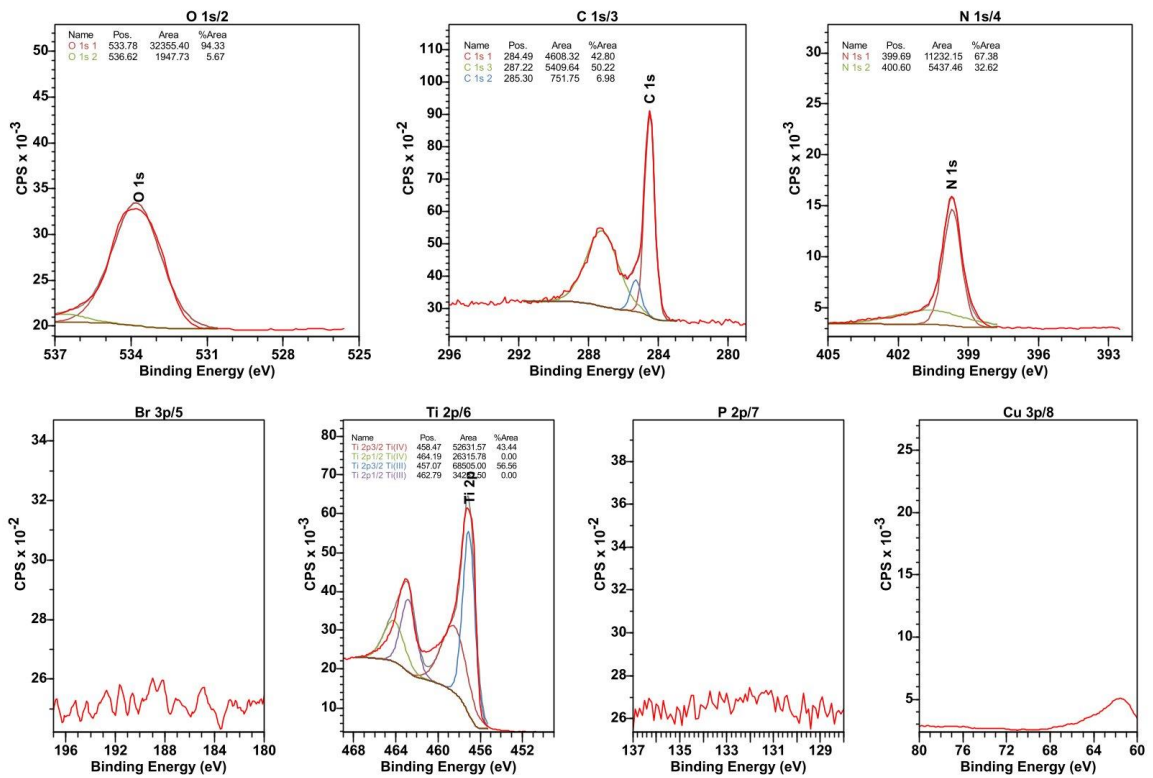


Abbildung 49: XPS Ergebnisse für Ti-AHPA-p-(VBTAC) nach Argon Ätzen (8 nm/min) für 5 min, hochaufgelöste Spektren für O 1s, C 1s, N 1s, Br 3p, Ti 2p, P 2p und Cu 3p.

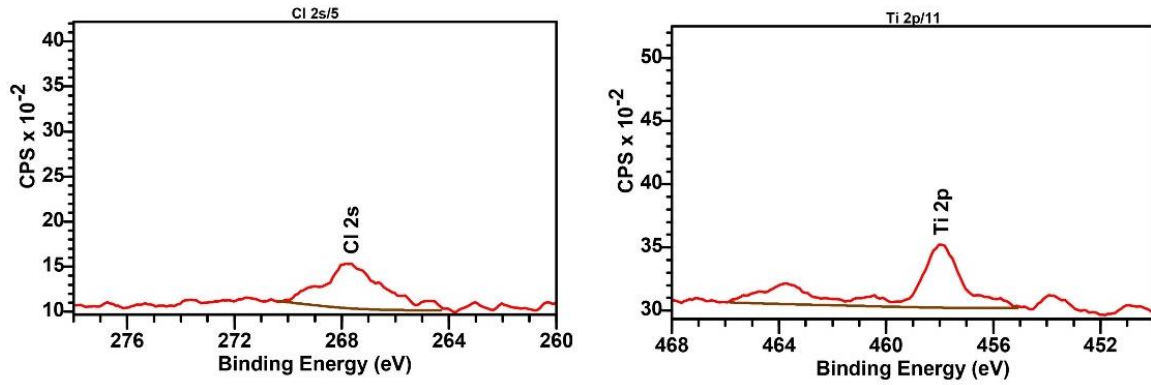


Abbildung 50: XPS Ergebnisse für Ti-p-(VBDSB), hochaufgelöste Spektren für Cl 2s und Ti 2p.

8.3 Zusätzliche FT-IR Spektren

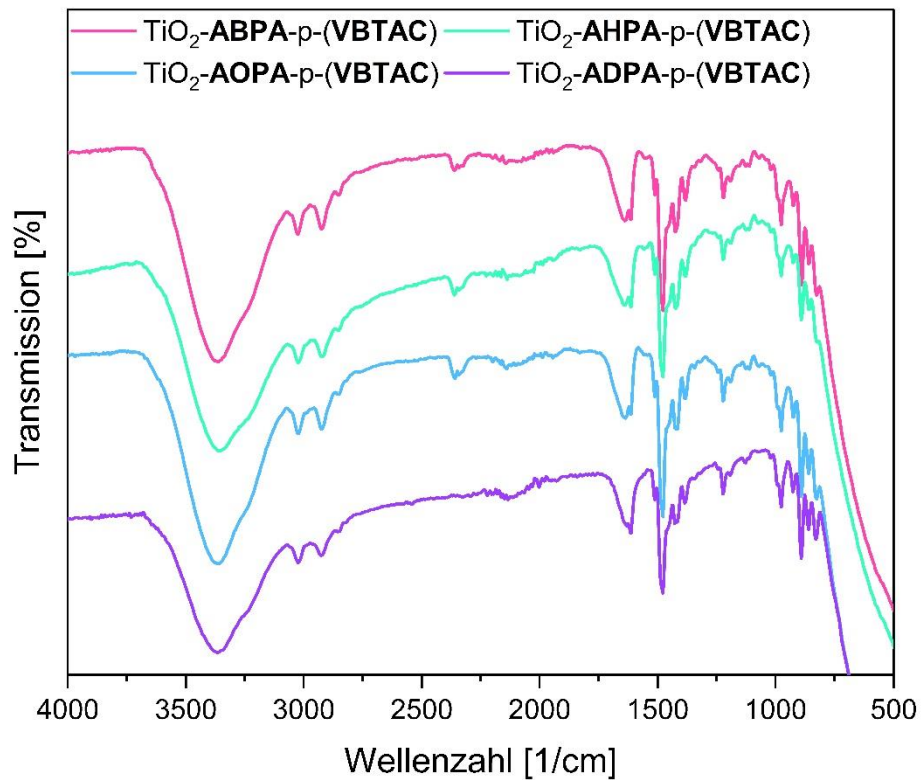


Abbildung 51: FT-IR Spektren von TiO₂-ABPA-p-(VBTAC), TiO₂-AHPA-p-(VBTAC), TiO₂-AOPA-p-(VBTAC) und TiO₂-ADPA-p-(VBTAC).

8.4 NMR Spektren

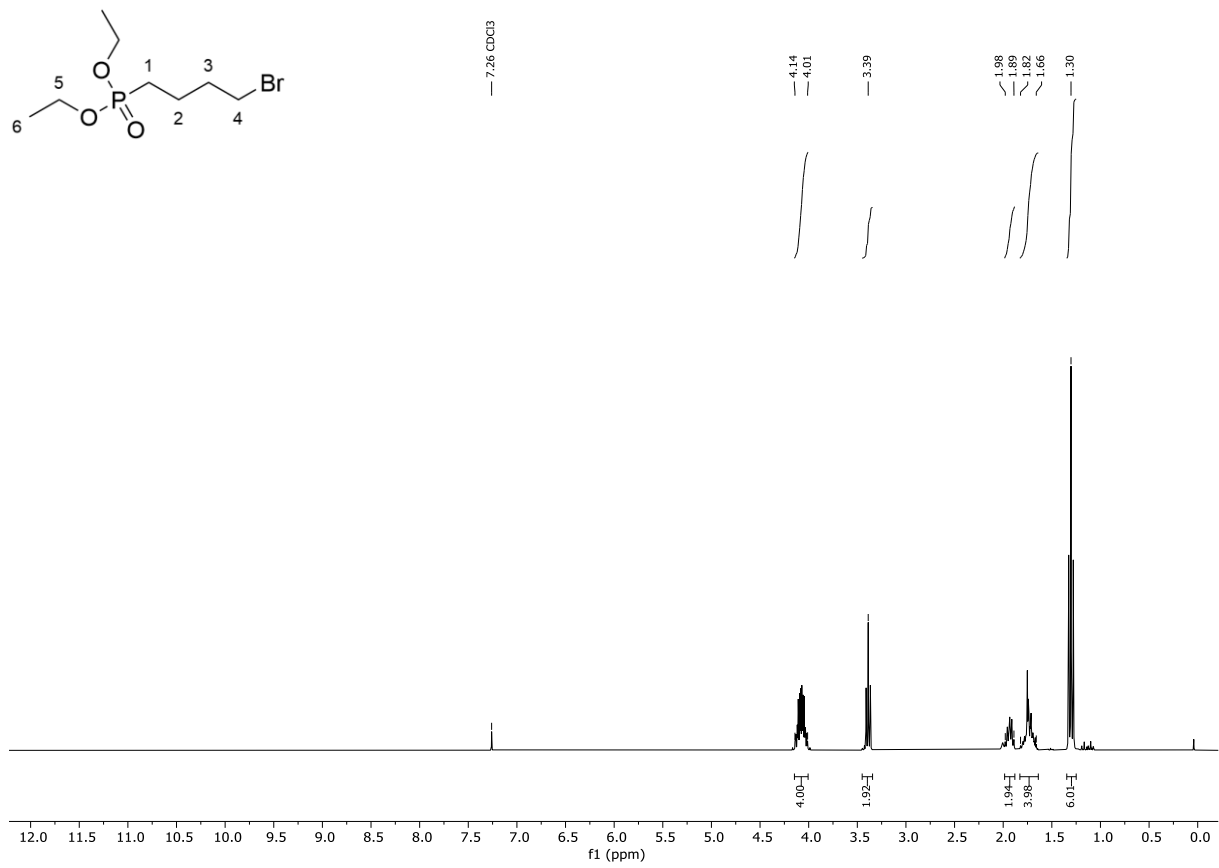


Abbildung 52: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromobutyl)phosphonsäure **4a**.

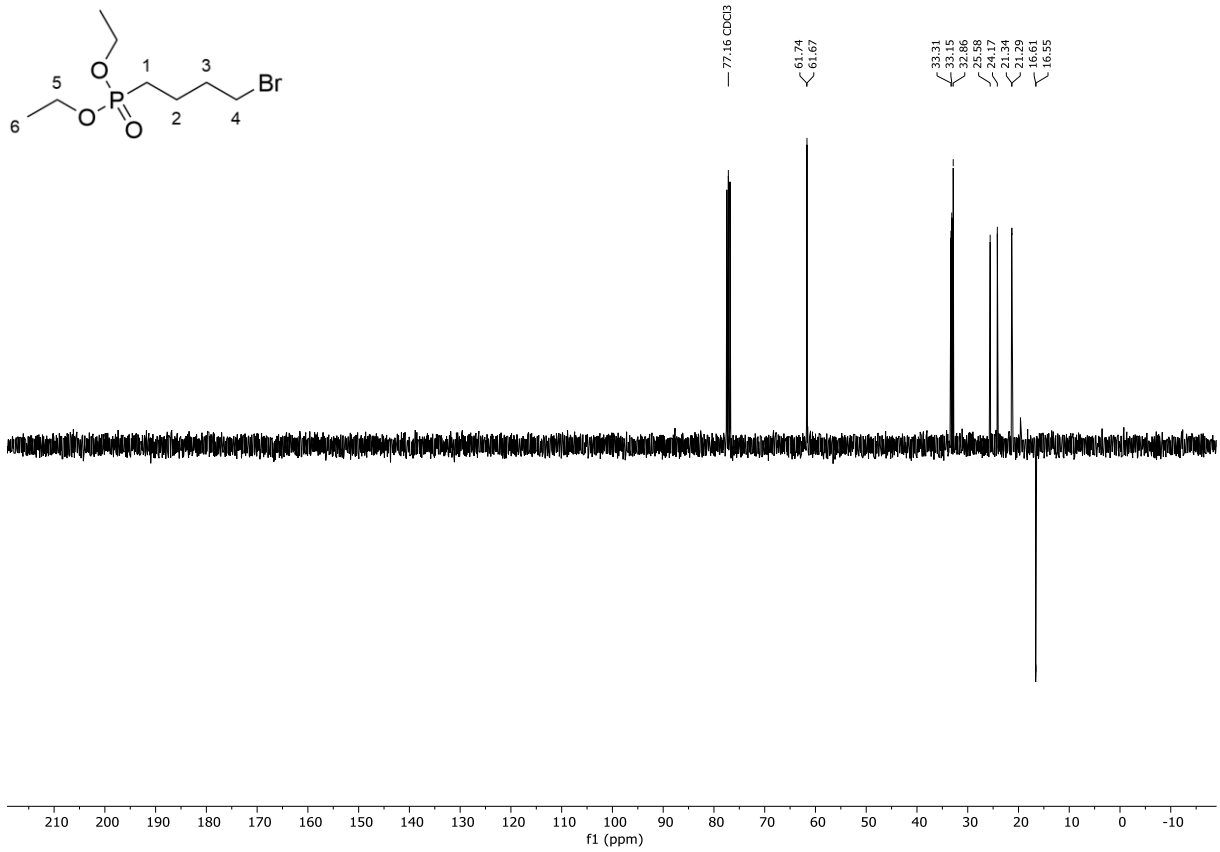


Abbildung 53: ^{13}C -NMR (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromobutyl))phosphonsäure **4a**.

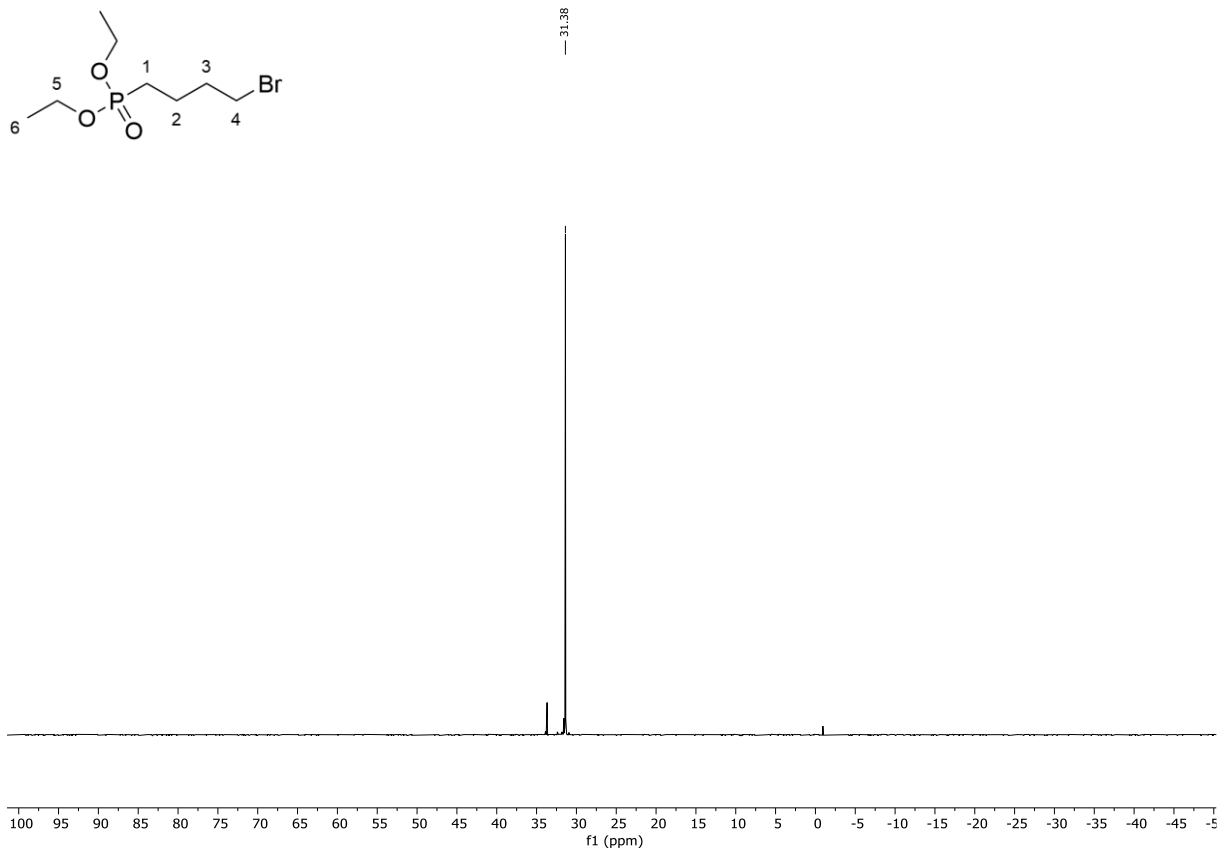


Abbildung 54: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromobutyl))phosphonsäure **4a**.

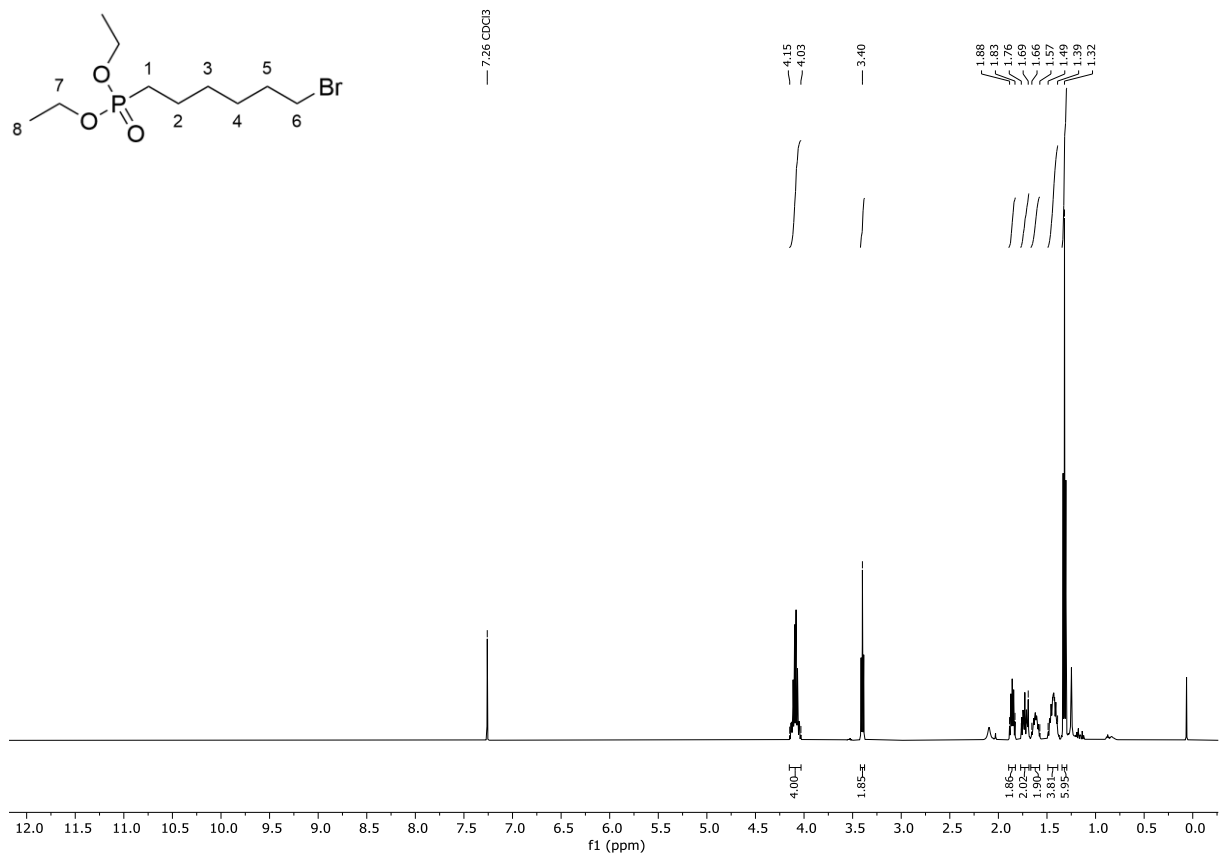


Abbildung 55: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromohexyl)phosphonsäure **4b**.

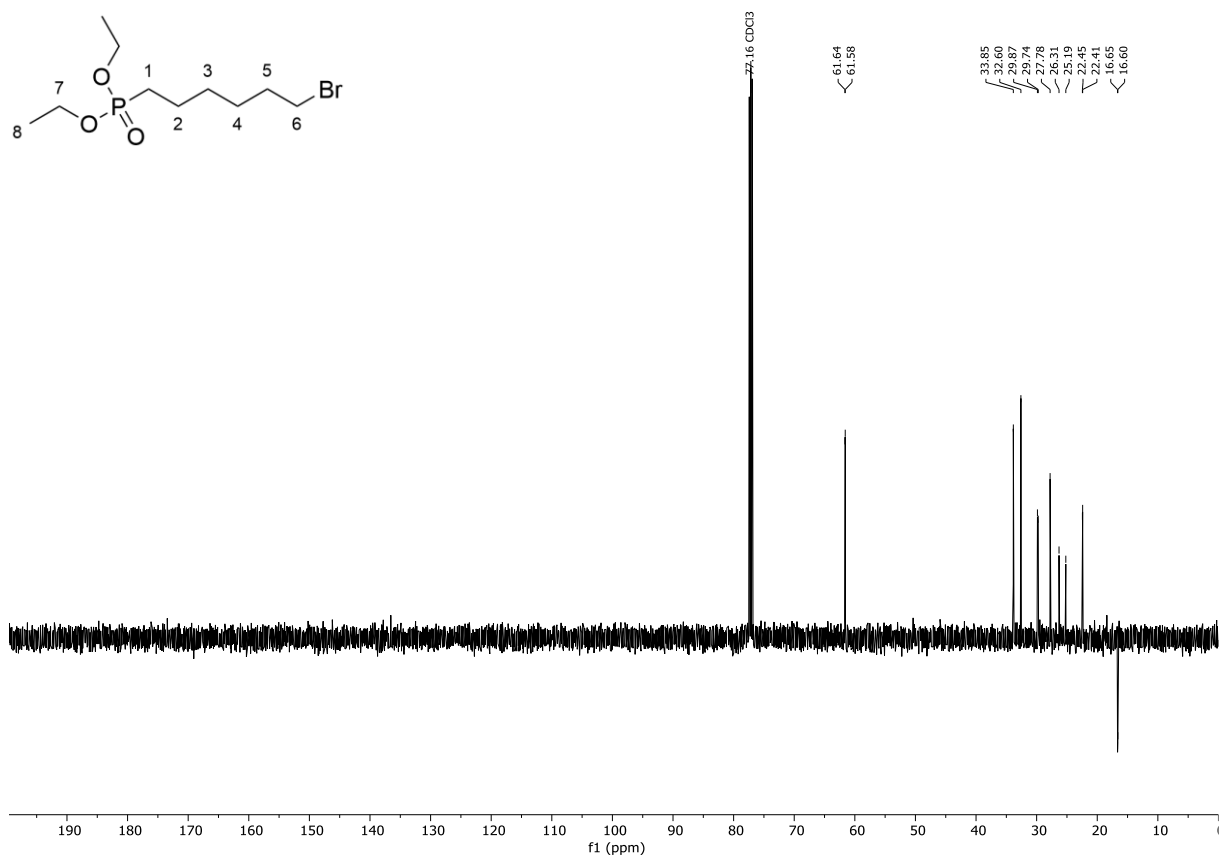


Abbildung 56: $^{13}\text{C-NMR}$ (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromohexyl)phosphonsäure **4b**.

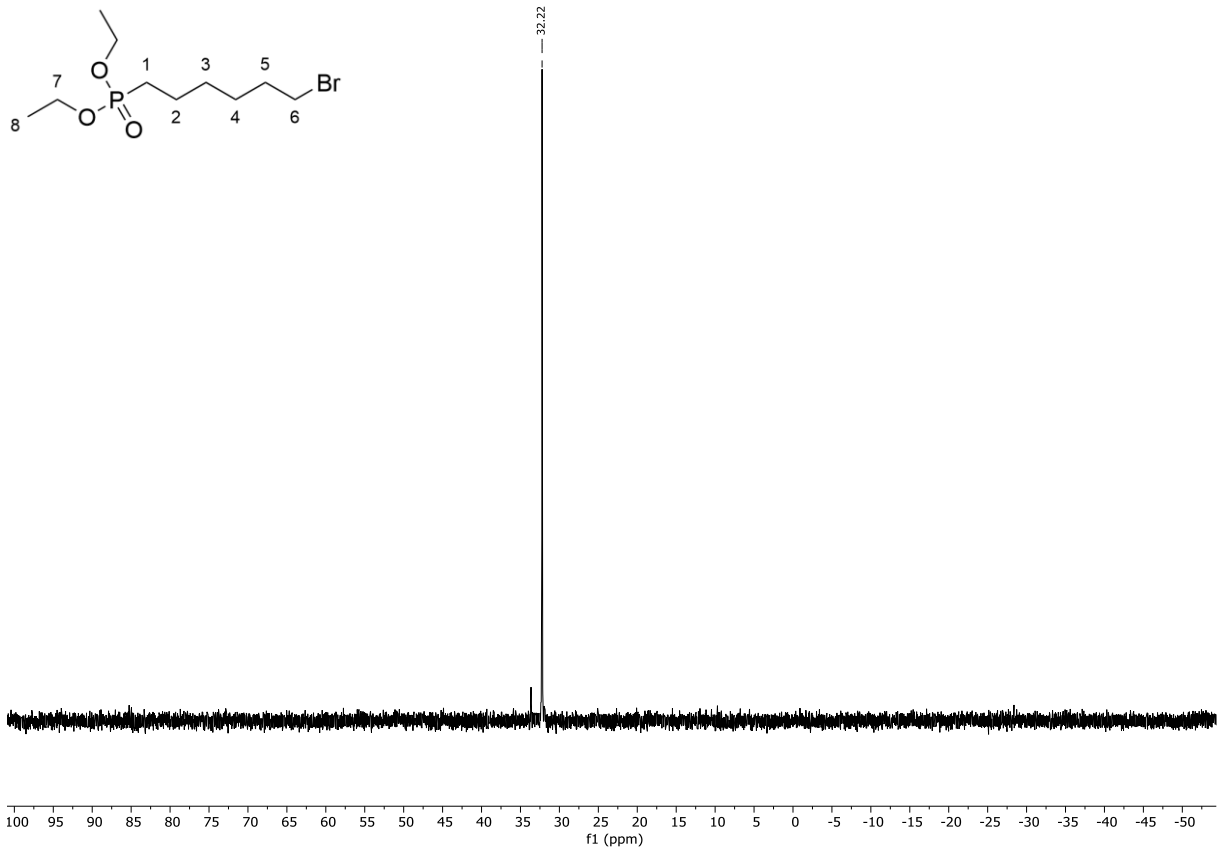


Abbildung 57: ^{31}P -NMR $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromohexyl)phosphonsäure **4b**.

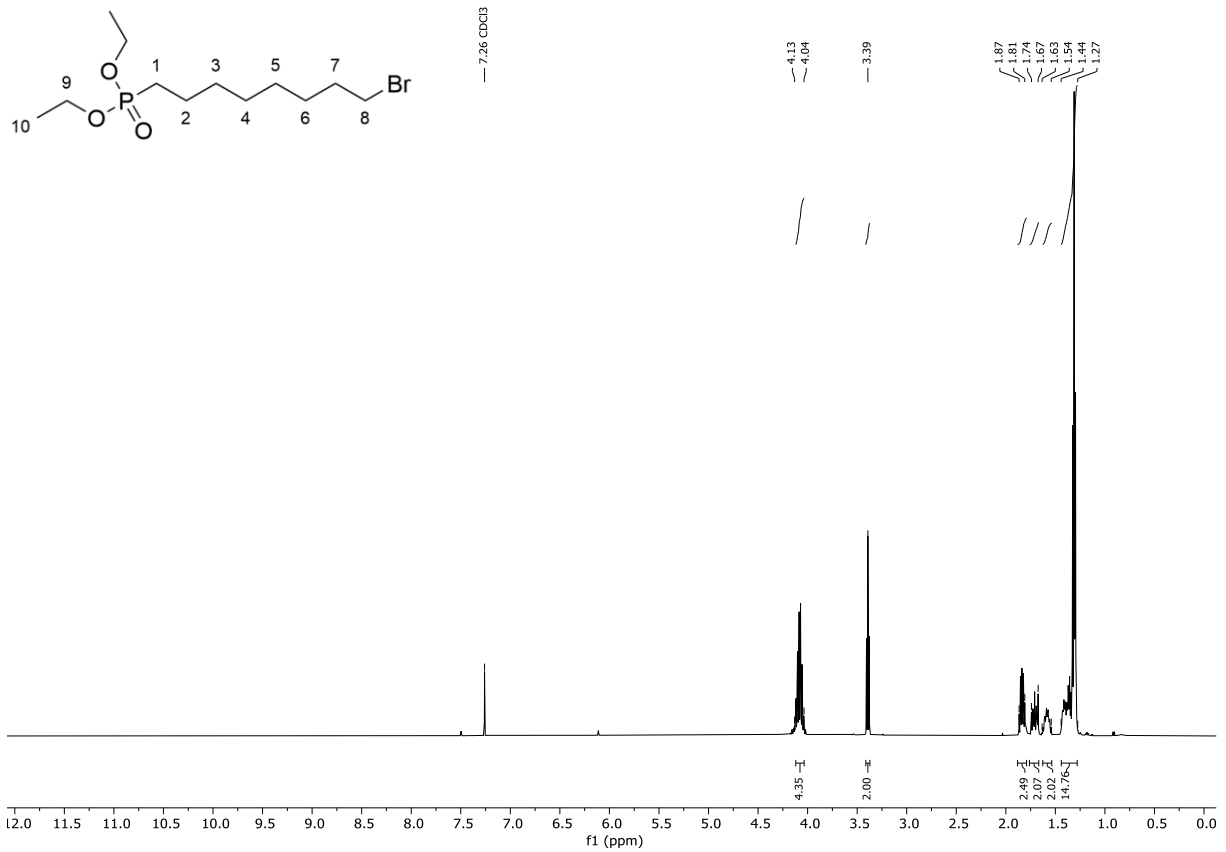


Abbildung 58: ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromooctyl)phosphonsäure **4c**.

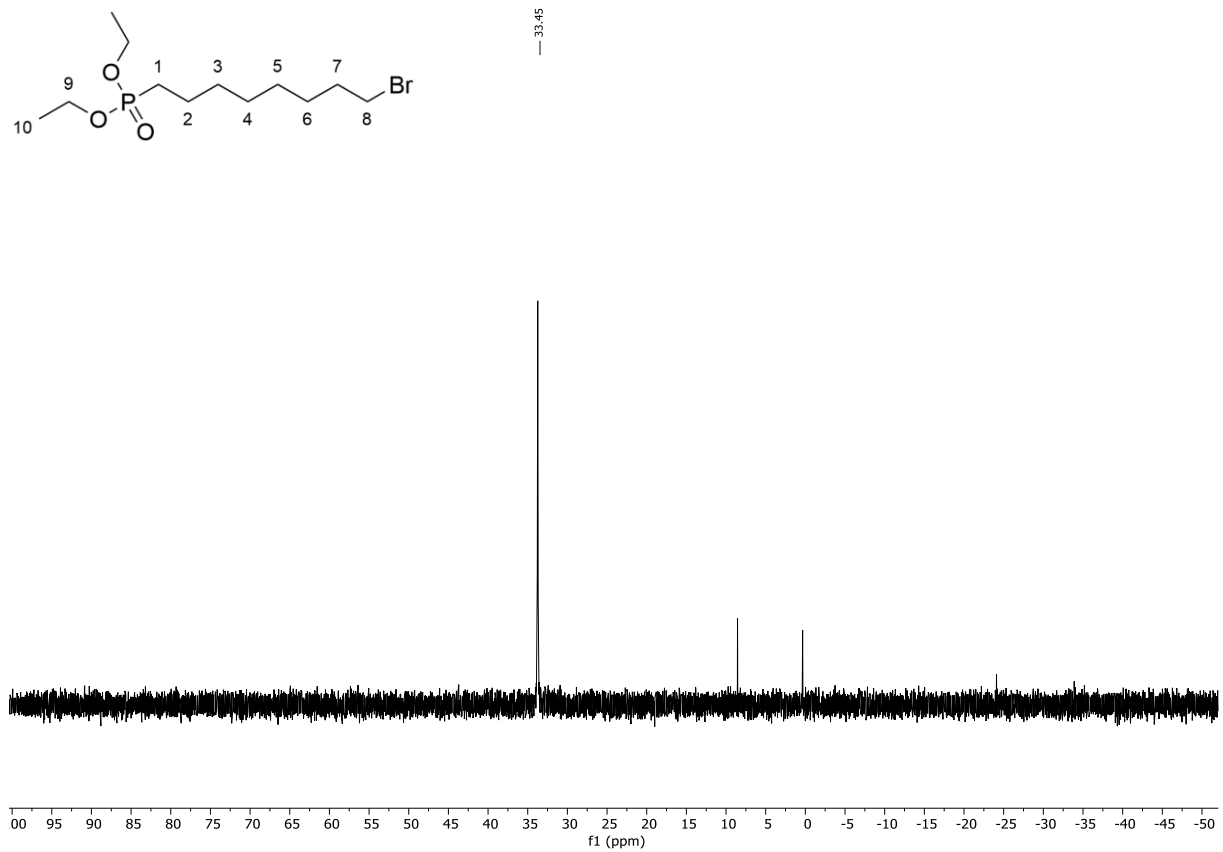


Abbildung 59: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromooctyl)phosphonsäure **4c**.

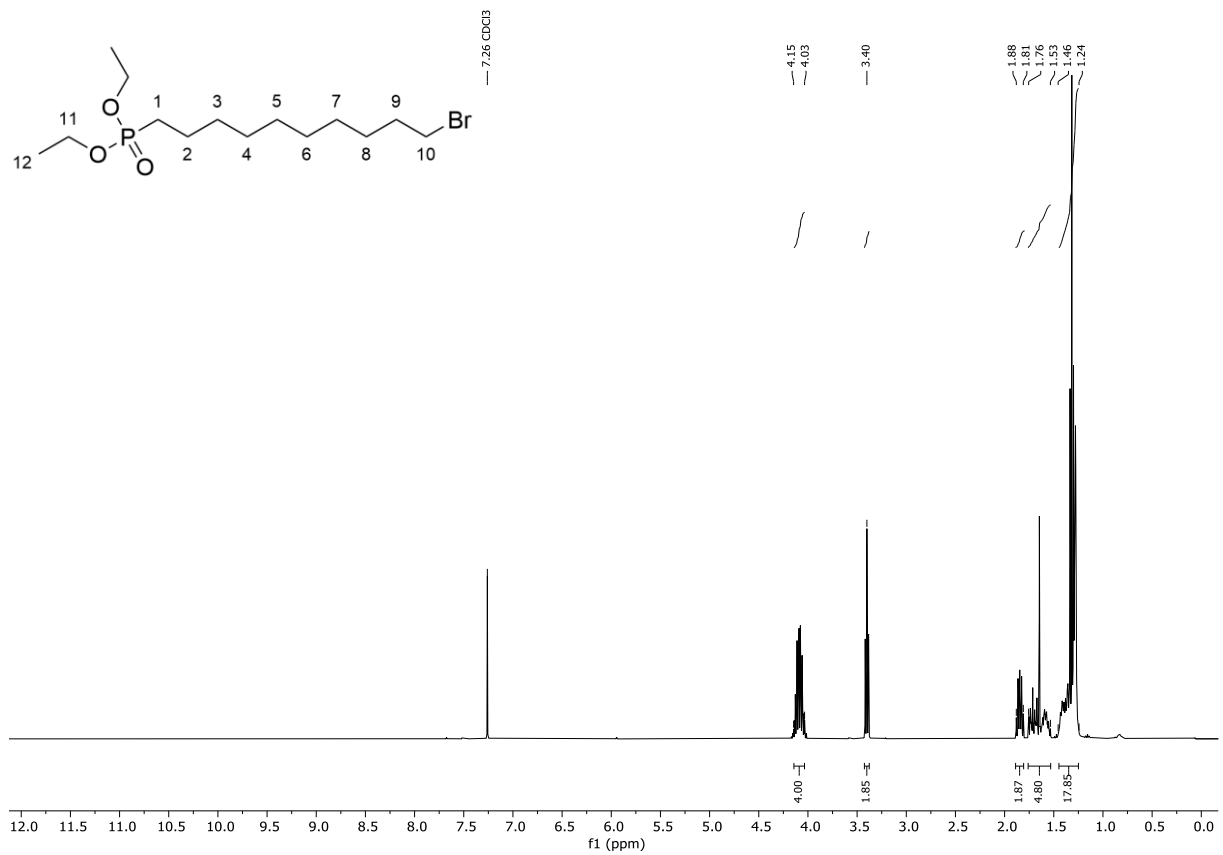


Abbildung 60: ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromodecyl)phosphonsäure **4d**.

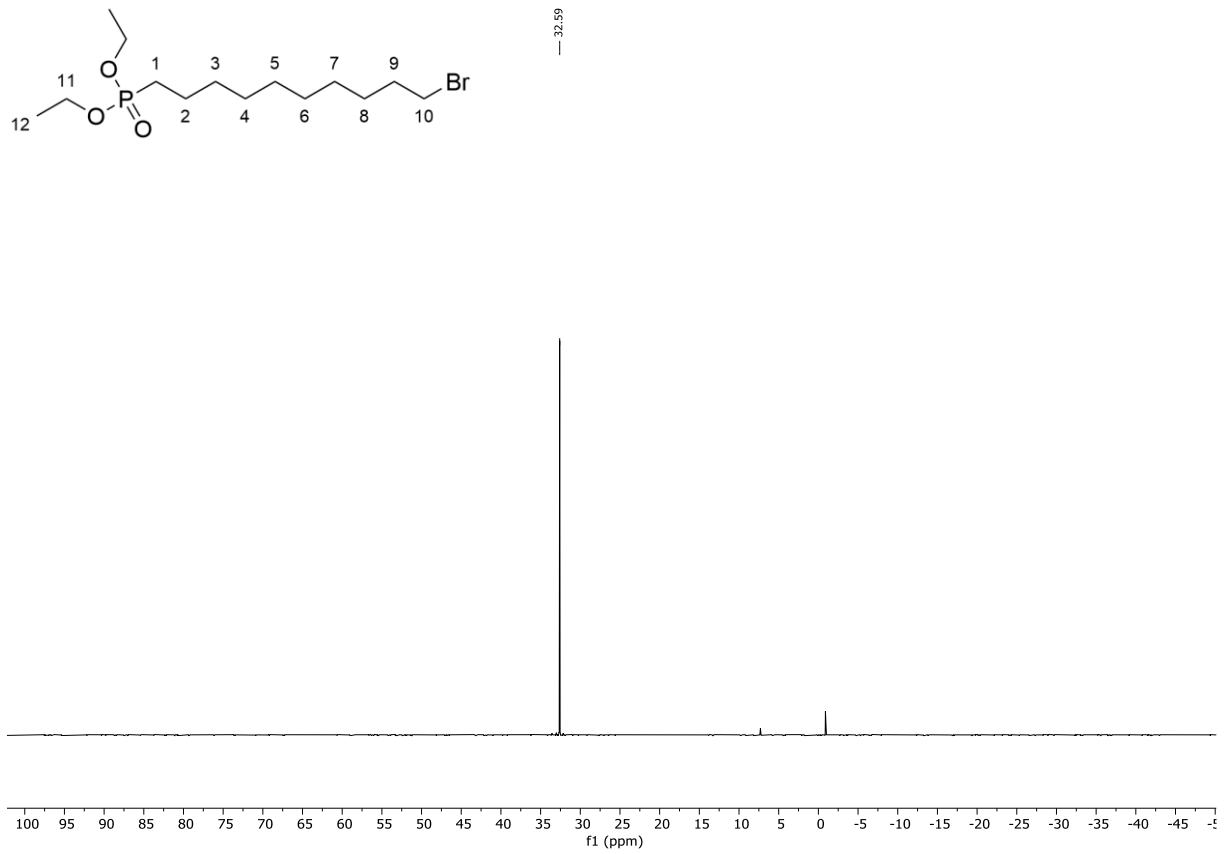


Abbildung 61: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromodecyl)phosphonsäure **4d**.

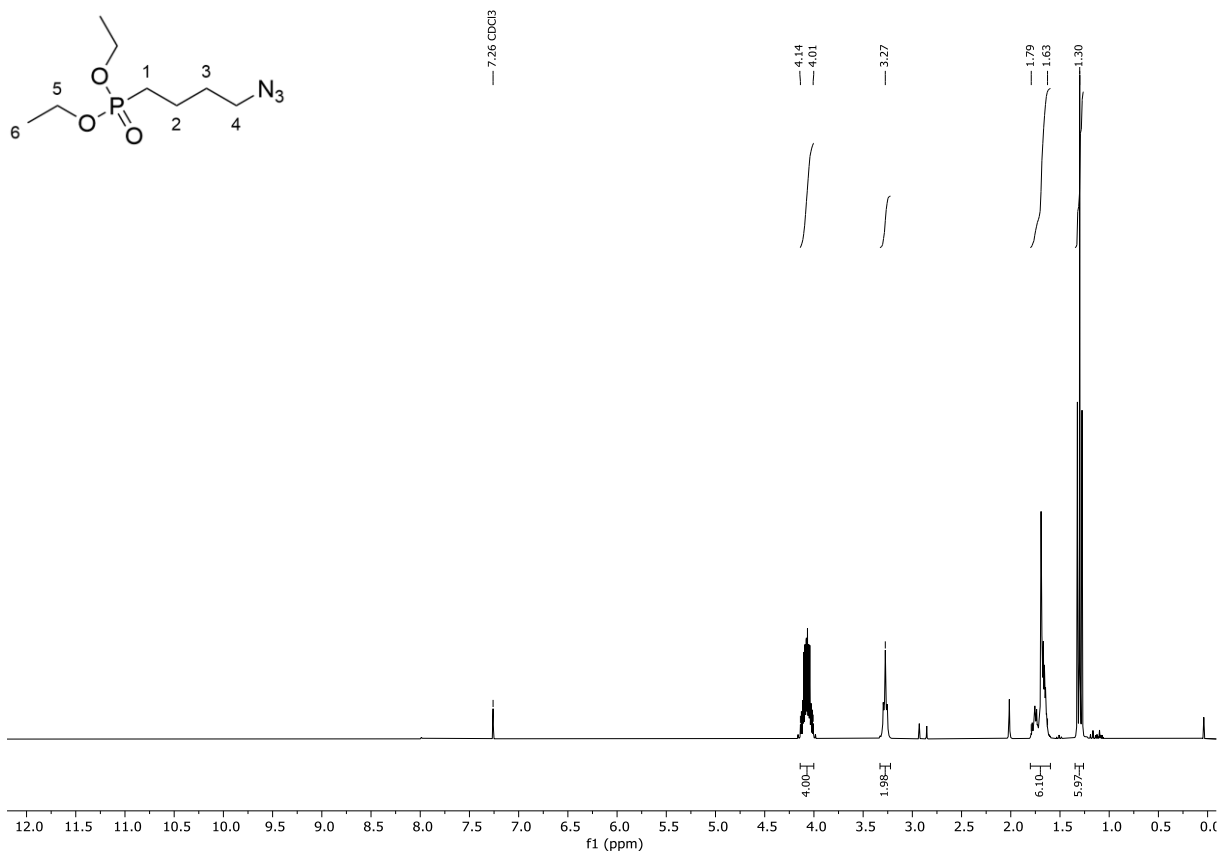


Abbildung 62: ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azidobutyl)phosphonsäure **3a**.

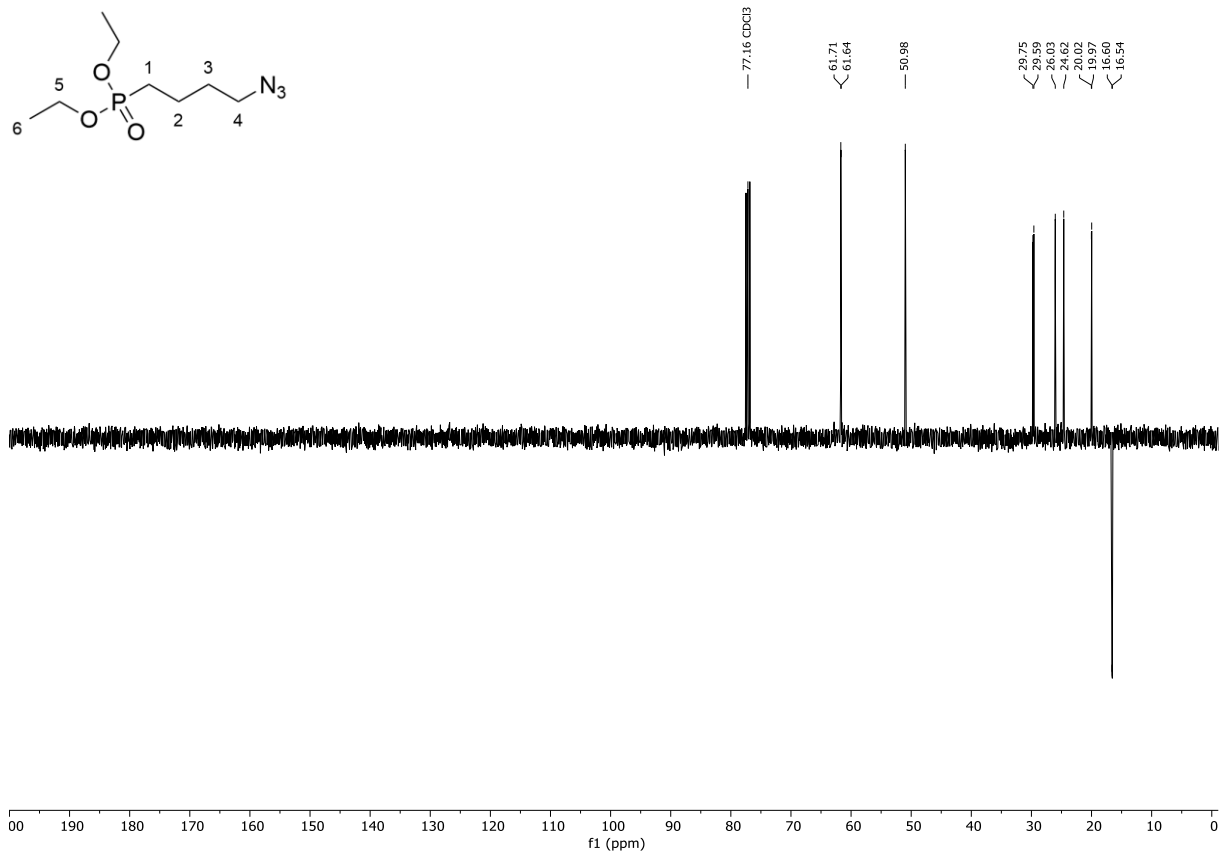


Abbildung 63: ¹³C-NMR {¹H} (101 MHz, CDCl₃) von Diethyl-(ω -(α -azidobutyl)phosphonsäure **3a**.

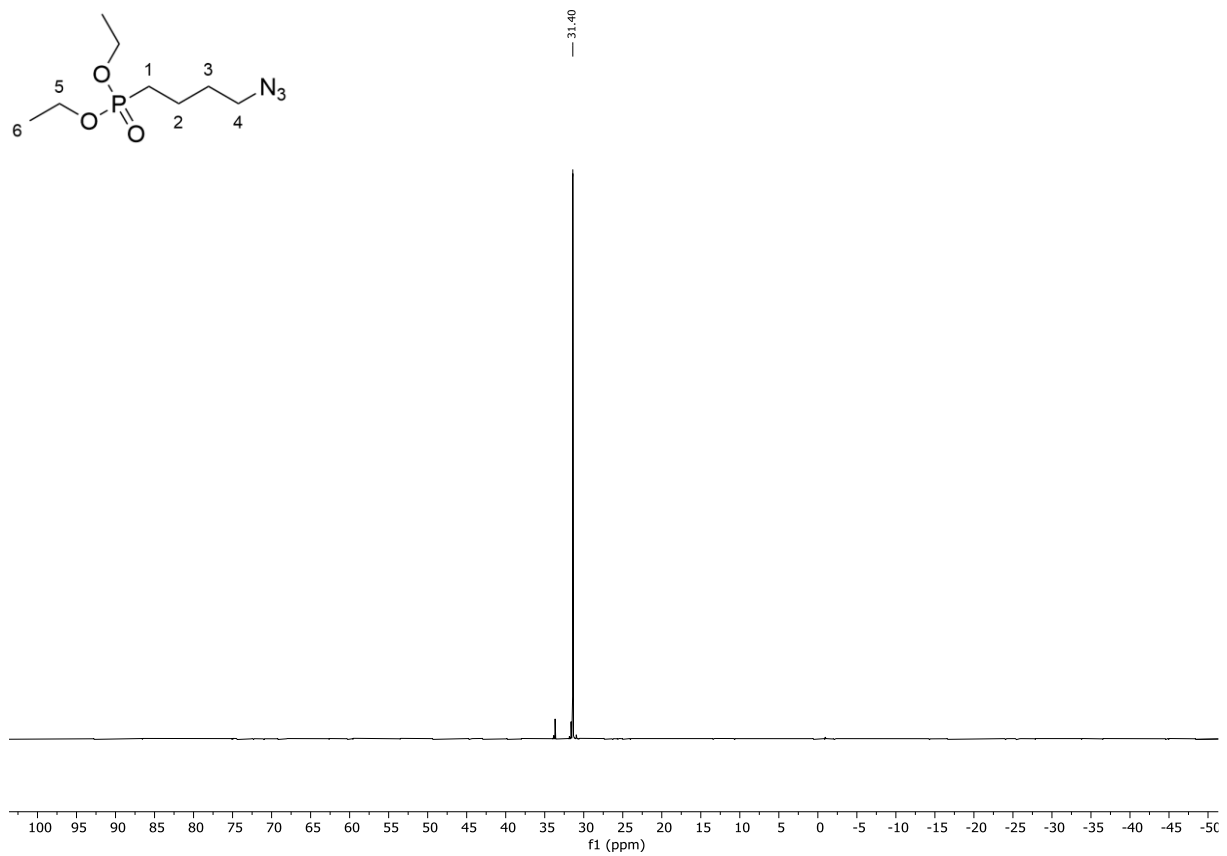


Abbildung 64: ³¹P-NMR {¹H} (162 MHz, CDCl₃) von Diethyl-(ω -(α -azidobutyl)phosphonsäure **3a**.

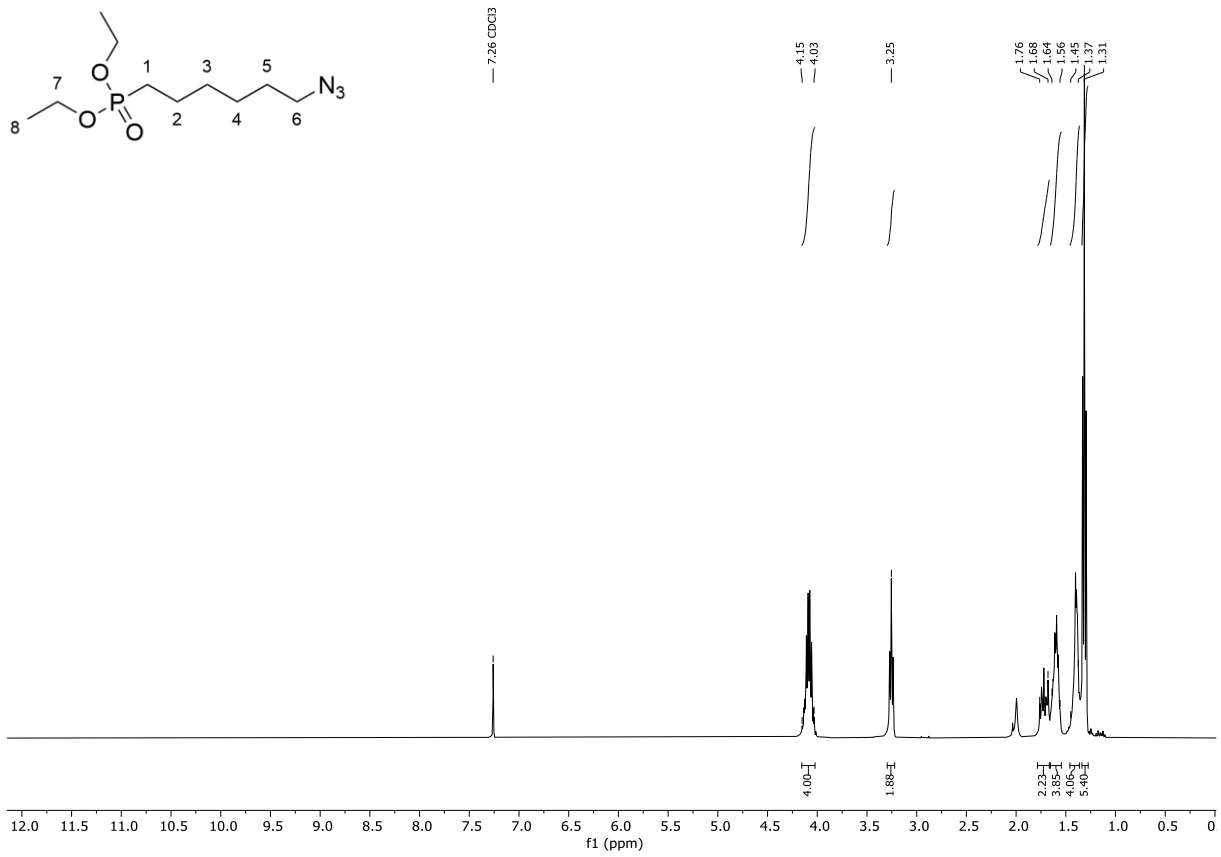


Abbildung 65: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azidoethyl)phosphonsäure **3b**.

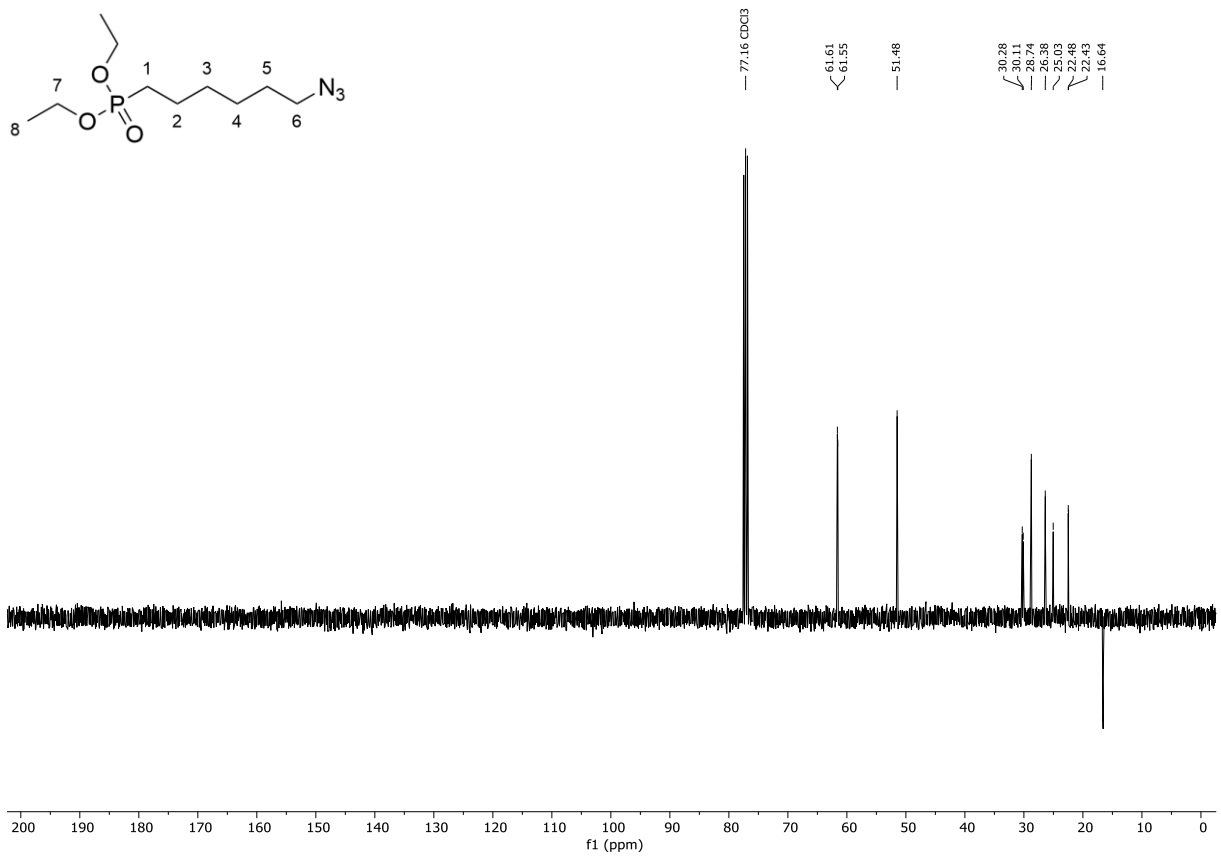


Abbildung 66: $^{13}\text{C-NMR}$ (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azidoethyl)phosphonsäure **3b**.

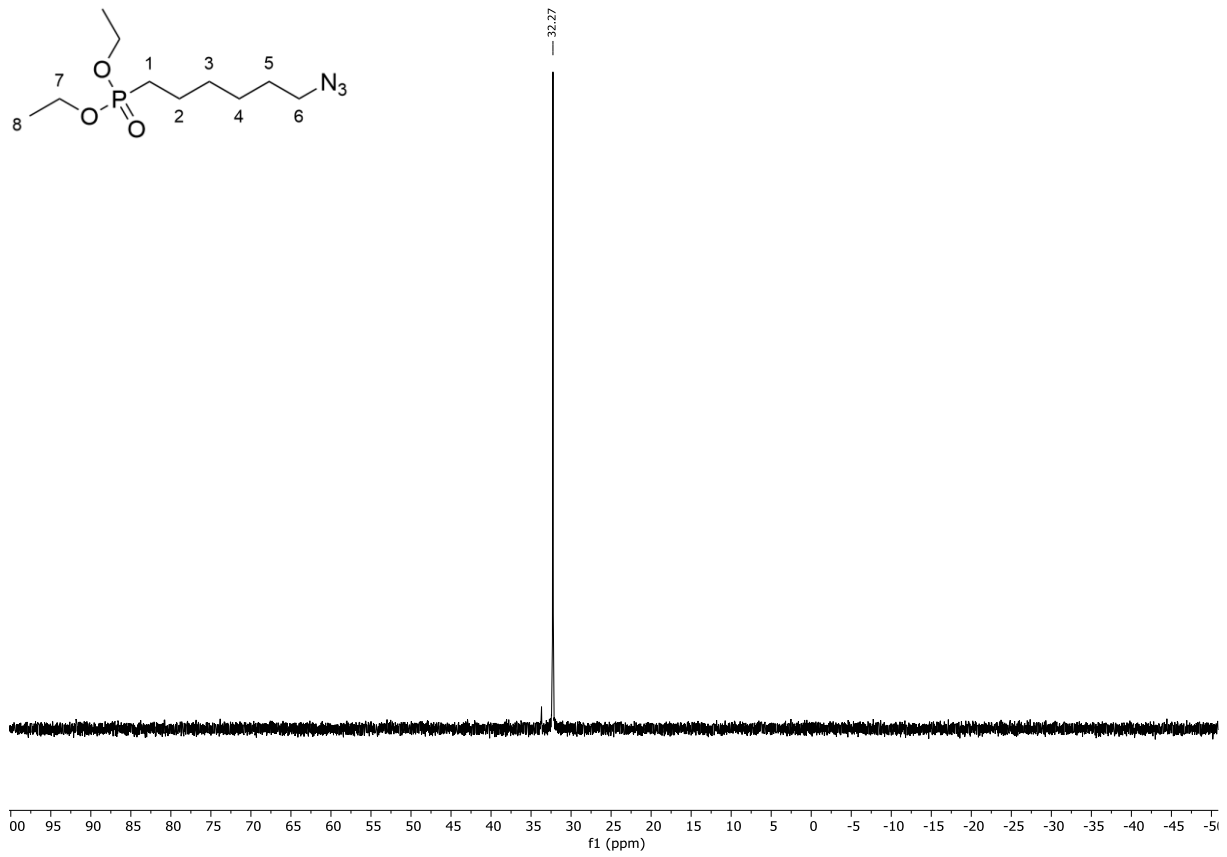


Abbildung 67: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azidohexyl)phosphonsäure **3b**.

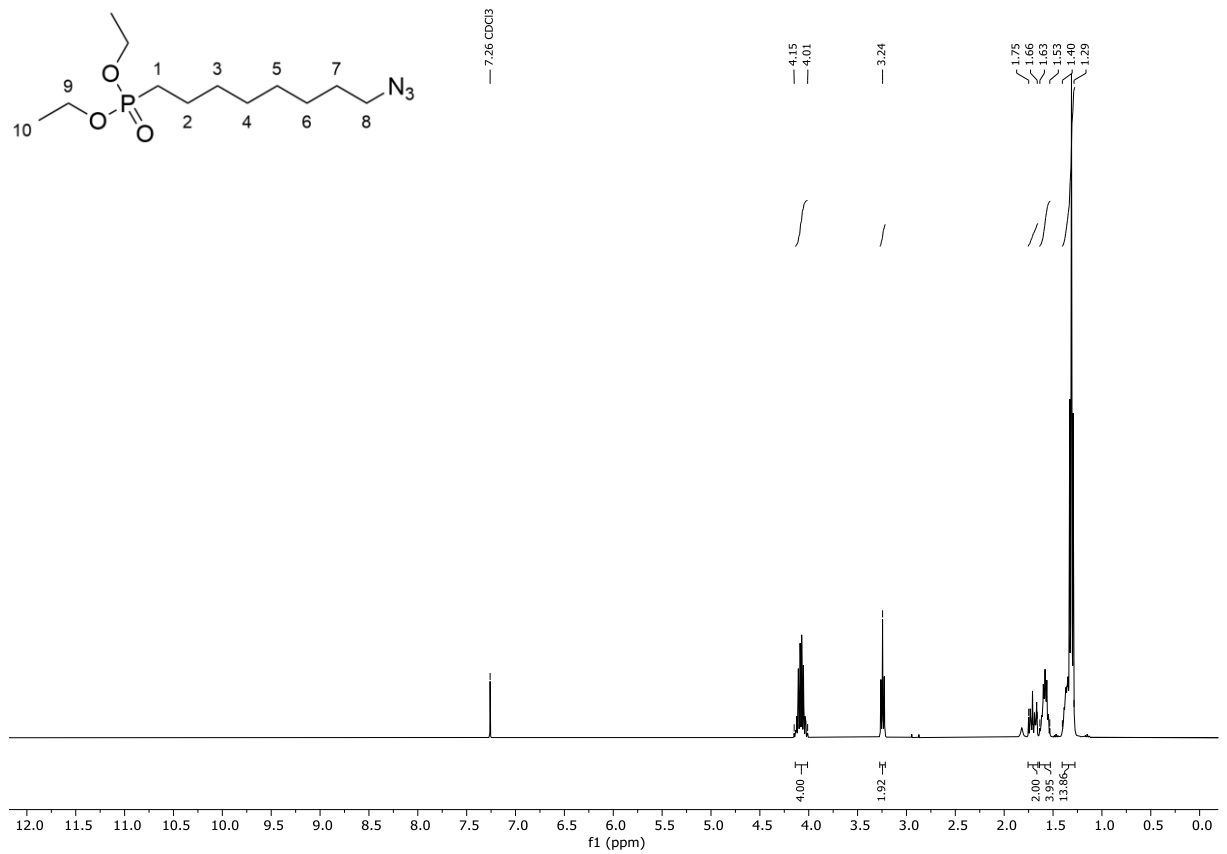


Abbildung 68: ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azido-octyl)phosphonsäure **3c**.

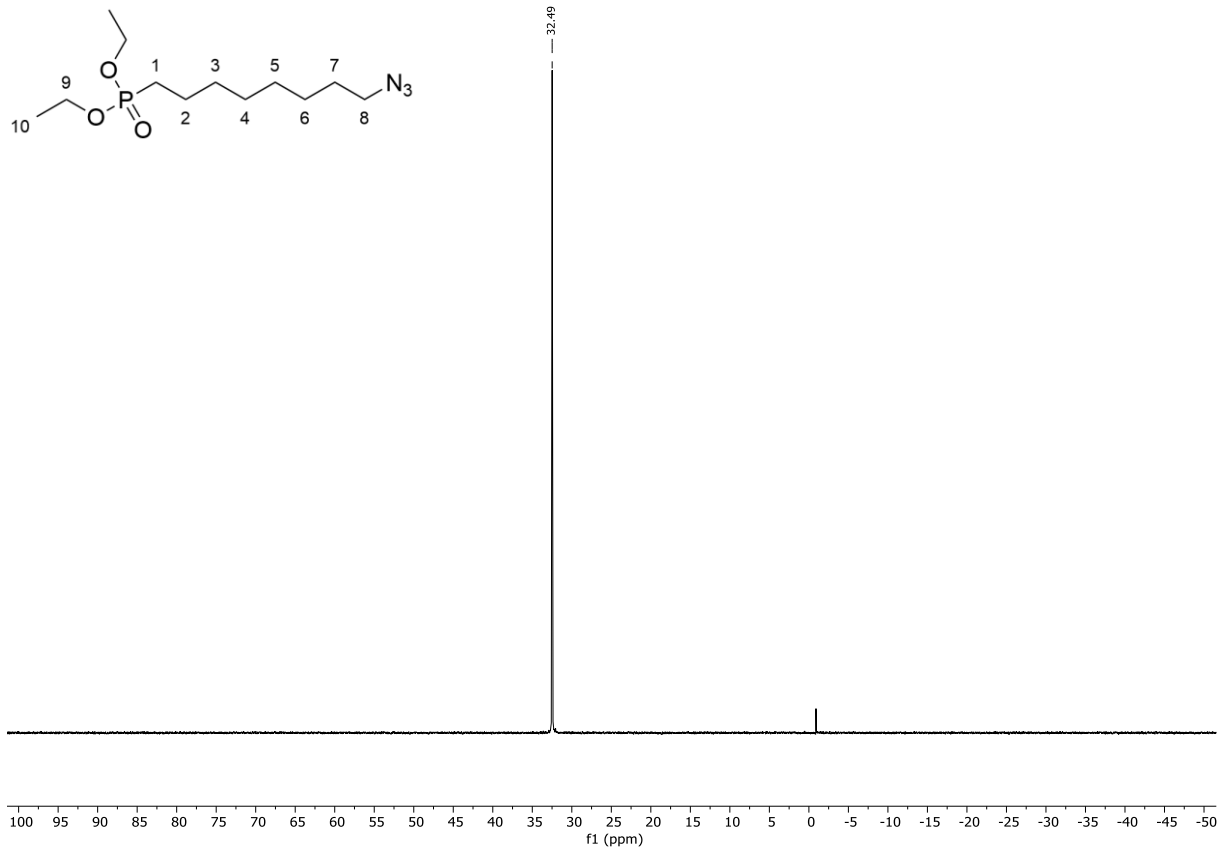


Abbildung 69: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azido-octyl)phosphonsäure **3c**.

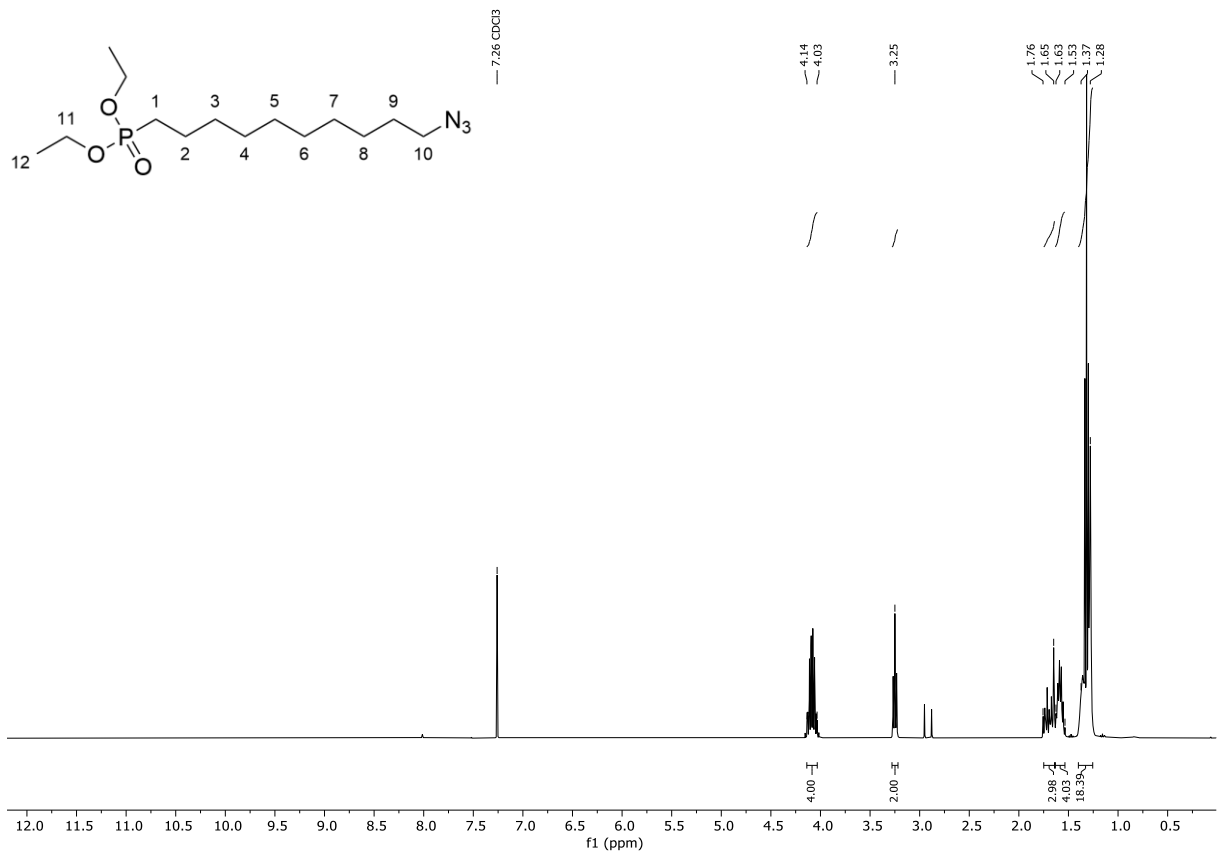


Abbildung 70: ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azidodecyl)phosphonsäure **3d**.

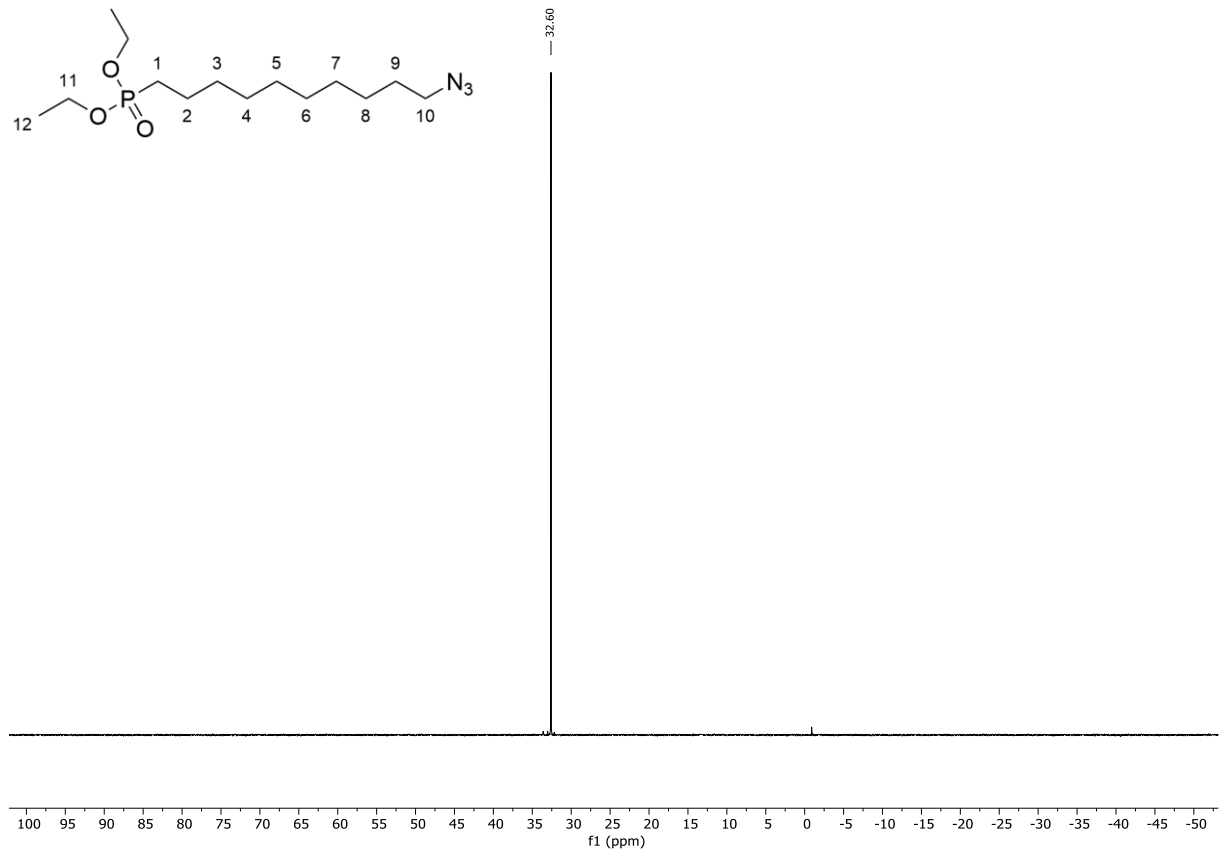


Abbildung 71: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -azidodecyl)phosphonsäure **3d**.

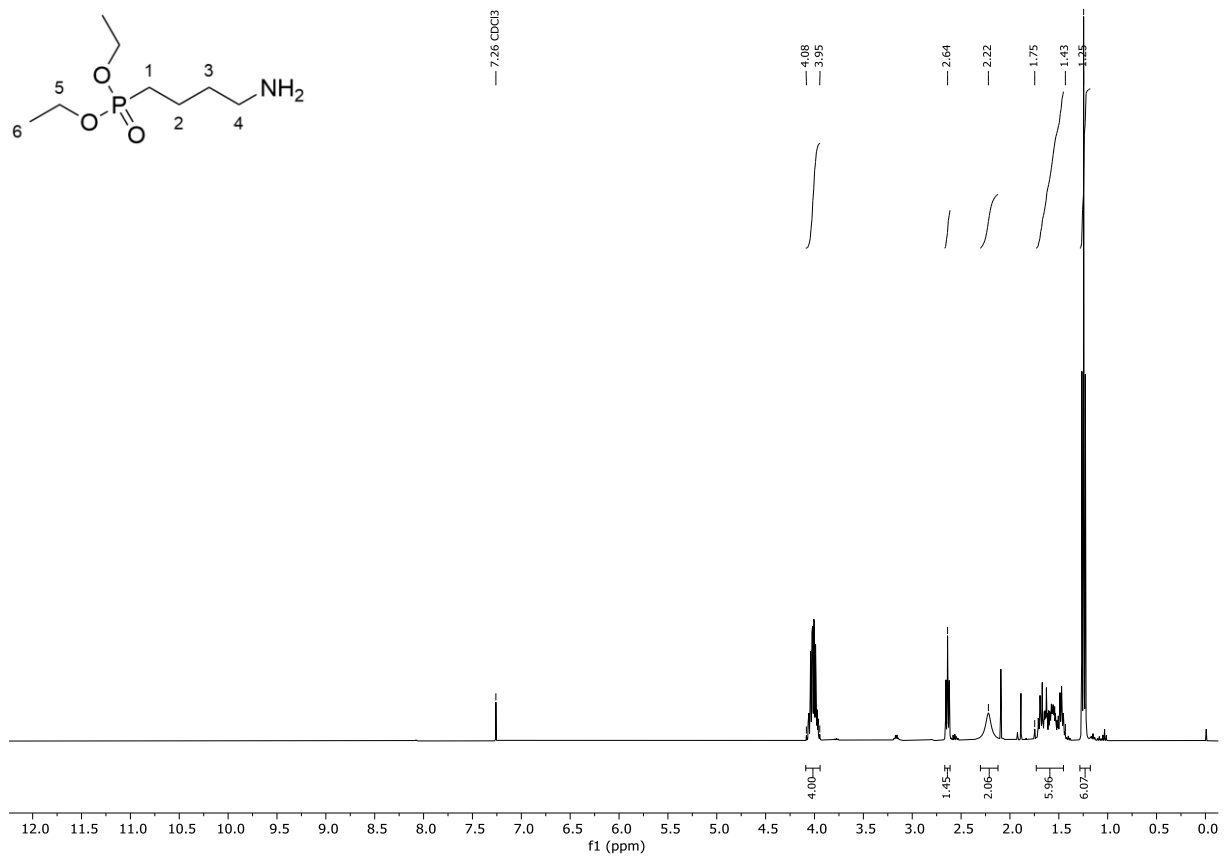


Abbildung 72: ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -aminobutyl)phosphonsäure **2a**.

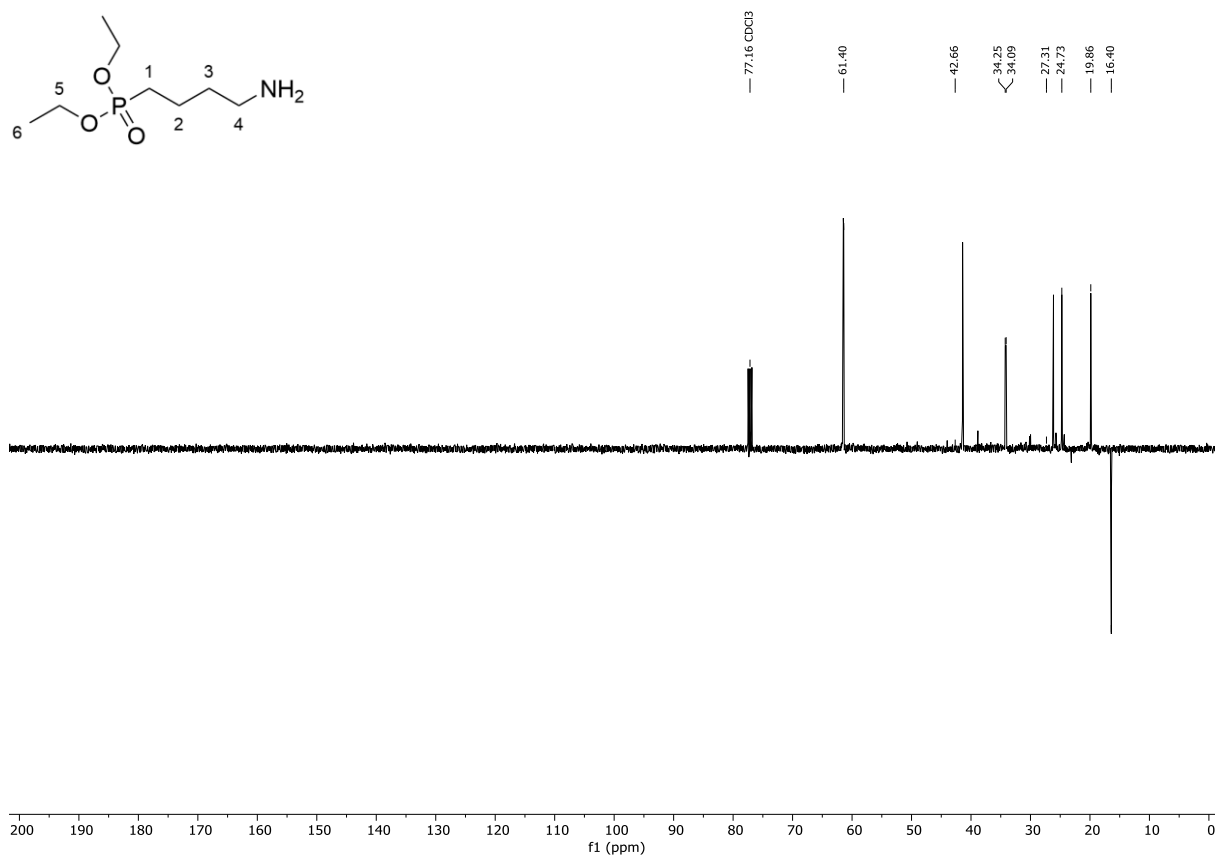


Abbildung 73: $^{13}\text{C-NMR}$ (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -aminobutyl)phosphonsäure **2a**.

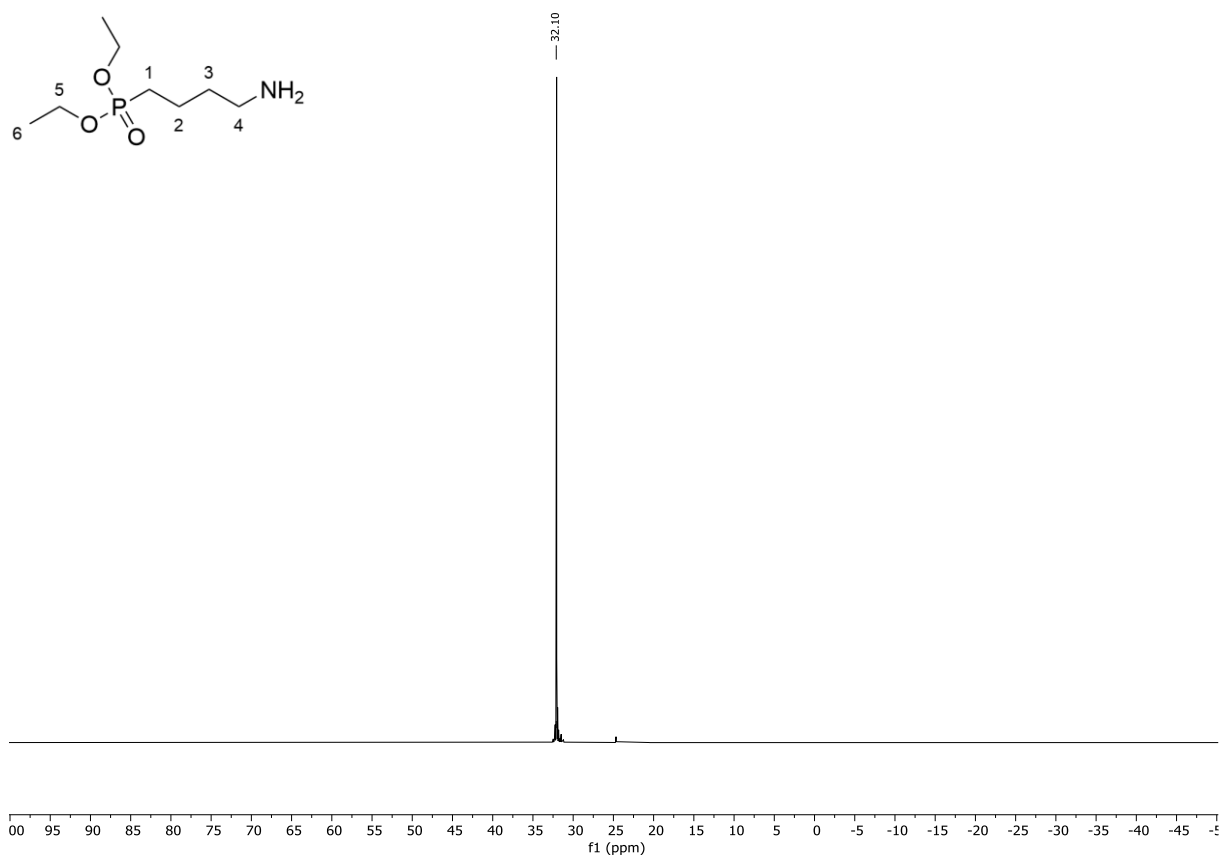
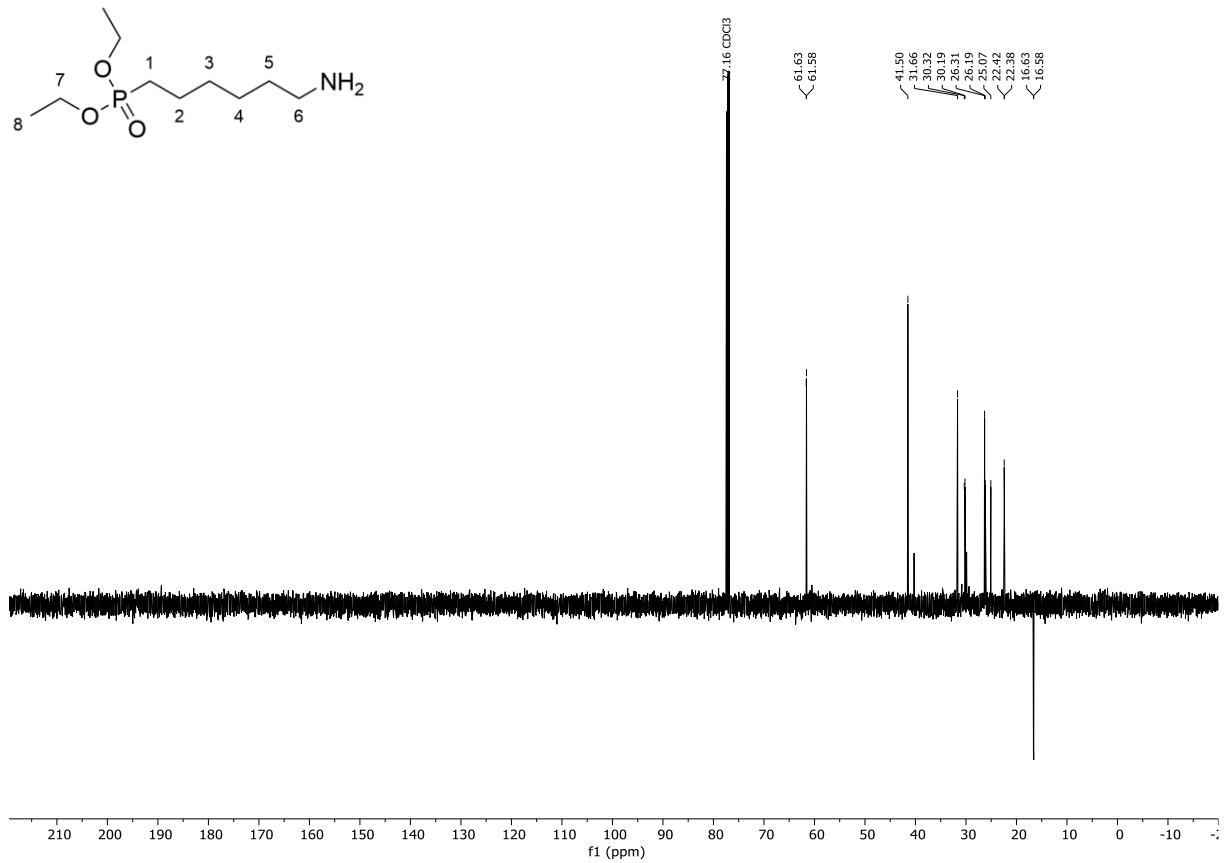
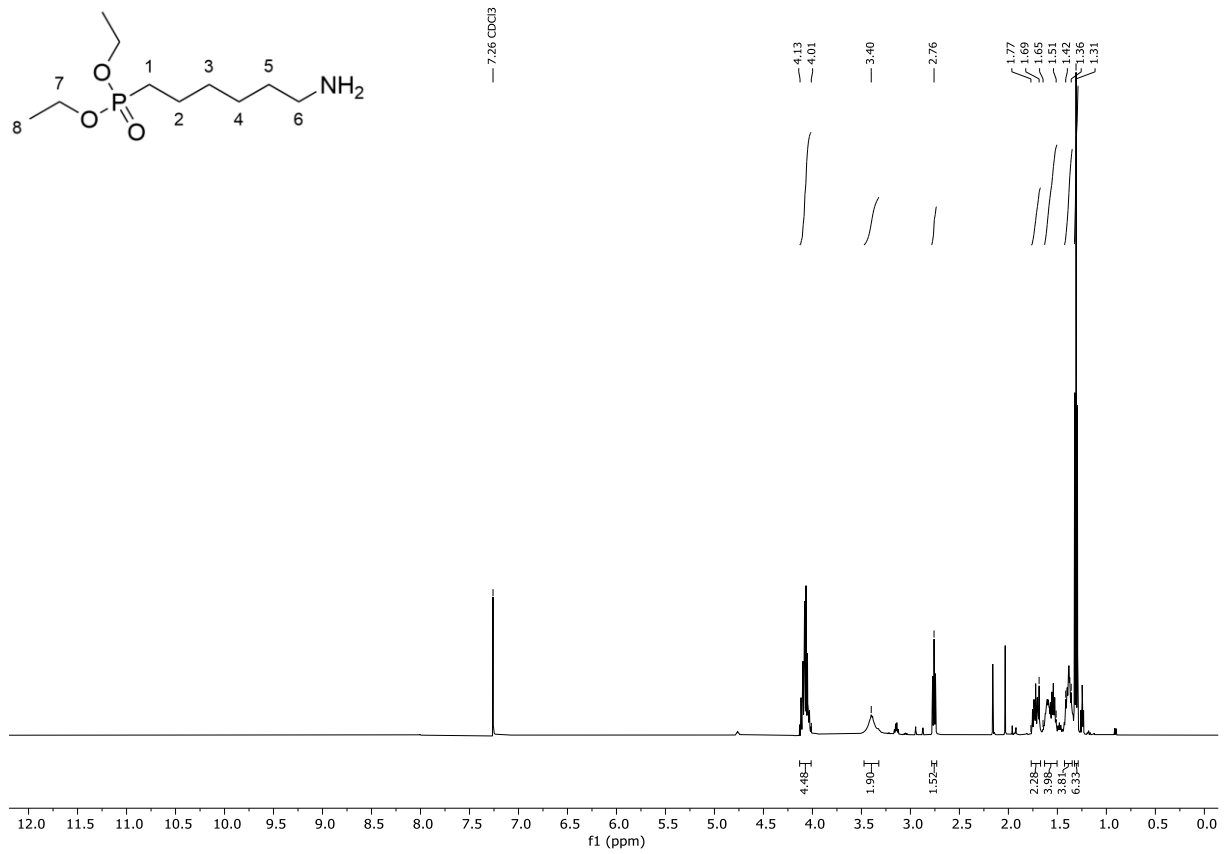


Abbildung 74: $^{31}\text{P-NMR}$ (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -aminobutyl)phosphonsäure **2a**.



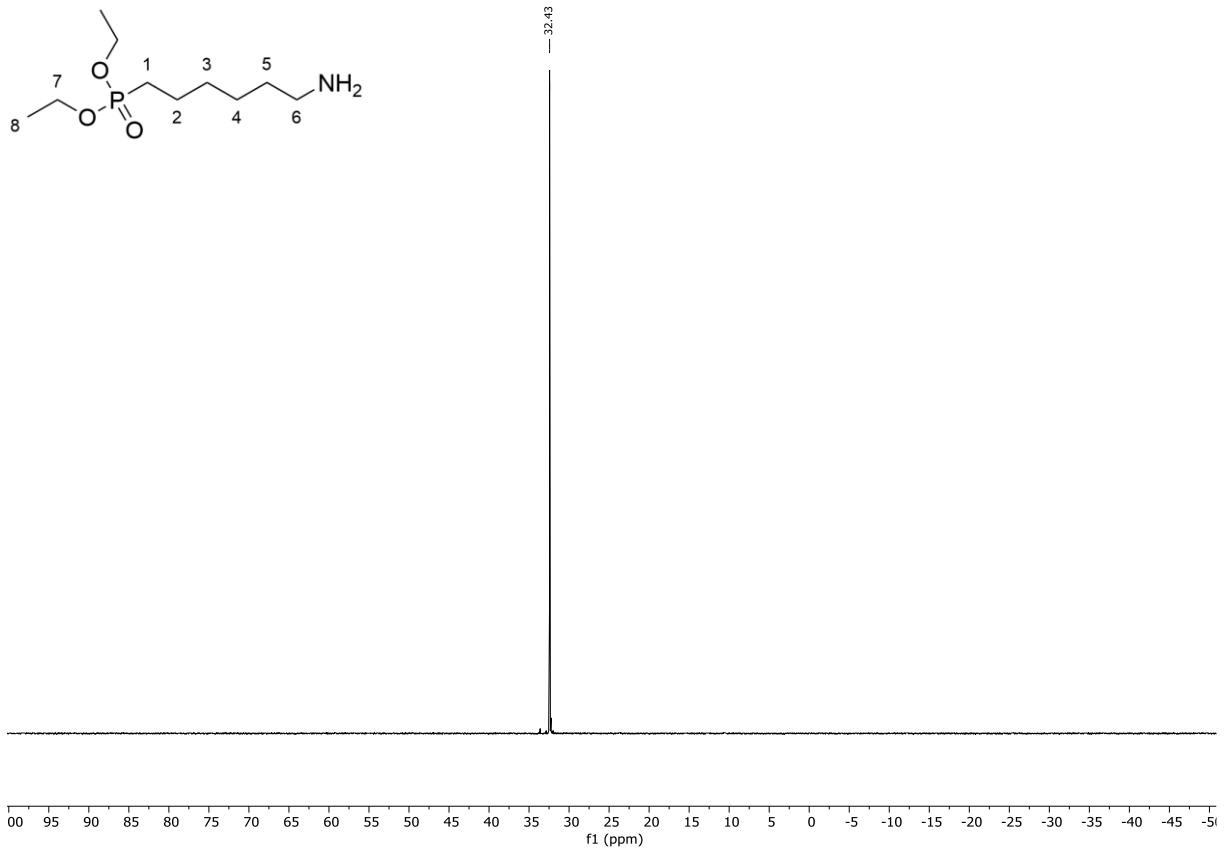


Abbildung 77: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -aminoethyl)phosphonsäure **2b**.

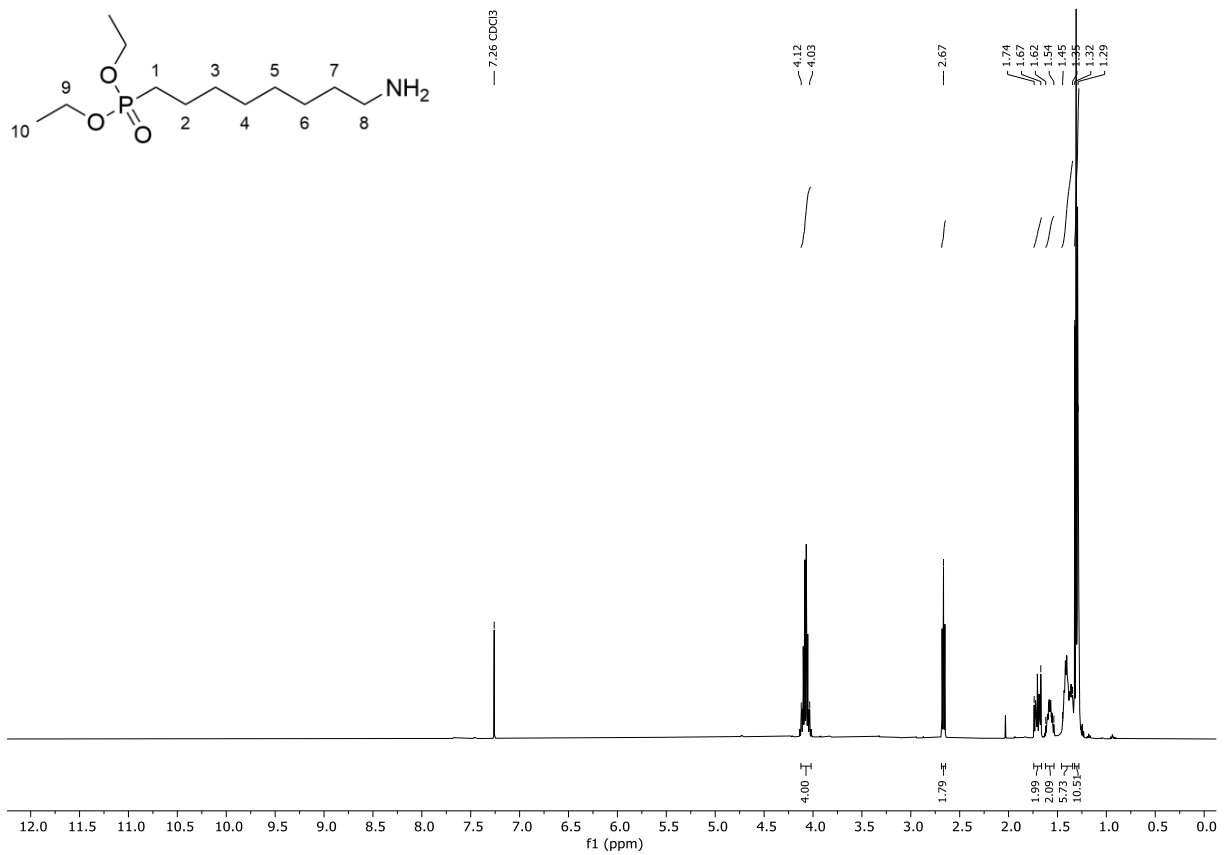


Abbildung 78: ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -aminoethyl)phosphonsäure **2c**.

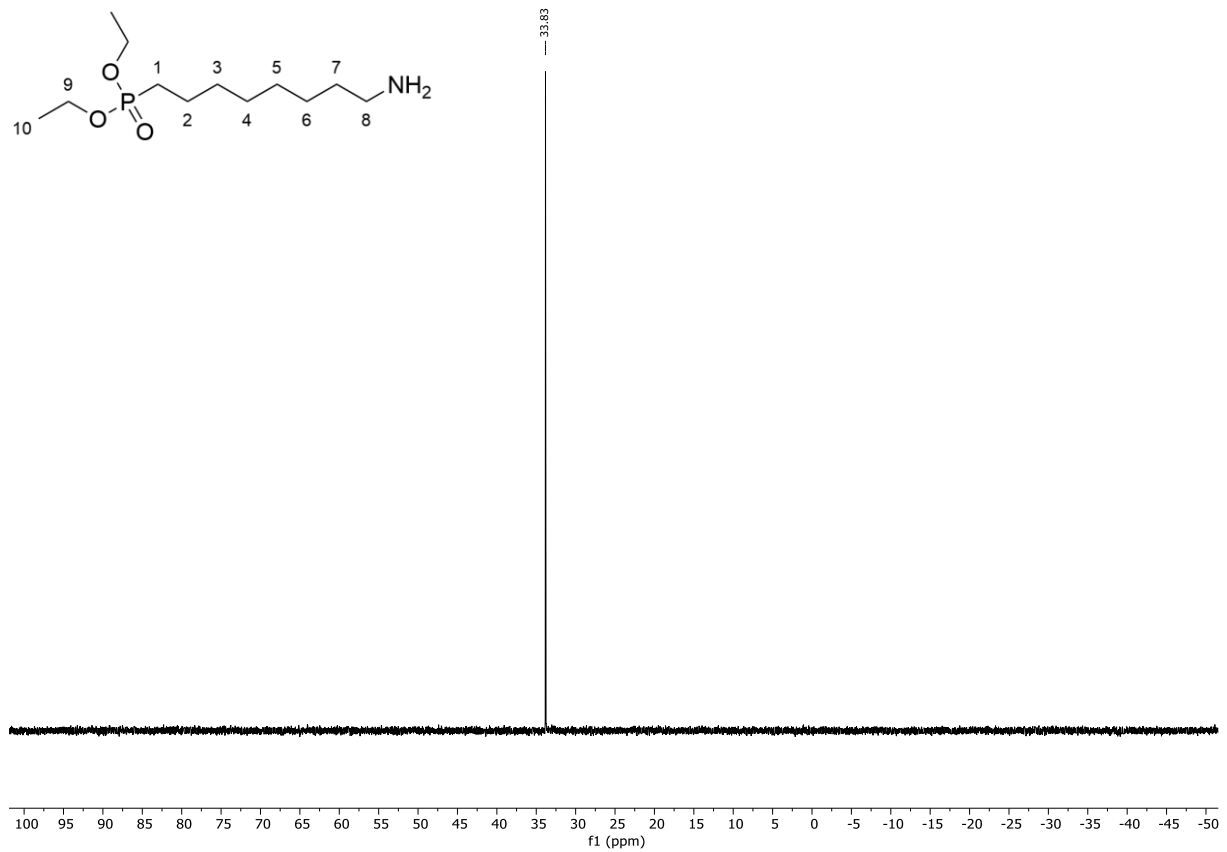


Abbildung 79: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -aminooctyl)phosphonsäure **2c**.

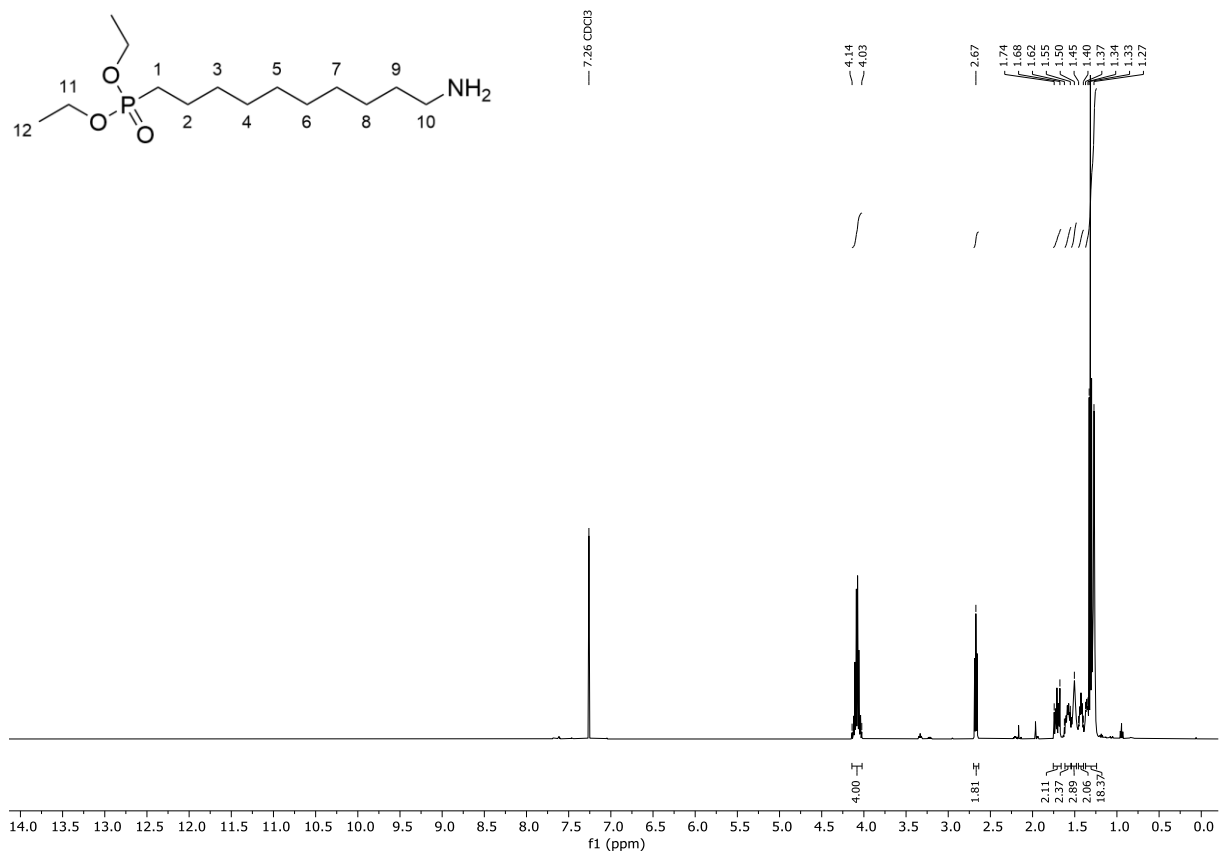


Abbildung 80: ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -aminodecyl)phosphonsäure **2d**.

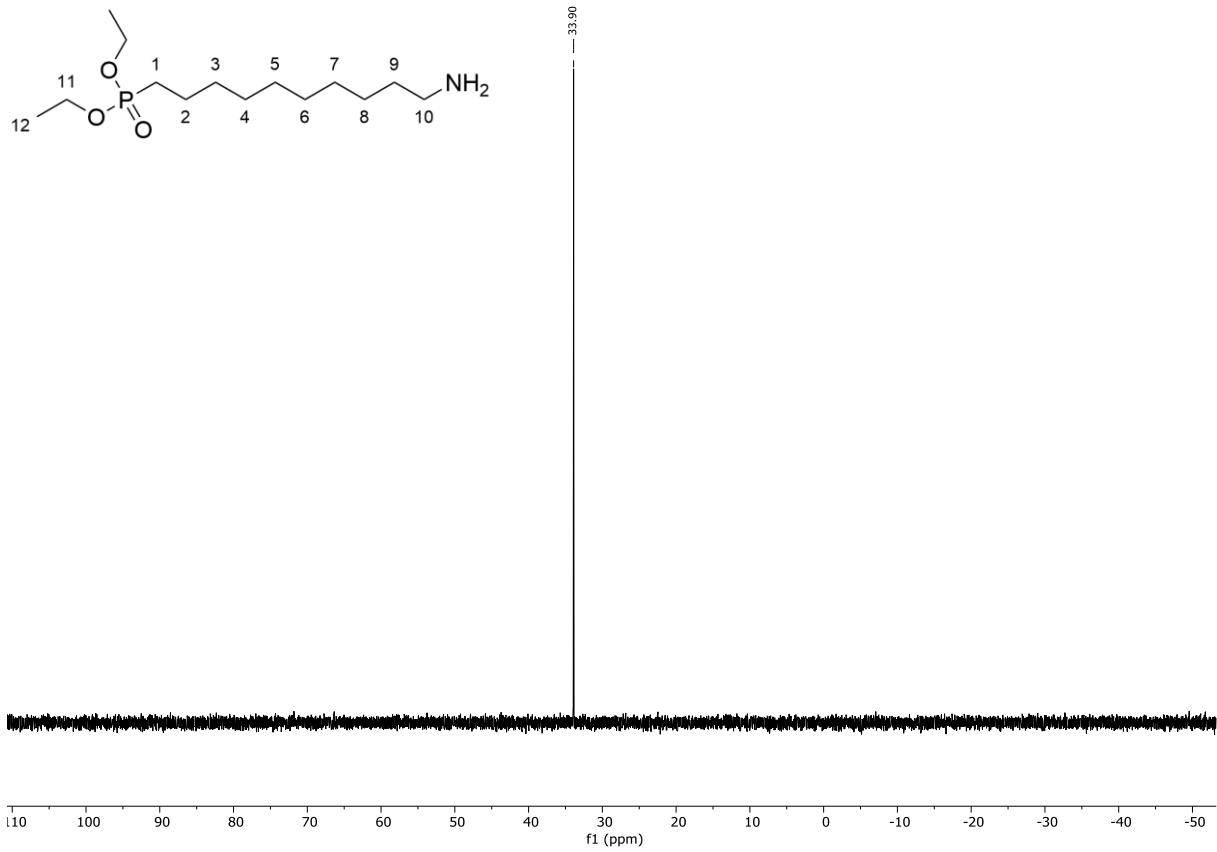


Abbildung 81: ³¹P-NMR (¹H) (162 MHz, CDCl₃) von Diethyl-(ω -(α -aminodecyl))phosphonsäure **2d**.

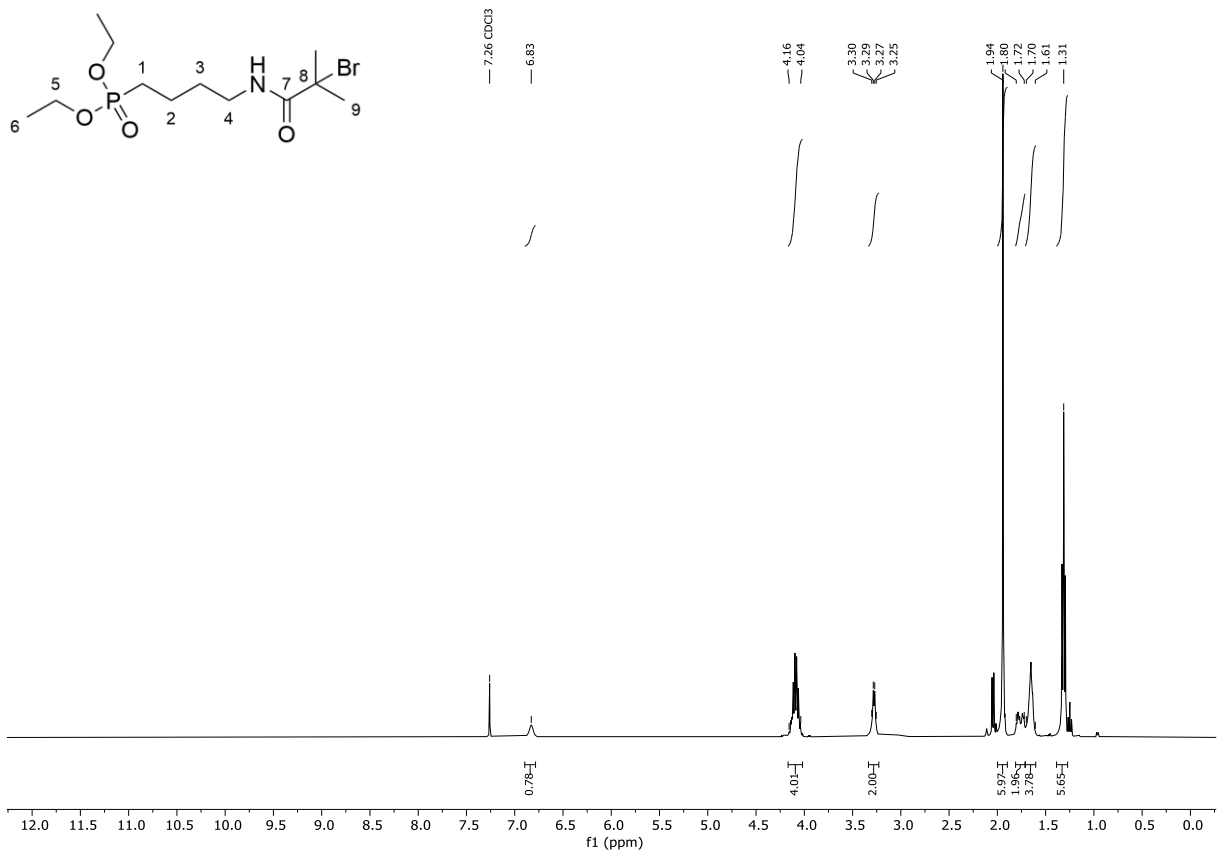


Abbildung 82: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido))butyl phosphonsäure **1a**.

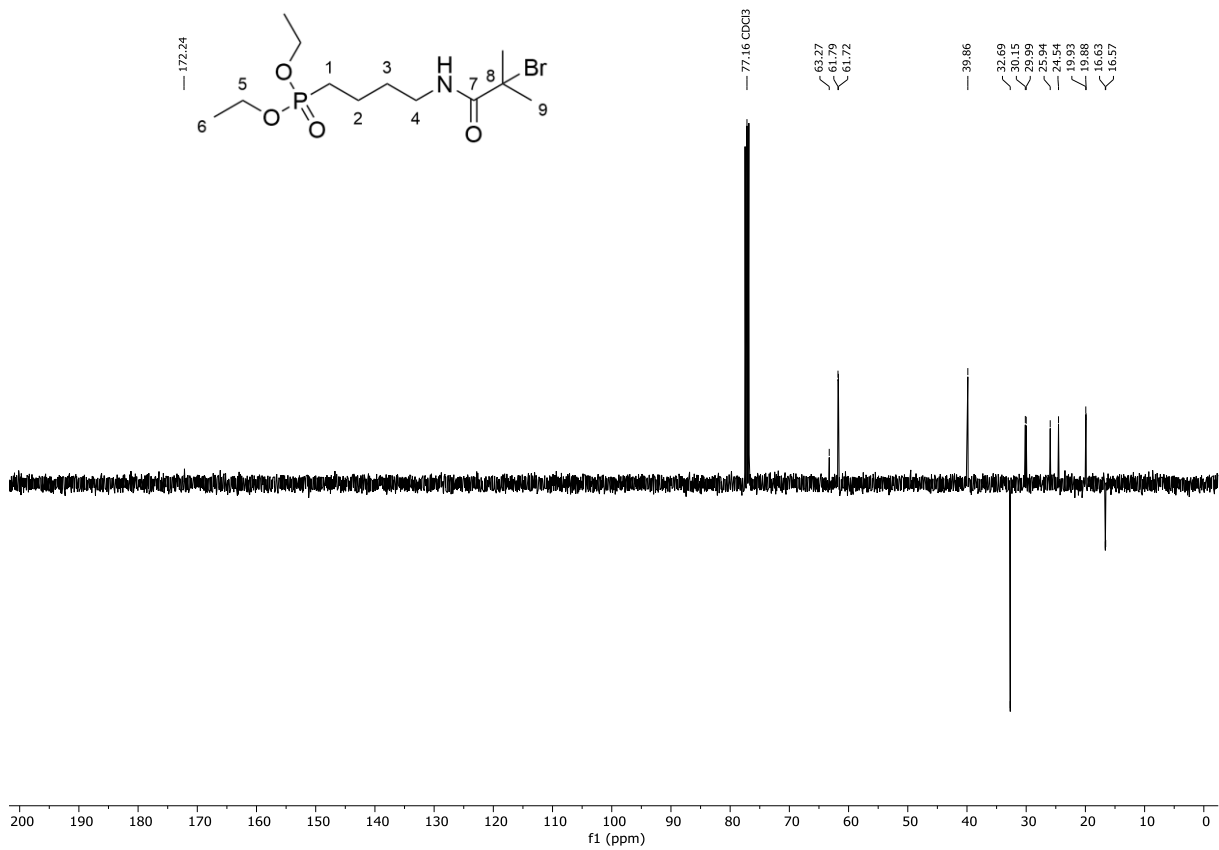


Abbildung 83: ^{13}C -NMR (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)butyl)phosphonsäure **1a**.

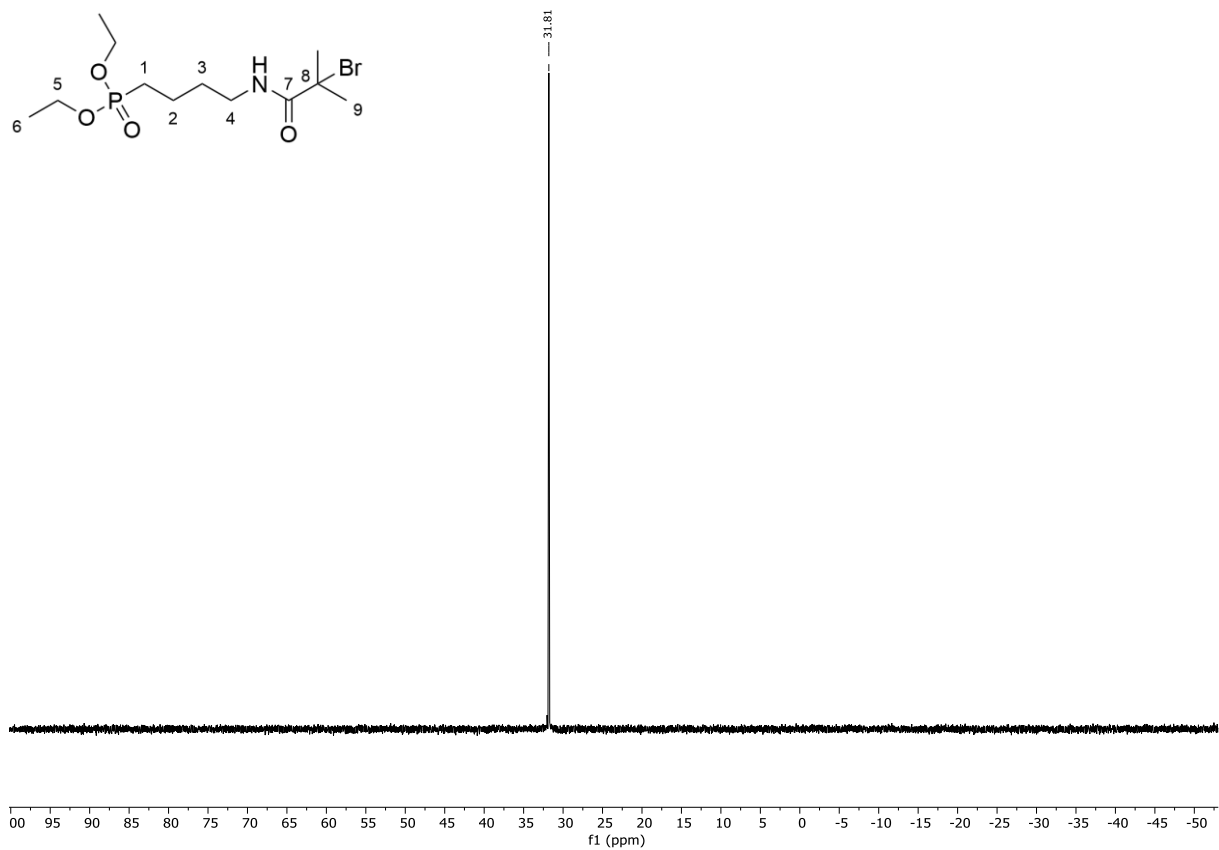


Abbildung 84: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)butyl)phosphonsäure **1a**.

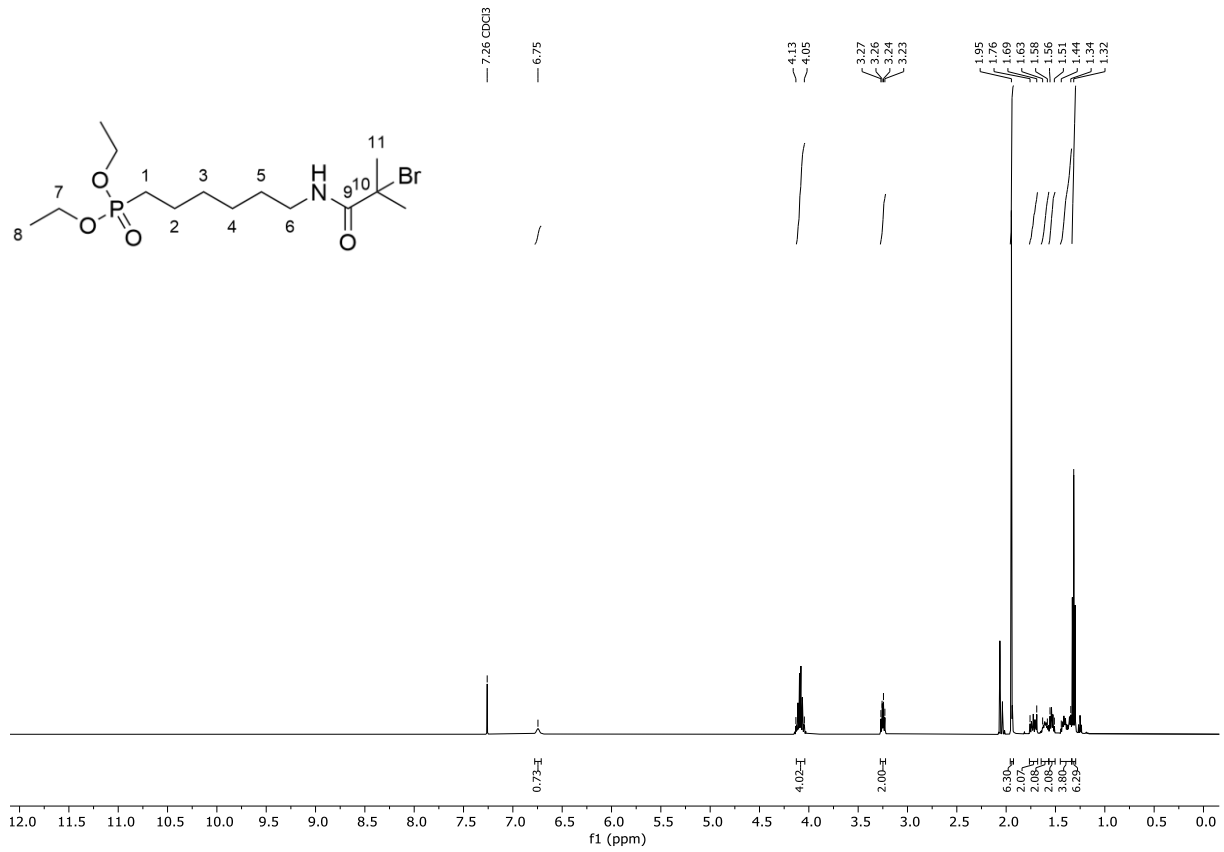


Abbildung 85: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)hexyl)phosphonsäure **1b**.

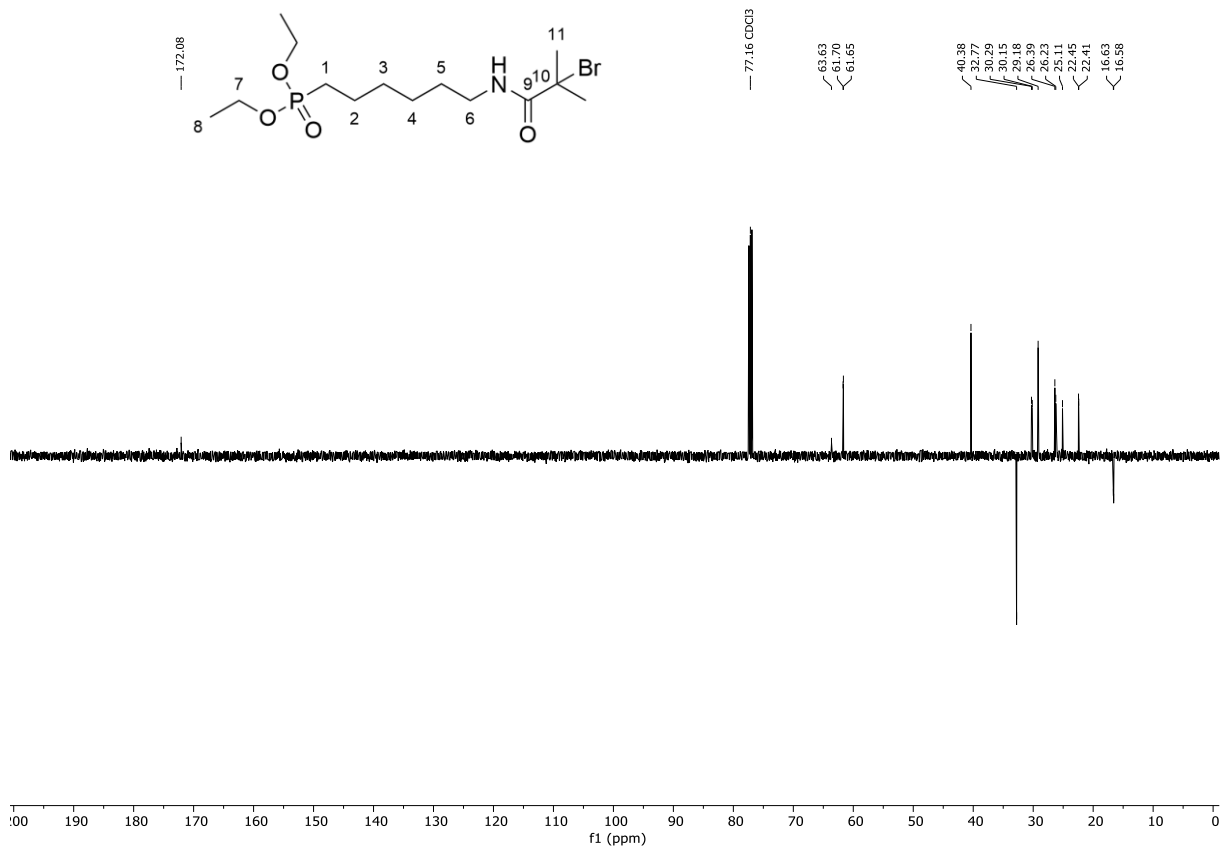


Abbildung 86: $^{13}\text{C-NMR}$ (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)hexyl)phosphonsäure **1b**.

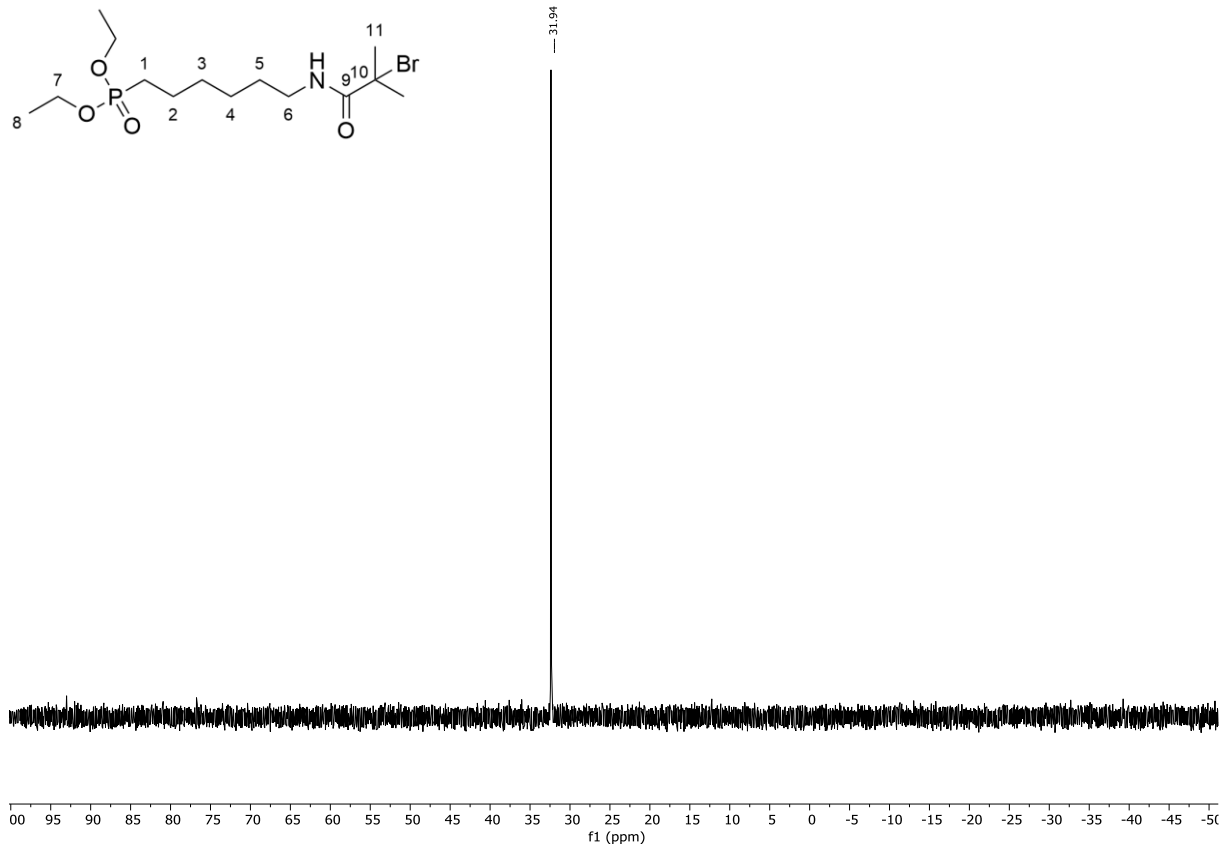


Abbildung 87: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)hexyl)phosphonsäure **1b**.

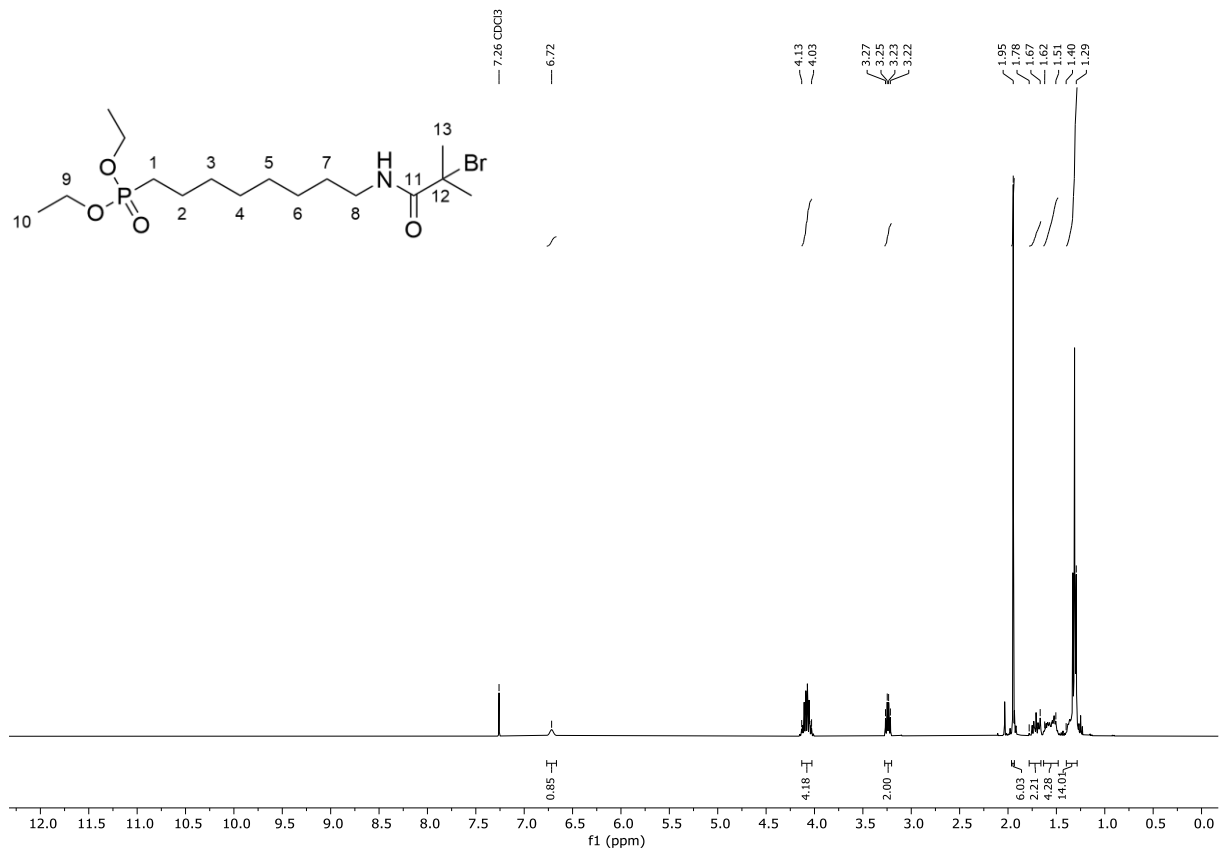


Abbildung 88: ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)octyl)phosphonsäure **1c**.

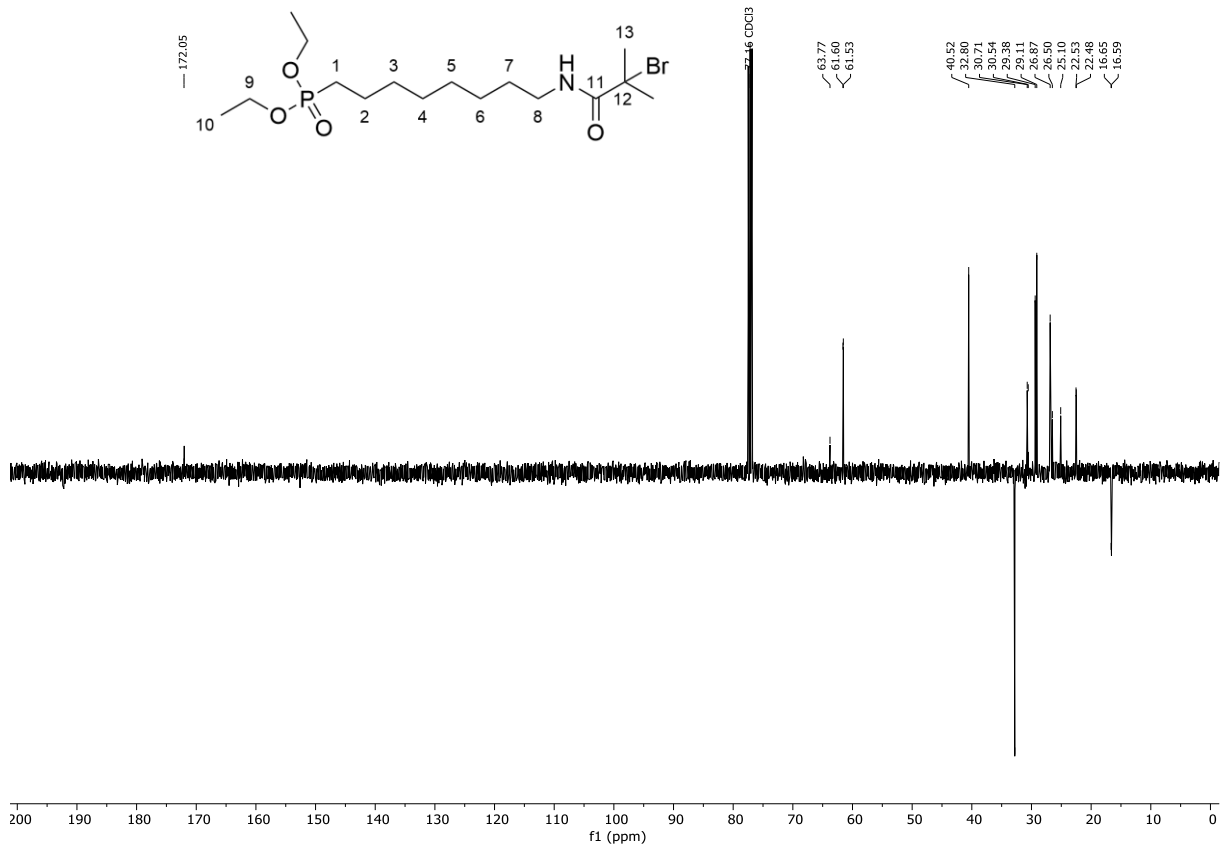


Abbildung 89: ^{13}C -NMR (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)octyl)phosphonsäure **1c**.

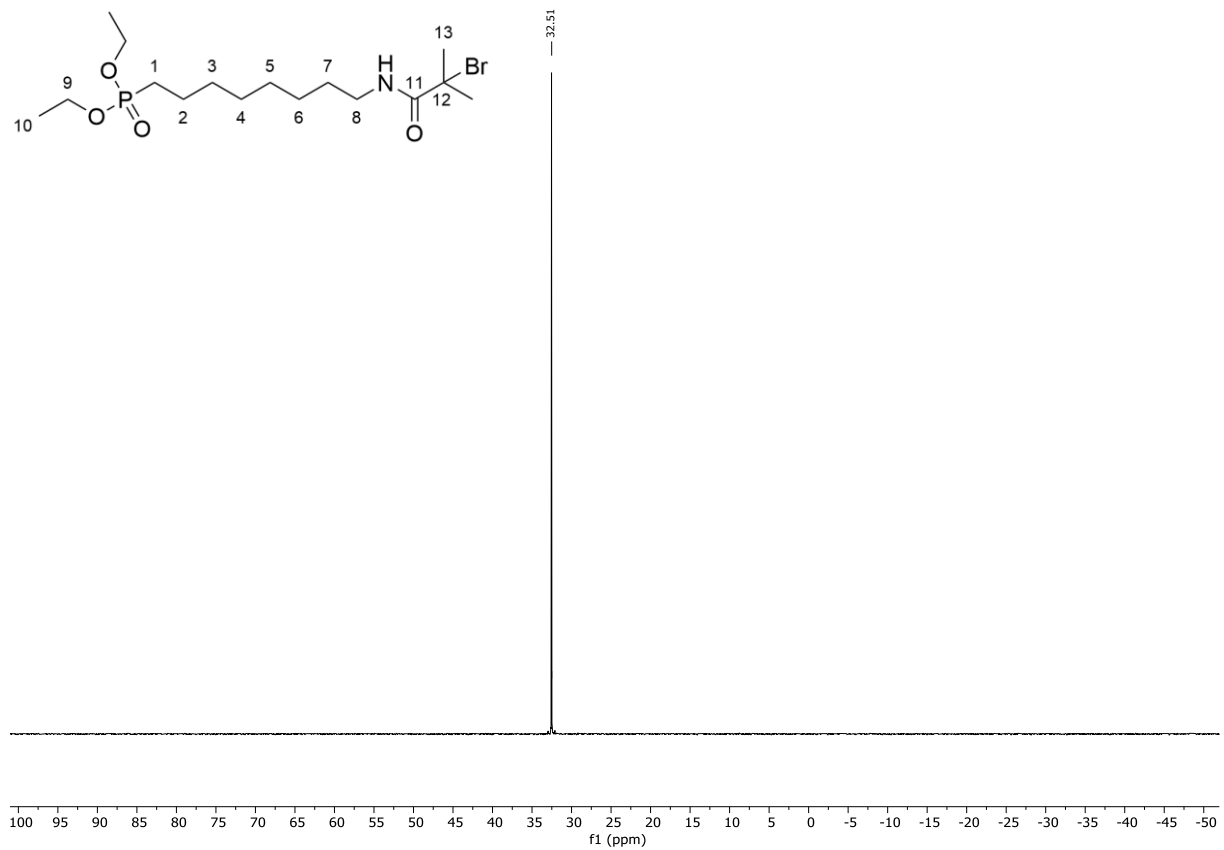


Abbildung 90: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)octyl)phosphonsäure **1c**.

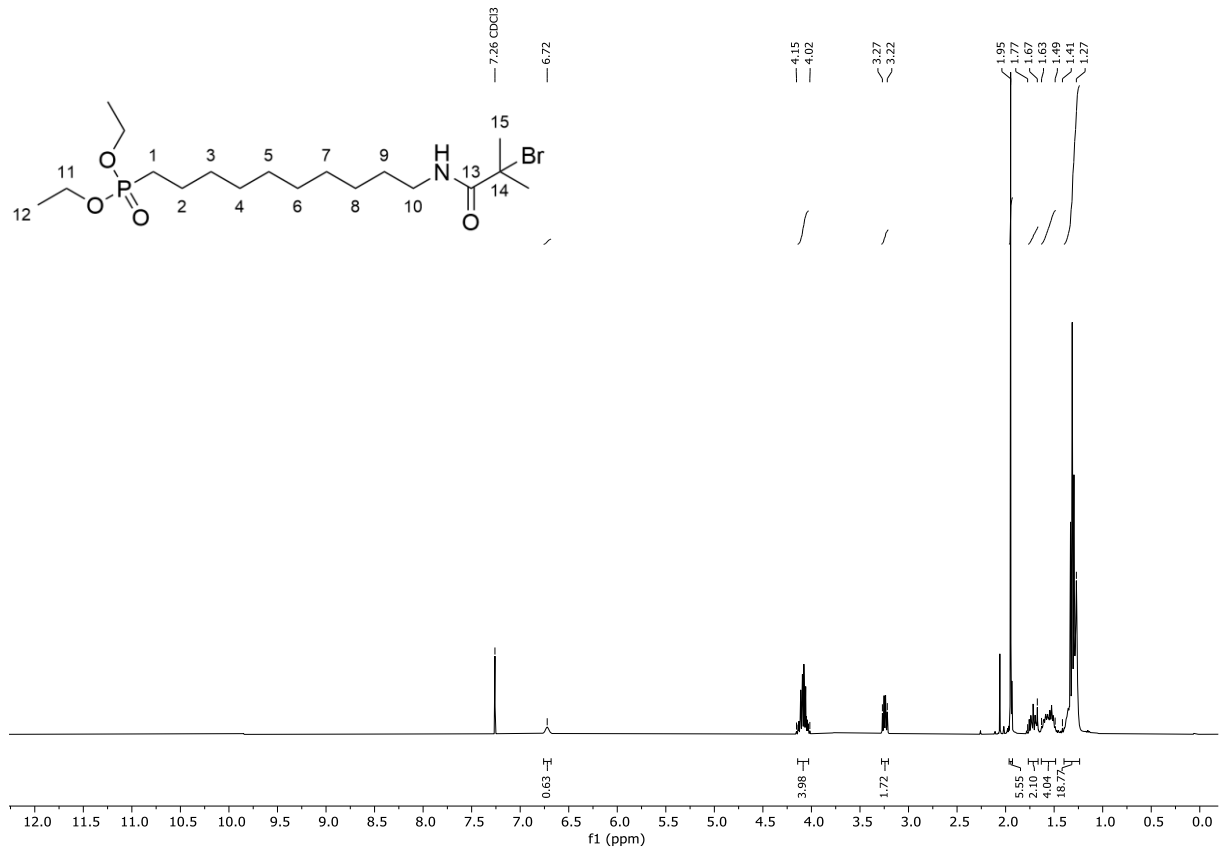


Abbildung 91: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)decyl)phosphonsäure **1d**.

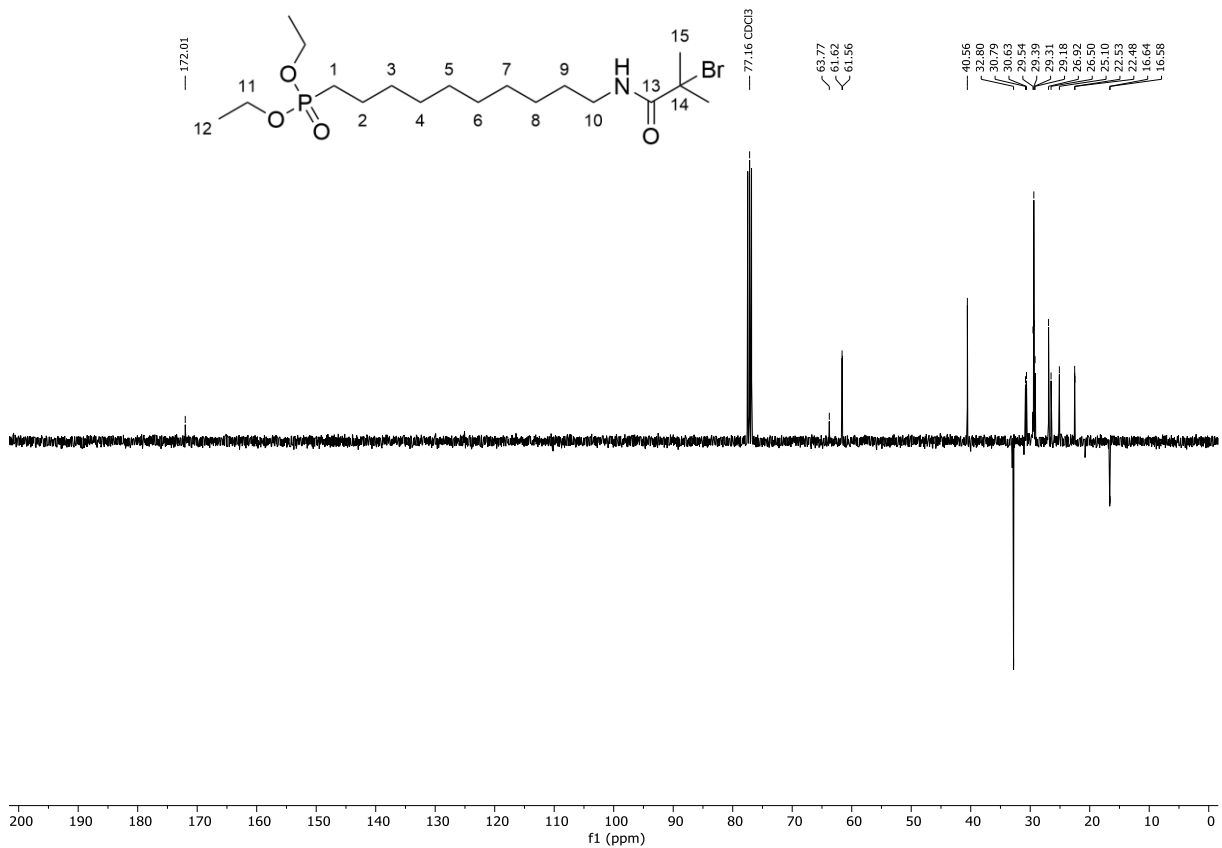


Abbildung 92: $^{13}\text{C-NMR}$ (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)decyl)phosphonsäure **1d**.

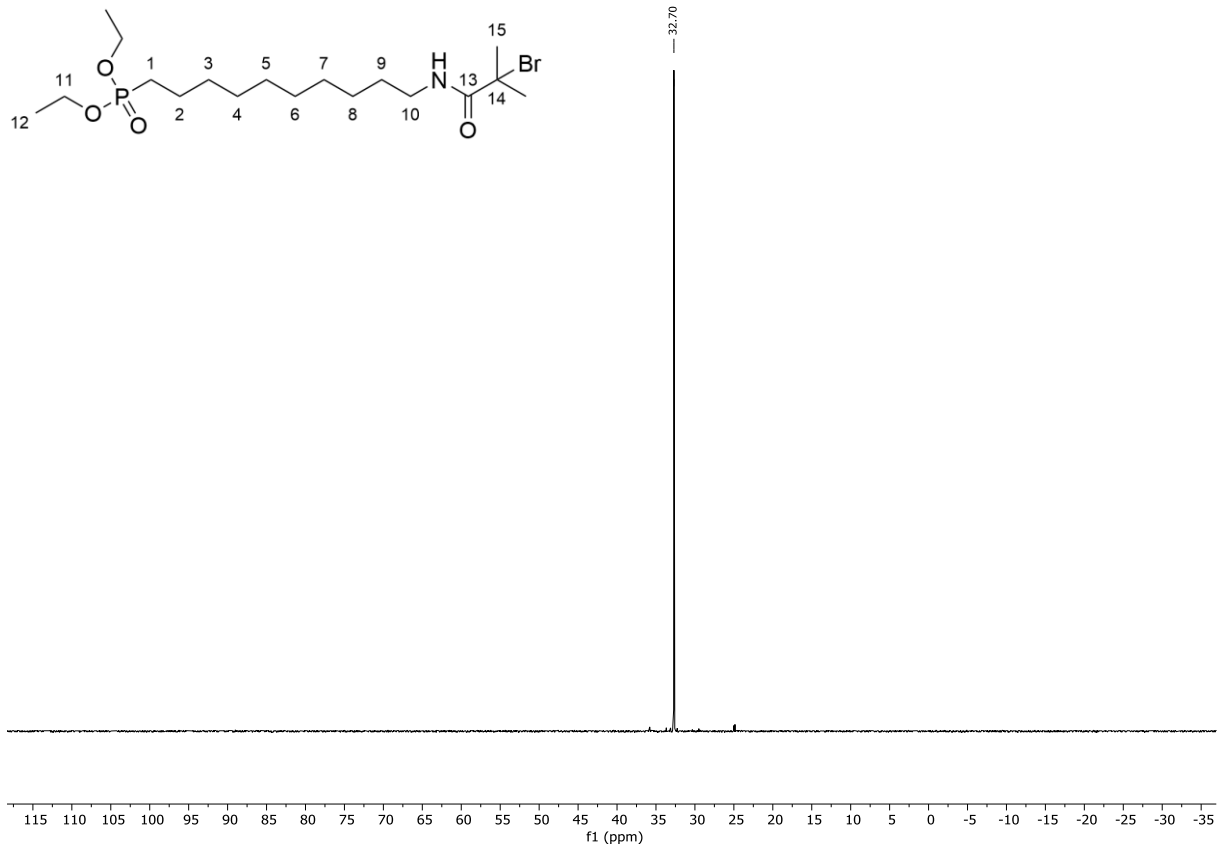


Abbildung 93: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(ω -(α -bromoisobutyramido)decyl)phosphonsäure **1d**.

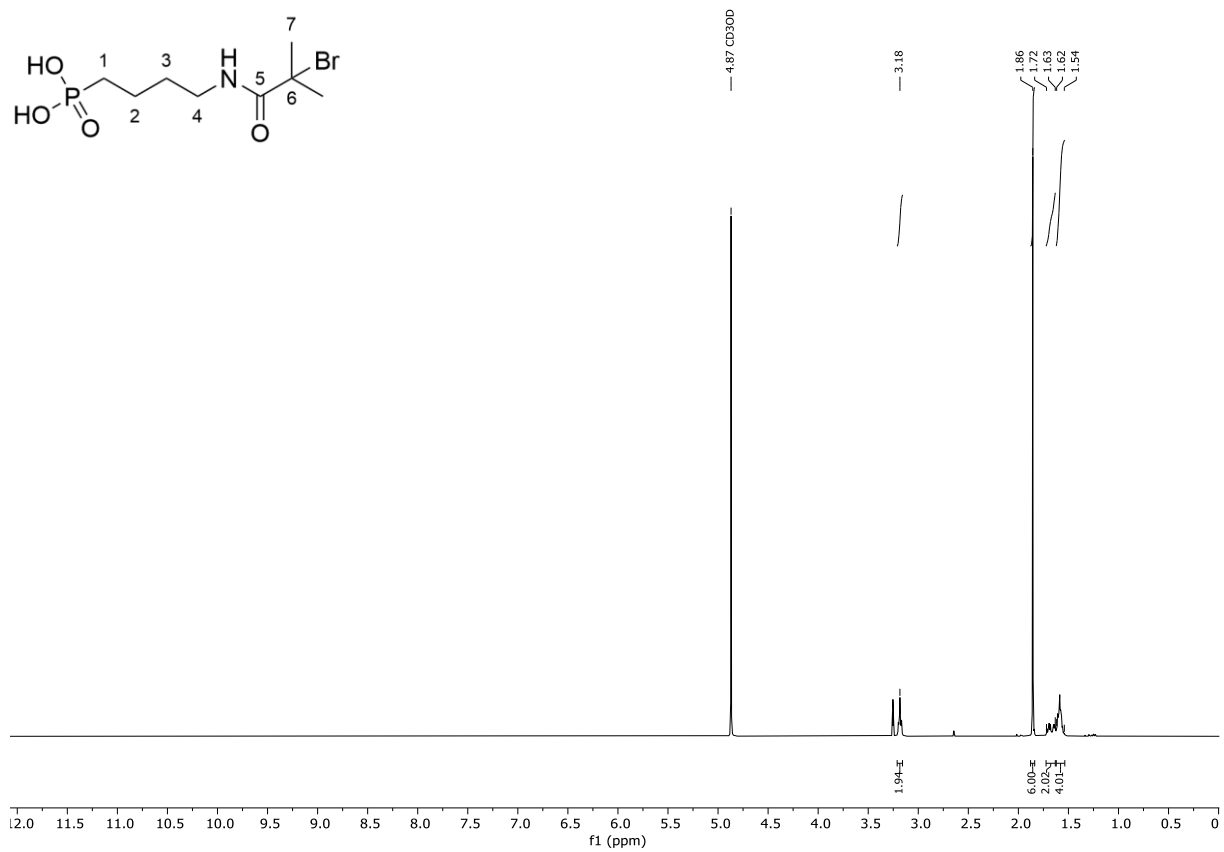


Abbildung 94: ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) von ω -(α -bromoisobutyramido)butylphosphonsäure **ABPA**.

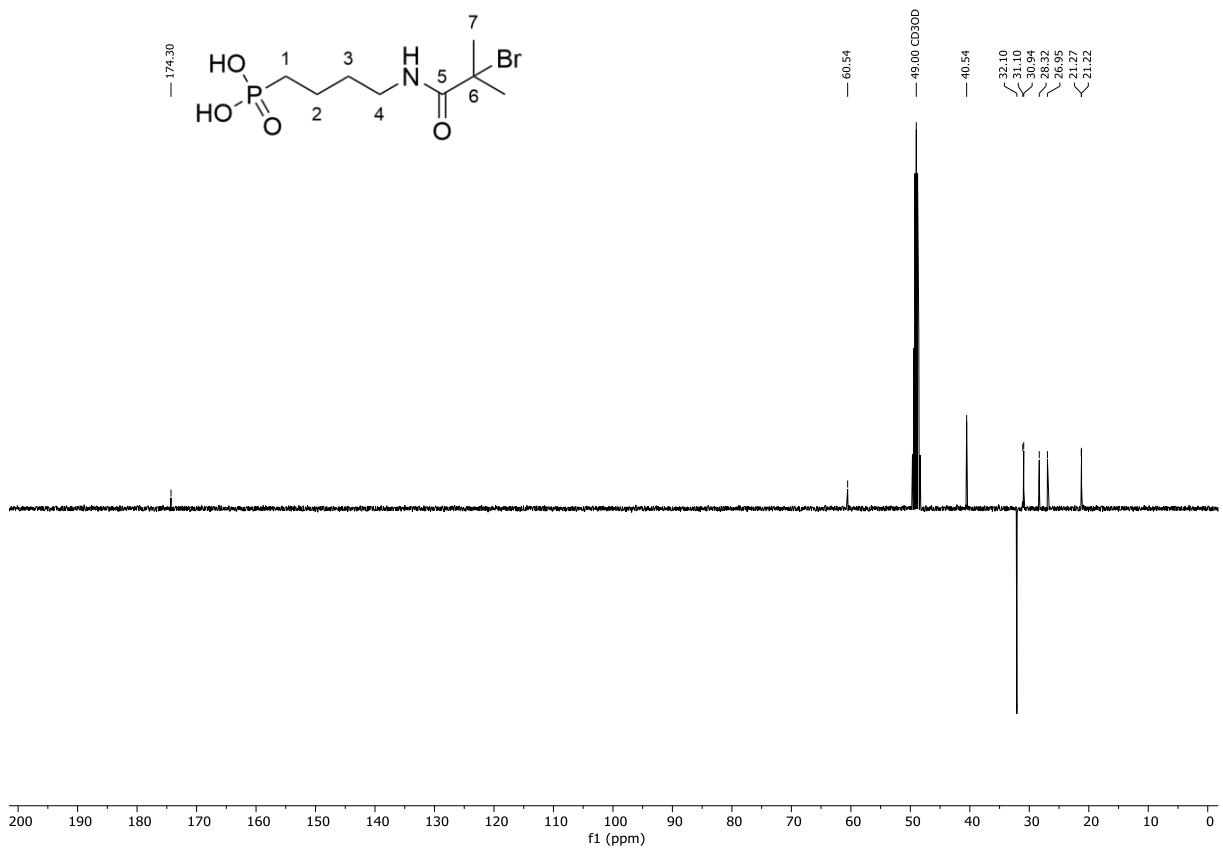


Abbildung 95: ¹³C-NMR {¹H} (101 MHz, CDCl₃) von ω-(α-bromoisobutyramido)butylphosphonsäure **ABPA**.

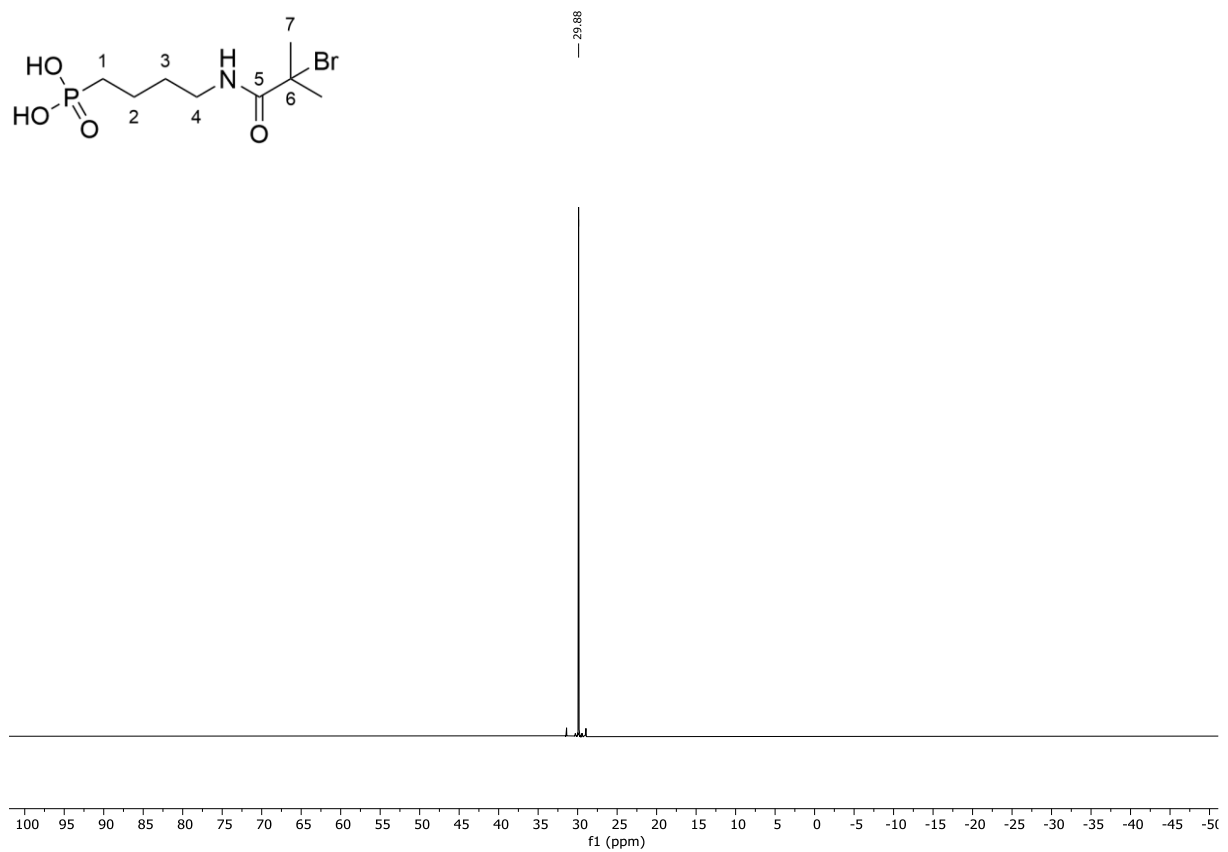


Abbildung 96: ³¹P-NMR {¹H} (162 MHz, CDCl₃) von ω-(α-bromoisobutyramido)butylphosphonsäure **ABPA**.

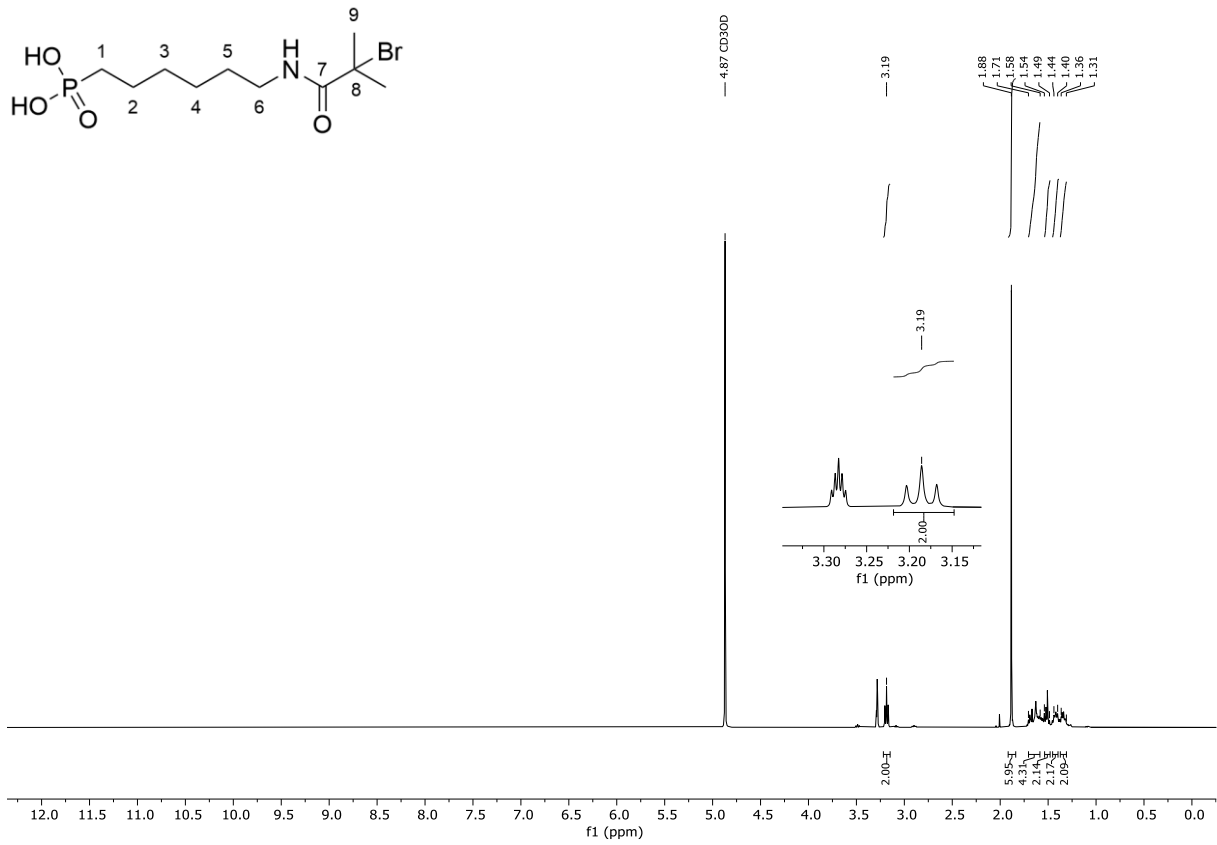


Abbildung 97: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) von ω-(α-bromoisobutyramido)hexylphosphonsäure **AHPA**.

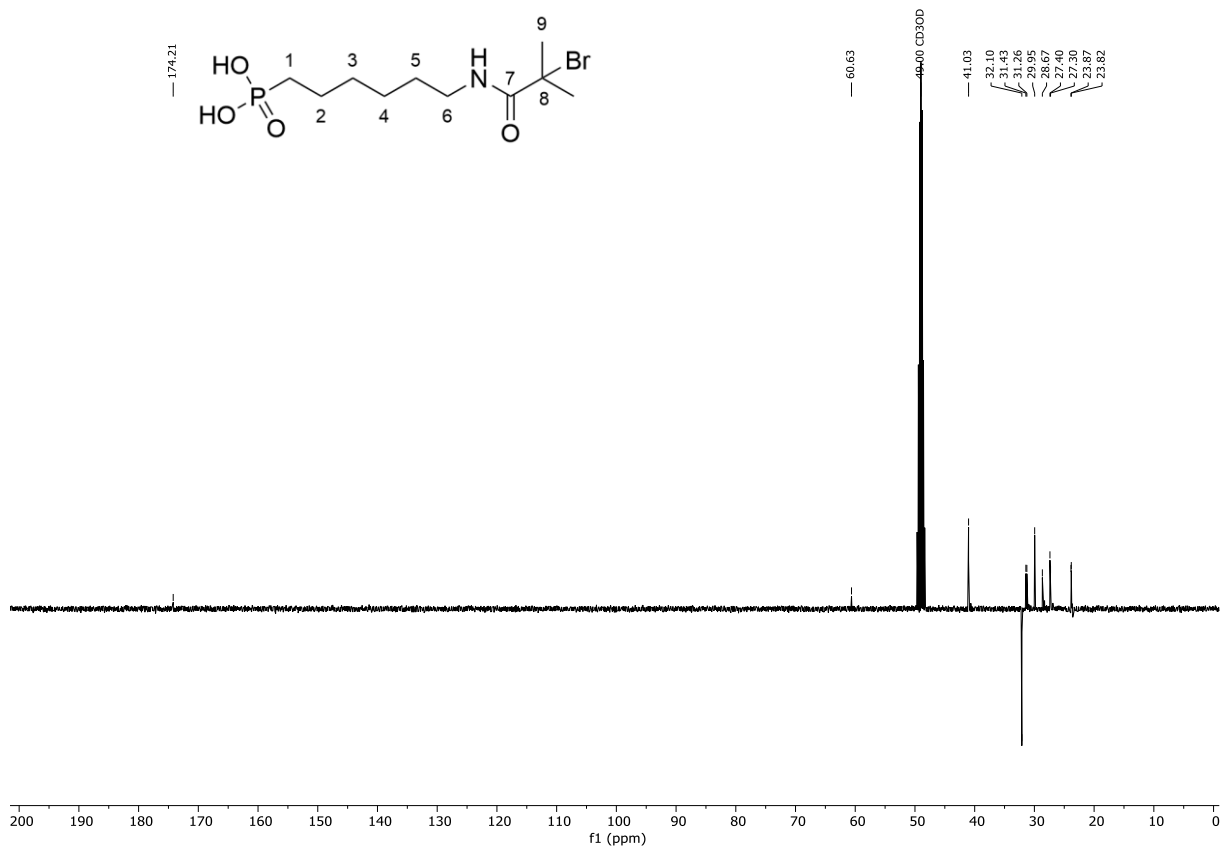


Abbildung 98: ¹³C-NMR (¹H) (101 MHz, CDCl₃) von ω-(α-bromoisobutyramido)hexylphosphonsäure **AHPA**.

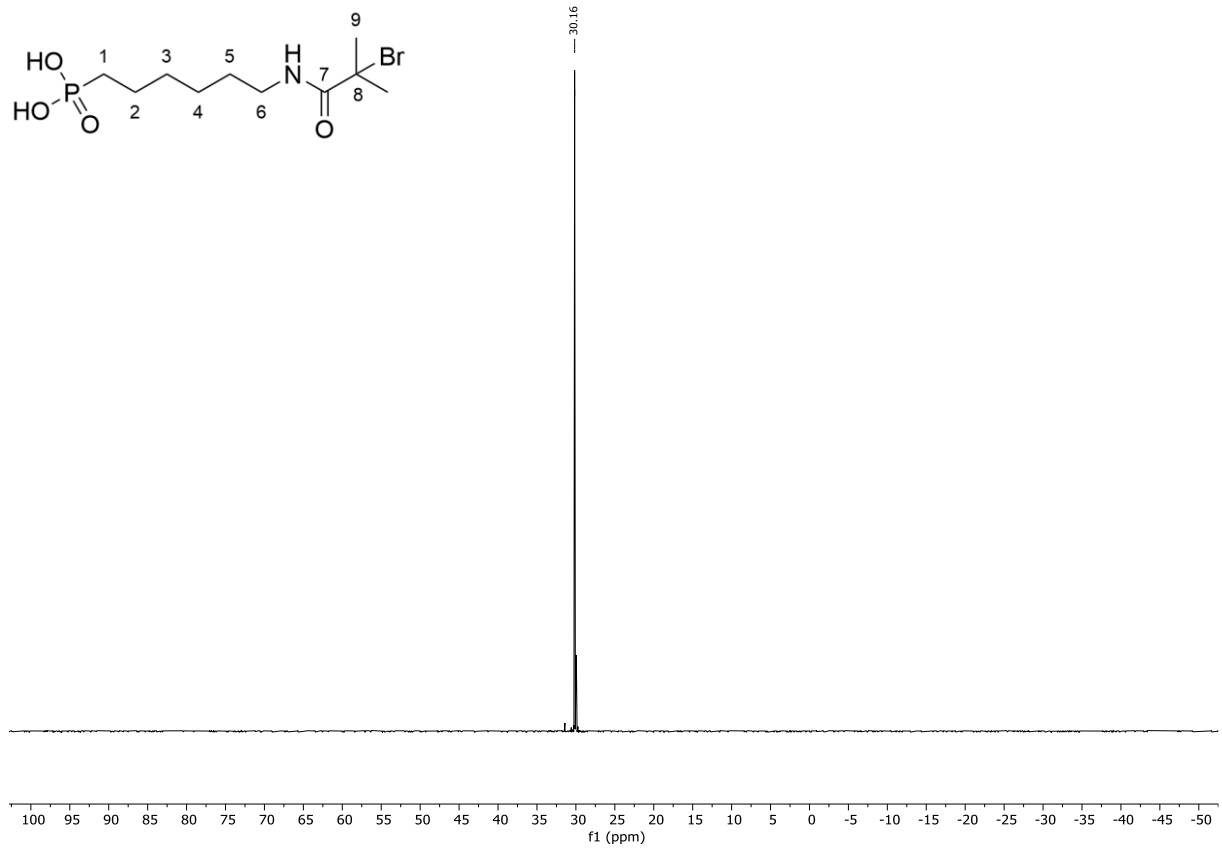


Abbildung 99: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von ω -(α -bromoisobutyramido)hexylphosphonsäure **AHPA**.

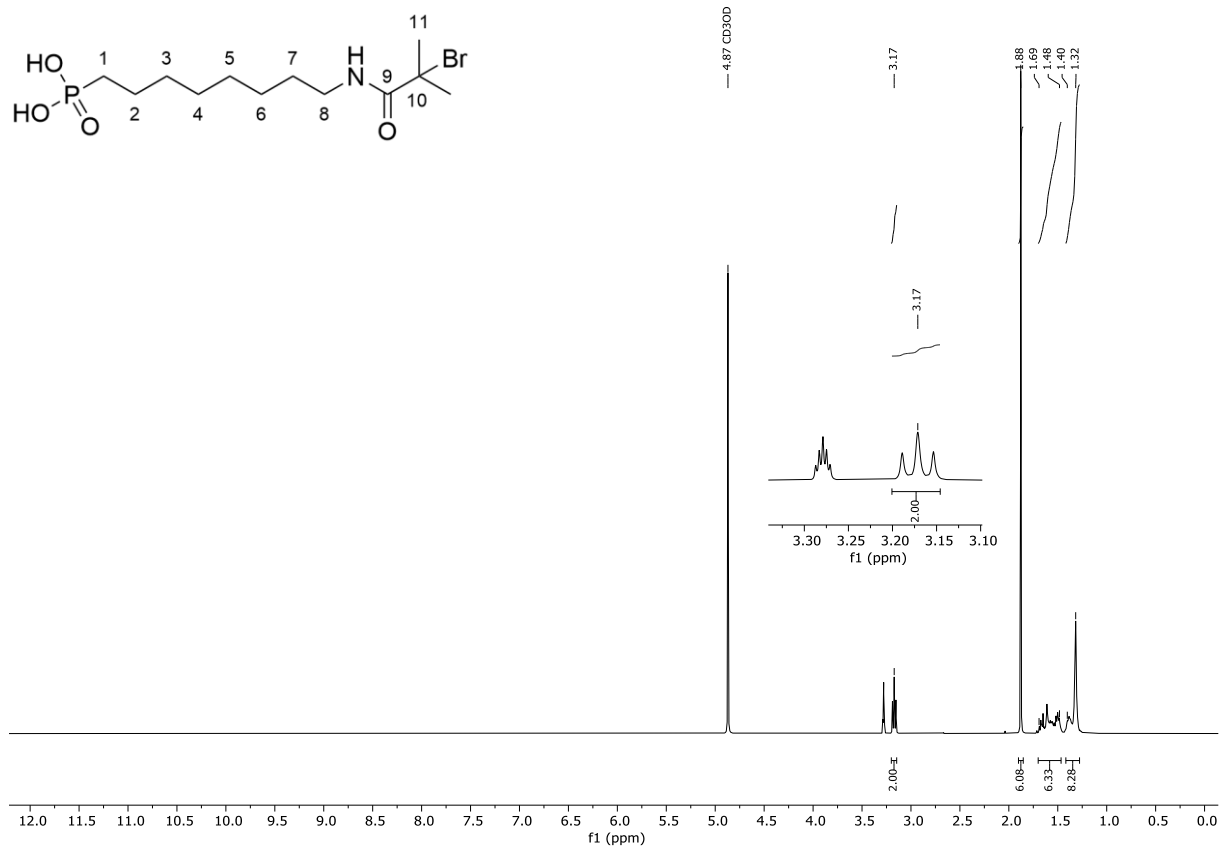


Abbildung 100: ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) von ω -(α -bromoisobutyramido)octylphosphonsäure **AOPA**.

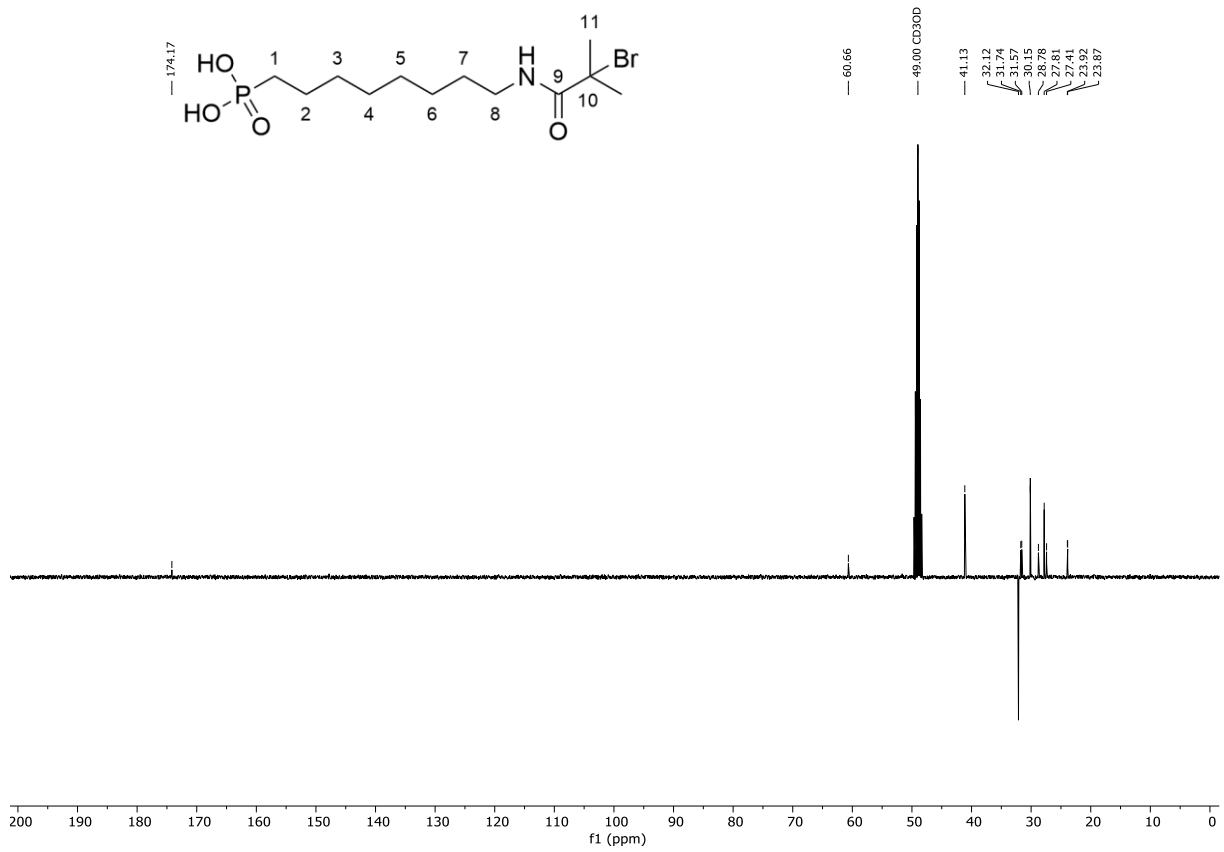


Abbildung 101: ¹³C-NMR {¹H} (101 MHz, CDCl₃) von ω-(α-bromoisobutyramido)octylphosphonsäure **AOPA**.

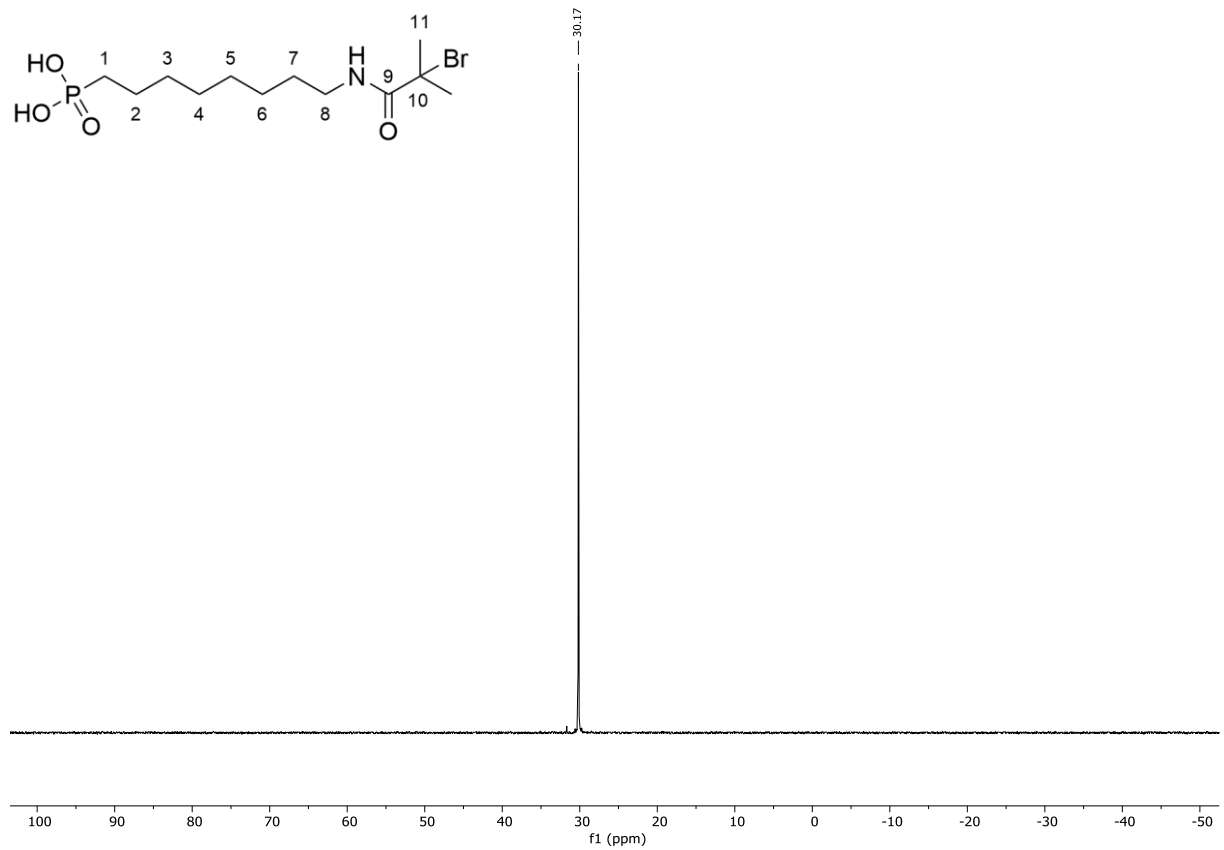


Abbildung 102: ³¹P-NMR {¹H} (162 MHz, CDCl₃) von ω-(α-bromoisobutyramido)octylphosphonsäure **AOPA**.

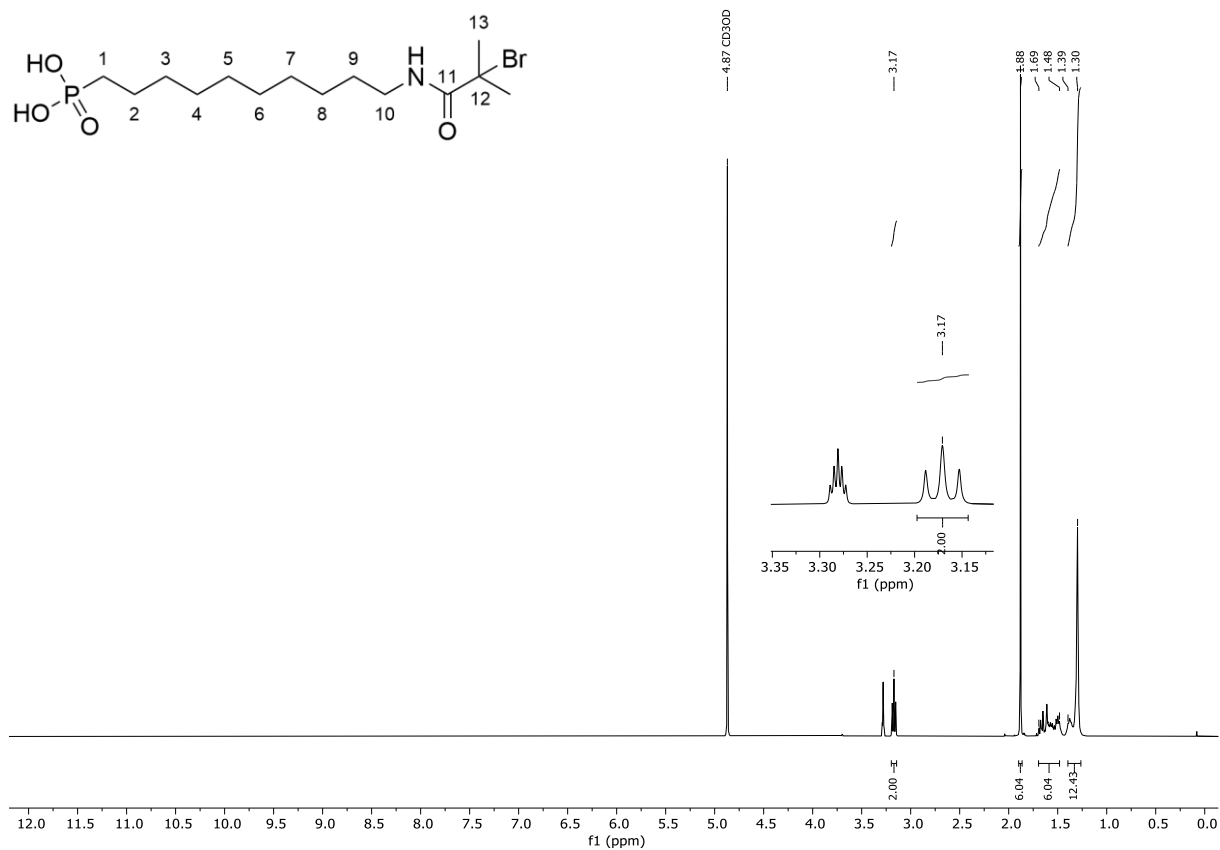


Abbildung 103: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) von ω -(α -bromoisobutyramido)decylphosphonsäure ADPA.

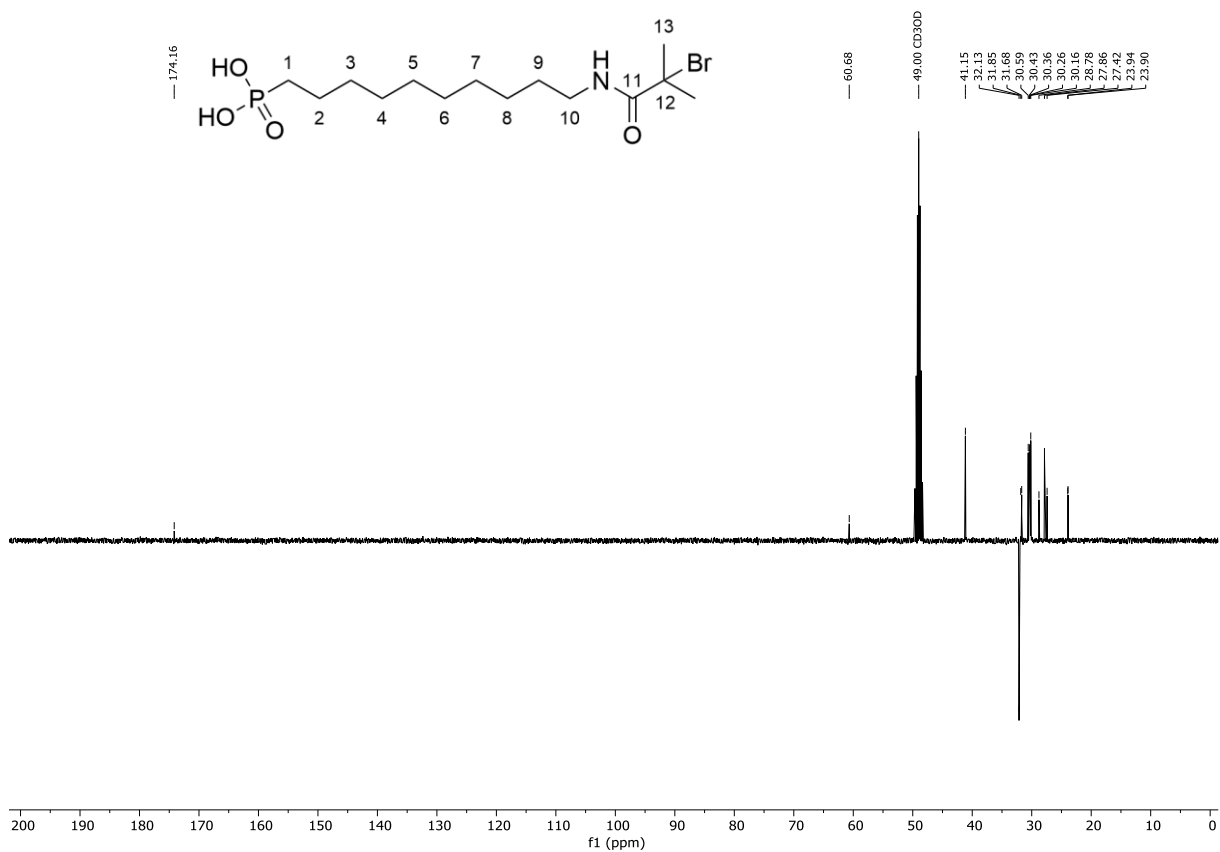


Abbildung 104: $^{13}\text{C-NMR}$ (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von ω -(α -bromoisobutyramido)decylphosphonsäure ADPA.

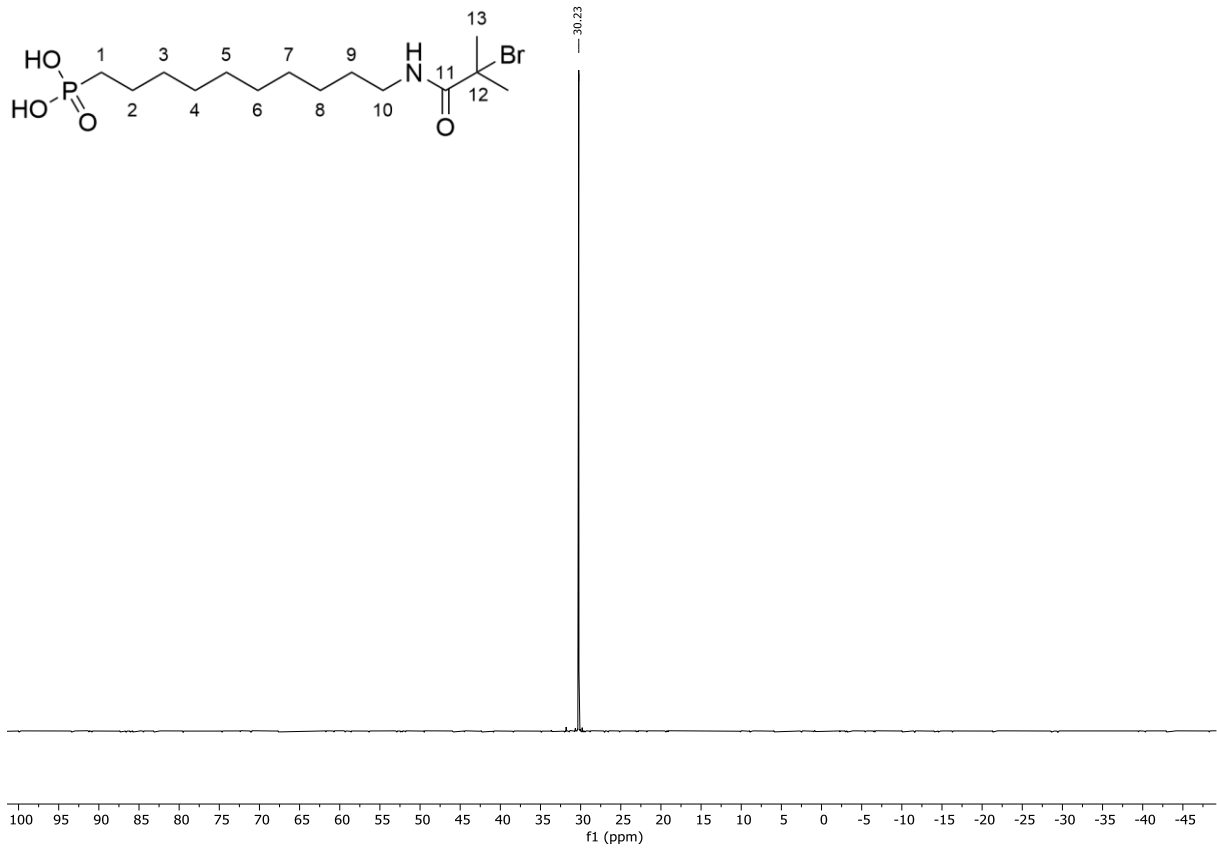


Abbildung 105: $^{31}\text{P-NMR}$ $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CDCl_3) von ω -(α -bromoisobutyramido)decylphosphonsäure ADPA.

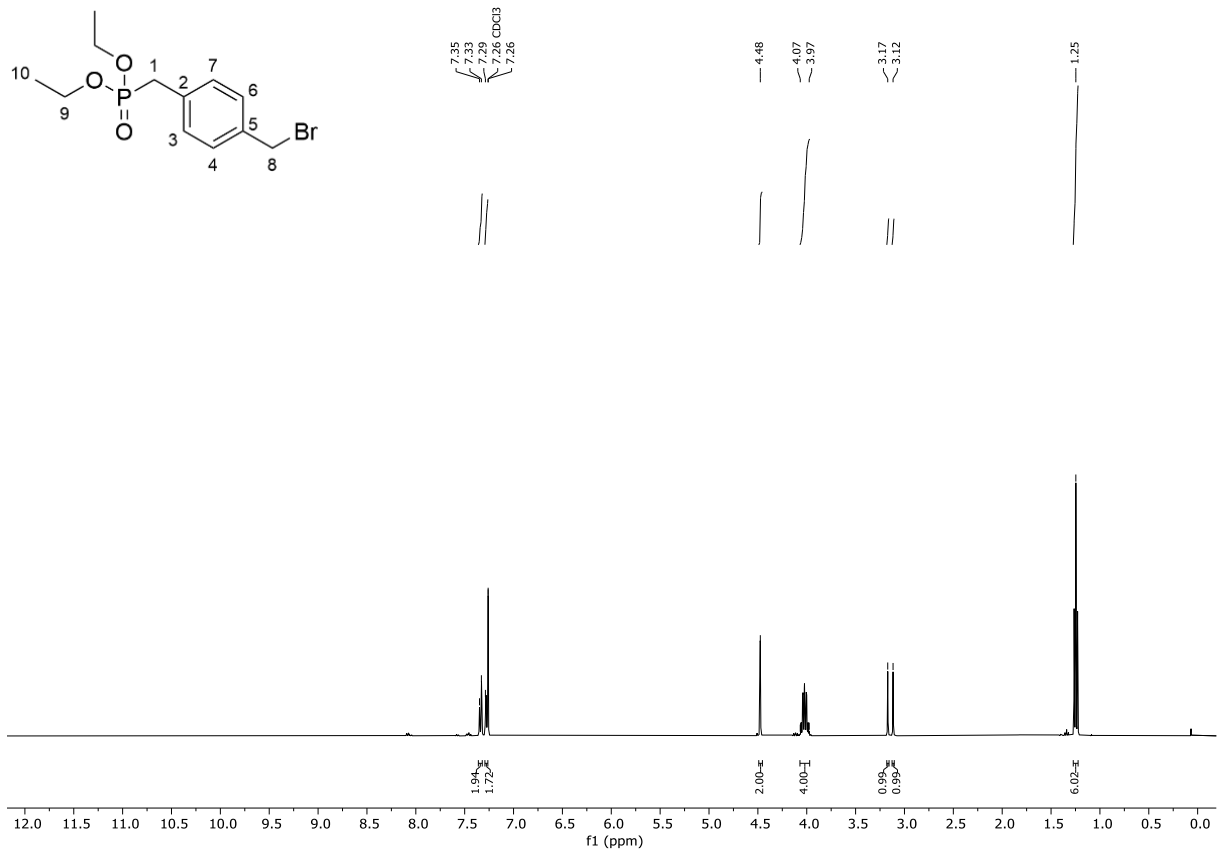


Abbildung 106: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) von Diethyl(4-Bromomethyl)benzylphosphonsäure 8.

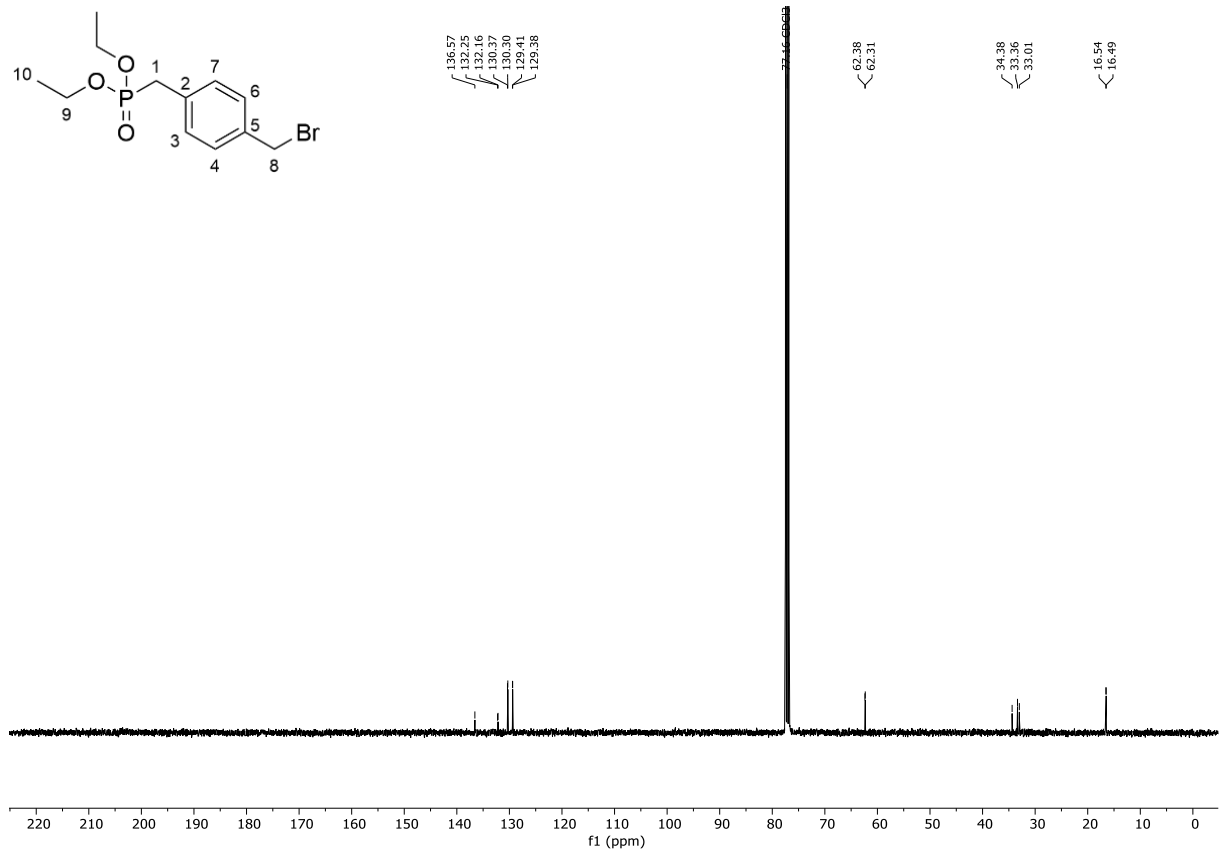


Abbildung 107: ^{13}C -NMR $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl(4-Bromomethyl)benzyl)phosphonsäure **8**.

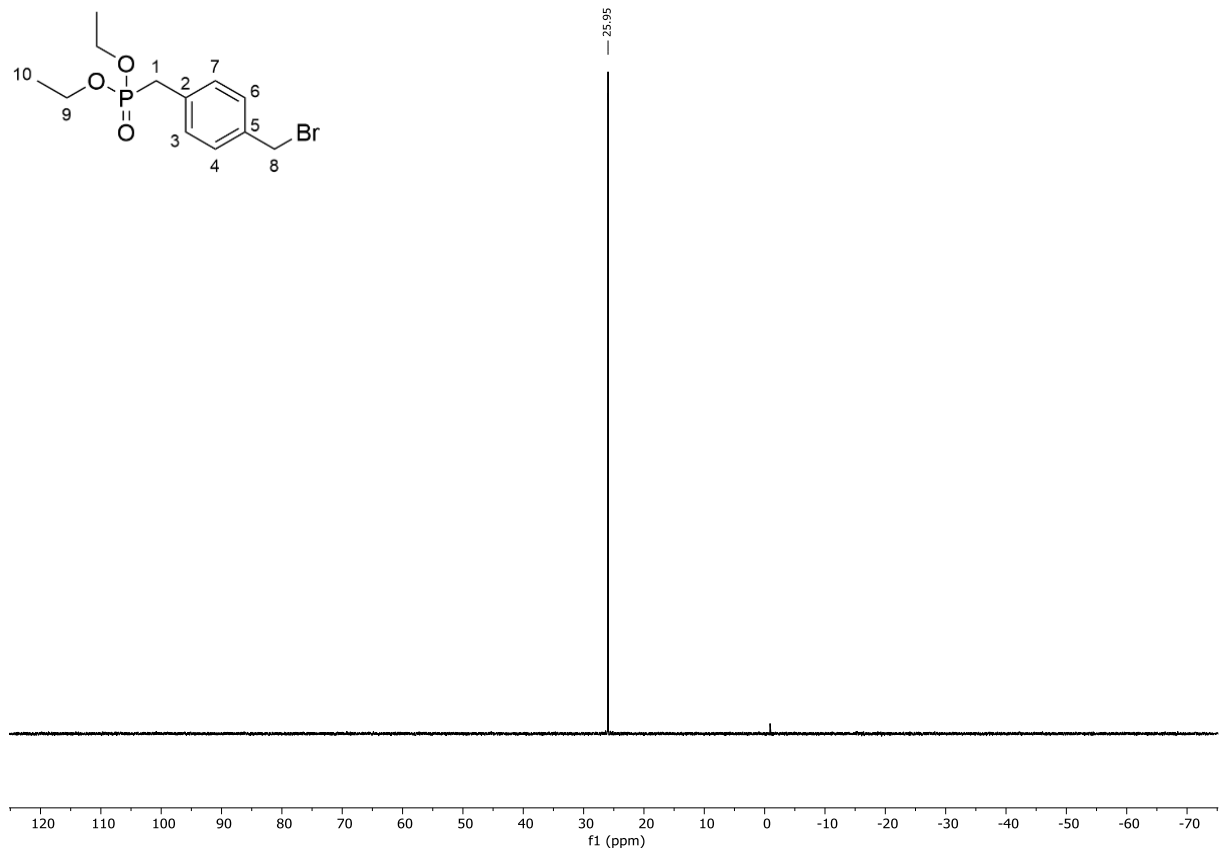
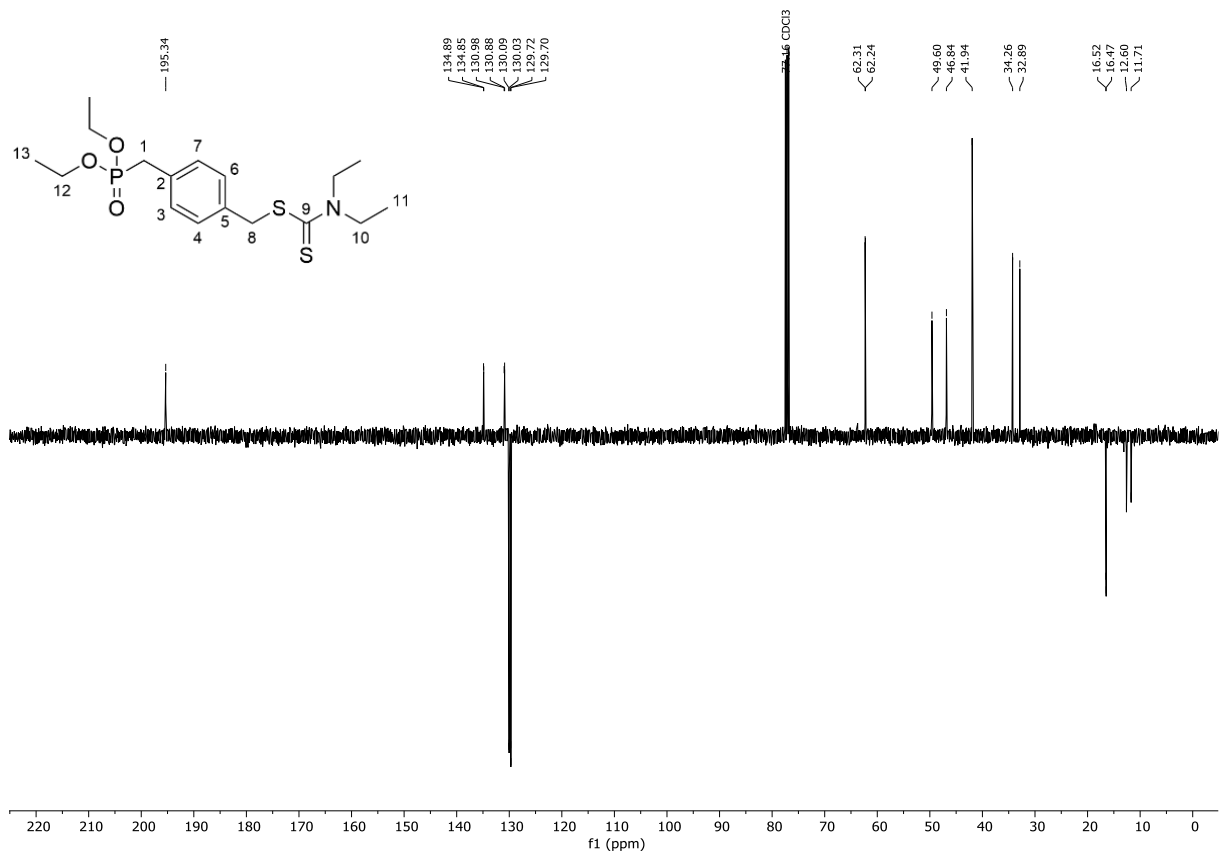
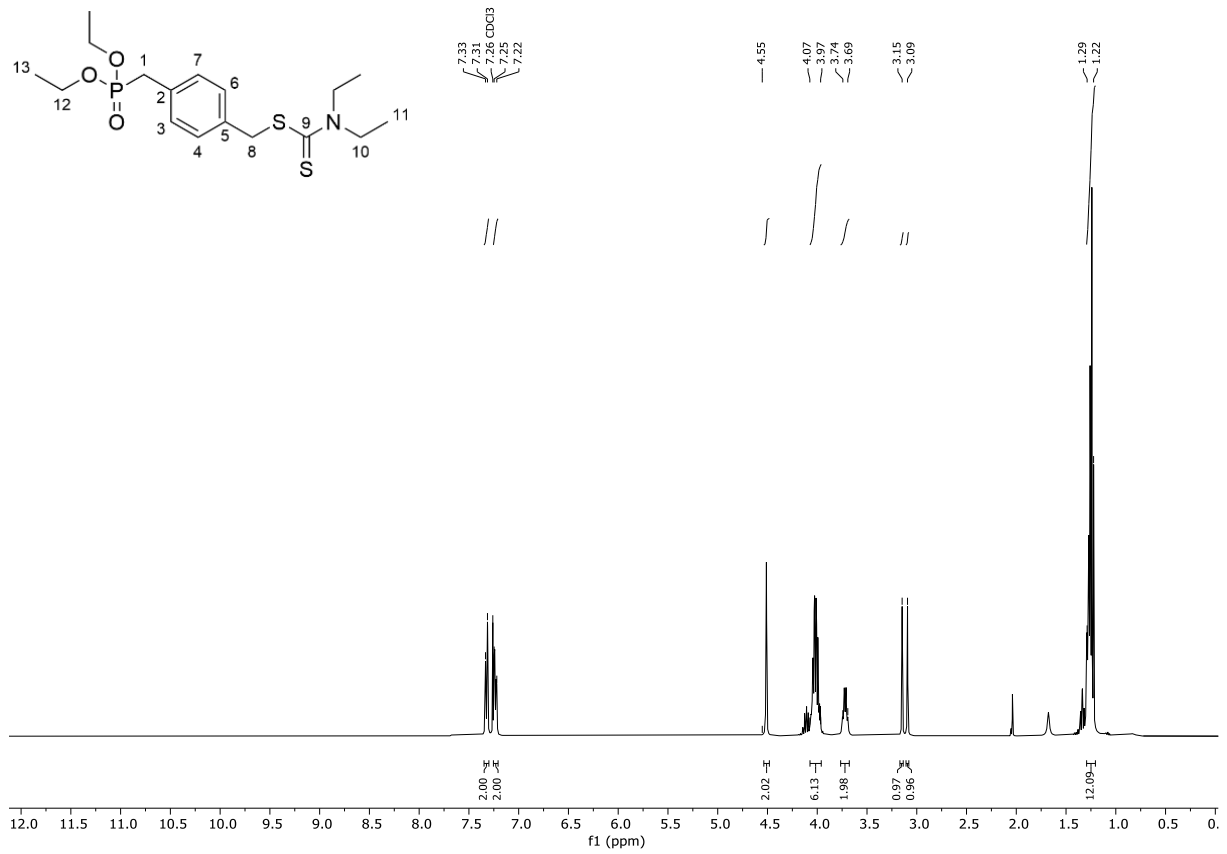


Abbildung 108: ^{31}P -NMR $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl(4-Bromomethyl)benzyl)phosphonsäure **8**.



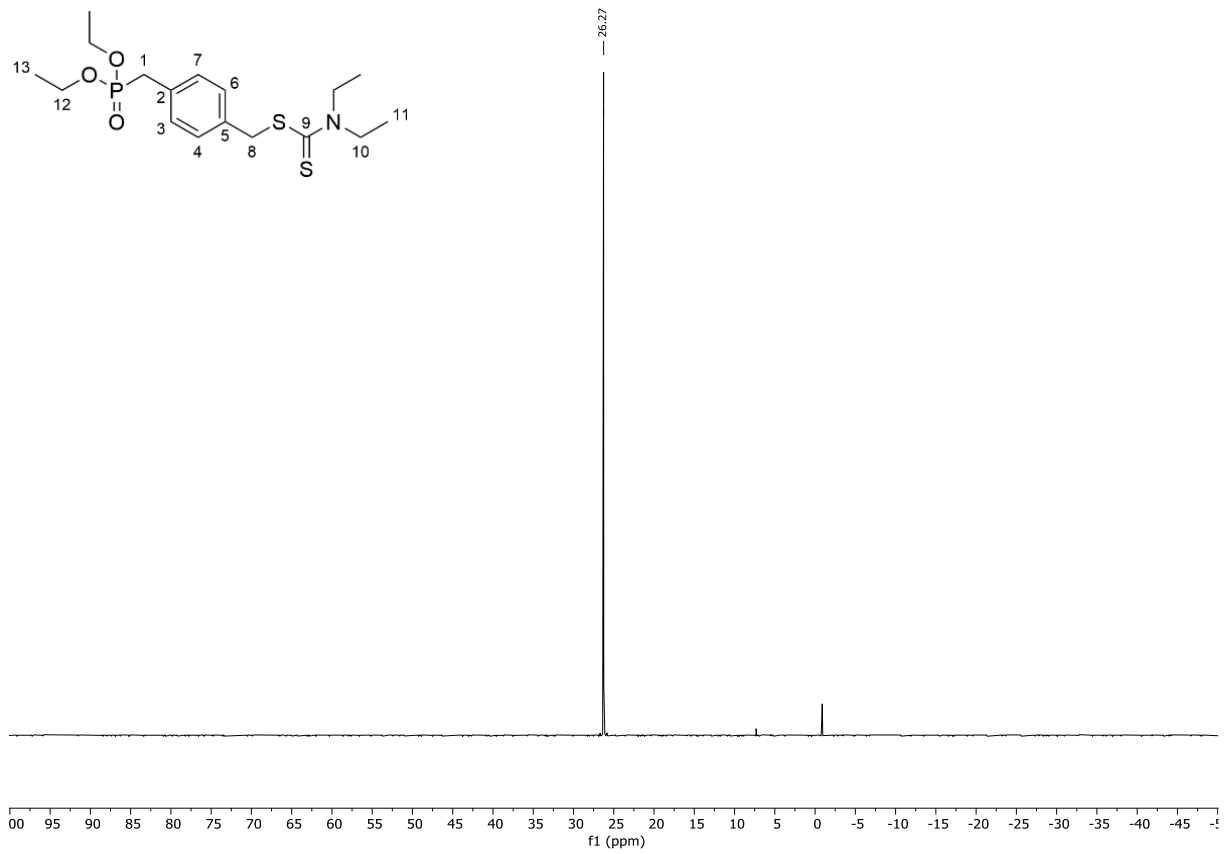


Abbildung 111: ^{31}P -NMR (^1H) (162 MHz, CDCl_3) von 4-((diethoxyphosphoryl)methyl)benzyl diethylcarbamodithioat 7.

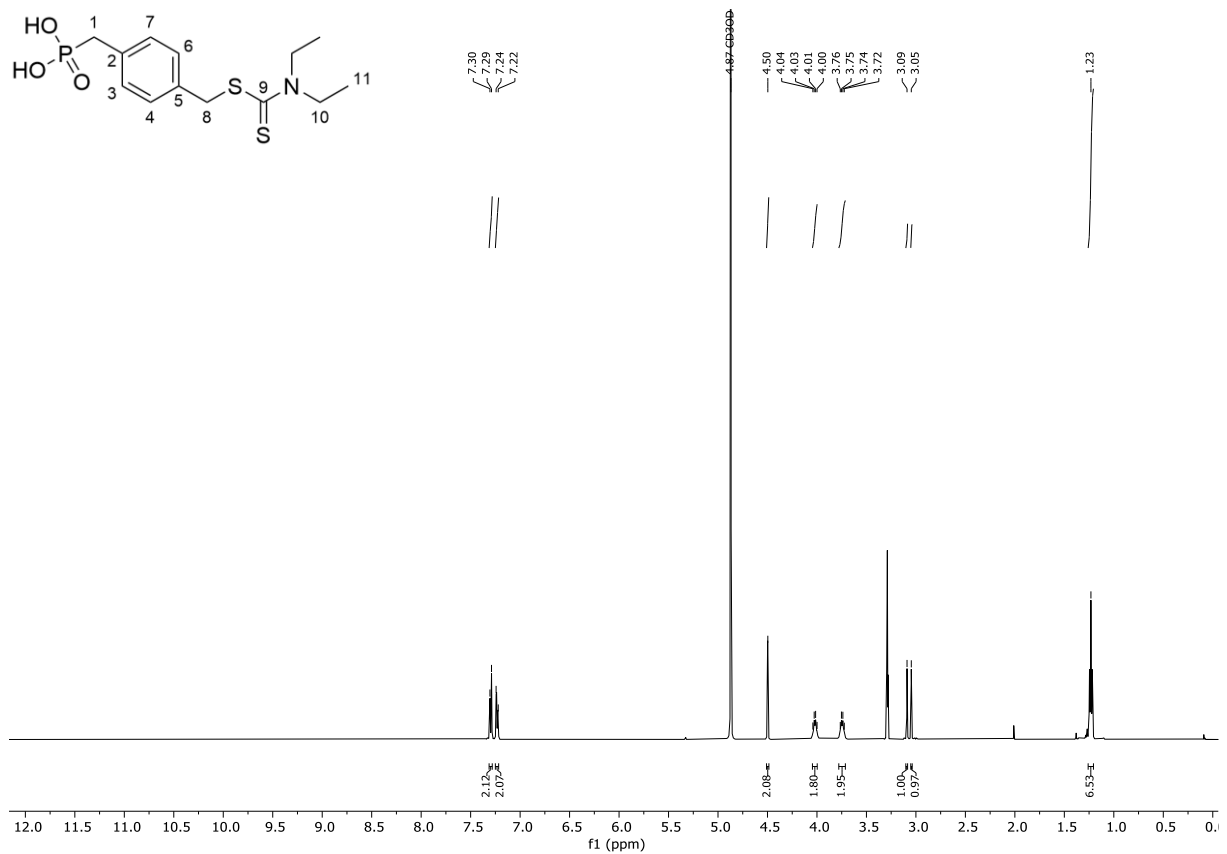


Abbildung 112: ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) von 4-(phosphorylmethyl)benzyl diethylcarbamodithioat CTPA.

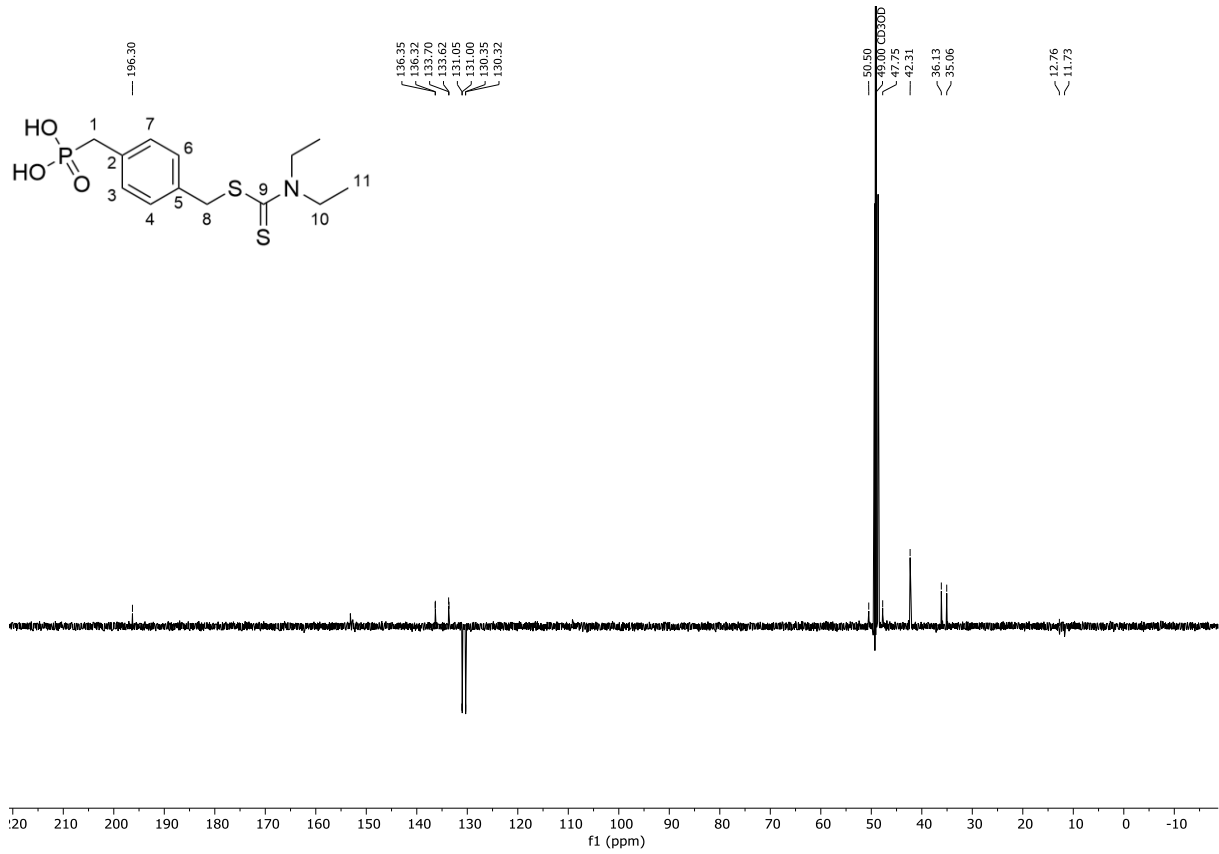


Abbildung 113: ^{13}C -NMR $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, CD_3OD) von 4-(phosphorylmethyl)benzyl diethylcarbamodithioat CTPA.

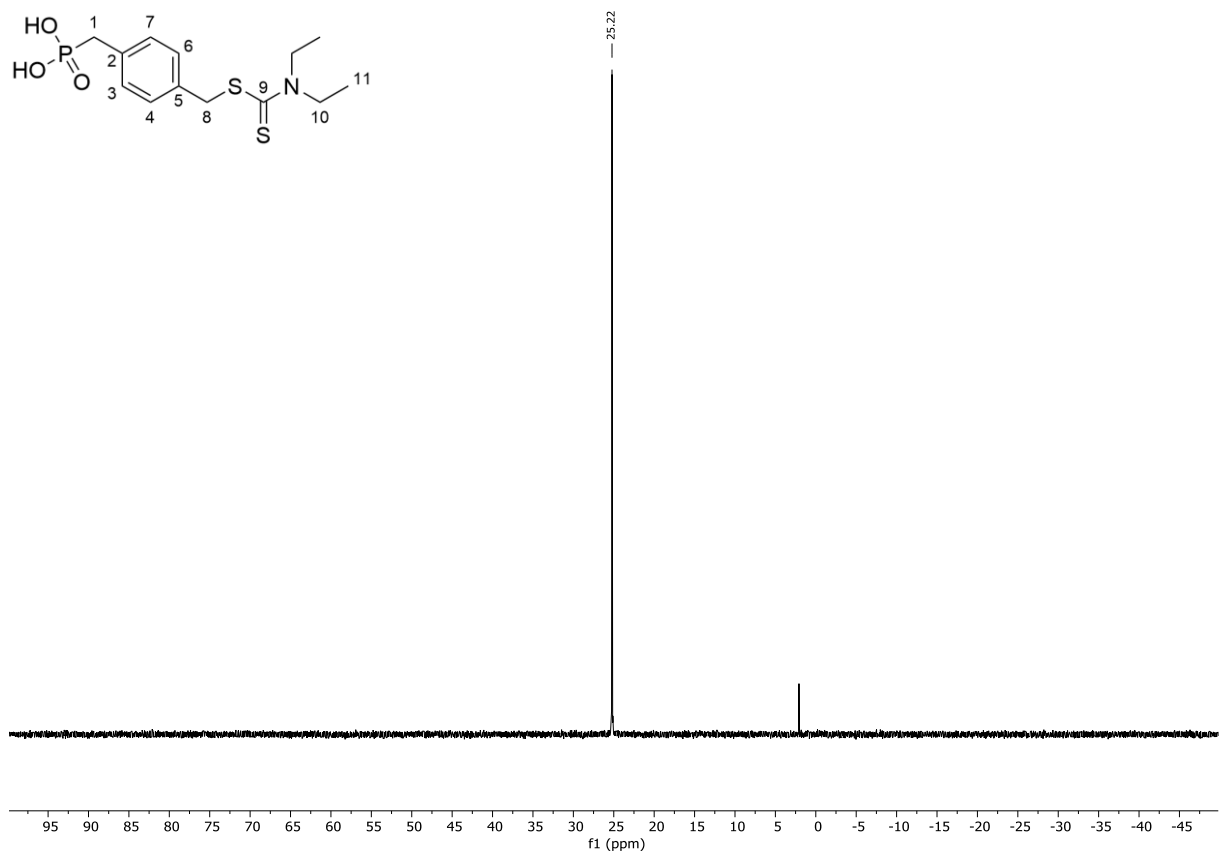


Abbildung 114: ^{31}P -NMR $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CD_3OD) von 4-(phosphorylmethyl)benzyl diethylcarbamodithioat CTPA.

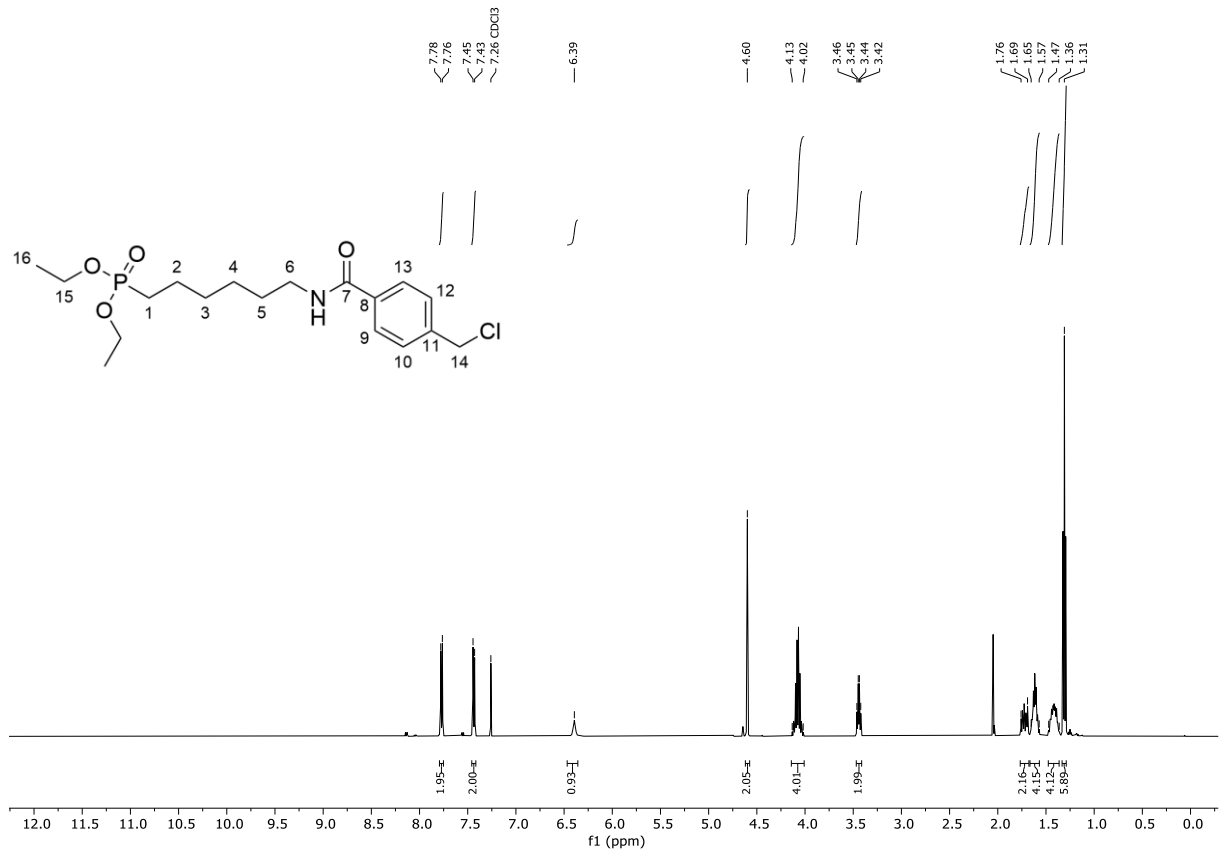


Abbildung 115: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(6-(4-(chloromethyl)benzamido)hexyl)phosphonsäure 11.

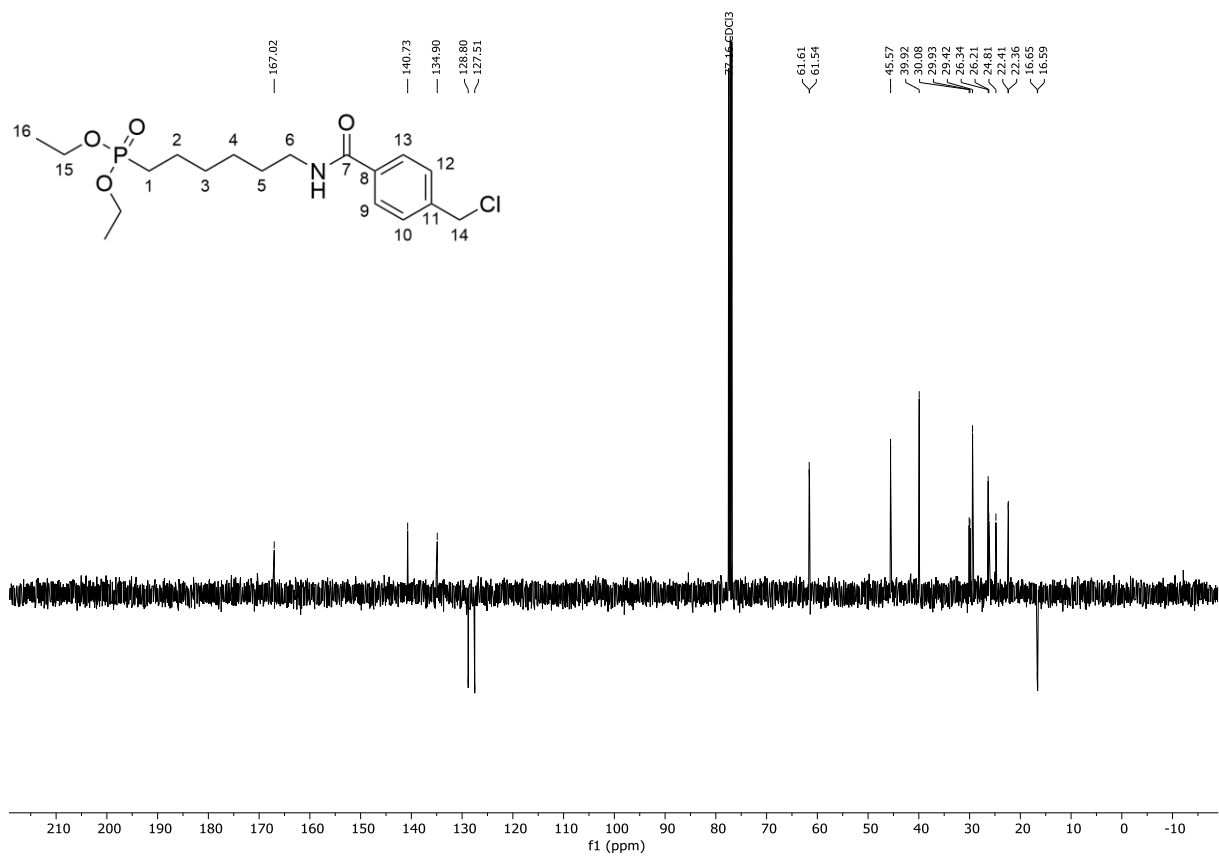


Abbildung 116: $^{13}\text{C-NMR}$ (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(6-(4-(chloromethyl)benzamido)hexyl)phosphonsäure 11.

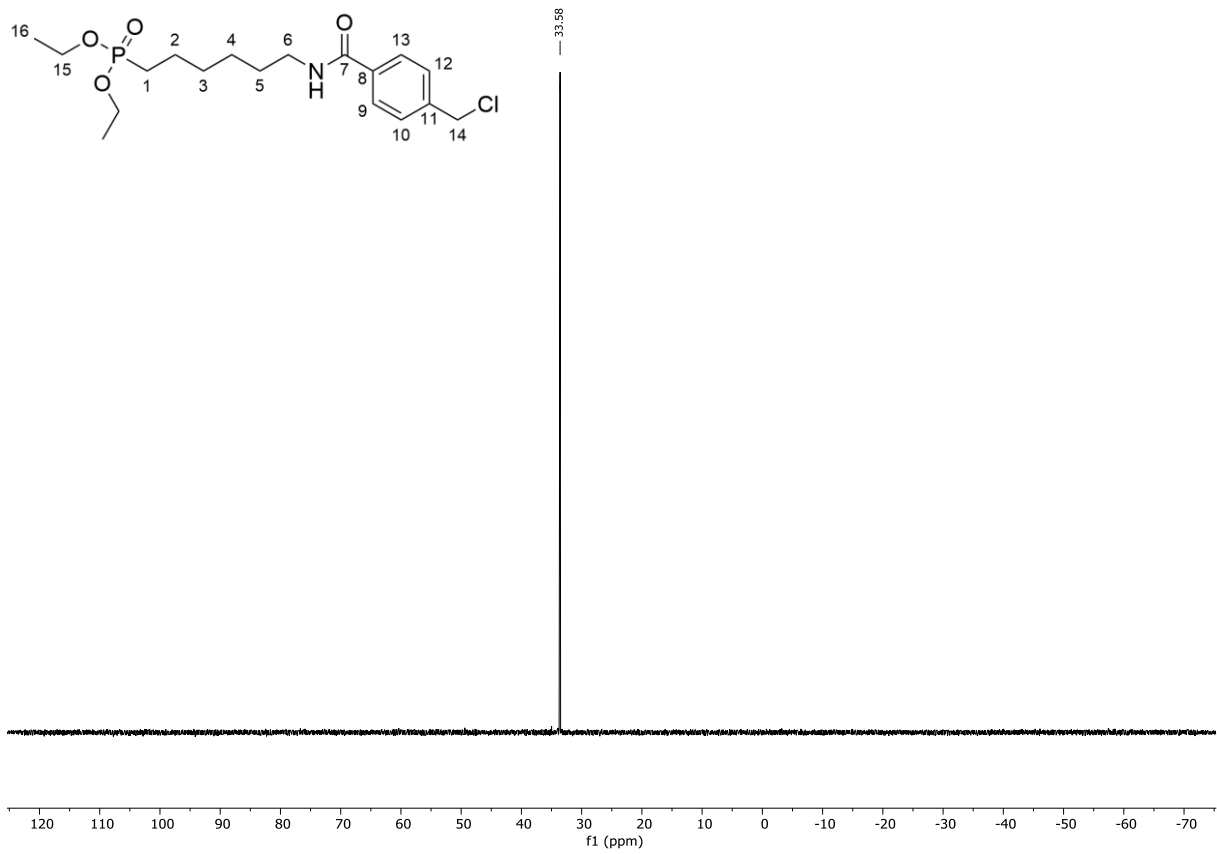


Abbildung 117: ^{31}P -NMR $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CDCl_3) von Diethyl-(6-(4-(chloromethyl)benzamido)hexyl)phosphonsäure 11.

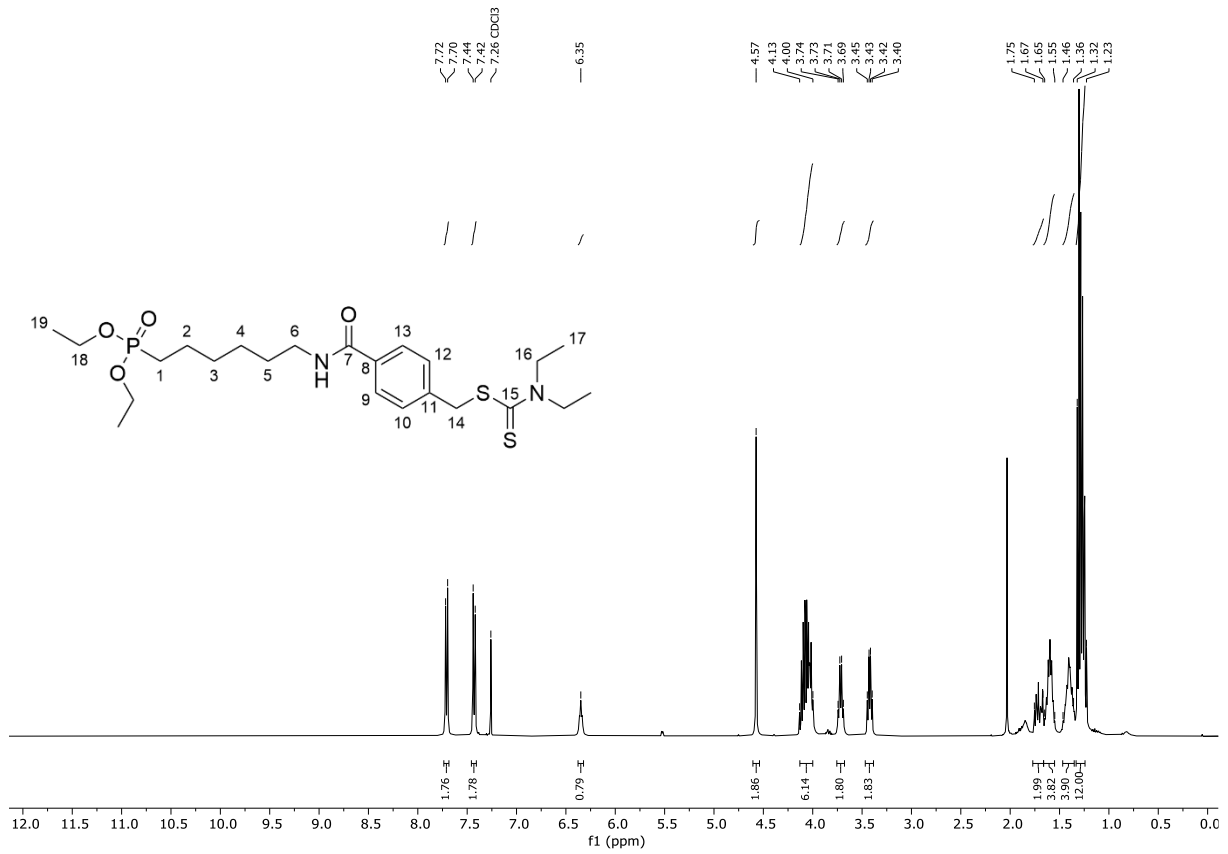


Abbildung 118: ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) von 4-((6-(diethoxyphosphoryl)hexyl)carbamoyl)benzyl-diethyl-carbamodithioat **10**.

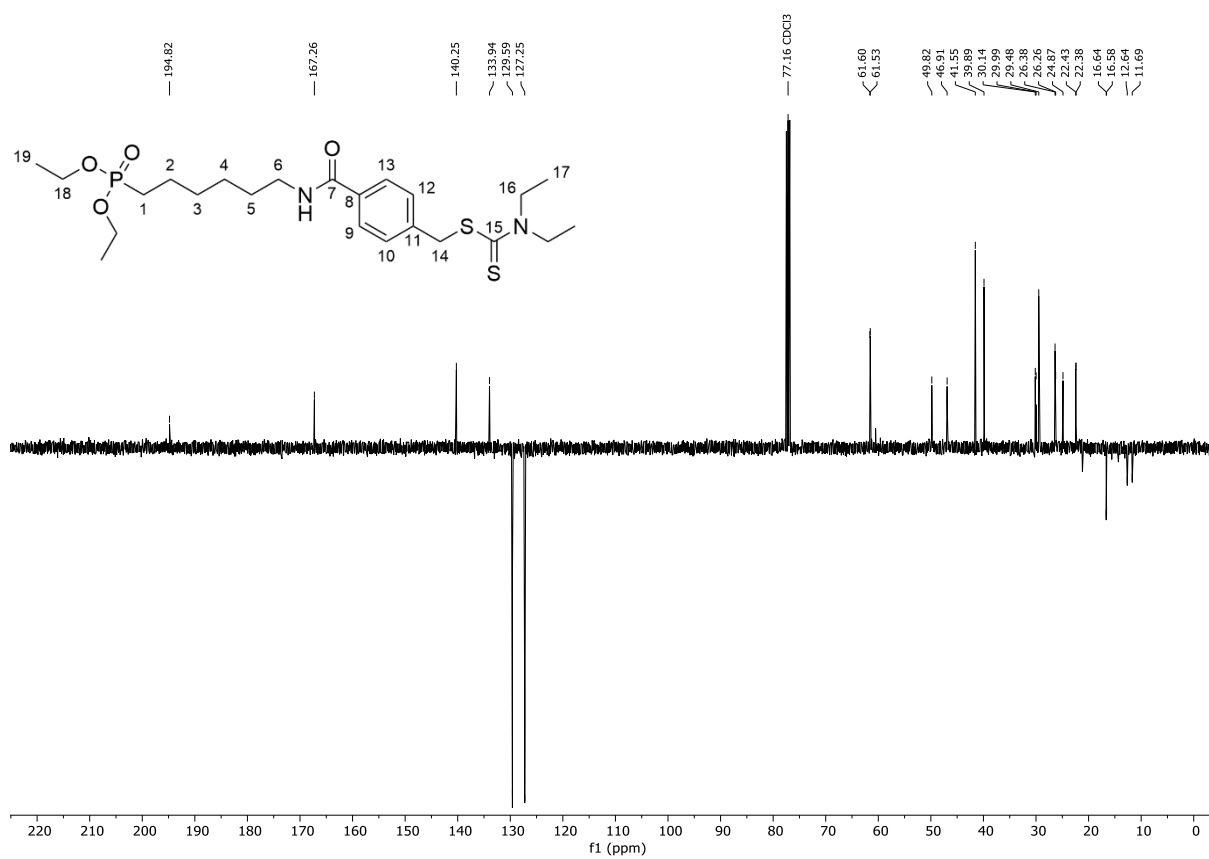


Abbildung 119: ^{13}C -NMR (^1H) (101 MHz, CDCl_3) von 4-((6-(diethoxyphosphoryl)hexyl)carbamoyl)benzyl-diethyl-carbamodithioat **10**.

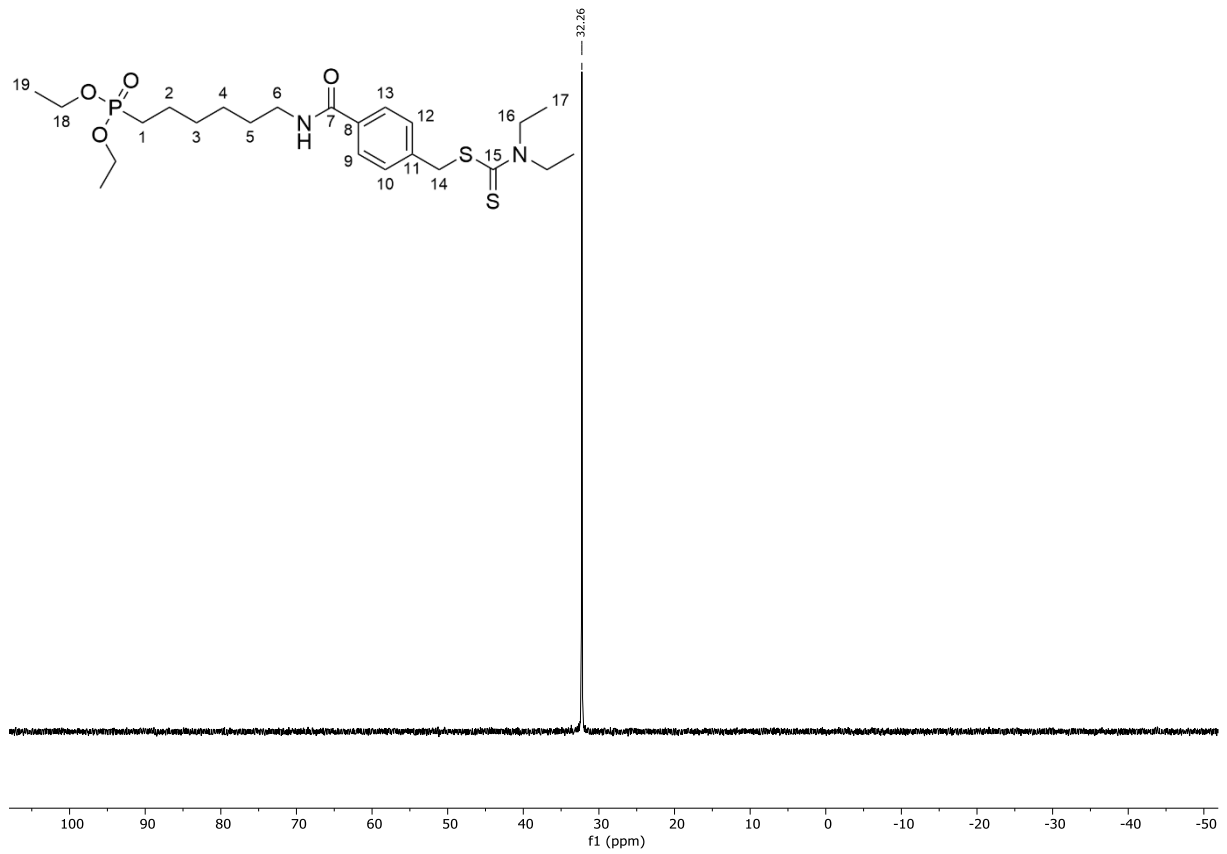


Abbildung 120: ^{31}P -NMR $\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CDCl_3) von 4-((6-(diethoxyphosphoryl)hexyl)carbamoyl)benzyl-diethyl-carbamodithioat **10**.

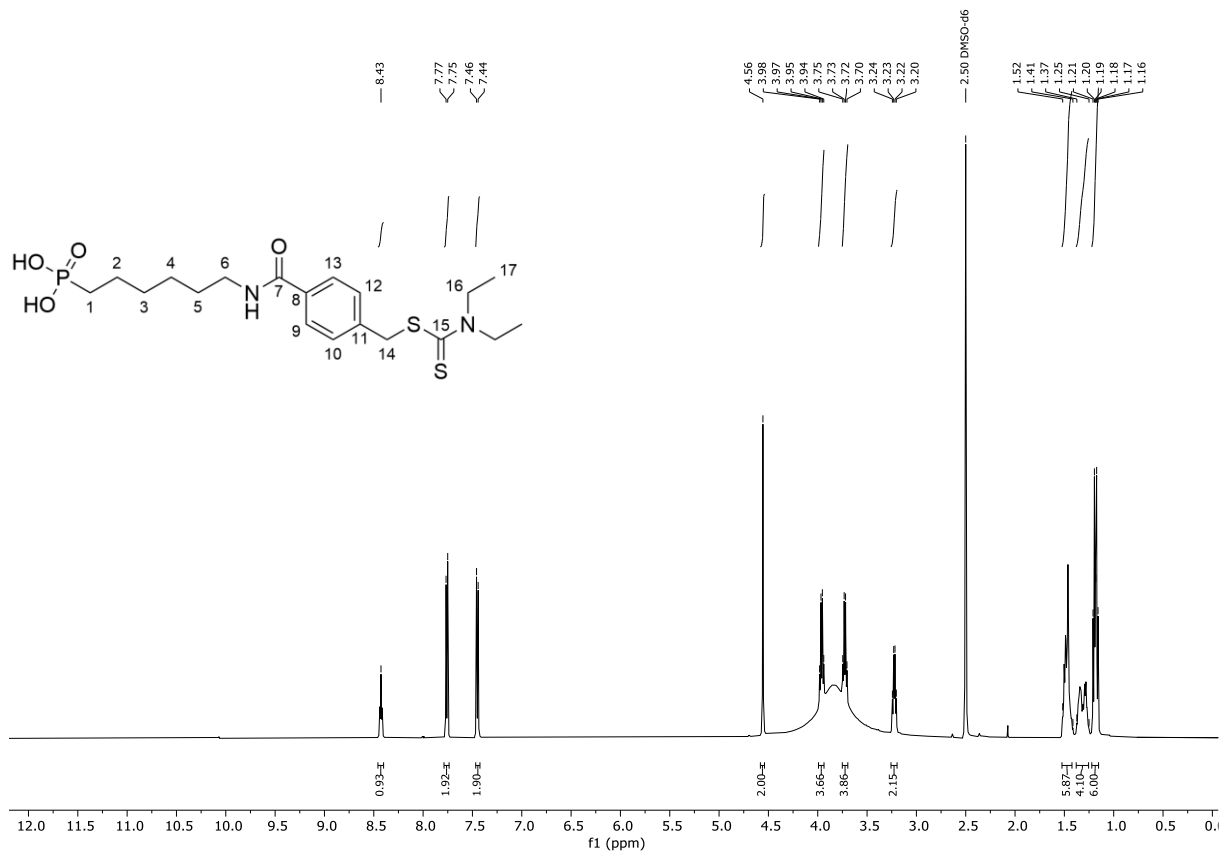


Abbildung 121: ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) von (6-(4-(((diethylcarbamothioyl)thio)methyl)benzamido)hexyl)-phosphonsäure CTHP.

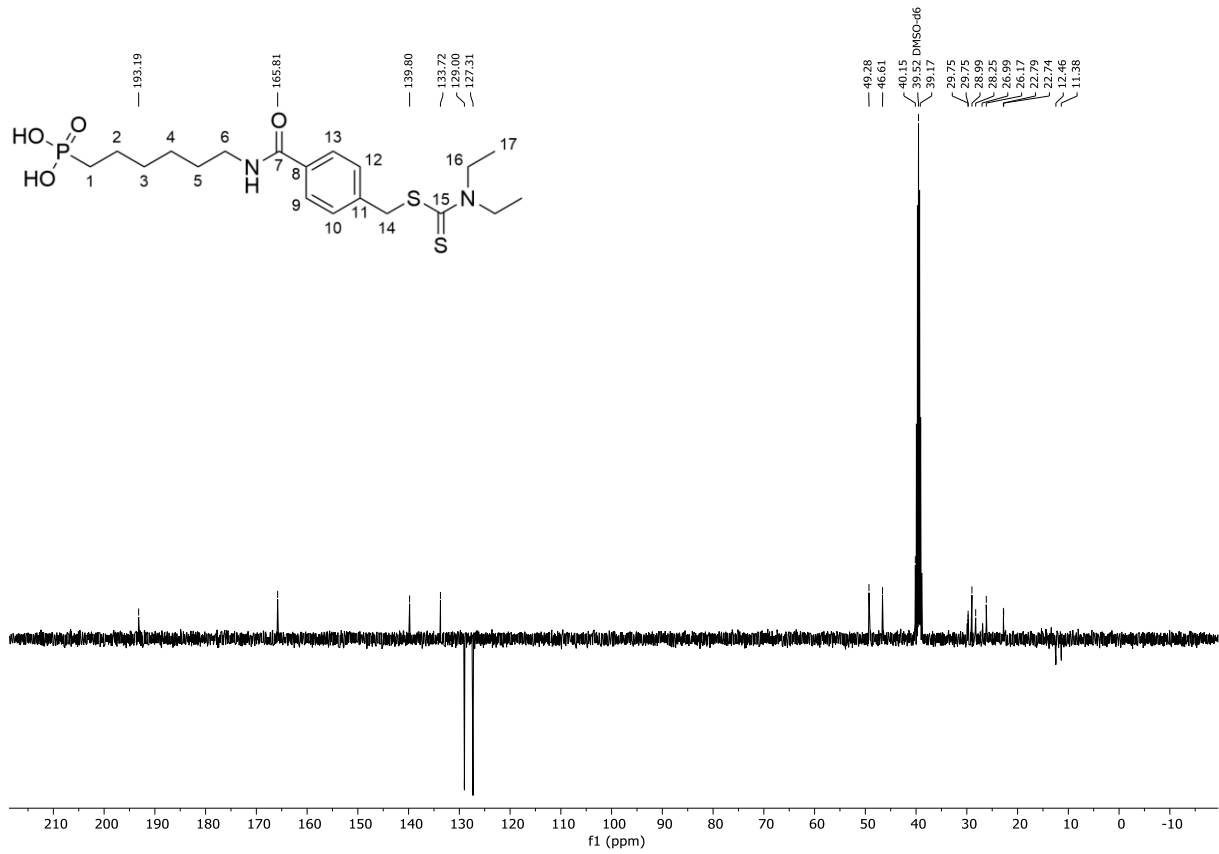


Abbildung 122: ^{13}C -NMR $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) von (6-4(((diethylcarbamothioyl)thio)methyl)benzamido)hexyl)phosphonsäure CTHP.

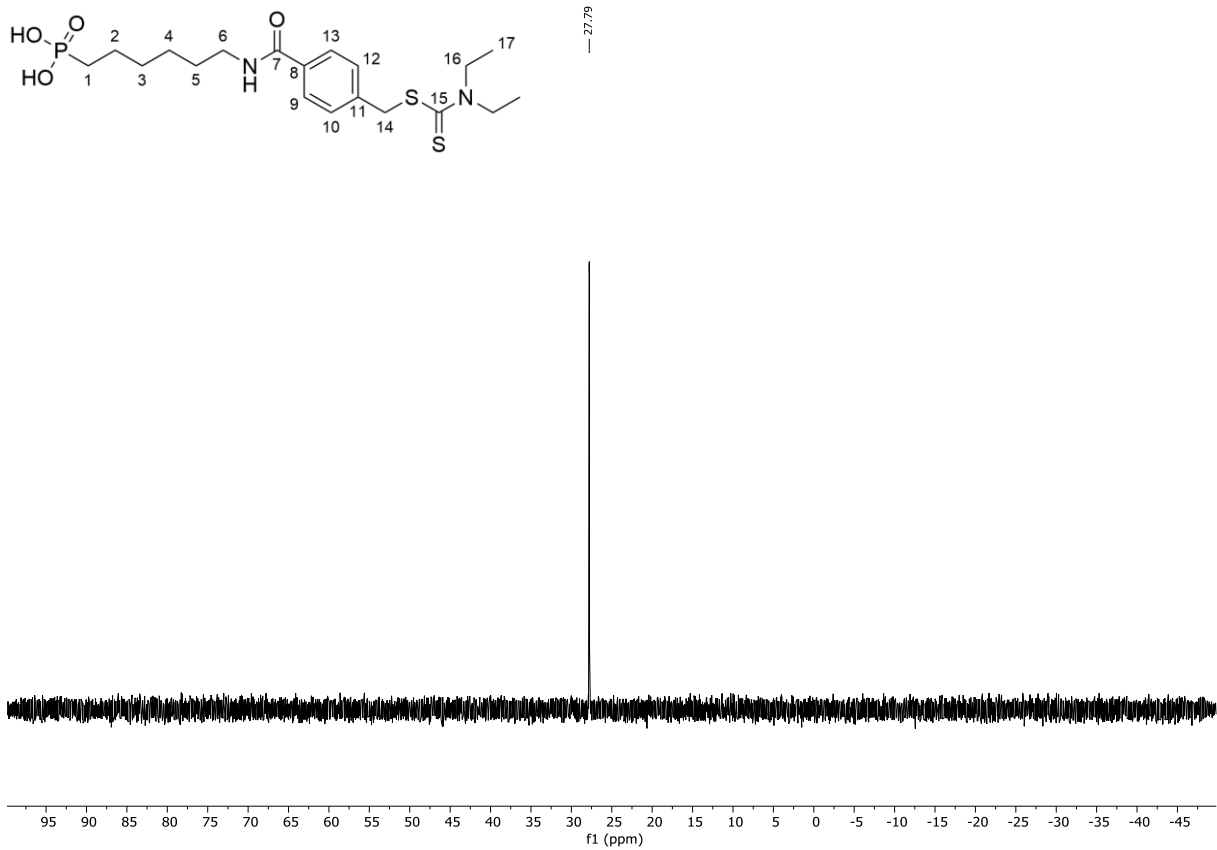


Abbildung 123: ^{31}P -NMR ($\{^1\text{H}\}$) (162 MHz, DMSO-d_6) von (6-(4(((diethylcarbamothioyl)thio)methyl)benzamido)hexyl)phosphonsäure CTHP.

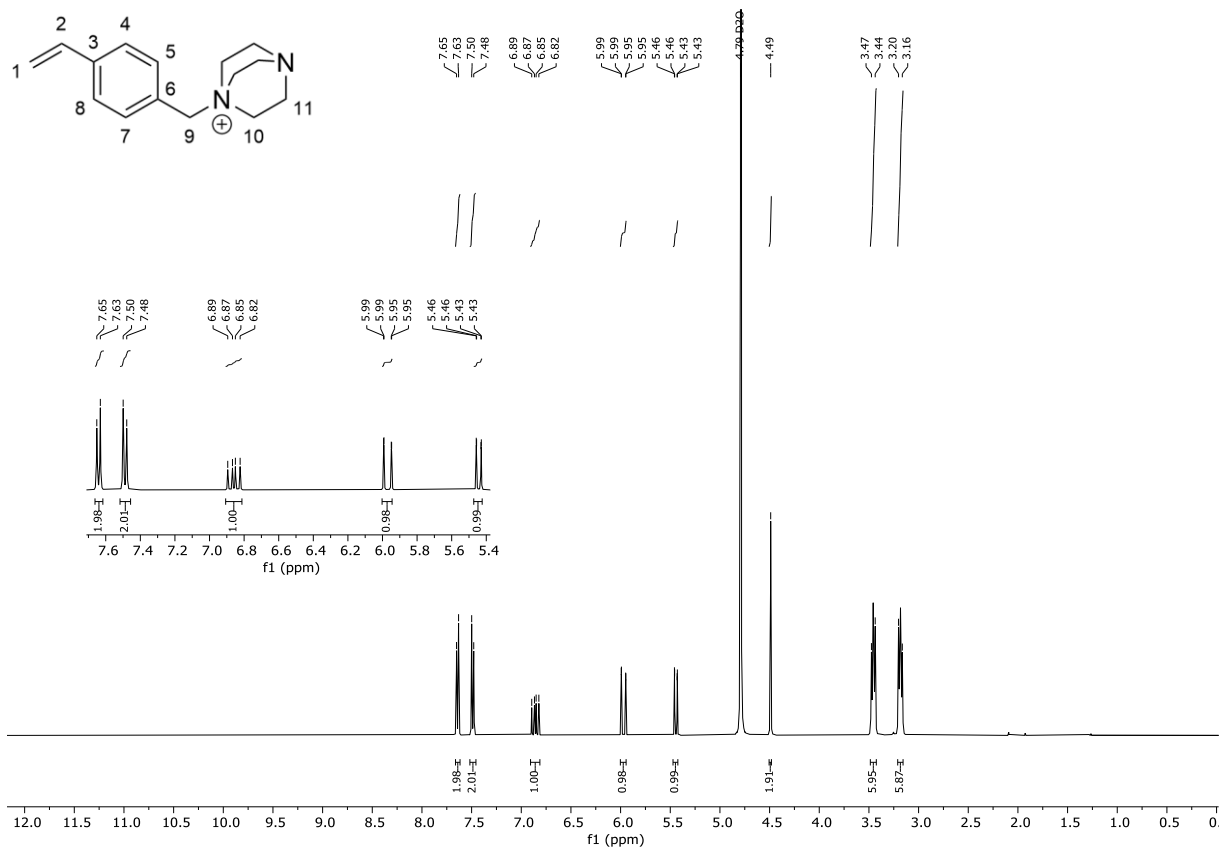
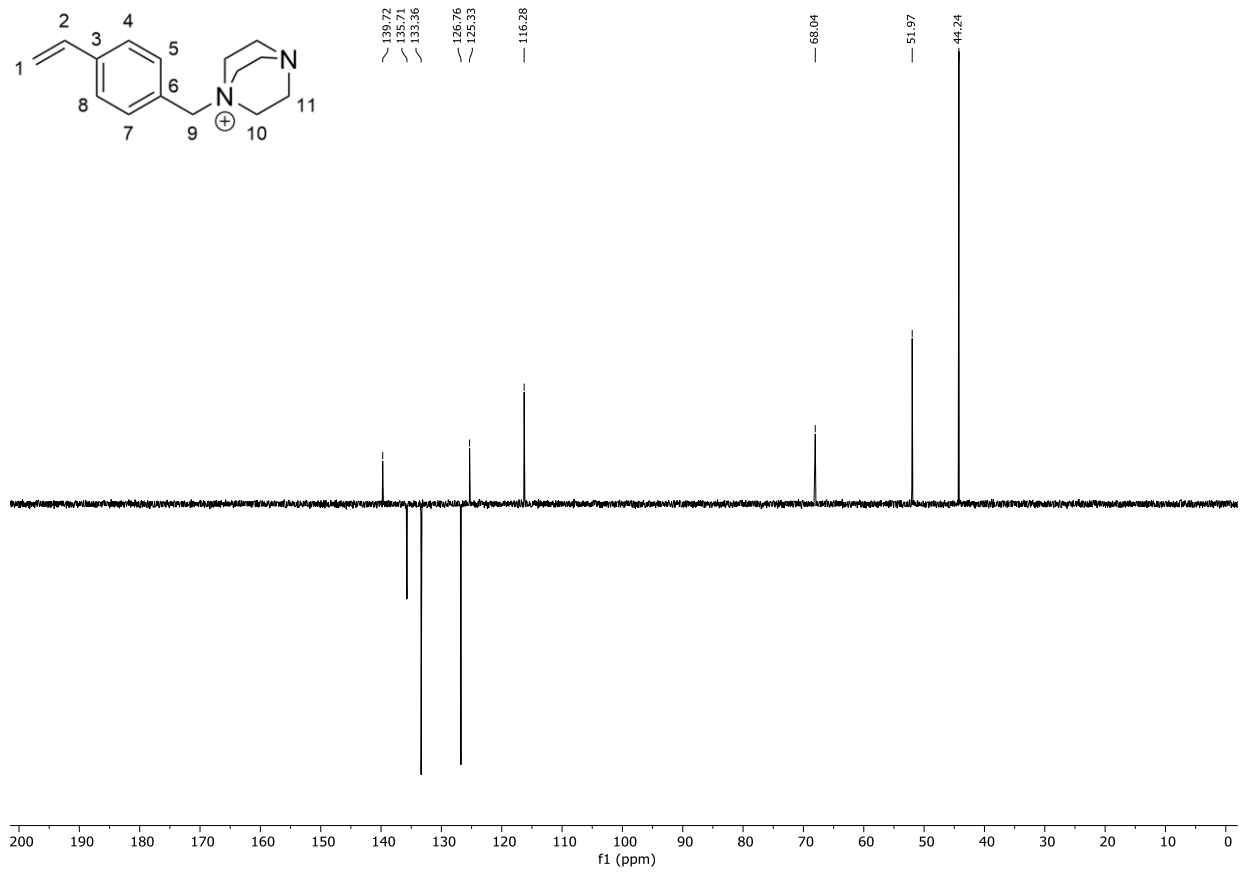
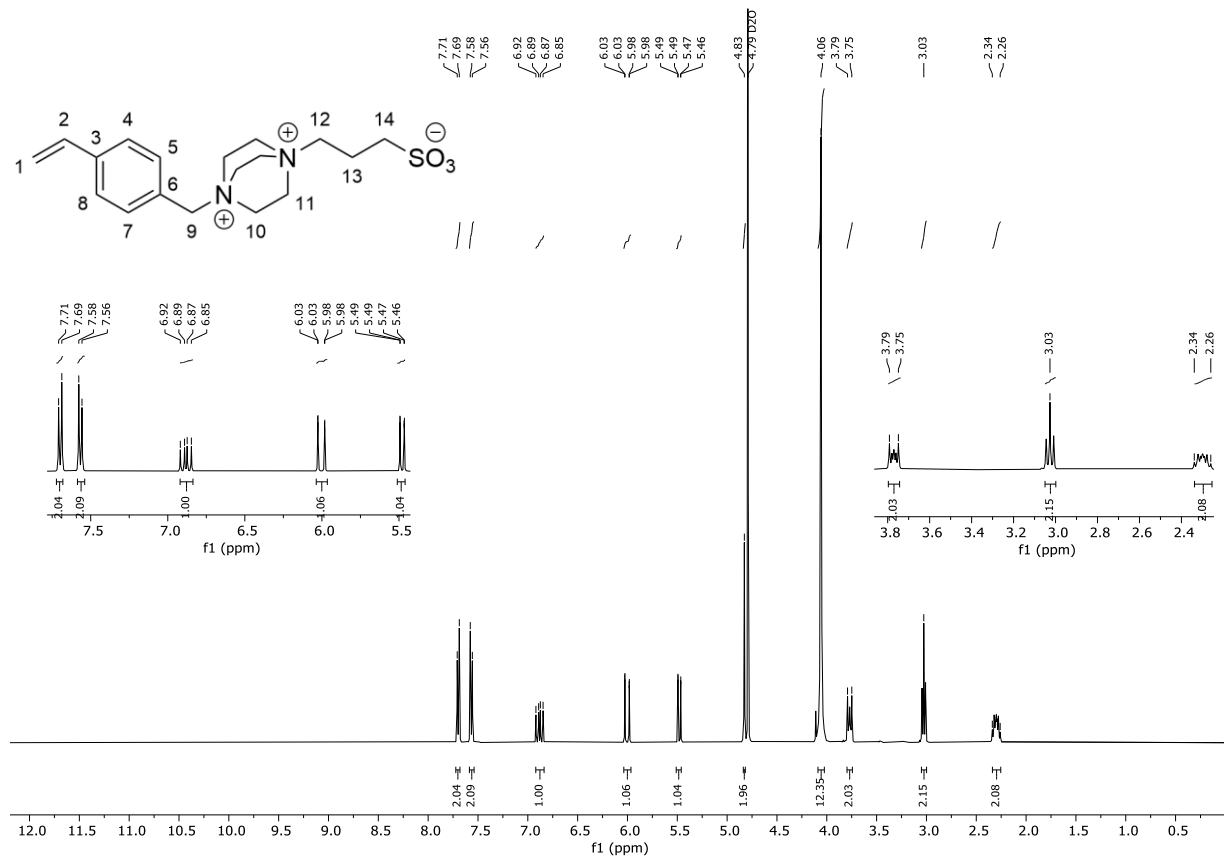


Abbildung 124: ^1H -NMR (400 MHz, D_2O) von VBD.

Abbildung 125: ^{13}C -NMR (^1H) (101 MHz, D_2O) von VBD.Abbildung 126: ^1H -NMR (400 MHz, D_2O) von VBDSB.

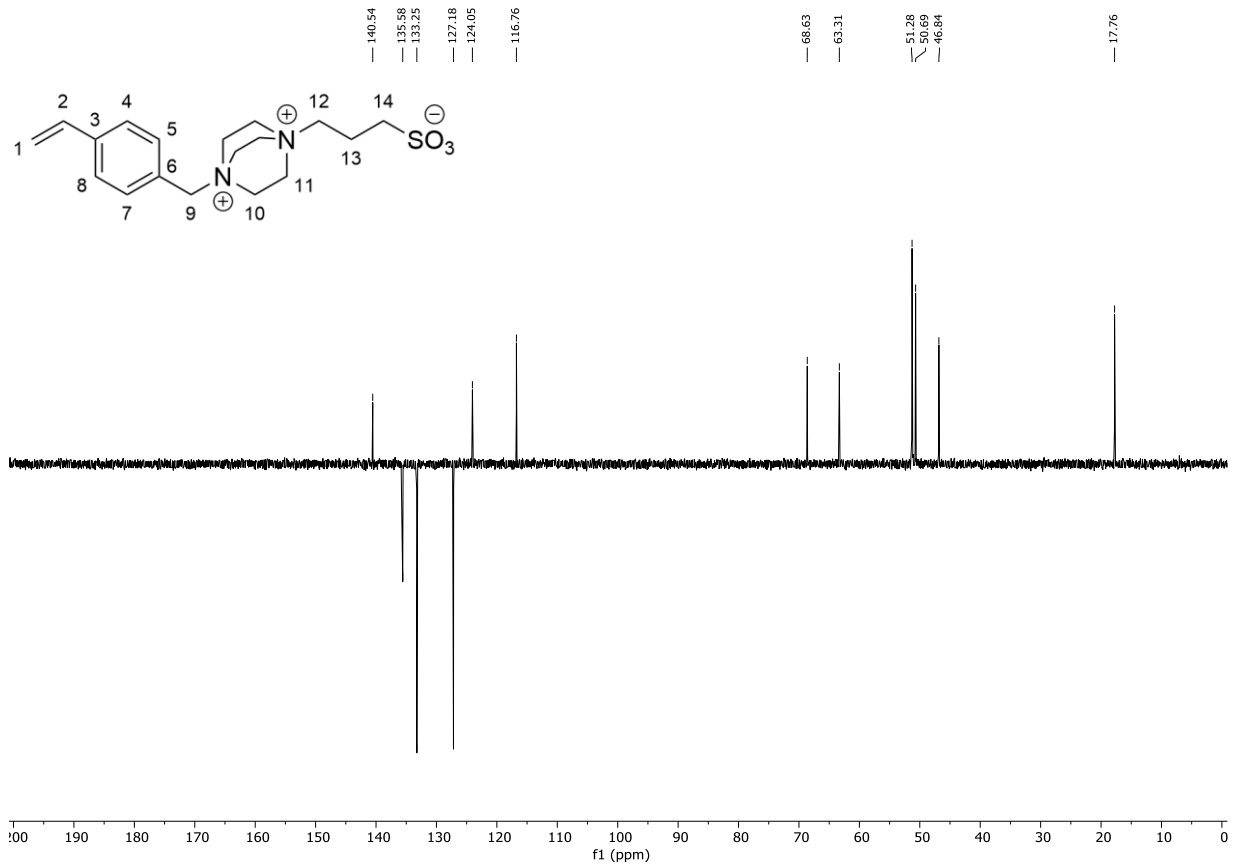


Abbildung 127: ^{13}C -NMR $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, D_2O) von VBDSB.

9. Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Modifizierungen von Titan- und Magnesiumoberflächen mit kontaktbioziden und low-fouling Eigenschaften mittels oberflächeninitiiertes Polymerisation

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronisches Speichermedium. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

Hamburg, den 25.06.2024

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Zar' or similar, written in a cursive style.

Unterschrift