



Charakterisierung von Hydrogel-Eigenschaften und ihre Anwendung als Drug-Delivery-System

Kumulative Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

Johanna Claus

geboren am 25.02.1992 in Schwerin

Hanse- und Universitätsstadt Rostock, September 2020

Die vorliegende Arbeit wurde am Lehrstuhl für Technische Chemie der Universität Rostock von Dezember 2016 bis September 2020 unter der Betreuung von Prof. Dr. Udo Kragl angefertigt.

1. Gutachter: **Prof. Dr. Udo Kragl**
Universität Rostock
Institut für Chemie
Abteilung Technische und Analytische Chemie
Albert-Einstein-Straße 3a
18059 Rostock

2. Gutachter: **Prof. Dr. Ralf Ludwig**
Universität Rostock
Institut für Chemie
Abteilung Physikalische Chemie
Dr.-Lorenz-Weg 2
18059 Rostock

3. Gutachterin: **Prof. Dr. Cosima Stubenrauch**
Universität Stuttgart
Institut für Physikalische Chemie
Pfaffenwaldring 55
70569 Stuttgart

Eingereicht am: 09.09.2020
Promotionskolloquium: 13.04.2021

« *I*t's not what the world holds for you,
it is what you bring to it.»

Anne Shirley-Cuthbert

Für Lars.

Danksagung

Das Verfassen einer Doktorarbeit erfordert viele Arten von Unterstützung. Deshalb möchte ich mich bei denjenigen bedanken, die diese Arbeit möglich gemacht haben.

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. Udo Kragl dafür bedanken, dass sie mich in diese Gruppe aufgenommen, mir dieses interessante Forschungsprojekt zur Verfügung gestellt haben und mit einem offenen Ohr und einer Kanne Tee zur Diskussion neuer Ideen zur Verfügung standen. Sie haben mir die Möglichkeit gegeben, meine eigenen Ideen zu verfolgen.

Herrn Prof. Paul Janmey schulde ich außerdem meinen Dank. Die Zurverfügungstellung seiner Zeit und Labore haben dieser Arbeit neue Routen eröffnet. Der Arbeitsgruppe in Philadelphia gilt auch mein Dank. Ohne Fitzroy Byfield und Emile Kraus hätte ich weder Laborgeräte gefunden, noch das Rheometer bedienen können. Ein großer Dank gilt Ann Jastram. Wir sind in der Zeit des Forschungsaufenthaltes nicht nur zur besten und kleinsten Untergruppe zusammengewachsen, sondern auch beste Freunde geworden. Unsere Leseabende, Tanzeinlagen und Fahrradausflüge bei Eisregen quer durch Philadelphia bringen mich immer noch zum Lachen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei der RESPONSE-Familie bedanken. Ihr habt diese Arbeit mit regelmäßigen Treffen und Diskussionen mit gestaltet. Vielen Dank für diese Unterstützung und die gute Zusammenarbeit im Projekt. Es war schön, mit euch allen zusammenzuarbeiten. Ein besonderes Dankeschön gilt hierbei Stefan Oschatz, der dieses Projekt immer aktiv gestaltet hat und frische Ideen mitbrachte. Danke!

Weiterhin möchte ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe der Technischen Chemie bedanken. Das gemeinsame, meist „inspirierende“ morgendliche Kaffee(und Tee!)trinken und das gemeinsame Mittagessen in der Mensa werden mir stets in allerbester Erinnerung bleiben. Frau Sandra Diederich gilt mein besonderer Dank für all die kleinen und großen Hilfen im Laboralltag.

Zudem möchte ich mich bei der LLM-Crew bedanken. Dabei meine ich nicht nur den Teil der Technischen Chemie, sondern auch Christopher Rüger und Anika Neumann. In eurem Büro konnte ich immer auf ein offenes Ohr hoffen. Offiziell gehören unsere Arbeitskreise sowieso zusammen. Ein großes Danke geht an dieser Stelle noch an Susanne Radloff, die große Heldin des LLM, ohne die im Forschungsgebäude gar nichts funktionieren würde.

Ein großer Dank gilt der Punschrunde, die sich in den ersten Wochen des Studiums schnell gefunden hat. Danke für die schöne Studienzeit, die unzähligen Partys (und darauf folgenden morgendlichen Vorlesungen), dem gemeinsamen Lernen.

Ein Dank gilt noch meiner besten Freundin Totti, welche mir schon seit der dritten Klasse den Rücken stärkt und für mich da ist. Ich kenne keine andere "Nicht-Naturwissenschaftlerin", die mein Abnerden stundenlang aushält. Irgendwann werden wir das "Zwillings-Paradoxon" lösen, den Nobelpreis gewinnen und eine eine Hotelkette eröffnen.

Schlussendlich Danke ich noch meinem Lieblingsmenschen Lars, den ich seit fast einem Jahrzehnt an meiner Seite weiß. Mit dir macht sogar Abwaschen Spaß!

DANKE EUCH ALLEN!

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Die Entwicklung und Klassifikation von Hydrogelen.....	1
1.2	Eigenschaften von Hydrogelen.....	4
1.3	Anwendungen von Hydrogelen.....	11
2	ZIELE DER ARBEIT.....	15
3	CHARAKTERISIERUNG VON HYDROGELEIGENSCHAFTEN.....	16
3.1	Synthese von Hydrogelen.....	16
3.2	Quellungseigenschaften.....	19
3.3	Biokompatibilität und Toxizität	20
3.4	Antibakterielle Eigenschaften.....	23
3.5	Mechanische Eigenschaften.....	27
4	ANWENDUNG VON HYDROGELEN ALS DRUG-DELIVERY-SYSTEM.....	31
4.1	Wirkstofffreisetzunguntersuchungen	32
4.2	<i>In situ</i> polymerisierendes Zwei-Komponenten-DDS	35
5	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	38
6	LITERATURVERZEICHNIS	41
A	ANHANG: ORIGINALPUBLIKATIONEN.....	51
A.1	Publikation I	53
A.2	Publikation II.....	55
A.3	Publikation III.....	57
A.4	Publikation IV	59
A.5	Publikation V.....	61
A.6	Publikation VI	63

Abkürzungsverzeichnis

AAMPSO ₃ H	2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure
AE-SO ₃	Kalium-3-sulfopropylacrylat
AE-TMA	[2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid
APS	Ammoniumperoxodisulfat
DDS	Drug-Delivery-System; Wirkstofffreisetzungssystem
HG	Hydrogel
ELA-NCO	Hexamethylendiisocyanat-funktionalisiertes 1,2-Ethylenglykol-Bisdimichäsäure
HEMA	Hydroxyethylmethacrylat
HPMAA	2-Hydroxypropylmethacrylamid
IBU	Ibuprofen
IL(s)	Ionische Flüssigkeit(en)
MAEDMA-SO ₃	[2-(Methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammoniumhydroxid
MAE-SO ₃	Kalium-3-sulfopropylmethacrylat
MAE-TMA	[2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid
MBAA	<i>N,N'</i> -Methylenbisacrylamid
MPC	2-Methacryloyloxyethylphosphorylcholine
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBS	Phosphate Buffered Saline, Phosphat-gepufferte Salzlösung
PEGDA	Polyethylenglykoldiacrylat
pIL(s)	polymerisierte ionische Flüssigkeit(en)
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylendiamin
TM	Timololmaleat
TMA-VB	Trimethyl-vinylbenzyl-ammoniumchlorid
VBlmBr	1-Vinyl-3-butylimidazoliumbromid
VBlmCl	1-Vinyl-3-butylimidazoliumchlorid
VEImBr	1-Vinyl-3-ethylimidazoliumbromid

Vom SI-System abweichende Einheiten, Typografie

Die in dieser Arbeit verwendeten Maßeinheiten entsprechen den Einheiten im Internationalen Maßeinheitensystem (SI) gültigen Maßeinheiten. Aufgeführt sind alle abweichenden Einheiten und deren Umrechnungen. Literaturgebräuchliche Bezeichnungen werden nicht ins Deutsche übersetzt, um keine Wortneuschöpfungen zu schaffen, dort erfolgt eine entsprechende "Kennzeichnung".

°C	Grad Celsius, $\{\vartheta\}_C = \{T\}_K - 273.15 \vartheta$
Å	Ångström, $1 \text{ \AA} = 1 \cdot 10^{-10} \text{ m}$
E _a	Aktivierungsenergie
h	Stunden, $1 \text{ h} = 60 \text{ min} = 3600 \text{ s}$
L	Liter, $1 \text{ L} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3$
min	Minuten, $1 \text{ min} = 60 \text{ s}$
rpm	Rotationen pro Minute
w%	Massenanteil, $w_i = m_i / (m_i + m_j)$

Wichtige Gleichungen und Definitionen

Wasseraktivität $a_w = \frac{\rho}{\rho_0}$ (1.1)

ARRHENIUS-Gleichung: $k = A \cdot e^{-\frac{E_A}{R \cdot T}}$ (1.2)

Quellungsgrad: $q_t = \frac{W_t}{W_0} - 1$ (1.3)

1. FICKSches Gesetz: $J = -D \frac{\delta c}{\delta x}$ (1.4)

Diffusionskoeffizient: $D = \frac{\langle x^2 \rangle}{2t}$ (1.5)

HOOKESches Gesetz $F = k \cdot \Delta x$ (1.6)

Spannung bzw. Shear Modulus $\sigma(t) = \gamma_0(G' \sin \omega t + G'' \sin \omega t)$ (1.7)

a_w	Wasseraktivität
ρ	Wasserdampfpartialdruck der Probe
ρ_0	Sättigungsdampfdruck von reinem Wasser
q_t	Quellungsgrad
W_0	Ausgangsgewicht
W_t	Gewicht zur Zeit t
T_g	Glasübergangstemperatur
J	Teilchenstromdichte
D	Diffusionskoeffizient
x	Freie Weglänge
k	Proportionalitätsfaktor; Steifigkeit des Polymerenetzwerkes
G'	Speicher-Schermodul
G''	Verlust-Schermodul
σ	Spannung
γ	Amplitude, Scherdehnung
ω	Kreisfrequenz

Abbildungs-, Schemata-, und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1.1. Schematische Darstellung der Hydrogel-Generationen.....	1
Abbildung 1.2. Übersicht von unterschiedlichen Vernetzungsmethoden für Hydrogele	2
Abbildung 1.3. Mechanismus des reversiblen Quellungsvorgangs von Hydrogelen	4
Abbildung 1.4. Gegenüberstellung einer gram-positiven und gram-negativen Zellhülle.	7
Abbildung 1.5. Schematische Darstellung des „Anionenschwamm“-Modells.....	8
Abbildung 1.6. Gegenüberstellung von Hooke'schen und Neo-Hooke'schen Verhalten.....	9
Abbildung 1.7. Spannung und Dehnung bei einer oszillatorischen Verformung	10
Abbildung 1.8. Schematische Darstellung verschiedener mechanischer Tests.....	10
Abbildung 1.9. Wirkstoffkonzentrationsverlauf	12
Abbildung 1.10. Diffusionskontrollierte Freisetzung eines Reservoir- und Matrix-Systems.....	12
Abbildung 1.11. Quellungskontrollierte Freisetzung eines Wirkstoffes aus einem Hydrogel.....	13
Abbildung 1.12. Übersicht von chemisch kontrollierten Freisetzungssystemen.	14
Abbildung 2.1. Schematische Darstellung der Zielstellung dieser Dissertation.....	15
Abbildung 3.1. Gelierungsverfolgungen	17
Abbildung 3.2. Verfolgung des Quellungsgrades verschiedener Hydrogele in dest. Wasser	19
Abbildung 3.3. Übersicht der relativen Zellviabilität	21
Abbildung 3.4. Mikroskopische Bildgebung der Hydrogele.....	22
Abbildung 3.5. Antibakterielle Wirkung gegen <i>P. aeruginosa</i> Xen 5	24
Abbildung 3.6. Antibakterielle Wirkung gegen <i>S. aureus</i> Xen 30	25
Abbildung 3.7. Amplitude-Sweep-Diagramm von pAE-TMA	28
Abbildung 3.8. Vergleich der G'-Werte aller gemessenen Polymere	29
Abbildung 3.9. Vergleich der Bruchdehnung bzw. der Bruchkompression.....	30
Abbildung 4.1. Vergleichende Darstellung der Wirkstoffkonzentration.....	32
Abbildung 4.2. Bulkhydrogel-Freisetzungskinetik.....	33
Abbildung 4.3. Wirkstofffreisetzungsprofil für mit TM beladenes pMAE-SO ₃	34
Abbildung 4.4. REM-Aufnahme der getrockneten Partikel und Größenverteilung	36
Abbildung 4.5. Schematische Darstellung eines <i>in situ</i> polymerisierenden DDS.....	37
Schema 1.1. Mechanismus der primären Radikalbildung.....	2
Schema 3.1. Übersicht der genutzten Monomere in dieser Arbeit.....	16
Schema 3.2. Beispielreaktion einer Hydrogelsynthese.....	17
Schema 3.3. Überblick über die mesomeren radikalischen Monomerstrukturen.....	18
Schema 4.1. Schematischer Überblick über die ionischen Wechselwirkungen.....	32
Tabelle 1.1. Transportmechanismen von Lösungsmitteln und Wirkstoffen in Hydrogelen.....	5

Kurzfassung

Hydrogele sind vernetzte Polymere, welche in Wasser und biologischen Flüssigkeiten quellen, ohne sich dabei selbst zu lösen. Sie sind in der Lage, große Wassermengen reversibel aufzunehmen und dabei ihre dreidimensionale Form beizubehalten. Ihre Eigenschaften können im Allgemeinen durch ihre Zusammensetzung, der Art des genutzten Monomers, ihrer elektrischen Ladung auf molekularer Ebene sowie auch ihrer Polymerisations- oder Vernetzungsmethode eingestellt werden. Diese Bandbreite an Möglichkeiten resultiert in einer Vielzahl an Eigenschaften, welche speziell für ihre jeweilige Anwendung angepasst werden kann. Somit wecken Hydrogele immer wieder in den verschiedensten Anwendungsbereichen großes Interesse in der Forschungsgemeinschaft. Vor allem im medizinischen Bereich eröffnen sich mit der weiteren Erforschung der Hydrogele neue Therapieansätze.

Nichtsdestotrotz gibt es bei der Herstellung von Hydrogelen auch einige Limitierungen, die überwunden werden müssen, um zum erfolgreichen Einsatz in der Medizin beizutragen. Vor allem die Findung eines Hydrogels, welches alle Anforderungen eines medizinischen Produktes erfüllen muss, stellt immer wieder Hürden in dem Themenkomplex der Anwendung von Polymeren in der Biomedizintechnik dar.

Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, neue Hydrogele zu synthetisieren und in ihren Eigenschaften grundlegend zu charakterisieren. Neben ihren Quellungseigenschaften wurde vor allem das mechanische Verhalten während und nach ihrer Gelierung evaluiert. Für ihre spätere medizinische Anwendung wurde unter anderem auf die Untersuchung ihrer Biokompatibilität und deren antibakteriellen Eigenschaften ein besonderes Augenmerk gerichtet. Dabei wurden Struktur-Eigenschafts-Beziehungen hergestellt und ein Grundstein für unterschiedlichste medizinische Anwendungen gelegt. Durch dieses Wissen wurden die untersuchten Hydrogele für ihre Anwendung als Wirkstofffreisetzungssystem in der Augenheilkunde angepasst und optimiert.

Abstract

Hydrogels are cross-linked polymers that can swell and expand in water and biological fluids without dissolving themselves. They are able to absorb large amounts of water reversibly while maintaining their three-dimensional shape. Their properties can generally be adjusted by their composition, the type of monomer used, their electrical charge and the method of polymerization or cross-linking. This range of possibilities results in a variety of properties that can be specifically adapted to the application. Thus, hydrogels awaken again and again in the most diverse fields of application. Especially in the medical field, further research on hydrogels has opened up new therapeutic approaches.

Nevertheless, there are some limitations in the synthesis and production of hydrogels which have to be overcome in order to contribute to a successful application in medicine. Especially the production of a hydrogel that fulfils all requirements of a medical product is always an obstacle in the complex of topics concerning the application of polymers in biomedical technology.

The goal of this work is to synthesize new hydrogels and to characterize their properties. In addition to their swelling properties, rheological behavior during and after gelation will be evaluated. For their subsequent medical application, special attention will be paid to the investigation of their biocompatibility and antibacterial properties. Thereby structure-property relationships are to be established and the foundation for a wide range of medical applications is to be laid. Based on this knowledge, the hydrogels under investigation will be adapted and optimized for their application as drug delivery systems in ophthalmology.

1 Einleitung

1.1 Die Entwicklung und Klassifikation von Hydrogelen

Hydrogele sind dreidimensionale Polymernetzwerke, die in der Lage sind, große Mengen Wasser in ihrem gequollenen Zustand zurückzuhalten. Der Ursprung des Wortes "Hydrogel" (HG) geht auf VAN BEMMELLEN in 1894 zurück, jedoch wurde dies zu diesem Zeitpunkt als ein kolloidales Gel aus anorganischen Salzen beschrieben [1]. Das erste quervernetzte Hydrogel in der Literatur wurde von LIM und WICHTERLE 1960 publiziert. Polyhydroxyethylmethacrylat (pHEMA) wurde mit typischen Hydrogeleigenschaften wie hoher Wasseraktivität und einem sehr hohen Quellungsgrad beschrieben, mit dem ergeizigen Ziel einer Anwendung in permanentem Kontakt mit menschlichem Gewebe [2]. Die Wasseraktivität (a_w -Wert) ist das Verhältnis des Wasserdampfpartialdruckes der Probe zum Sättigungsdampfdruck des reinen Wassers. Sie ist ein Maß für das verfügbare Wasser in einer Probe im Gegensatz zum Wassergehalt, welcher auch das gebundene Wasser mit einschließt. Die Anzahl der Studien über Hydrogele stieg insbesondere seit den 1970er Jahren deutlich an, wobei die Anwendungsziele und die bestehenden Komponenten stark variierten. Die Entstehungsgeschichte und Entwicklung dieser interessanten Materialien kann in vier Generationen unterteilt werden (Abbildung 1.1) [3].

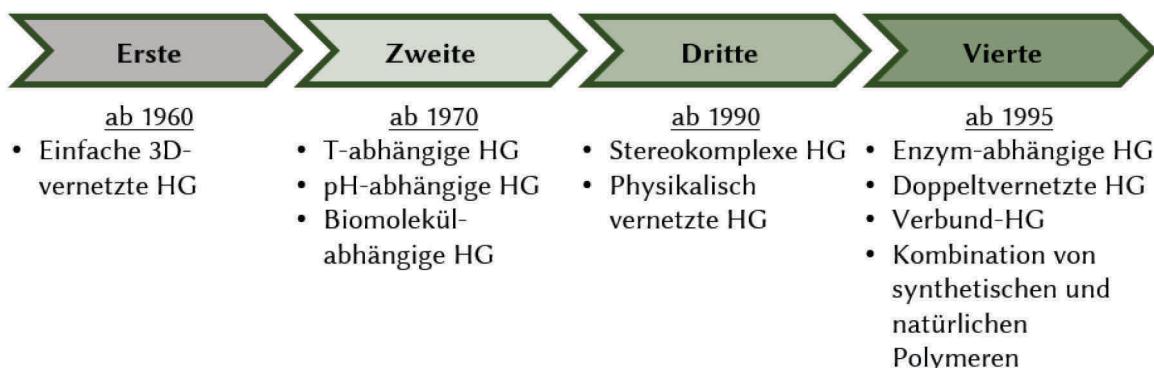
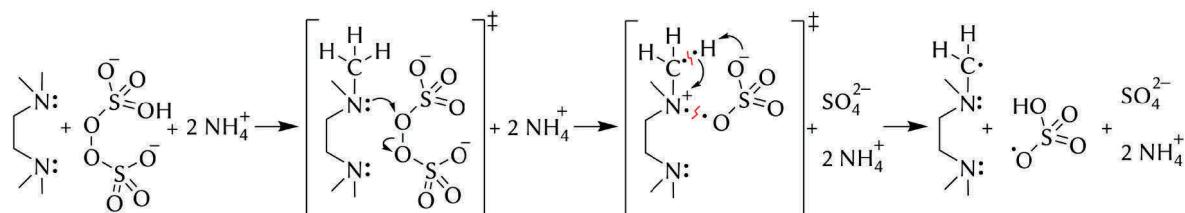


Abbildung 1.1. Schematische Darstellung der Hydrogel-Generationen.

Die erste Generation von Hydrogelen konzentriert sich im Wesentlichen auf relativ einfache, chemisch vernetzte synthetische Polymere, welche sich für die grundlegende Charakterisierung sowie die spezielle Einstellung physikalisch-chemischer Eigenschaften wie Diffusionsfähigkeit und Vernetzungsdichte eignen. Die Hydrogele werden hauptsächlich durch Polymerisation wasserlöslicher Monomere in Gegenwart eines multifunktionellen Vernetzers oder durch Vernetzung hydrophiler Polymere hergestellt. Diese Kettenadditionen, bei denen meist Vinylmonomere verwendet werden, ist als Polymerisationsmechanismus gut etabliert. Der Mechanismus besteht aus einer initiiierenden freien Radikalspezies, die sich einem Vinylmonomer-Molekül durch Öffnen der π -Bindung und unter Bildung eines neuen Radikals addiert. Der Polymerisationsprozess kann durch die Rekombination zweier Radikalspezies oder Disproportionierung beendet werden [4]. Häufig wird die Polymerisation eines Monomers mit einem Vernetzer in Lösung anstatt einer Bulk-Polymerisation durchgeführt, um die Hydrogele in gewünschter Form zu erhalten und die Reaktion unter milder Bedingungen durchführen zu können. Eine einfache und etablierte Polymerisationsmethode ist die Nutzung des Redoxsystems mit Ammoniumperoxodisulfat (APS) als Initiator und *N,N,N',N'*-Tetramethylethyleniamin (TEMED) als Aktivator, der die Zersetzung von APS in freie Radikale fördert. TEMED setzt dabei

die Aktivierungsenergie E_a von $62 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ auf $22 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ herab [5]. Der von FENG *et al.* angenommene Initiationsmechanismus läuft über einen Ladungstransferkomplex und einen zyklischen Übergangszustand ab und ist in Schema 1.1 dargestellt [6]. Dieses System hat im Vergleich zu der alleinigen Verwendung von APS den Vorteil, dass die Polymerisation bei Raumtemperatur abläuft, statt auf 70°C erwärmt werden zu müssen.



Schema 1.1. Mechanismus der primären Radikalbildung bei der Redoxinitiierung durch APS und TEMED [5,6].

Neben der radikalischen Polymerisation gibt es noch weitere literaturbekannte Möglichkeiten, ein Hydrogel chemisch zu vernetzen: (i) hochenergetische Bestrahlung, (ii) die Nutzung von Enzymen sowie (iii) Kondensations- oder Aldehyd-vermittelte Reaktionen (vgl. Abbildung 1.2) [7].

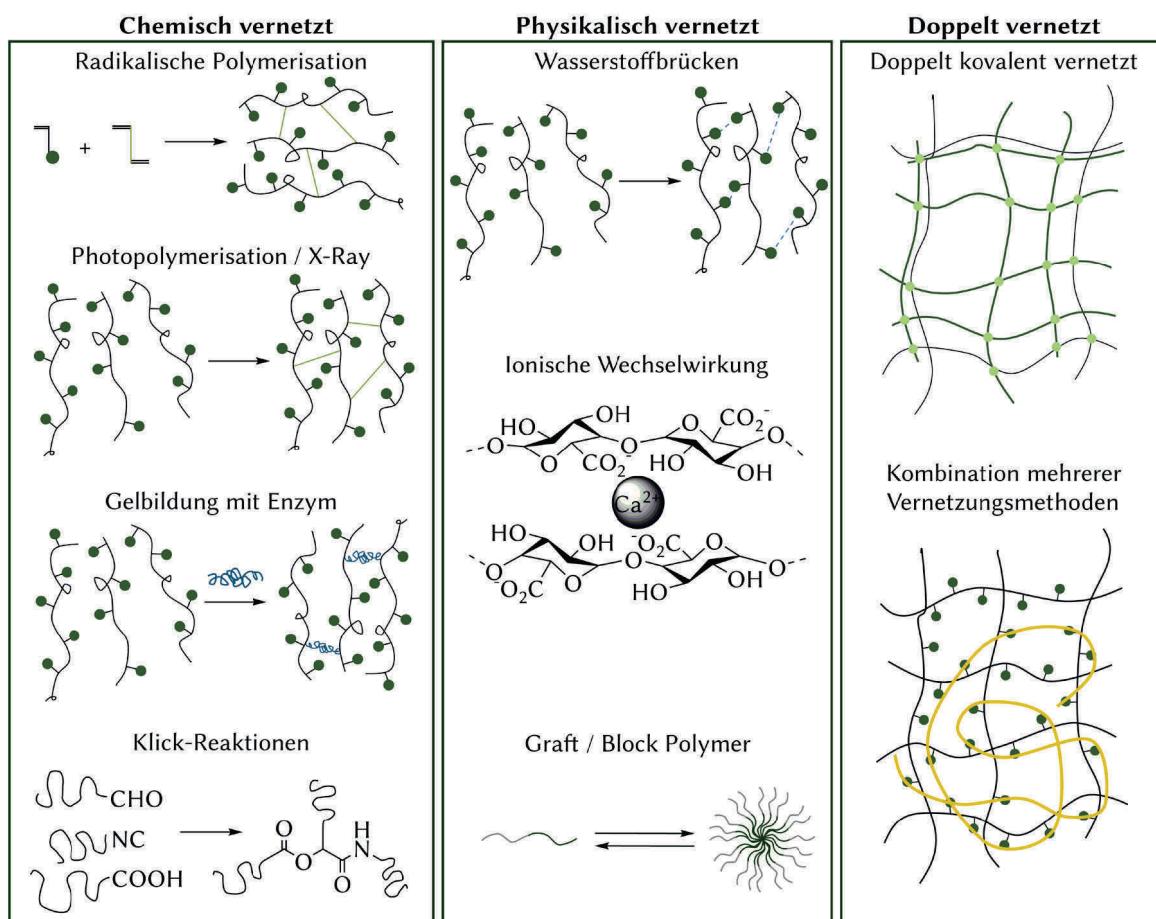


Abbildung 1.2. Übersicht von unterschiedlichen Vernetzungsmethoden für Hydrogеле.

In der zweiten Generation von Hydrogelen gewannen Materialien, die auf spezifische Stimuli reagieren (z.B. Temperatur-, pH- oder Konzentrationsveränderung), immer mehr an Bedeutung [8]. Diese Hydrogеле finden vor allem in der Medizin für eine gerichtete Wirkstofffreisetzung Anwendung [3,9,10]. In dieser Hydrogelgeneration wurden auch erste Entwicklungen

physikalischer Vernetzungsmethoden mittels hydrophober und ionischer Wechselwirkungen erforscht [11]. In der dritten Hydrogel-Generation wurden weitere Vernetzungsmethoden entwickelt (z. B. Metall-Ligand Koordination, Interaktionen zwischen Peptiden), welche die mechanischen, thermischen und degradierenden Eigenschaften der Hydrogelmaterialien erweiterten [12–14]. Zusätzlich wurden immer mehr Hydrogele mit unterschiedlichen chemischen und strukturell reaktiven Gruppen entwickelt, die auf neue und/oder mehrere äußere Stimuli reagieren, womit z. B. ein Volumen- oder Phasenübergang ausgelöst werden kann [15]. Die vierte Generation, auch "Smart Hydrogels" genannt, umfasst vor allem *in situ* bildende Hydrogele sowie doppelt vernetzte Hydrogele. Diese können durch kovalente Vernetzung von Polymeren mit komplementären funktionellen Gruppen oder durch eine Kombination aus physikalischen, kovalenten oder ionischen Bindungen gebildet werden und sogar aus Polymeren synthetischem und natürlichem Ursprungs bestehen. Diese "Smart Hydrogels" ermöglichen viele Feineinstellungen der Hydrogeleigenschaften, wie beispielsweise die mechanische Stabilität und die Freisetzungskinetik. Die folgende Einleitung dieser Arbeit ermöglicht den Überblick über das breite Spektrum der Hydrogele, die mit ihren unterschiedlichsten Strukturen vielseitige Eigenschaften und einen weiten Anwendungsbereich aufweisen. Im Rahmen dieser kumulativen Dissertationsschrift wurden eben diese Eigenschaften von [2-(Methacryloyloxy)ethyl]-trimethylammoniumchlorid (MAE-TMA) und Kalium-3-sulfopropylmethacrylat (MAE-SO₃) basierenden Hydrogelen ausgiebig erforscht und charakterisiert (Schema 3.1).

1.2 Eigenschaften von Hydrogelen

a. Quellungseigenschaften von Hydrogelen

Die hohe Affinität von Hydrogelen, eine größere Menge Wasser aufzunehmen, lässt sich mit deren chemischer Zusammensetzung erklären: Ein Teil des Polymernetzwerkes besteht aus hydrophilen funktionellen Gruppen, die ein Quellen in polaren Medien ermöglicht. Durch das Polymernetzwerk behalten Hydrogele bei diesem reversiblen Vorgang ihre dreidimensionale Form bei Zunahme ihrer Größe. Eine Quellung ist der kontinuierliche Vorgang eines Polymers von einem glasähnlichen Zustand in ein gequollenes relaxiertes Gleichgewicht (siehe Abb. 1.3).

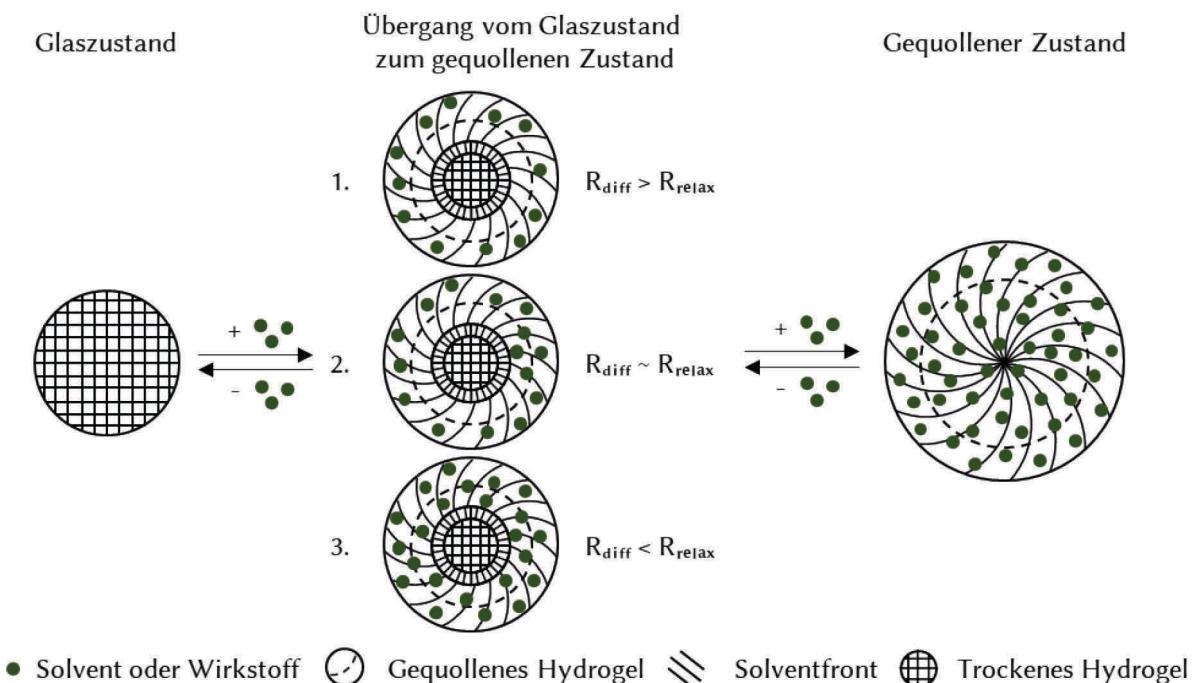


Abbildung 1.3. Mechanismus des reversiblen Quellungsvorgangs von Hydrogelen. Adaptiert nach GANJI und BAJPAI *et al.* [16,17].

Obwohl manche Quellungsmechanismen einiger Polymere durch die Fickschen Gesetze (Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten) beschrieben werden können, ist die Beschreibung glasartiger Polymere in der Regel komplexer. Grundsätzlich werden drei Arten des Stofftransports beim Quellen von Hydrogelen unterschieden: Bei der Fickschen Diffusion bzw. dem "Fall-I-Transport" ist die Temperatur des Mediums deutlich höher als die Glasübergangstemperatur T_g . In diesem Fall haben die Polymerketten eine hohe Mobilität, wodurch das Lösungsmittel leicht in das Netzwerk eindringt. Somit ist die Lösungsmitteldiffusionsrate R_{diff} deutlich langsamer als die Polymerkettenrelaxationsrate R_{relax} . Der Fall-II-Transport tritt bei einer experimentellen Temperatur deutlich unter T_g auf, wobei die Polymerketten nicht ausreichend mobil sind, um ein schnelles Eindringen von Wasser in das Netzwerk zu ermöglichen ($R_{\text{diff}} > R_{\text{relax}}$). Ein weiterer nicht-Fickscher Prozess ist der anomale Transport, der bei gleichen Diffusions- und Relaxationsraten beobachtet werden kann (vgl. Tabelle 1.1). Durch mathematische Diffusionsmodelle lässt sich die Verteilung des Lösungsmittels in einem Hydrogel während des Quellvorganges annähernd voraussagen, dennoch sind experimentelle Untersuchungen hier unerlässlich [18–21].

Tabelle 1.1. Transportmechanismen von Lösungsmitteln und Wirkstoffen in Hydrogelen. Adaptiert nach GANJI *et al.* und LOWMAN *et al.* [16,22].

Transporttyp	Diffusionsexponent n	Zeitliche Abhängigkeit
Ficksche Diffusion bzw. Fall-I-Transport	0.5	$t^{1/2}$
Anomaler Transport	$0.5 < n < 1$	t^{n-1}
Fall-II-Transport	1	zeitunabhängig

Die Quelleigenschaften von Hydrogelen können auch auf die por  se Polymerstruktur zur  fuhrt werden, welche auch optimale Voraussetzungen für die Wirkstoffeinbettung oder die Einlagerung von anderen Substanzen wie Methanhydrat bietet [23,24]. Auch die Stimulus-abhängige Quellung sowie die Diffusionsgeschwindigkeit des Solvents kann durch die Steuerung des Porosit  tsgrades angepasst werden, indem der Transportwiderstand verringert wird [25].

b. Biokompatibilität von Hydrogelen

Ein wichtiger Faktor für Materialien, die in Kontakt mit menschlichem Gewebe kommen, ist die Koexistenz von Biomaterialien und Geweben, die in der Regel als Biokompatibilität bezeichnet wird. Biomaterialien werden in immer diverseren und komplexeren Situationen eingesetzt: (i) Anwendungen in Tissue Engineering (=Gewebekonstruktion bzw. Gewebezuchung), (ii) invasive Sensoren, (iii) Implantate und (iv) Drug-Delivery-Systeme. Der Forschungsbedarf der Biokompatibilität und der ablaufenden Mechanismen im Körper steigt somit immer weiter an. Die Anforderungen an die jeweiligen Materialien können sich stark unterscheiden, wodurch auch die Art der Biokompatibilitätstests variiert. Bei der Herstellung von Tissue-Engineering-Produkten sollte das Material beispielsweise so gestaltet sein, dass es eine physikalische oder mechanische Reaktion hervorruft, wohingegen bei Wirkstofffreisetzungssystemen keine Reaktionen des Gewebes erwünscht ist. Diese Unterschiede sind meist sehr wichtig bei einer Zulassung eines medizinischen Produktes [26].

Im Allgemeinen weisen Hydrogele durch ihre Eigenschaften eine gute Biokompatibilität auf. Hydrogele quellen durch ihre hydrophilen Seitenketten in Wasser auf, wobei sie sich nicht auflösen. Aufgrund dieser hydrophilen Natur sind die Polymerketten, die sich an der Oberfache eines mäßig vernetzten Hydrogels befinden, sehr mobil. Es wird angenommen, dass diese Eigenschaft einige hydrodynamische Eigenschaften von Zelloberfachen ähnelt, die zur Verhinderung der Proteinadsorption und Zelladhäsion beiträgt. Weiterhin führt diese hydrophile Oberfache zu einer niedrigen Grenzflächenspannung mit dem umgebenen biologischen Gewebe und Flüssigkeiten, was ebenfalls eine Minimierung der Proteinadsorption und Zelladhäsion zur Folge hat [2,27]. Hydrogele können Krafteinwirkungen bis zu einem gewissen Grad reversibel aushalten, haben jedoch nach dem Aufquellen im Allgemeinen eine geringere mechanische Stabilität. Eine Erhöhung der Vernetzungsdichte im Hydrogel führt zu einer höheren mechanischen Festigkeit, wodurch jedoch oftmals die Biokompatibilität beeintrtigt wird. Eine Möglichkeit, um Biokompatibilität und mechanische Stabilität zu gewährleisten, ist die kovalente Aufbringung von weichen biokompatiblen Hydrogelen auf Biomaterialien mit geeigneten mechanischen Eigenschaften. Zusätzlich minimiert die weiche und elastische Beschaffenheit die Reizung des umliegenden Gewebes und verringert so die Wucherung des Fasergewebes [28,29].

Als biokompatibel gelten vor allem Hydrogele biologischen Ursprungs, wie Dextran-, Polysaccharid-, Alginat-, Chitosan-, Gelantine- oder Hyaluronsäure-basierten Polymere [28,30–34]. Im

Vergleich zu anderen Biomaterialien kommen nun immer mehr synthetische Polymere im medizinischen Bereich aufgrund deren besseren biokompatiblen Eigenschaften zum Einsatz. Synthetische Hydrogele, die auf Polyethylenglycol, Polycaprolacton oder Polyacrylamid basieren, werden immer häufiger mit guter Biokompatibilität beschrieben [35–37]. Oftmals werden auch Verbundstoffe aus synthetischen Hydrogelen und Biomaterialien hergestellt, um die gewünschten Eigenschaften beider Materialien zu kombinieren [29,38].

Die Biokompatibilität von Hydrogelen ist eine ihrer vielen Vorteile für die Anwendung im medizinischen Bereich. Dennoch erfordert der Einsatz als Medizinprodukt ein tiefgreifendes Verständnis einer Reihe von mitunter voneinander abhängigen Eigenschaften, wobei für viele neuartige Systeme die Literatursituation noch unzureichend ist. Bei einer Materialcharakterisierung müssen unterschiedlichste Parameter, wie (i) der Kontaktort, (ii) die Kontaktzeit, (iii) die physikalischen und chemischen Eigenschaften sowie (iv) die entstehenden biologischen Effekte berücksichtigt werden [39]. Eine Möglichkeit, die Biokompatibilität von Materialien zu testen, ist der Eluat-Test, wobei hier die untersuchten Zellen mit dem Eluat einer Probe bebrütet werden. Um sich ein genaues Bild über die Biokompatibilität eines Materials zu verschaffen, werden Zellen oft auch im direkten Kontakt zu Zellen unterschiedlichster Herkunft bestimmt. Der Test verläuft positiv, wenn die Zellen (i) keine toxische Reaktion, (ii) Lyse, (iii) ausgedehnte Vakuolisierung oder (iv) eine Reduktion des Zellwachstums aufzeigen. Darüber hinaus muss bei diesen Tests die Morphologie der Zellen genauestens hinsichtlich ihrer mitochondrialen Stoffwechselaktivität beobachtet werden, der routinemäßig als Index der Zelllebensfähigkeit und Zellproliferation verwendet wird. Als zytotoxisch gilt ein Material, wenn die Lebensfähigkeit der untersuchten Zellen unter 70 % liegt [40]. Oftmals werden für diese Untersuchungen Fibroblasten verwendet. Für komplexe Systeme und anwendungsbezogene Tests können auch speziellere Zellen wie Chondrozyten verwendet werden. Zusätzlich kann auch die Immunantwort auf Biomaterialien mithilfe von Makrophagen untersucht werden.

c. Antibakterielle Eigenschaften von Hydrogelen

Mikrobielle Infektionen gehören auch in der heutigen Zeit noch zu den schwerwiegendsten Komplikationen in Bereichen des Gesundheitswesens, der Wasseraufbereitung und Lebensmittel-lagerung, sowie bei der Reinigung von Krankenhaus- und Zahnarztgeräten. Antimikrobielle Wirkstoffe sind Substanzen, welche die Vermehrung von Mikroorganismen reduzieren oder sie abtöten. Zu Mikroorganismen gehören Pilze und Hefen sowie Viren und Bakterien. Antimikrobielle Wirkstoffe stoßen immer wieder auf Interesse sowohl in der Forschung als auch in der Industrie. Antimikrobielle Mittel mit niedrigem Molekulargewicht haben viele Nachteile, wie z. B. toxisches Umweltverhalten und eine kurze Wirkdauer. Um diese Probleme zu überwinden, werden häufig antimikrobielle Wirkstoffe in Polymermoleküle eingeführt oder immobilisiert, was zu einer Reduktion der einhergehenden Umweltprobleme führt und die Effizienz, Selektivität sowie ihre Lebensdauer erhöht. Angewendet werden diese Polymere beispielsweise in antibakteriellen Verpackungen als Polymerfolie, wo der Wirkstoff entweder immobilisiert oder beschichtet auf der Oberfläche oder in der Masse des Materials eingeschlossen ist [41]. Ein aktuelles Beispiel ist die Eindämmung der Persistenz von SARS-CoV-2 auf leblosen Oberflächen wie Metall, Glas oder Kunststoff, die bis zu 9 Tage lang bestehen bleiben kann. Die Beschichtung von Oberflächen mittels unterschiedlichster biozider Materialien ist dabei eine sehr gute Möglichkeit [42,43]. Interessant sind jedoch vor allem Materialien mit intrinsischen antibakteriellen Eigenschaften ohne einen Zusatz eines antibakteriellen Wirkstoffes. Diese antibakteriellen Eigenschaften von Materialien können durch Bakterientests bestimmt und beurteilt werden.

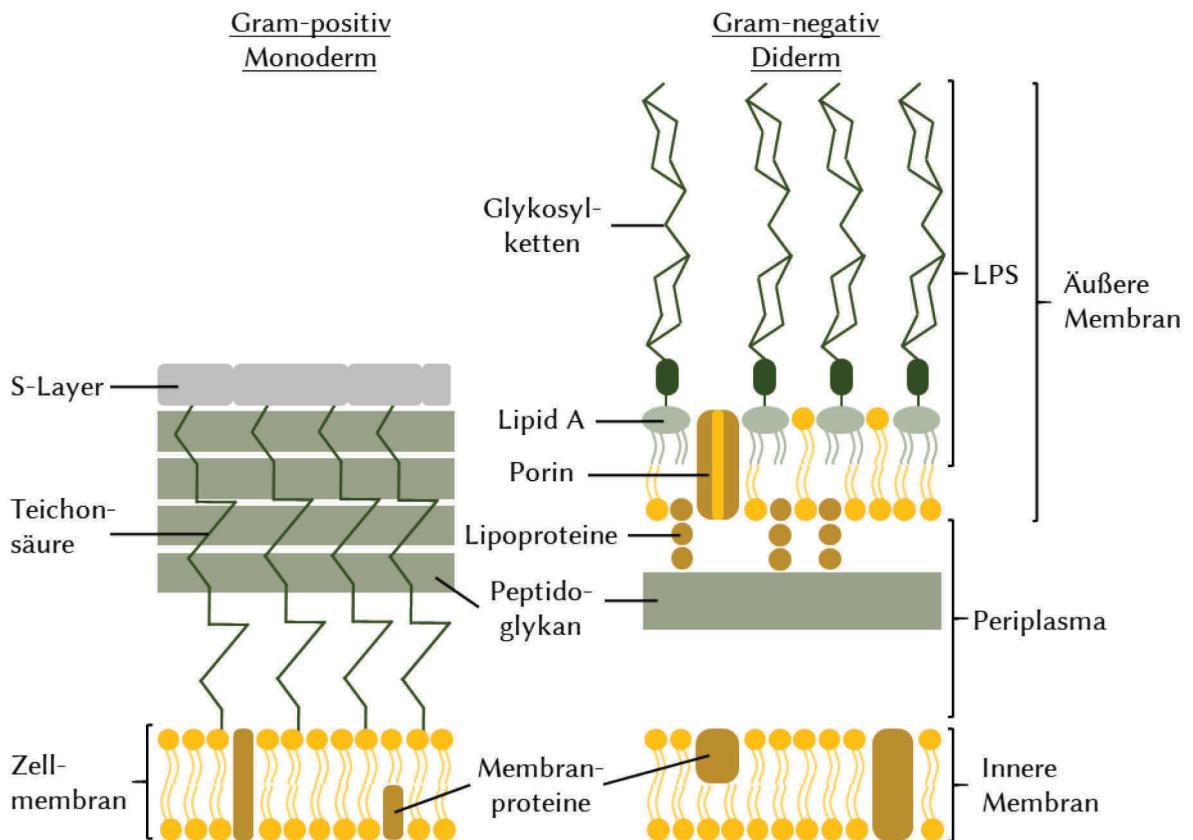


Abbildung 1.4. Gegenüberstellung einer gram-positiven und gram-negativen Zellhülle. Adaptiert nach WALKER *et al.* [44].

Die Bakterienzellhülle hat eine komplexe mehrschichtige Struktur, die das Bakterium selbst vor ihrer Umgebung schützt. Die Zellhüllen der meisten Bakterien lassen sich in eine von zwei Hauptgruppen, gram-positive und gram-negative Bakterien, einteilen. Gram-positive Bakterien haben eine relativ dicke Zellhülle zusätzlich zur Phospholipiddoppelschicht, die aus mehreren Schichten Peptidoglykan besteht und mit Teichonsäuren versteift ist (Abbildung 1.4). Außerdem befindet sich ein S-Layer aus Proteinkristallen. Gram-negative Bakterien hingegen haben eine innere und äußere Membran. Die dünne innere Zellwand ist mit der äußeren Membran über eine dünne Peptidoglykanschicht und Lipoproteine verknüpft, wobei die äußere Membran zusätzliche Lipopolysaccharide (LPS) enthält [44,45]. Die Einteilung von gram-positiv und gram-negativ basiert auf einer Färbung der unterschiedlich dicken Peptidoglykanschicht, auch bekannt als Mureinschicht. Nach der Behandlung mit dem basischen Farbstoff Kristallviolett und Lugolscher Lösung wird ein Farbstoff-Iod-Komplex in der Peptidoglykanschicht gebildet, worauf sich das Bakterium blau färbt. Bei einer Behandlung mit Ethanol kann sich ein Bakterium mit einer dünnen Peptidoglykanschicht wieder entfärben, was somit als gram-negativ gilt [46]. Oft werden diese Bakterientypen aufgrund ihrer Struktur auch als Monoderm und Diderm beschrieben [47]. Diese Unterschiede in der Bakterienhülle ist für die Ergebnisse von Kapitel 3.4 von Bedeutung.

Der antimikrobielle Effekt von polyionischen Hydrogelen beruht auf den Coulombschen Wechselwirkungen zwischen der (typischerweise) negativ geladenen mikrobiellen Membran und dem positiv geladenen Hydrogelnetzwerk (Abbildung 1.5). Wenn die Anziehung zwischen den anionischen Membrankomponenten und dem kationischen Hydrogel stark genug ist, können die Nanoporen des Hydrogels wie ein "Anionenschwamm" wirken und Teile der Membran in das Netzwerk hineinziehen. Dieser Vorgang führt zu einer Energieminimierung und einer

Entropiemaximierung des Systems. Diese Störung der antimikrobiellen Membran bewirkt eine Membranzerstörung des Bakteriums und ein Absterben der Mikroben [48].

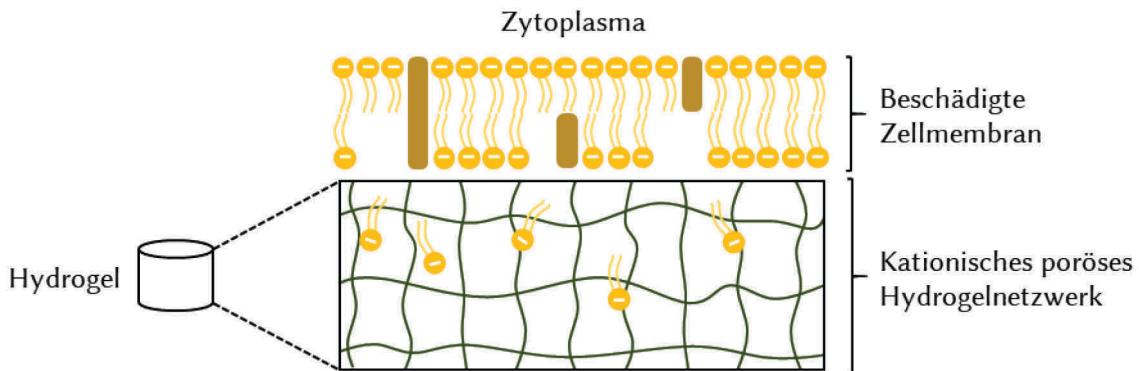


Abbildung 1.5. Schematische Darstellung des „Anionenschwamm“-Modells. Adaptiert nach Li *et al.* und CLAUS *et al.* [48,49].

Hydrogele werden in medizinischen Anwendungen oft als Beschichtungen von Implantaten genutzt. Ihre Eigenschaften, antibakterielle Wirkstoffe zu immobilisieren oder ihre intrinsischen antibakteriellen Charakteristika selbst sind dort von großem Vorteil. Antibakterielle Beschichtungen von Implantaten werden oft als Lösung für die Belastung durch implantatbedingte Infektionen gehandelt. Beispielsweise kann eine Hyaluronsäure-poly-Milchsäure-Beschichtung, auch "Defensive Antibacterial Coating" genannt, speziell für den Schutz implantierter Biomaterialien in der Orthopädie und Zahnmedizin entwickelt [30].

d. Mechanische Eigenschaften von Hydrogelen

Die bereits beschriebenen Quellungseigenschaften von Hydrogelen korrelieren oftmals stark mit der Elastizität eines Hydrogels, welche durch die jeweilige Zusammensetzung stark beeinflusst werden kann. Schon allein durch die Auswahl des Vernetzers, des Monomers und dessen Konzentrationen lassen sich die Widerstandsfähigkeit auf Druck- und Zugeinwirkungen einstellen [50]. Eine gute Biokompatibilität wiederrum geht oft auf Kosten der mechanischen Beständigkeit des Hydrogels [51]. Die Untersuchung der mechanischen Eigenschaften von diesen Materialien bietet viele Vorteile, wie z. B. ein tieferes Verständnis von Zusammenhängen von Struktur und Wirkung. Besonders die reversiblen Quellungseigenschaften und Verformungsmöglichkeiten sind für viele biomedizinische Anwendungen, wie Stentbeschichtungen, Knorpelersatzmaterialien und Wirkstofffreisetzungssysteme, äußerst interessant, da sie menschlichem Gewebe ähneln und sogar in der Zellregeneration unterstützen können [52,53].

Generell lassen sich ideal verhaltende Materialien in Festkörper und Flüssigkeiten unterteilen. Wenn eine Kraft auf einen idealen Festkörper ausgeübt wird, verformt sich das Material und verbleibt in diesem Zustand, bis diese Kraft aufgehoben wird und das Material in seinen Ausgangszustand zurückkehrt. Diese Art der Verformung wird auch elastisches Verhalten genannt, da die Energie, die zur Erzeugung der Verformung geleistet wurde, im Material gespeichert und vollständig wiedergewonnen werden kann, wenn diese Kraft entfällt. Ideale Flüssigkeiten hingegen lassen sich unbegrenzt verformen, solange eine Kraft auf sie ausgeübt wird. Wird die einwirkende Kraft aufgehoben, verbleibt eine ideale Flüssigkeit in ihrem Zustand. Obwohl das Ausmaß der Verformung unbegrenzt ist, wird die Geschwindigkeit, mit der sich die Flüssigkeit verformt und fließt, genau durch die Größe der Kraft bestimmt. Das Verhältnis von Kraft und Verformungsgeschwindigkeit ist als Viskosität definiert, die angibt wie schnell eine Flüssigkeit fließt, wenn eine Kraft in

einer konstanten Geschwindigkeit ausgeübt, bis die Kraft aufgehoben wird. Ein idealer plastischer Körper wiederrum verhält sich wie ein starrer Festkörper, solange kleine Spannungen angelegt werden. Oberhalb der Fließgrenze ist die Verformung idealer plastischer Körper, wie Stähle beim Schmieden, irreversibel. Reale Materialien sind weder ideale Feststoffe noch ideale Flüssigkeiten oder gar ideale Mischungen. Sie zeigen sowohl elastisches als auch viskoses Verhalten und werden daher viskoelastisch genannt [54].

Elastisches Deformationsverhalten wird durch das Elastizitätsgesetz bzw. das Hooke'sche Gesetz dargestellt. Hooke'sche Materialien verformen unter einer herrschenden Spannung σ proportional zu einer Dehnung ε . In diesem linear-elastischen Bereich gilt das Hooke'sche Gesetz. Über die erhaltene Steigung lässt sich das Elastizitätsmodul E bestimmen, welches die Duktilität eines Materials angibt. Über den linearen Bereich hinaus kann das Material bis zur Elastizitätsgrenze reversibel verformt werden. Oberhalb dieser Grenze ist die Verformung, bis hin zum Bruch, irreversibel (Abbildung 1.6). Das Hooke'sche Gesetz gilt jedoch nur für linear-elastische Materialien, während Hydrogele normalerweise nichtlineare Spannungs-Dehnungs-Reaktionen aufweisen. Für Kunststoffe, gummiähnliche Materialien und vernetzte Polymerketten ist das Neo-Hooke'sche Gesetz anwendbar. Vernetzte Polymerketten können sich bei geringen Belastungen zunächst relativ zueinander bewegen. Ab einem gewissen Punkt sind die Polymerketten zu einem Maximum der kovalenten Verknüpfungen gedehnt, was zu einem dramatischen Anstieg der Spannung und des E -Moduls führt. Dieses Modell gilt jedoch nur für geringe Dehnungen von unter 50 % [55]. Dennoch wird bei kleinen Verformungen oft das Hooke'sche Modell auf nichtlineare Materialien im linearen Bereich angewendet [56,57]. Nicht nur die mechanischen Eigenschaften, sondern auch die Elastizität des Gelnetzwerkes lässt sich mithilfe des Hooke'schen Gesetzes beschreiben [58].

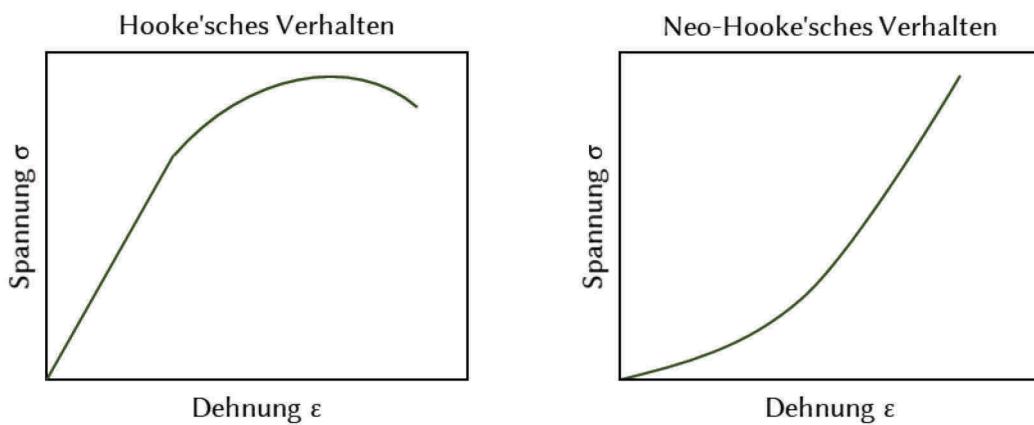


Abbildung 1.6. Gegenüberstellung von Hooke'schen und Neo-Hooke'schen Verhalten.

Um mechanische Informationen für viskoelastische Systeme zu erhalten, werden oft oszillatorische Scherdehnungen oder -spannungen mit kleiner Amplitude anstatt gleichmäßiger Verformungen auf die Probe aufgebracht. Wenn eine oszillatorische Scherdehnung mit einer Amplitude γ_0 in einer Kreisfrequenz ω angelegt wird, oszilliert die Spannung σ ebenfalls mit der Zeit t , ist jedoch um δ phasenverschoben (Abbildung 1.7). Materialien mit einer Phasenverschiebung zwischen 0° und 90° können als die Summe ihrer elastischen und viskosen Beiträge ausgedrückt werden (Formel 1.7). Das komplexe Schermodul setzt sich aus dem Speicher-Schermodul G' und dem Verlust-Schermodul G'' zusammen, welche das elastische und das viskose Verhalten von Materialien beschreiben. Über eine stetige Oszillationsmessung lässt sich die Gelierung eines Hydrogels verfolgen. Dabei ist G'' bis zum Gelierungspunkt größer als G' . Ab diesem Gelierungspunkt geht

das Hydrogel immer mehr vom flüssigkeitsähnlichen Verhalten zum feststoffähnlichen Verhalten über, bis ein stationärer Zustand erreicht ist.

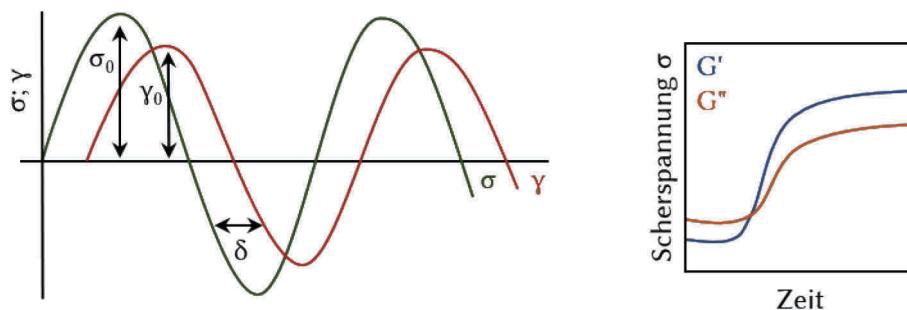


Abbildung 1.7. Spannung und Dehnung bei einer oszillatorischen Verformung (links) und die schematische Darstellung einer Polymerisationsverfolgung eines Hydrogels (rechts). Adaptiert nach JANMEY *et al.* [54].

Bei Dehnungs- sowie Kompressionsuntersuchungen wird die Spannung in Bezug auf die jeweilige Dehnung aufgenommen. Dabei hat jedoch auch die Geschwindigkeit der Messung einen großen Einfluss. Bei Scher-Dehnungsuntersuchungen wird die Auslenkung von einem Messpunkt zum nächsten erhöht, wobei die Frequenz konstant gehalten wird. Eine Kenngröße dieser Untersuchungen ist der lineare viskoelastische Bereich, der konstante Plateauwert des G' -Kurvenverlaufes, in der die Probe verformt werden kann, ohne sie zu zerstören. Wenn G' in diesem Bereich größer ist als G'' , zeigt das untersuchte Material eine gelartige oder feste Struktur auf. Nach diesem konstanten Bereich nimmt die anfängliche strukturelle Festigkeit ab, bis G' und G'' gleich groß sind und die Probe anfängt zu fließen. Wenn jedoch G'' größer als G' ist, zeigt die Probe eine eher flüssige Struktur auf (Abbildung 1.9).

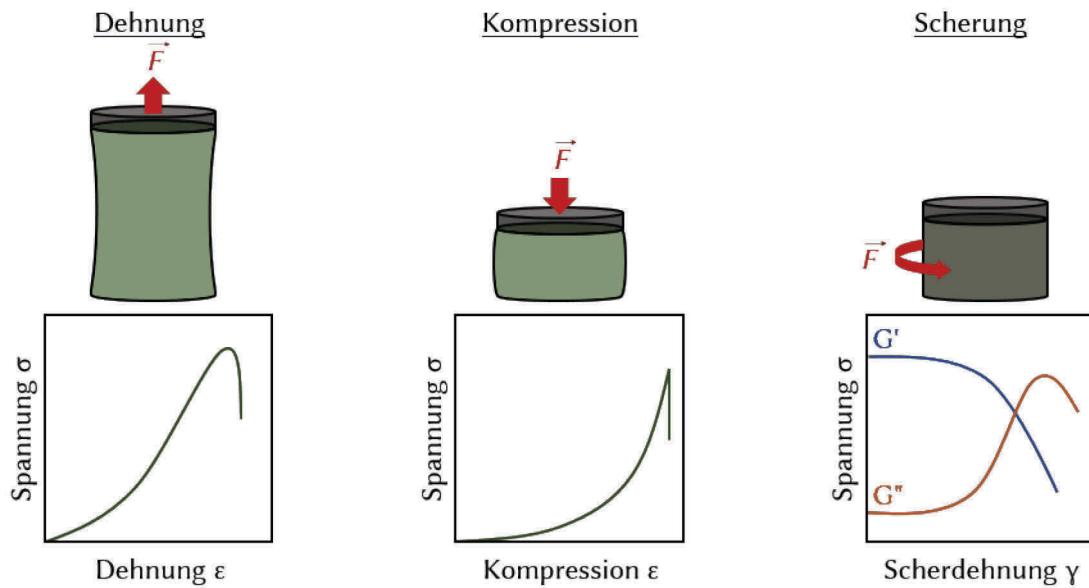


Abbildung 1.8. Schematische Darstellung verschiedener mechanischer Tests. Adaptiert nach JANMEY *et al.* [59].

Scher- sowie Oszillationsmessungen sind wichtige Arten mechanischer Tests. Biomaterialien erfahren durch anhaltende Kräfte wie Schwerkraft oder Blutdruck eine konstante Belastung, Beanspruchung und Verformung. Aus diesem Grund müssen diese Eigenschaften vor ihrem Einsatz im menschlichen Körper genauestens untersucht werden.

1.3 Anwendungen von Hydrogelen

Hydrogele haben sich in den letzten Jahrzehnten stark weiterentwickelt und sind durch ihre vielseitigen Eigenschaften nicht mehr aus der Industrie wegzudenken. Ihre mögliche Anwendung erstreckt sich von Superabsorbern in Windeln [60,61] über Be- und Entwässerung von Nährböden für Pflanzen [62,63] bis hin zu Ionenaustauschern in der Reaktionstechnik [64]. Besonders in der Medizin wecken die vielseitigen Polymernetzwerke großes Interesse mit neuartigen Therapieansätzen. So wurden in der vergangenen Dekade durch die Verwendung von Hydrogelen als Implantate große Fortschritte in der Gewebe-Technologie erzielt. Ein herausragendes Beispiel ist die Verwendung von selbstexpandierenden, hydrophilen und osmotischen Hydrogelen für die Rekonstruktion von klinischen Anophthalmen. Bei dieser angeborenen Fehlbildung kommen die Säuglinge nur mit einem oder ohne Augäpfel zur Welt [65]. Dies hat in der weiteren Entwicklung eine Verformung des Schädels zur Folge, welche durch den Einsatz von Hydrogelen verhindert werden kann. Dabei absorbieren die trockenen Gele die sie umgebende Gewebeflüssigkeit, quellen bis auf das Zehnfache ihres Ausgangsvolumens und können so den notwendigen Gegendruck innerhalb des Schädels aufbauen [66]. Verglichen mit den herkömmlichen, häufig starren Augenprothesen aus Spezialglas bietet die Formflexibilität des mitwachsenden Hydrogels gerade bei jungen Patienten einen enormen Vorteil [67]. Eine weitere häufige Erkrankung ist die Degeneration der Bandscheibe, welche oft mit starken Rückenschmerzen sowie Bewegungseinschränkungen einhergeht. Die gängigen Behandlungsmöglichkeiten erstrecken sich von Schmerzmedikation in Form von Tabletten oder Injektionen über Physiotherapie bis hin zu komplexen invasiven Eingriffen wie beispielsweise einer operativen Wirbelsäulenstabilisierung. Bei letzterer wird die Bandscheibe irreversibel ersetzt. Dies ist in der Regel mit einer längeren Rehabilitationszeit verbunden. Außerdem können dauerhafte Einschränkungen im Alltag nicht ausgeschlossen werden. Eine für den Patienten deutlich schonendere Methode ist das Einbringen eines Hydrogelsticks in das Innere der Bandscheibe. Nach vollständiger Quellung kann das Gel die geschwächte Bandscheibe entlasten und sie in ihrer Tätigkeit unterstützen. Der minimalinvasive Eingriff hinterlässt lediglich den Einstich der Nadel und kann im Dämmerschlaf durchgeführt werden [68]. Die genannten Beispiele verdeutlichen zwar den Einfluss im medizinischen Bereich, stellen jedoch nur einen Bruchteil der Anwendungsmöglichkeiten für Hydrogele dar.

Einen großen medizinischen Vorteil bietet die Nutzung von Hydrogelen als Wirkstofffreisetzungssystem bzw. Drug-Delivery-System (DDS). Sie bestehen aus dem Arzneimittel und einem oder mehreren Hilfsstoffen, die eine effektivere Medikamentenverabreichung durch ihre lange Wirkstoffabgabe über einen langen definierten Zeitraum ermöglichen (siehe Abb. 1.9). Bei einer üblichen Medikamentenverabreichung liegt die Wirkstoffkonzentration am Applikationsort und dem umliegenden Gewebe oft oberhalb sowie unterhalb des therapeutischen Fensters. Ein implantiertes DDS gewährleistet jedoch eine kontinuierliche Freisetzung im Bereich des therapeutischen Fensters. Zusätzlich führt eine ungenügende Therapietreue der Patienten häufig zu einer diskontinuierlichen Anwendung notwendiger Medikationen. Dem kann durch ein implantiertes DDS, über einen definierten Zeitraum und ohne das Eingreifen des Patienten oder Arztes, entgegengewirkt werden [69,70].

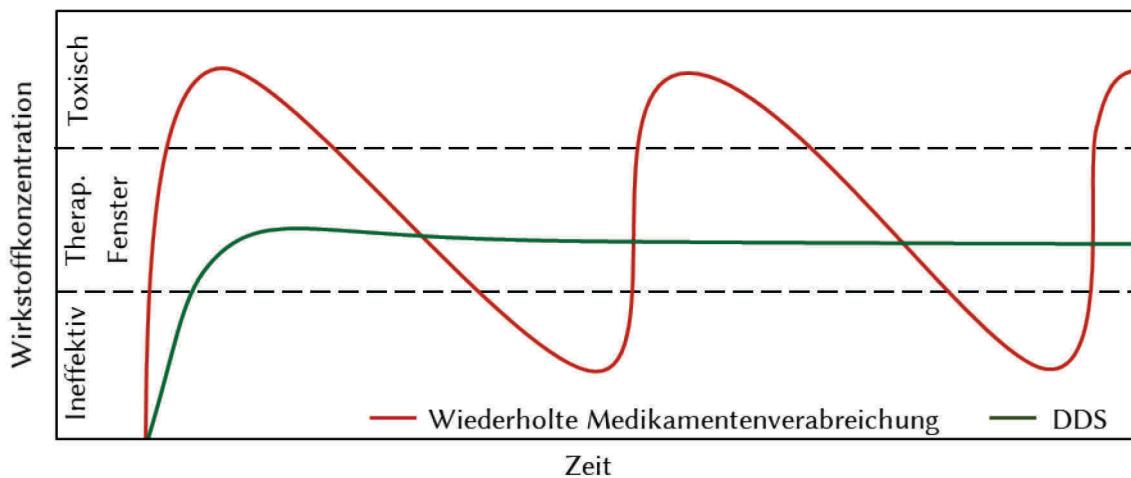


Abbildung 1.9. Wirkstoffkonzentrationsverlauf einer wiederholten Medikamentenverabreichung im Vergleich zu einem idealen kontrollierten DDS. Adaptiert nach PEPPAS und LANGER *et al.* [69].

Hydrogele bieten durch ihre poröse Struktur, einstellbare Porengröße und variierbare Geometrie eine geeignete Grundlage für DDS. Aufgrund dieser Eigenschaften haben sie die Fähigkeit, Biomoleküle und bioaktive Moleküle einzubauen. Im Verhältnis zu ihrem Volumen können Hydrogele mit großen Mengen an Wirkstoffen beladen werden und diese kontrolliert wieder freisetzen [71,72]. Dabei wird in (i) diffusionskontrollierte, (ii) quellungskontrollierte und (iii) chemisch kontrollierte Mechanismen unterschieden. Der bei Hydrogele am weitesten verbreitete Mechanismus ist die Wirkstofffreisetzung durch Diffusionskontrolle, die in zwei Haupttypen unterteilt werden kann: (i) Reservoir-Systeme und (ii) Matrix-Systeme (siehe Abb. 1.10).

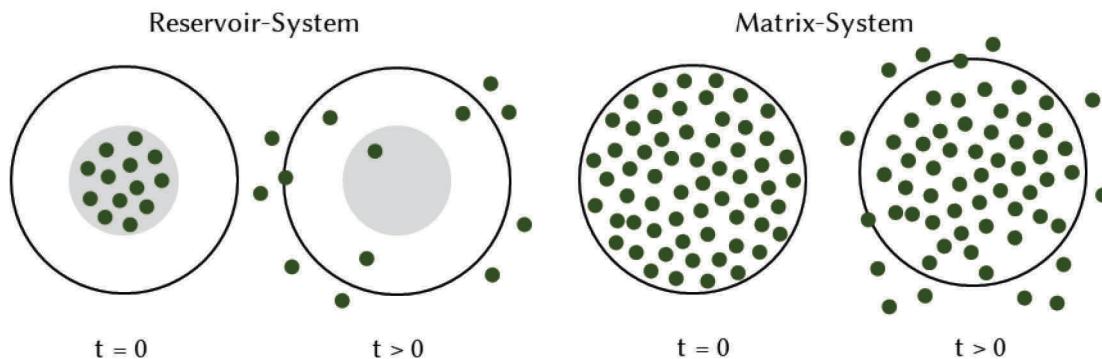


Abbildung 1.10. Diffusionskontrollierte Freisetzung eines Reservoir- und Matrix-Systems. Adaptiert nach GANJI *et al.* [73].

Reservoir-Systeme bestehen aus einem Wirkstoffkern und einer permeationsfähigen Polymerhülle, wie z. B. Polymermembranen, Hohlfasern, Kapseln oder Mikrokapseln. Dabei werden oftmals nicht degradierbare Polymere wie Silikonkautschuk, Poly(ethylen-co-vinylacetat) oder Hydrogele genutzt. Die Wirkstofffreisetzungsrates kann durch die Dicke und die Permeabilität der verwendeten Membran eingestellt werden. Diese Reservoir-Systeme setzen den eingeschlossenen Wirkstoff mit einer konstanten Rate frei, jedoch mit dem Risiko einer sofortigen Freisetzung des gesamten Wirkstoffes bei einer Beschädigung der Polymerhülle [74–77]. Beispielsweise können eine Reihe von Membranen aus Poly(vinylalkohol) und Chitosan durch die Lufttrocknung dünner Filme hergestellt werden. Diese Membranen zeigten gute Permeabilitätseigenschaften für kleine Moleküle wie Riboflavin und Insulin [17,78]. Bei Matrix-Systemen wiederrum ist der Wirkstoff im kompletten dreidimensionalen Polymernetzwerk dispergiert. Die Freisetzung findet bei beiden Möglichkeiten

über die Diffusion durch das makromolekulare Netz oder durch die mit Wasser gefüllten Poren statt. Große Vorteile dieser Systeme sind die einfache Herstellung und die Abwesenheit schwerwiegender Probleme im Falle einer Beschädigung, jedoch nimmt die Medikamentenfreisetzungsrate mit der Zeit ab [73,79]. Ein Beispiel für ein diffusionskontrolliertes Matrix-System sind nanofibrilläre Cellulose-Hydrogele für die Abgabe von kleinen Molekülen bis hin zu Proteinen [80], oder die Freisetzung von Chlorhexidin, Levofloxacin oder Diclofenac aus pHEMA-Kontaktlinsen [81]. Bei diesen diffusionskontrollierten Freisetzungssystemen ist die Zeit der Wirkstoffdiffusion der limitierende Schritt und es dominiert die Ficksche Diffusion, während bei der quellungskontrollierten Freisetzung die Polymerrelaxation und die Wirkstoffdiffusionszeit den Vorgang limitieren und die Freisetzung nach dem Fall-II Transport erfolgt. Eine quellungskontrollierte Freisetzung tritt auf, wenn die Diffusion des Medikaments schneller erfolgt als die Hydrogel-Quellung selbst (siehe Abb. 1.11). Die Wirkstofffreisetzung wird von der Geschwindigkeit und Position der Solventfront bestimmt, die das trockene (grauer Bereich in Abb. 1.12) vom gequollenen (gestrichelte Linie in Abb. 1.12) Polymerteil trennt [82]. Wenn das Hydrogel aufquillt, werden die Polymermaschen weiter und der Wirkstoff (grüne Punkte in Abb. 1.12) kann aus dem Netzwerk entweichen [83,84].

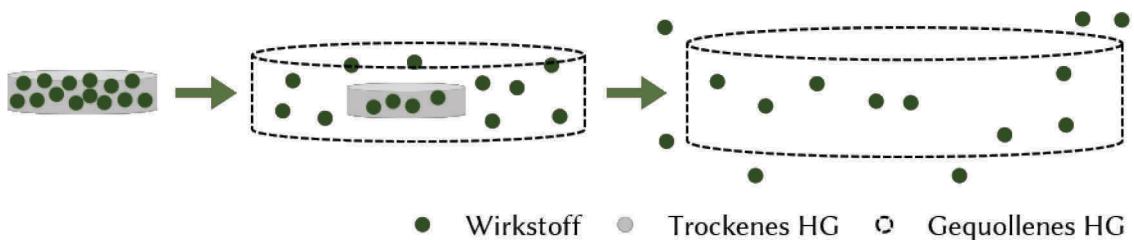


Abbildung 1.11. Quellungskontrollierte Freisetzung eines Wirkstoffes aus einem Hydrogel. Adaptiert nach CACCAGO *et al.* [85].

Dieses Phänomen kann mit der Anwendung von stimulus-responsiven Hydrogelen ausgenutzt werden. Ein pH-abhängiger Stimulus wird häufig bei der Medikamentenvergabe für den Darmtrakt genutzt. Bei dieser Anwendung ist die Quellung der Hydrogele im sauren Magen nur minimal, wodurch das Medikament geschützt weiter in den Darmtrakt transportiert werden kann. In der neutraleren Umgebung quillt das Depot stark auf und ermöglicht eine schnelle Medikamentenabgabe. Für diese Anwendung werden häufig kondensierte Alginat-Hydrogele verwendet. Die Carbonsäuregruppen deprotonieren hier bei neutralem pH-Wert, was eine starke Quellung sowie die Freisetzung des Medikamentes mit sich zieht [86].

Chemisch kontrollierte Freisetzungssysteme können in zwei Haupttypen, nämlich (i) degradierbare und (ii) "pendant-chain"-Systeme unterteilt werden (siehe Abb. 1.12). Bei degradierbaren Systemen erfolgt die Wirkstofffreisetzung durch den Abbau bzw. die Auflösung des Hydrogels selbst, da die Maschenweite während des Abbaus immer weiter zunimmt, bis der Wirkstoff aus dem Depot herausdiffundieren kann. Die Degradation, die am Polymerbackbone und an den Vernetzungen erfolgen kann, wird typischerweise über Hydrolyse [87–89] oder Enzyme [90,91] eingeleitet. Der Abbauprozess kann entweder über Oberflächenerosion oder Massenerosion erfolgen. Die Oberflächenerosion erfolgt durch einen schichtweisen Abbau, was zu einer konstanten Freisetzung des Wirkstoffes führt. Die Massenerosion ist durch eine Erhöhung der Diffusionsgeschwindigkeit des Wassers bis zur kompletten Hydrolyse des Polymers gekennzeichnet, was häufig zu einer Sättigung des Arzneimittels im Medium führt und somit zu einer nicht-linearen Freisetzung [70,92]. In "pendant-chain" Systemen ist das Medikament kovalent an das Polymer als eine Seitenkette gebunden. Über abbaubare Verknüpfungen zwischen Polymer und Wirkstoff kann diese Bindung gebrochen und der Wirkstoff freigesetzt werden. Zu den angewandten Anbindungsstrategien gehören häufig

Amid- oder Esterbindungen, sowie die die Verwendung von langkettigen Polyethylenglykol-Verknüpfungen. Das Polymernetzwerk bleibt dabei intakt zurück und erlaubt sehr hohe Wirkstoffbeladungen [70,79]. Neben der kovalenten Anbindung an den Polymerseitenketten können elektrostatische Wechselwirkungen zwischen einem geladenen Arzneimittel und der Polymerkette die Freisetzung kontrollieren und verlangsamen. Weiterhin können hydrophobe Medikamente mit hydrophoben Bereichen des Polymers (z. B. aliphatische Ketten) wechselwirken. Die beschriebene Vielfalt der Hydrogele kann ausgenutzt werden, um eine möglichst langfristige und gleichmäßige Freisetzung zu erreichen.

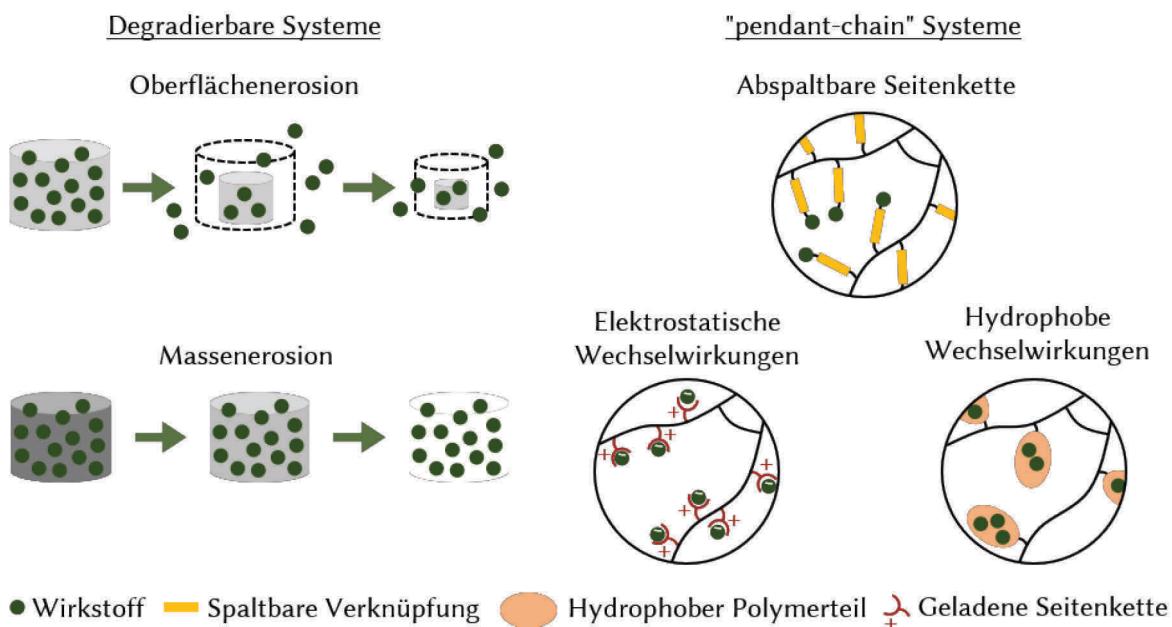


Abbildung 1.12. Übersicht von chemisch kontrollierten Freisetzungssystemen. Adaptiert nach LI und MOONEY *et al.* [79].

2 Ziele der Arbeit

Das Ziel dieser Doktorarbeit ist die gezielte Synthese und Charakterisierung von Hydrogelen, die auf polymerisierten ionischen Flüssigkeiten sowie Polyelektrolyten beruhen. Durch eine iterative Strategie aus Synthese- und Charakterisierung sollen letztendlich Hydrogelen mit speziellen Eigenschaften designt werden, die für eine biomedizinische Anwendung als Wirkstofffreisetzungssystem in Frage kommen (Abbildung 2.1).

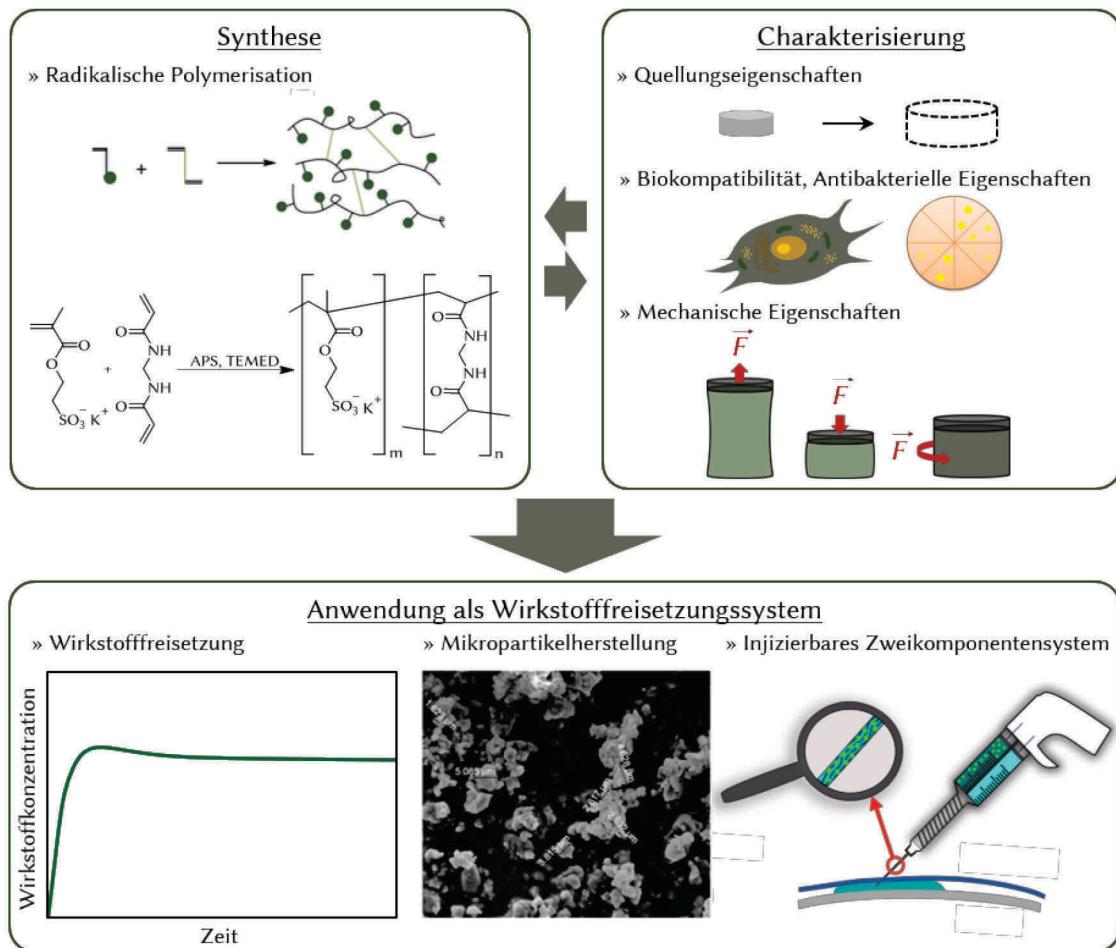


Abbildung 2.1. Schematische Darstellung der Zielstellung dieser Dissertation.

In einem ersten Schritt sollen die synthetisierten Hydrogelen ausgiebig charakterisiert und beschrieben werden. Im besonderen Fokus stehen hierbei vor allem deren Quellungseigenschaften. In einem zweiten Schritt werden dann die Biokompatibilität und Toxizität untersucht werden. Anschließend sollen dann unter Betrachtung der vorangegangenen Ergebnisse die antibakteriellen Eigenschaften der Hydrogelen untersucht werden. Schließlich sollen dann die mechanischen Eigenschaften bestimmt werden und für die Anwendung von Hydrogelen als Wirkstofffreisetzungssysteme (Drug-Delivery-Systeme) evaluiert werden.

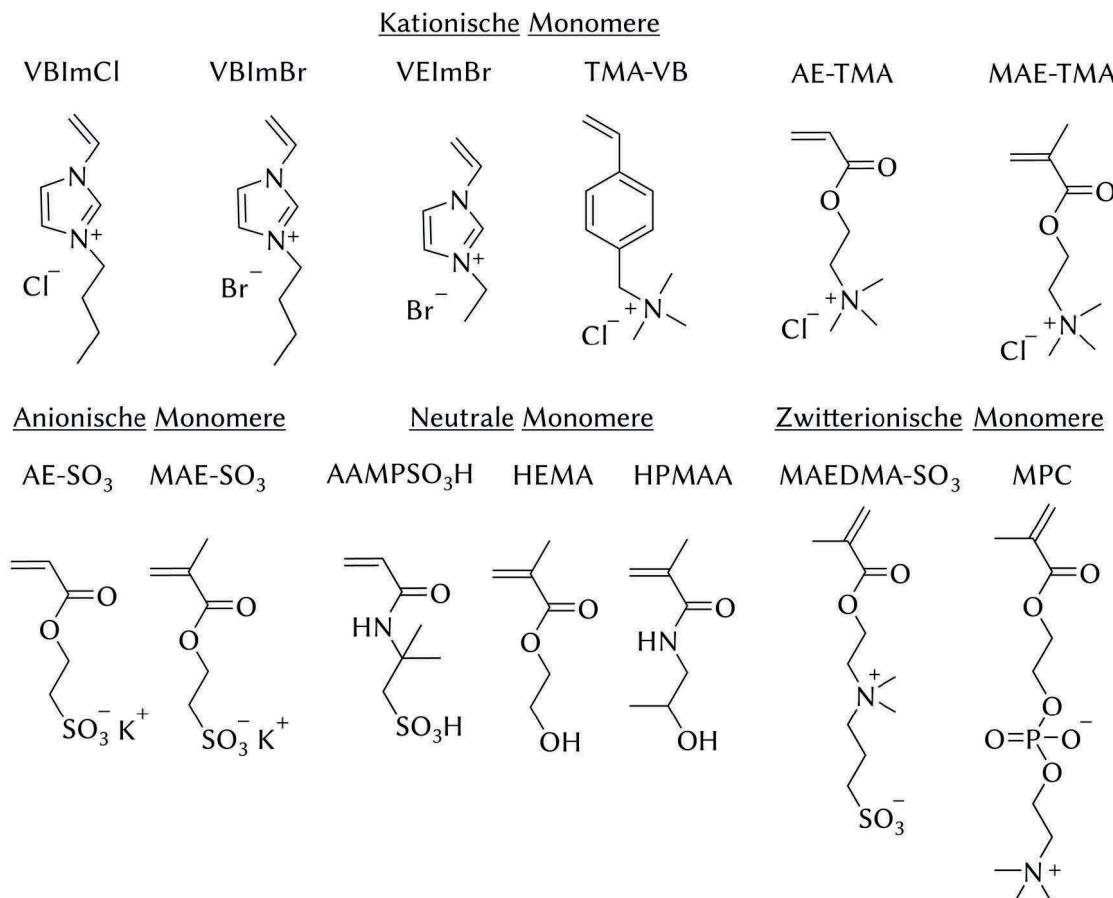
Im letzten Abschnitt der Arbeit sollen diese Hydrogelen als Wirkstofffreisetzungssystem charakterisiert werden. Hier sollen vor allem die kumulative Freisetzung in Abhängigkeit der Zeit und des umgebenden Mediums genauer untersucht werden. Abschließend soll der Einsatz als *in situ* polymerisierendes Zwei-Komponenten-Wirkstofffreisetzungssystem untersucht werden.

3 Charakterisierung von Hydrogeleigenschaften

3.1 Synthese von Hydrogelen

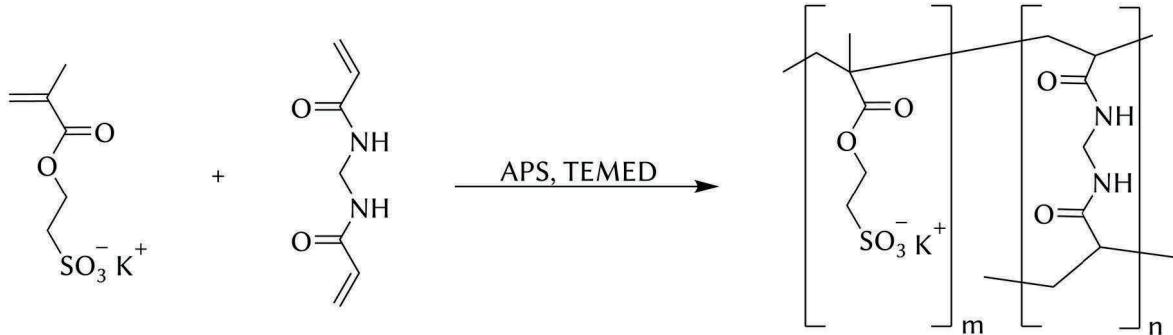
In den letzten Jahren stieg die Bedeutung von biokompatiblen Polymeren in der medizinischen Anwendung stark an. Sie werden immer mehr in den unterschiedlichsten Bereichen, von Tissue Engineering, über Beschichtungen, bis hin zu Wirkstofffreisetzungssystemen genutzt [93–98]. Ein besonderes Augenmerk wird dabei oft auf Hydrogelen gelegt, die durch ihre Möglichkeit hohe Wassermengen aufnehmen zu können und neben ihrer möglichen Biokompatibilität, auch andere interessante Eigenschaften aufzeigen können. Beispielsweise werden neben natürlichen Alginat, Agarose, Chitosan, Kollagen, Hyaluronsäure und Gelantine, auch Vertreter synthetischer Materialien, wie Polyethylenoxid, Polyvinylalkohol und Polyacrylsäure, verwendet [99–101].

Aufgrund der unzureichenden Langzeitstabilität, der erschwerten Sterilisierung, sowie deren unspezifische Zusammensetzung natürlicher Polymere, wird immer öfter auch auf synthetische Polymere zurückgegriffen [102]. In dieser Arbeit wurde auf die Polymerisation von Monomeren auf Basis ionischer Flüssigkeiten mit einer breiten Variation an Ladungen und Strukturen zurückgegriffen (Schema 3.1).



Schema 3.1. Übersicht der genutzten Monomere in dieser Arbeit. 1-Vinyl-3-butylimidazoliumchlorid (**VBImCl**); 1-Vinyl-3-butylimidazoliumbromid (**VBImBr**); 1-Vinyl-3-ethylimidazoliumbromid (**VEImBr**); Trimethyl-vinylbenzyl-ammoniumchlorid (**TMA-VB**); [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid (**AE-TMA**); [2-(Methacryloyloxy)-ethyl]trimethylammoniumchlorid (**MAE-TMA**); Kalium-3-sulfopropylacrylat (**AE-SO₃**); Kalium-3-sulfopropyl-methacrylat (**MAE-SO₃**); 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonic acid (**AAMPSO₃H**); Hydroxyethylmethacrylate (**HEMA**); 2-Hydroxypropylmethacrylamid (**HPMAA**); [2-(Methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammonium-hydroxid (**MAEDMA-SO₃**); 2-Methacryloyloxyethylphosphorylcholine (**MPC**).

In einem ersten Schritt wurde die Polymerisation verschiedener Hydrogele auf Basis ionischer Flüssigkeiten untersucht. Als dreidimensionaler Vernetzer wurde hauptsächlich MBAA genutzt, jedoch wurde in einigen Untersuchungen auch Polyethylenglycoldiacrylat (PEGDA) in unterschiedlichen mittleren Kettenlängen als Vergleich mit untersucht. PEGDA wird für medizinische Anwendungen oftmals verwendet, da er als biokompatibel und degradierbar gilt [103,104]. Die Hydrogele wurden mittels radikalischer Polymerisation hergestellt, wobei APS und TEMED als Radikalstartersystem verwendet wurden (Schema 3.2).



Schema 3.2. Beispielreaktion einer Hydrogelsynthese mit MAE-SO₃ als Monomer, MBAA als Crosslinker und APS/TEMED als Radikalstartersystem.

Die Gelierung konnte als Funktion der Zeit mithilfe des Speicher-Schermoduls G' und des Verlust-Schermodul G" beobachtet werden (siehe **Publikation III**¹). Die Werte von G' stellen die gespeicherte Energie dar, während G" für die Verformungsenergie steht, die durch innere Reibung bei Scherung verloren geht [105]. Als Beispiel ist die Gelierung von pVBlmCl und pMAE-SO₃ in Abbildung 3.1 dargestellt. Bis zum Gelierungspunkt (t_c) ist G" größer als G'. Dieser Kreuzungspunkt von G' und G" stellt den Übergang vom viskosen Verhalten zum elastischen Verhalten dar. Die starke Variation von G" zu Beginn der Messungen ist auf die Empfindlichkeitsgrenze des Rheometers zurückzuführen. Der Gelierungspunkt selbst befindet sich in einem frühen Stadium des Polymerisationsprozesses, in dem das dreidimensionale Netzwerk aufgrund von elastisch unwirksamen Enden, Schlaufen und Streuketten noch nicht vollständig entwickelt ist [106]. Die Beobachtung der Gelierungsgeschwindigkeit kann helfen, die Vernetzungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Vernetzerkonzentration zu verstehen. Nach einer bestimmten Induktionszeit steigt G' schnell an, bis ein Plateau erreicht ist. Im stationären Zustand ist G' viel höher als G", was auf ein überwiegendes elastisches Verhalten des Hydrogels hinweist. Je höher G' im stationären Zustand (G'_{∞}), desto steifer ist das erhaltene Gel.

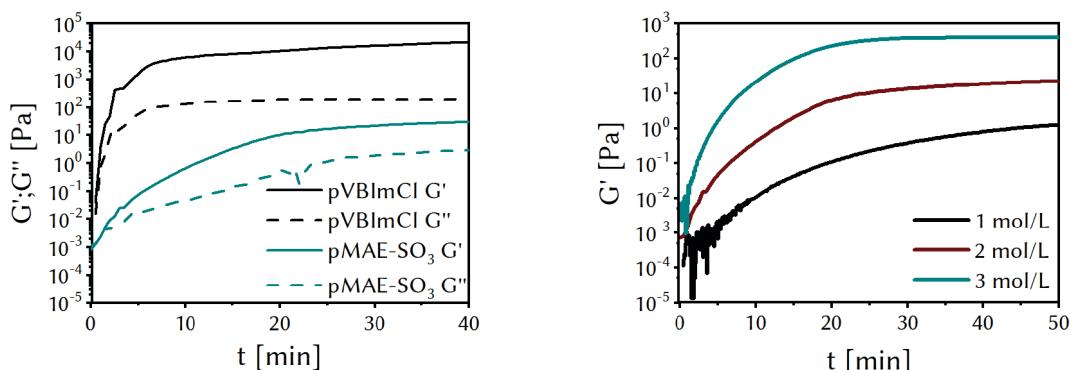
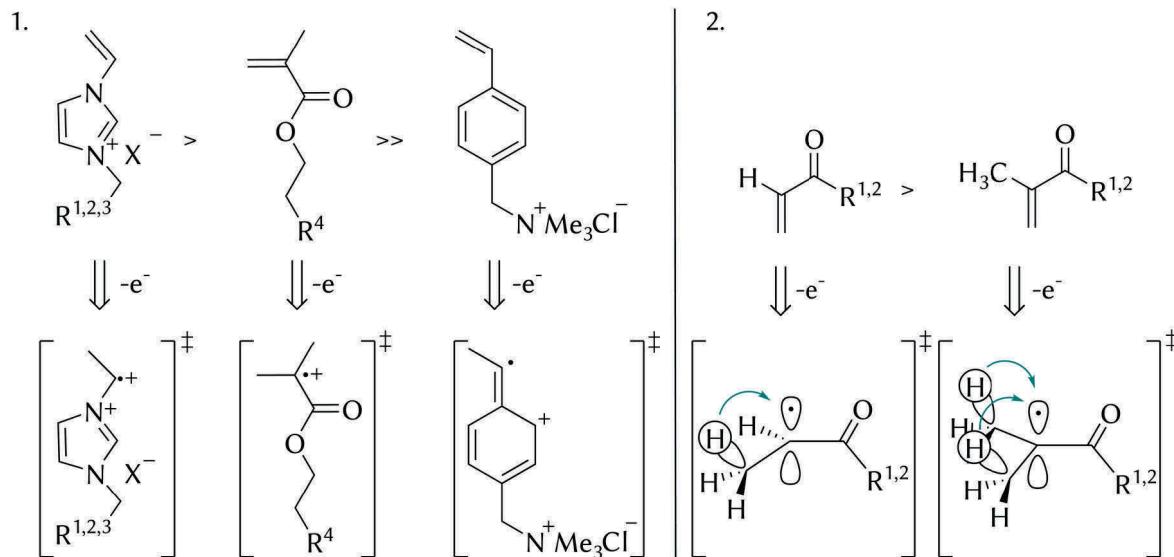


Abbildung 3.1. Gelierungsverfolgungen von pVBlmCl und pMAE-SO₃ (links) und pMAE-SO₃ in Abhängigkeit der Monomerkonzentration (M, rechts) (25 °C; M = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%).

¹ A. Jastram, J. Claus, P. Janmey, U. Kragl. Rheological Properties of Biomedically Interesting Ionic Liquid-Based Hydrogels. *Polym. Test*, submitted **2020**.

Die Polymerisationsgeschwindigkeit kann durch eine Veränderung der Initiatormenge, Monomer- sowie Vernetzerkonzentration der Hydrogele verändert werden. Der Einfluss der Monomerkonzentration ist in Abbildung 3.1 beispielhaft für pMAE-SO₃ dargestellt. Je höher die Konzentration eines Monomers in einem Hydrogel, desto steiler verläuft der Anstieg von G' und desto schneller ist die Gelierung abgeschlossen. Des Weiteren ergeben sich Hydrogele mit einem höheren Wert an G' und somit ein steiferes Hydrogel. Die Gelierung von pVBImCl ist vergleichend zu der von pMAE-SO₃ um ein Deutliches schneller. Während die Gelierung des Hydrogel pMAE-SO₃ sich erst ab 20 min im Gleichgewichtszustand befindet, wird dieser bei pVBImCl unter 10 min erreicht. Daher wurden die Gelierungsprozesse von Hydrogelen in Abhängigkeit von der Monomerstruktur weiterhin untersucht. Auf Imidazolium basierende Hydrogele wie pVBImCl polymerisieren dabei wesentlich schneller auf Acrylat basierende Hydrogele wie pMAE-SO₃. Diese Unterschiede der Gelierungsgeschwindigkeiten lassen sich durch die mesomeren Strukturen der in Schema 3.3 aufgeführten Radikale erklären. Die beiden positiven Ladungen des radikalischen Monomers auf Imidazolium-Basis liegen nahe beieinander, was zu einer Destabilisierung des Monomers führt. Außerdem ist das radikalische Monomer extrem elektrophil, d. h. es ist mit einer anderen Vinylgruppe hochreaktiv und setzt die Kettenreaktion fort. Das Hydrogel pVB-TMA hat die niedrigste Polymerisationsgeschwindigkeit in dieser Zusammenstellung aufgrund der starken mesomeren Stabilisierung des Radikals, was zu einer geringeren Elektrophilie und einer langsameren Umwandlung führt. Ein weiterer Zusammenhang zwischen dem Polymerisationsprozess und der Struktur der Monomere wird durch den Vergleich von MAE-SO₃ und AE-SO₃ sowie MAE-TMA und AE-TMA deutlich. Wenn ein freies Radikalzentrum von einem oder mehreren "π"-Systemen umgeben ist, ist eine stabilisierende Resonanzwechselwirkung zwischen diesen Orbitalen möglich, was zu einer geringeren Reaktivität führt.



Schema 3.3. Überblick über die mesomeren radikalischen Monomerstrukturen [1. Einfluss der Monomerstruktur; 2. Einfluss der zusätzlichen Methylgruppe; R¹ = H; R² = CH₃; R³ = C₂H₅; R⁴ = SO₃K oder N(CH₃)₃Cl].

3.2 Quellungseigenschaften

Die Charakterisierung des Quellungsgrades von Hydrogelen ist eine weitverbreitete Methode zur Charakterisierung. Dafür wurden die Massen der Hydrogele in einem temperierten Wasserbad zeitlich verfolgt. Am Anfang einer zeitlichen Verfolgung einer Hydrogelquellung quillt das Hydrogel besonders stark auf und nimmt schnell an Masse zu. Die Rate der Massenzunahme nimmt immer weiter ab, bis ein Gleichgewichtszustand erreicht ist.

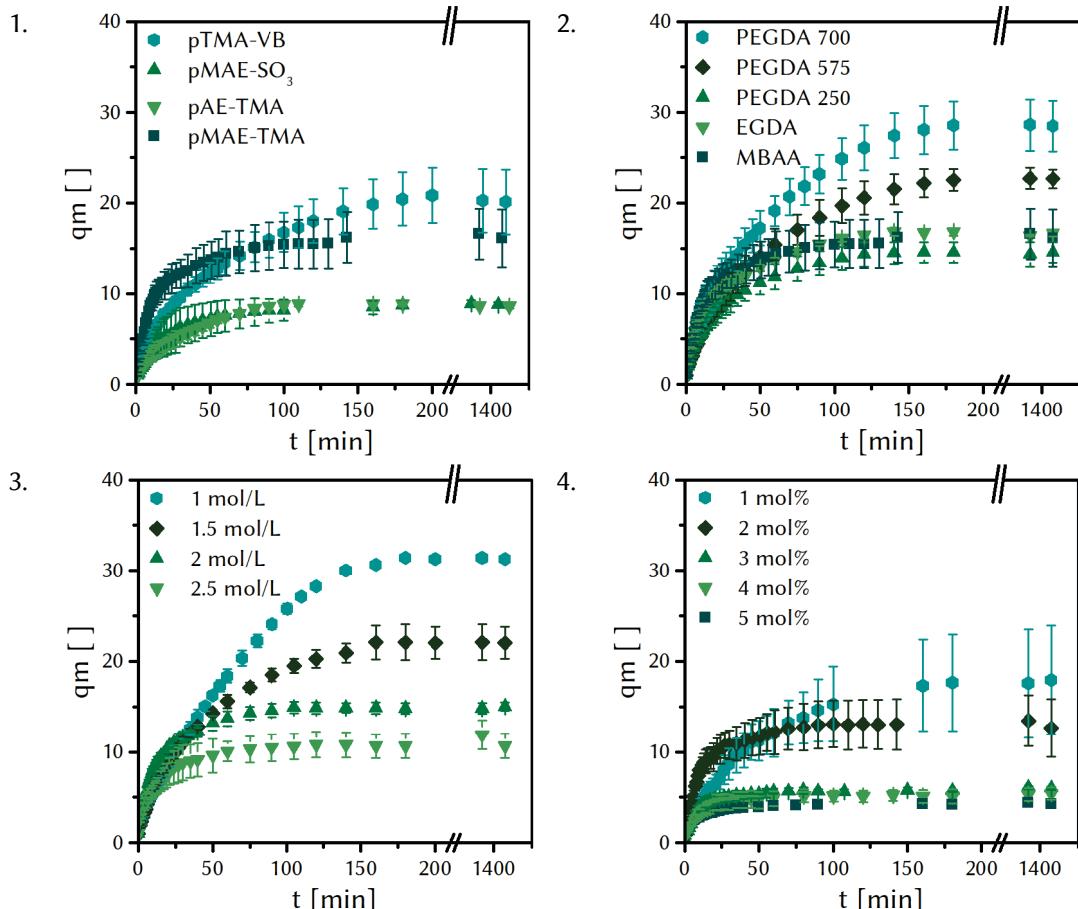


Abbildung 3.2. Verfolgung des Quellungsgrades verschiedener Hydrogele in dest. Wasser in Abhängigkeit des Monomers mit MBAA (1.), des Vernetzers mit pMAE-TMA (2.), des Monomergehaltes (M) pMAE-TMA (3.) und des Vernetzergehaltes (CL) mit pMAE-TMA (4.) ($37 \pm 2^\circ\text{C}$; $n = 3$; M: 2 mol/L; CL: 2 mol%).

Die Struktur des Monomers in einem Hydrogel hat einen großen Einfluss auf den Quellungsgrad (Abbildung 3.2, 1.). Das Hydrogel pTMA-VB erreicht einen Quellungsgrad von 20 innerhalb von 120 min. Diese Zeit zum Gleichgewichtszustand verläuft bei jedem Hydrogel unterschiedlich schnell und liegt bei dieser Auswahl an Hydrogelen von 30 bis 120 min. Im Allgemeinen kann der erreichte Quellungsgrad der Hydrogelen in eine starke und eine leichte Quellung unterteilt werden. Zu den stark quellenden Hydrogelen gehören pTMA-VB und pMAE-TMA, während pAE-SO₃, pMAE-SO₃, pVEtImBr, pAE-TMA, pMPC, pHEMA, pHPMAA, pMAEDMA-SO₃ und pAAMPSO₃H als schwach quellende Hydrogelen eingestuft werden können. Die zusätzliche Methylgruppe der polymerisierbaren Acrylgruppe, die der einzige strukturelle Unterschied zwischen pAE-SO₃ und pMAE-SO₃ ist, beeinflusst die Materialeigenschaften stark. Das Hydrogel pAE-SO₃ zeigt nur einen Quellungsgrad von $5,8 \pm 0,2$, während pMAE-SO₃ ein Quellungsgrad von $8,9 \pm 0,4$ zeigte. Die gleiche Tendenz ist bei den Hydrogelen pMAE-TMA und pAE-TMA mit Quellungsgraden von $13,7 \pm 0,6$ und $8,6 \pm 0,2$. Diese Tendenz ist durch die Stabilität der Monomerradikale und den

Gelierungsprozess zu erklären (Schema 3.3). Ohne eine Methylgruppe sind die gebildeten Monomerradikale instabiler, was zu einer schnelleren Polymerisation, einen höheren Umsatz und einen kleineren Quellungsgrad führt. Verschiedene Parameter können die Hydrogelquellung beeinflussen, wie z. B. die Polymerrelaxation, die Diffusionsgeschwindigkeit des Lösungsmittels im Polymernetzwerk, die Interaktion der funktionellen Seitenketten des Hydrogels sowie die Vernetzerkettenlängen. Die Abhängigkeit des Quellungsgrades von pMAE-TMA vom Vernetzer wurde in Abbildung 3.2, 2. verglichen. Die chemischen Eigenschaften der Vernetzer haben einen signifikanten Einfluss auf das Quellverhalten. So kompensiert beispielsweise der hydrophile Vernetzer PEGDA den Verlust des hydrophilen Charakters während der Polymerisation des Rückgrats [107]. Weiterhin steigt der Quellungsgrad mit der Kettenlänge des Vernetzers an. Darüber hinaus hat sich herausgestellt, dass die Monomerkonzentration im Hydrogel einen wesentlichen Einfluss auf den Quellungsgrad hat. Abbildung 3.2, 3. zeigt die Monomerabhängigkeit von pMAE-TMA von 1 bis 2,5 mol/L. Ein weiterer Abhängigkeitsfaktor für den Quellungsgrad ist die Vernetzermenge was in Abbildung 3.2, 4. als Beispiel von pMAE-TMA dargestellt ist. Der Monomergehalt hat dabei einen größeren Einfluss auf den Quellungsgrad als die Vernetzermenge. Nicht nur der Quellungsgrad, sondern auch die Diffusionsrate, die über den Anstieg der Graphen ermittelt werden können, variieren erheblich. Im Allgemeinen gilt: Je höher der Vernetzergehalt oder die Monomermenge, desto geringer der Quellungsgrad, umso schneller ist der Gleichgewichtszustand erreicht und die Wegstrecke des Wassers in den Hydrogelkörper umso kürzer. Eine weitere interessante Tendenz bei der Erhöhung der Vernetzerkonzentration ist, dass bei dem Beispiel von pMAE-TMA ab einer Konzentration von 3 mol% der Quellungsgrad annähernd konstant bleibt, da ab diesem Punkt die Maschen des Polymernetzwerkes nicht mehr enger werden können. Diese Ergebnisse konnten in **Publikation I²** erfolgreich dargestellt und diskutiert werden.

3.3 Biokompatibilität und Toxizität

Es konnte bereits eine ausgezeichnete *in vitro* Biokompatibilität einer ganzen Reihe von Hydrogelen in Eluat-Tests in der Literatur berichtet werden [108]. Diese Methode berücksichtigt jedoch nur zytotoxische Effekte von Substanzen, die unter physiologischen Bedingungen aus einem Material eluieren. Weder die Wirkung des Polymers selbst noch die Polymeroberfläche auf die Zelladhäsion und damit auf das Zellwachstum und die Lebensfähigkeit der Zellen wird hierbei betrachtet. Bisher wurden die zu untersuchenden Hydrogelmaterialien zur Beurteilung der Zellviabilität im direkten Kontakt auf konfluierende Zellschichten aufgebracht [53]. In diesen Studien können jedoch keine Rückschlüsse darauf gezogen werden, wie gut ein Hydrogel die Zellbesiedlung ermöglicht oder gar unterstützt. Ein solches Hydrogel, das als zelladhärente Beschichtung auf Implantaten verwendet wird, könnte von hohem Wert sein, um Fremdkörperreaktionen und die entsprechenden schweren Komplikationen in verschiedenen Organen zu verhindern [33-37]. Für die Entwicklung eines neuartigen "On-Top"-Direktkontakttests musste zunächst eine geeignete Methode zur Herstellung geeigneter Proben entwickelt werden. Die wichtigsten Anforderungen an die Probe waren eine glatte und ebene Oberfläche sowie Volumen- und Formstabilität. Darüber hinaus müssen sie eine horizontale Positionierung für eine homogene Zellverteilung gewährleisten. Weder das Schneiden der Proben aus zylinderförmig polymerisierten Hydrogelen, noch die direkte Polymerisation in den 96-Well-Platten konnte dies gewährleisten. In Zellkultivierungsexperimenten konnten kaum Zellen auf den Hydrogelen kultiviert werden. Die Lösung für dieses Problem war die Verwendung von zwei Deckgläsern mit 50 mm Durchmesser. Die Hydrogelproben, die zwischen

² J. Claus, A. Brietzke, C. Lehnert, S. Oschatz, N. Grabow, U. Kragl. Swelling characteristics and biocompatibility of ionic liquid based hydrogels for bio-medical applications. *PLoS ONE* **2020**, 15(4), e0231421.

diesen Deckgläsern polymerisiert wurden, hatten aufgrund der Kapillarkräfte zwischen den Gläsern die erforderliche Mindestschichtdicke und eine ausreichend geeignete glatte Oberfläche. Um Volumen- und Formänderungen der Proben während des Versuchs zu verhindern, wurde anstelle von destilliertem Wasser als Quellmedium Zellkulturmedium verwendet. Das hier erstmalig beschriebene entwickelte Verfahren ermöglichte es, die Zellviabilität quantitativ und qualitativ in einem Direktkontakttest zu bewerten (siehe **Publikation I**). Im Allgemeinen zeigen die meisten der getesteten Hydrogele eine ausgezeichnete Biokompatibilität im direkten Kontakt (Abbildung 3.3). Mit 98,4 % relativer Zellviabilität erzielte pVEtImBr das beste Ergebnis im quantitativen Zellviabilitätstest. Die Hydrogele pAE-SO₃, pMAE-SO₃, pMAEDMA-SO₃, pAAMPSO₃H, pHEMA und pMAE-TMA reduzierten die Zellvitalität um nicht mehr als 20 %, was einer geringen Zytotoxizität entspricht. Hinsichtlich ihrer Zellvitalität können diese Hydrogele mit Hydrogelen auf Hyaluronsäure- oder Alginatbasis konkurrieren, die seit Langem klinisch verwendet werden [109,110]. Die Hydrogele pTMA-VB, pMPC und pHPMMA zeigten mit etwa 70 % Zellvitalität eine mäßige Zytotoxizität.

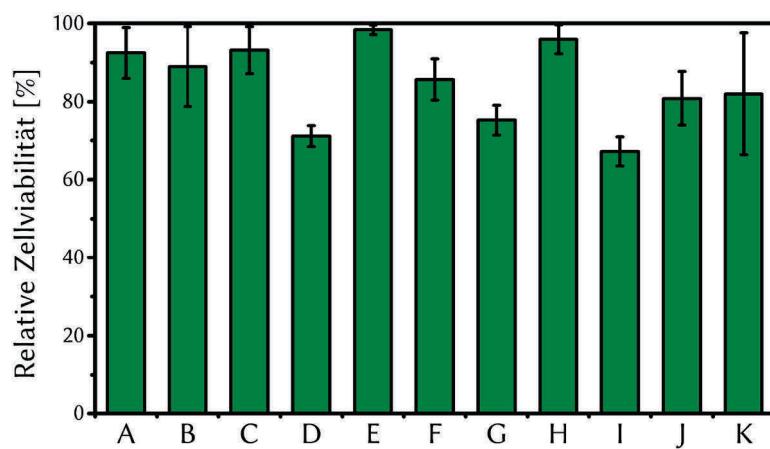


Abbildung 3.3. Übersicht der relativen Zellviabilität von **A**: pAE-TMA; **B**: pMAE-SO₃; **C**: pAE-SO₃; **D**: pMPC; **E**: pVEtImBr; **F**: pMAE-TMA; **G**: pHPMMA; **H**: pAAMPSO₃H; **I**: pTMA-VB; **J**: pMAEDMA-SO₃ und **K**: pHEMA, die mit dem Cell Quanti Blue Assay bestimmt wurden. Die relative Zellviabilität wird durch das Verhältnis der gemittelten Fluoreszenzintensität in den Hydrogelproben zur Polystyrol-Negativkontrolle (100 %) bestimmt. Um die Ergebnisse des Tests zu untermauern, wurde Tetraethylthiuramdisulfid (TEDT) in einer Konzentration von 110-4 mol/L als Positivkontrolle verwendet, n = 3.

Die ermittelte Zellviabilität ist jedoch nur ein Indikator für die metabolische Aktivität der Zelle auf einer Hydrogeloberfläche und damit nur ein Aspekt für die biologische Bewertung. Um eine normale Stoffwechselaktivität, Proliferation und Differenzierung zu gewährleisten, müssen sich Fibroblasten an eine darunter liegende Matrix anheften und sich auf dieser ausbreiten [111]. Diese Fragen wurden mit Hilfe einer qualitativen mikroskopischen Analyse gelöst (Abbildung 3.4). Auf sieben Hydrogeloberflächen konnte ein herausragendes Wachstum von L929-Mausfibroblasten beobachtet werden. Darüber hinaus wiesen die Zellen auf pAE-TMA, pAE-SO₃ und pMAE-SO₃ eine für gesunde Fibroblasten typische Zellmorphologie und eine hervorragende Zelladhäsion auf. Die Hydrogele pTMA-VB, pMPC, pHPMMA, pMAE-TMA und pMAEDMA-SO₃ erzeugten spärlichere Zelldichten und sphärische Formen der Fibroblasten, was auf eine schlechte Zelladhäsion hinweist. Die so auftretenden scharfen Unterschiede zwischen der Zellviabilität und den mikroskopischen Bildern für diese Hydrogele können durch starke Zell-Zell-Adhäsion, aber schwache Zell-Hydrogel-Adhäsion erklärt werden. Dies kann zur Ablösung der Zellen von der Hydrogeloberfläche durch Bewegung der Zellkulturschalen oder Wechsel des Zellkulturmediums führen. Dies unterstreicht jedoch nur die hervorragende Biokompatibilität von pAE-TMA, pAE-SO₃ und pMAE-SO₃ sowie ihre

Eignung als Matrix für das Zellwachstum. Die Zelladhäsion wird jedoch nicht nur durch die biologischen Eigenschaften, sondern auch durch die chemisch-physikalischen Wechselwirkungen zwischen Material und Zellen bestimmt. Positiv geladene Materialien werden von Fibroblasten aufgrund ihrer negativ geladenen Membran bevorzugt [112]. Nichtsdestotrotz haben mehrere Studien eine verbesserte Zelladhäsion und -ausbreitung auf hydrophilen Oberflächen im Vergleich zu hydrophoben Oberflächen gezeigt [113,114]. In wässrigen Systemen sind geladene Materialien offenbar vorzuziehen, unabhängig von der Art der Ladung. Darüber hinaus spielt die Morphologie der Matrix eine wichtige Rolle für die Bildung einer Zellschicht. Insbesondere die getesteten Hydrogele mit dem geringsten Quellungsgrad, wie pHEMA und pMAEDMA-SO₃ zeigten eine besonders geringe Zelladhäsion. Darüber hinaus konnte die beste Zelladhäsion auf Hydrogelen mit einem Quellungsgrad zwischen 5 und 10 (pAE-SO₃, pMAE-SO₃, pAE-TMA) beobachtet werden. Im Gegensatz dazu weisen die Hydrogele mit einem sehr hohen Quellungsgrad, wie pTMA-VB, eine schlechte Zelladhäsion auf. Mäßig quellende Hydrogele bilden eine poröse Oberfläche, die als Anker für die Zellfortsätze dienen kann und ein größeres Oberflächen-Volumen-Verhältnis bietet. Folglich haben Fibroblasten auf diesen Oberflächen eine bessere Bindung der Adhäsionsmoleküle über Wasserstoffbrückenbindungen. Bei stark quellenden Hydrogelen sind die Poren wahrscheinlich zu groß, was schließlich zum Verlust der Ankerfunktion und in der Folge zu einer Reduktion der Wasserstoffbrückenbindungen führt.

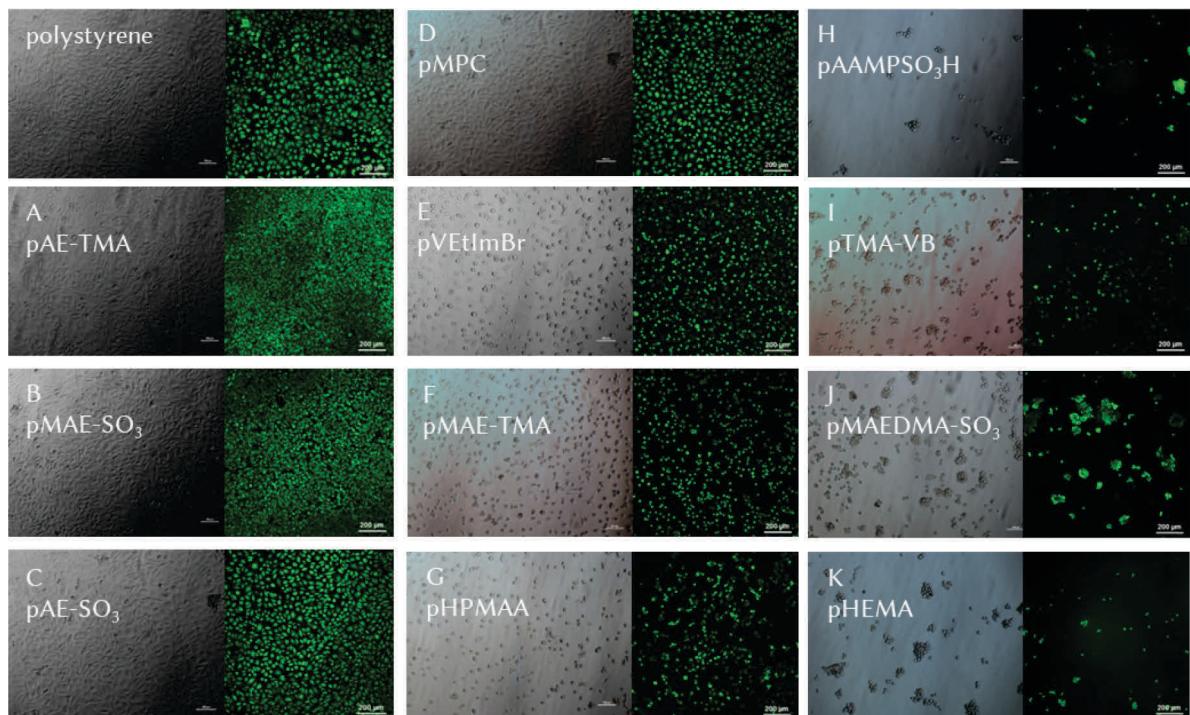


Abbildung 3.4. Mikroskopische Bildgebung der Hydrogele mit Lichtmikroskopie (links) und Calcein-AM-Färbung zur zytochemischen Analyse (rechts).

3.4 Antibakterielle Eigenschaften

Bakterien, die Infektionen verursachen können, haben oft schwerwiegende negative Folgen auf die Gesundheit. Beispielsweise steigt die Zahl von Infektionskrankheiten, die durch pathogene Mikroorganismen verursacht werden, trotz der Fortschritte in den Standards des Gesundheitswesens und der Medizintechnik, immer weiter an [115]. Einer der Hauptgründe ist die weit verbreitete und steigende Zahl antimikrobieller Resistzenzen. Mehrere Mikroorganismen haben bereits Resistzenzen gegen alle bekannten antimikrobiellen Mittel entwickelt, was zu einer erhöhten Zahl von Infektionen führt, die nicht erfolgreich behandelt werden können [116]. Typische Beispiele für wichtige Bakterienstämme, die Infektionen verursachen, sind unter anderem *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) und *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) [117]. *S. aureus* bezeichnet gram-positive Kokken, die aus gelb-pigmentierten kugelförmigen Zellen bestehen. Sie sind fakultativ anaerob, nicht beweglich, züchten keine Sporen und kommen fast überall in der Natur vor; mitunter auch auf der menschlichen Haut und in den oberen Atemwegen des menschlichen Atmungssystems. Gesunde Personen können ohne Folgen von diesen Bakterien besiedelt werden, aber ein geschwächtes Immunsystem in Kombination mit optimalen Wachstumsbedingungen kann dazu führen, dass Infektionen wie Lungenentzündung, Osteomyelitis, Meningitis und Arthritis lebenslang behandelt werden [118]. Leider zeigen einige *S. aureus*-Stämme Resistzenzen gegen eine Reihe gängiger Antibiotika, darunter Methicillin und Vancomycin auf [119]. *P. aeruginosa* ist ein weit verbreiteter gram-negativer Boden- und Wasserkeim und kommt daher in feuchten Umgebungen wie Waschbecken, Duschen, medizinischen Geräten und Medikamenten vor, was ihn zu einem der häufigsten Krankenhauskeime macht. Auch dieser zeigt jedoch Resistzenzen gegen β -Lactame, Fluorchinoline, Aminoglykoside und polykationische antimikrobielle Mittel [120]. *P. aeruginosa* verursacht eine Vielzahl von Infektionen der Lunge, Harnwege, Haut, Augen und Ohren.

Angesichts des Problems der Arzneimittelresistenz besteht die Notwendigkeit, neuartige Materialien zu entwerfen, die insbesondere gegen resistente Bakterienstämme antibakterielle Wirkung zeigen. Neue Materialien können als Trägermaterial von aktiven Substanzen verwendet werden oder eine inhärente antibakterielle Wirkung aufweisen. Die inhärente antibakterielle Wirkung führt zu Vorteilen wie einer längeren Aktivität und einer minimierten Toxizität [121]. Polymerisierte ionische Flüssigkeiten (pILs) sind eine relativ neue und sehr vielversprechende Klasse von funktionellen Polymeren. Ebenso wie pILs gewannen ionische Flüssigkeiten (ILs) aufgrund ihrer Wirkung gegen gram-positive und gram-negative Bakterien sowie Pilze und Algen besonderes Interesse [122,123]. Insbesondere Imidazolium, Pyridinium und andere ILs auf der Basis von quartären Ammonium erzielten ausgezeichnete Ergebnisse [124]. Darüber hinaus können ILs auch zur Synthese von Polymernetzwerken wie Hydrogelen verwendet werden. Aufgrund der ausgezeichneten Biokompatibilität dieser getesteten Hydrogelen könnten sie interessante Vertreter für inhärente antibakterielle Polymere darstellen. Der Vollständigkeit halber wurden auch ihre zugehörigen Monomere getestet (Abbildung 3.5). Bei Verwendung des höchsten Mischungsverhältnisses von 50 μ L Monomerlösung mit 50 μ L Bakterien-Stammlösung zeigten alle Substanzen eine antibakterielle Aktivität gegen *P. aeruginosa* Xen 5 und töteten mindestens 30 % der gram-negativen Bakterien ab. Eine Verdünnung dieser Testlösungen führte zu einer reduzierten Abtötungseffizienz. In einigen Fällen verschwindet der Effekt bei maximaler Verdünnung beinahe vollständig. Das Monomere AE-TMA erlaubt ein Bakterienwachstum bei 1 μ L Monomerlösung von ca. 84 % und AE-SO₃ von 94 %.

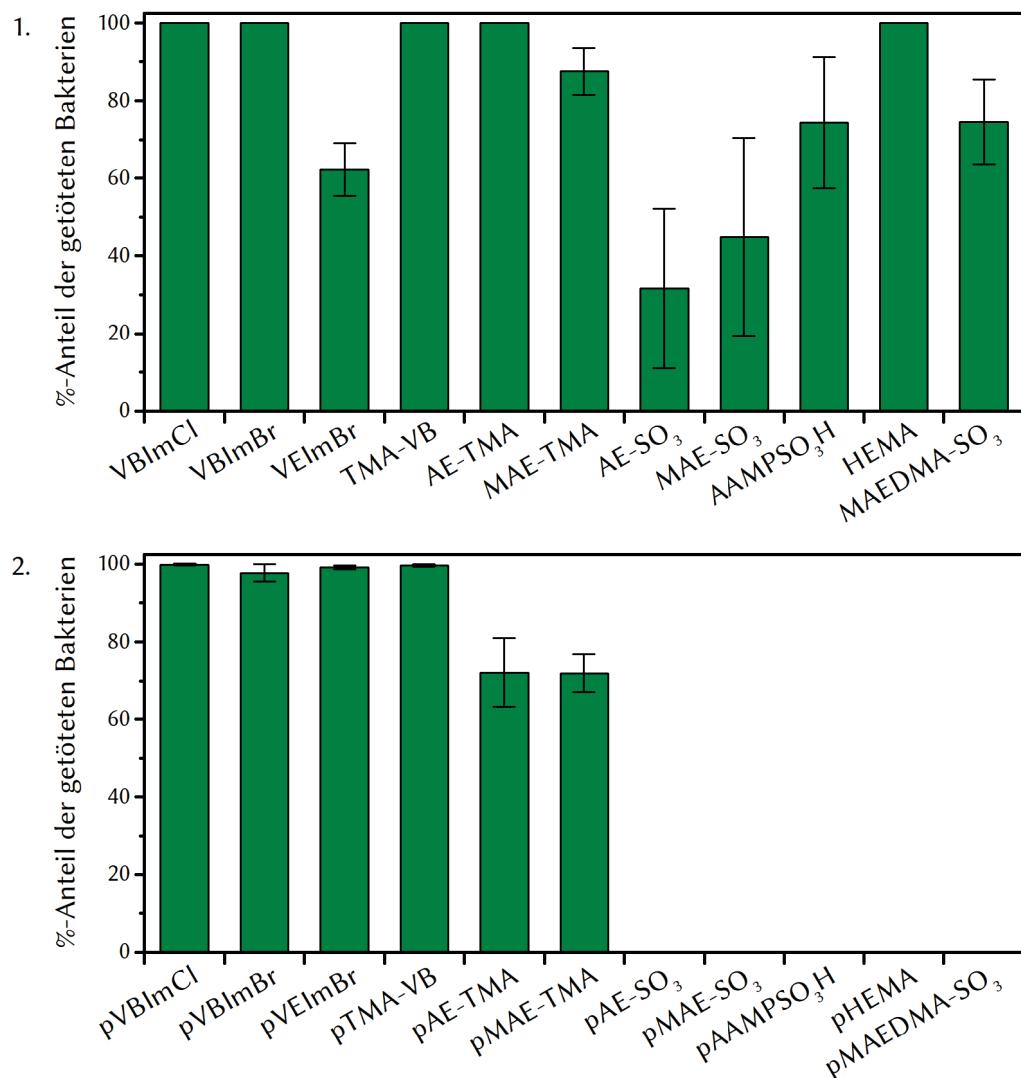


Abbildung 3.5. Antibakterielle Wirkung gegen *P. aeruginosa* Xen 5 von 1.) Monomeren und 2.) Hydrogelen (Monomer-Tests: 50 µL Monomerlösung, 50 µL Bakterienstammlösung, 1 h Inkubation bei 37 °C, n = 3; Hydrogeltests: 100 µL Hydrogel (c = 2 mol/L), 400 µL PBS1X, 500 µL Bakterien-Stammlösung, 1 Std. Inkubation bei 37 °C, n = 3).

In der Literatur wurde bereits beschrieben, dass kationische Substanzen eine stärkere Wirkung auf Mikroorganismen haben, da sie im Vergleich zu anionischen oder neutralen Substanzen eine Wechselwirkung mit der negativ geladenen bakteriellen Zellmembran begünstigen [125]. Dieser Trend spiegelt sich auch in den Ergebnissen der Monomere wider, wobei wir bei den zwitterionischen, neutralen und negativen Hydrogelen gar keinen Effekt beobachten konnten. Bei Verwendung der höchsten Menge von 50 µL zeigten vier der sechs kationischen Monomere eine 100 %ige Abtötungseffizienz: VBlmCl, VBlmBr, TMA-VB und AE-TMA. Statt wie herkömmliche Antibiotika durch eine Blockierung der DNA-Replikation und RNA-Synthese, Störung der Synthese essentieller Metaboliten oder Hemmung der bakteriellen Proteinsynthese eine antibakterielle Wirkung zu entfalten, interagieren die untersuchten Monomere wahrscheinlich mit bestimmten Komponenten der Zellmembran. Dies wurde für eine Reihe von nicht-polymeren und polymeren Bakteriziden mit kationischen, aber auch mit neutralen Komponenten bereits gezeigt [126–128]. Diese Substanzen können zum Zelltod führen, ohne überhaupt in das Bakterium einzudringen. Positiv geladene Einheiten treten mittels elektrostatischer Wechselwirkungen mit den negativ geladenen Phosphat- und Carboxylatgruppen in die Bakterienmembran in Verbindung und werden eingelagert. Somit

wird die Bakterienhülle immer durchlässiger, bis der damit verbundene Zelltod eintritt. Dieser Prozess läuft sehr schnell ab und beruht auf einer physikalisch-chemischen Veränderung der Bakterienmembran, was die Entwicklung einer bakteriellen Resistenz sehr erschwert [129,130]. Aufgrund dieser Erkenntnisse erscheint eine attraktive Wechselwirkung zwischen der negativ geladenen Zellmembran der Bakterien und der anionischen Verbindung eher unwahrscheinlich. Die Ergebnisse zeigen jedoch eine antibakterielle Wirkung, auch wenn diese vergleichsweise geringer ist. Diese könnte möglicherweise durch die jeweiligen positiven Gegenionen hervorgerufen werden.

Diese Ergebnisse stehen im starken Kontrast zu den antibakteriellen Wirkungen der resultierenden Hydrogele. Auffällig ist, dass nur Hydrogele auf der Basis kationischer Monomere die gram-negativen Bakterienzellen abtöten können. Hydrogele auf Imidazolium-Basis hatten in den Tests eine hervorragende Abtötungseffizienz von mindestens 97,7 %. Die Hydrogele pAE-TMA und pMAE-TMA hatten ebenfalls eine gute antibakterielle Wirkung und töteten etwa 72 % der Bakterien ab.

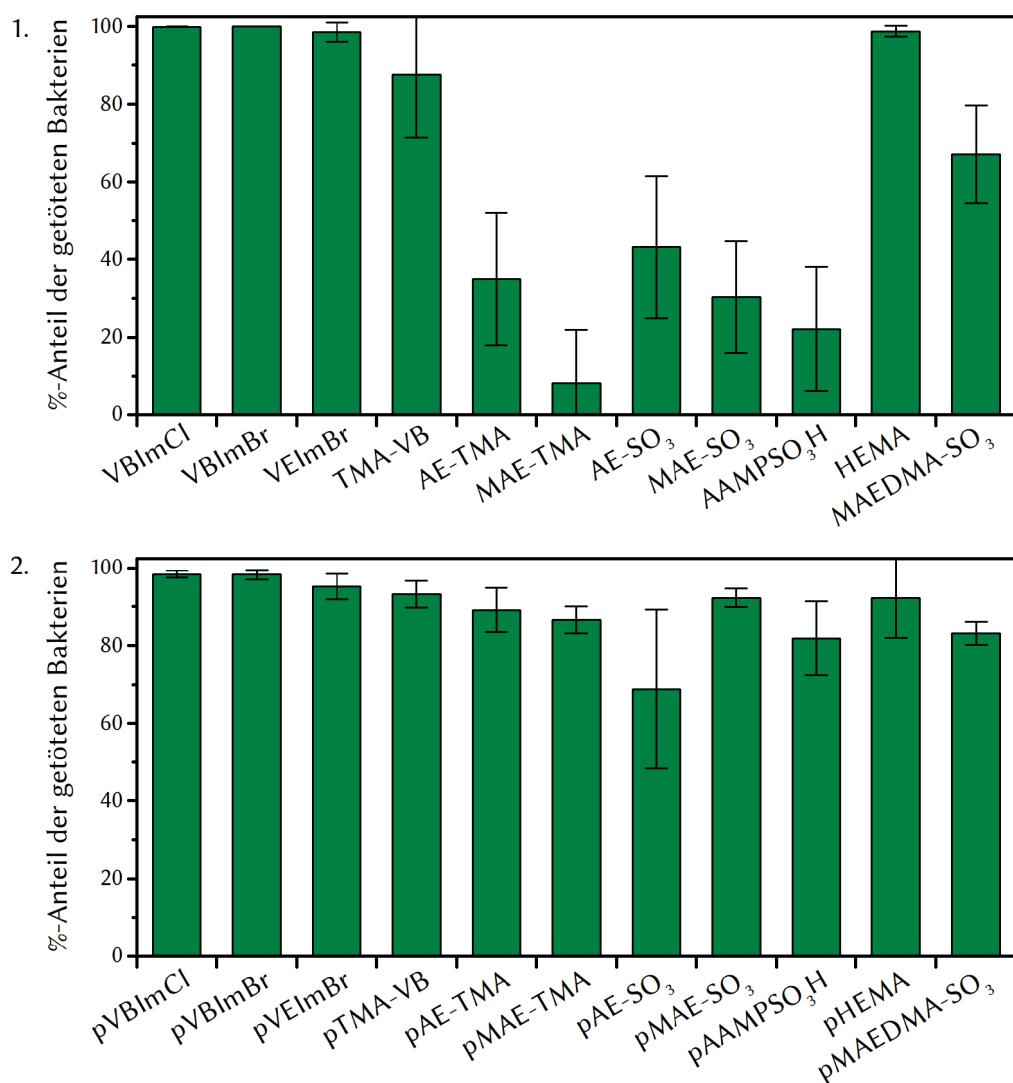


Abbildung 3.6. Antibakterielle Wirkung gegen *S. aureus* Xen 30 von 1.) Monomeren und 2.) Hydrogelen (Monomertests: 50 µL Monomerlösung, 50 µL Bakterienstammlösung, 1 h Inkubation bei 37 °C, n = 3; Hydrogeltests: 100 µL Hydrogel (c = 2 mol/L), 400 µL PBS1X, 500 µL Bakterien-Stammlösung, 1 h Inkubation bei 37 °C, n = 3).

Im Vergleich zu den antibakteriellen Eigenschaften der Hydrogele auf ein gram-negatives Bakterium wurde das gram-positive Bakterium *S. aureus* Xen 30 getestet (Abbildung 3.6). Das zwitterionische Monomer MAEDMA-SO₃ tötete ca. 67 % der Bakterienzellen ab. Im Vergleich dazu zeigten die Vertreter der anionischen Gruppe mit 43,2 ± 18,3 % Effizienz für AE-SO₃ und 30,4 ± 14,3 % für MAE-SO₃ eine geringere Wirkung. In der Gruppe der kationischen und neutralen Monomere gibt es große Unterschiede hinsichtlich ihres Einflusses auf *S. aureus* Xen 30. Die Monomere auf Imidazolium-Basis erzielten wiederum sehr gute Ergebnisse durch Abtötung von 98,5 ± 2,5 % (im Falle von VEImBr) bis hin zu 100 % (im Falle von VBImBr) der gram-positiven Bakterien. Auch das neutrale Monomer HEMA tötete nach der vorgeschriebenen Inkubationszeit ca. 99 % der Bakterien ab. Die kationischen Monomere AE-TMA und MAE-TMA besitzen wiederrum nur eine geringe oder vernachlässigbare antibakterielle Aktivität.

Die Polymerisation der Monomere zu Hydrogelen ging in den meisten Fällen mit einer Zunahme der antibakteriellen Aktivität einher. Da die Adsorption großer Wassermengen ein Hauptmerkmal von Hydrogelen ist und ihre Anwendung als Ziehmittel für osmotische Prozesse bereits berichtet wurde [131,132], könnte dieses Phänomen durch den osmotischen Druckgradienten zwischen dem Hydrogel und der Bakterienzelle erklärt werden. Im Falle von pMAE-TMA und pTMA-VB konnte eine sehr starke Quellung beobachtet werden, die zu Quellungsgraden von 13,7 bzw. 20,8 führte. Im Gegensatz dazu erreichte pHEMA eher sehr geringe Quellungsgrade, was sich auch in der nahezu konstanten antibakteriellen Aktivität der monomeren und polymeren Form wider spiegelt. Folglich scheint die Fähigkeit, Wasser zu absorbieren, die antibakterielle Wirkung durch eine zusätzliche Zelldehydratisierung zu verstärken. Im Gegensatz zu den kleinen Monomeren sind die polymerisierten Spezies viel größer. Sie sind nicht in der Lage, in die Bakterienmembran einzudringen und adhärieren an der Hydrogeloberfläche und bilden eine Hydrogel-Bakterien-Grenzfläche, welche die Diffusion von Wasser aus der Bakterie in das Hydrogel erleichtert. Wie bereits erwähnt, wird dieser Prozess durch den osmotischen Druck zwischen der Bakterienzelle und dem Hydrogel verstärkt. Die getesteten Hydrogele erreichten eine Abtötungseffizienz von mindestens 68 %. Die auf Vinylbutylimidazolium basierenden Spezies waren in der Lage, eine hohe Eliminationsrate selbst bei einem kleinen Hydrogenvolumen von 25 µL beizubehalten. Im Fall von pVEImBr sank die Aktivität auf knapp 58 %. Werden die Vertreter auf Imidazolium-Basis betrachtet, so zeigten die Ergebnisse der Monomertests, dass VBImCl und VBImBr besser abschnitten als VEImBr. Während sich dieser Effekt bei Verwendung von Hydrogelen auf PIL-Basis nur bei geringen Hydrogenvolumina zeigte, war der Trend bei den Monomeren bereits bei der niedrigsten Verdünnungsstufe zu erkennen. Daher scheint der Einfluss der Kettenlänge in diesem Fall stärker zu sein als der des Gegenions. Was den antibakteriellen Mechanismus dieser Substanzen betrifft, so stimmt dies vollständig mit den berichteten Effekten überein. Eine C4-Kette ist hydrophober als eine C2-Kette von VEImBr. Die C4-Kette kann somit die Phospholipid-Doppelschicht viel stärker perforieren und den Zelltod zu fördern. Diese Ergebnisse stimmen auch mit früheren Untersuchungen überein, die mit ILs dieser Art durchgeführt wurden [116]. Obwohl der vorher beschriebene Mechanismus der inhärenten antibakteriellen Aktivität von Hydrogelen noch nicht vollständig verstanden ist, wird angenommen, dass er dem der kleineren kationischen Moleküle ähnlich ist (Abbildung 1.5).

Werden die Einflüsse der Hydrogele mit gram-positiven *S. aureus* und gram-negativen *P. aeruginosa* Xen 5 gegenüber gestellt, fallen starke Unterschiede in den antibakteriellen Effekten auf. Dies könnte durch die strukturellen Unterschiede in der Zellhülle zwischen gram-negativen Bakterien wie *P. aeruginosa* Xen 5 und gram-positiven Bakterien erklärt werden (Abbildung 1.4). Teichonsäuren, die auf der der Plasmamembran gram-positiver Bakterien platziert sind, durchdringen die Peptidoglykanschicht und können in den extrazellulären Raum ragen, um mit anderen

Substanzen zu interagieren, wodurch das Eindringen externer Substanzen erleichtert wird. Bei gram-negativen Bakterien ist die Peptidoglykanschicht von einer zusätzlichen Phospholipid-Doppelschicht (äußere Membran) bedeckt und nicht mit der Plasmamembran verbunden. Diese äußere Membran ist eine natürliche Barriere, die das Eindringen von Substanzen in die Zellen erschwert. Sie besitzt negativ geladene Lipopolysaccharide, die einen positiven Einfluss auf die Wechselwirkung mit kationischen Substanzen haben. Allerdings behindert die zusätzliche äußere Membran in Kombination mit der reduzierten Mobilität der kationischen Abschnitte in den dreidimensional vernetzten Hydrogelen die Zerstörung der inneren Zellmembran gram-negativer Bakterien [133,134].

Die anionische Teichonsäure bringt weiterhin eine zusätzliche negative Ladung in die Bakterienhülle gram-positiver Bakterien, was zu stärkeren Wechselwirkungen zwischen kationischen Gegenionen und der Membran führt. Auf diese Weise wird der Einfluss des Anions auf die Abtötungseffizienz vernachlässigbar [135]. Daher zeigen gram-positive Bakterien im Allgemeinen eine höhere Anfälligkeit gegenüber bakteriziden Substanzen als gram-negative [136,137]. Diese Ergebnisse sind in **Publikation II**³ zusammengefasst.

3.5 Mechanische Eigenschaften

Um mehr industriell anwendbare Polymere zu etablieren, müssen die mechanischen Eigenschaften von Hydrogelen untersucht werden. In den letzten Jahren gab es mehrere mechanische Studien zur Charakterisierung, z. B. von pILs auf Vinylimidazolium-Basis im Vergleich zu natürlichen Polymerhydrogelen für die Katalysatorimmobilisierung [52,138] oder Polyethylenglycoldimethacrylat-basierten Hydrogelen als potenzielle Knochenregenerationsmaterialien [139].

Publikation III beschreibt den Themenkomplex der mechanischen Charakterisierung einer großen Auswahl unterschiedlich geladener und variabel strukturierter Hydrogеле ausführlich. Amplitude-Sweep-Messungen wurden mit einer großen Anzahl unterschiedlicher Hydrogelen durchgeführt, da sie vor allem für mögliche Beschichtungen interessant sind. Ein klassisches Amplitude-Sweep-Diagramm eines Hydrogels ist in Abbildung 3.7 dargestellt. Bei kleineren Scherdehnungen ist G' unabhängig von der Dehnungsspannweite. In diesem linearen viskoelastischen Bereich kann das Hydrogel verformt werden ohne zerstört zu werden. Der starke Abfall von G' an der Linearitätsgrenze γ_L weist auf ein sprödes Bruchverhalten hin. Vor dem Kreuzungspunkt ($G' = G''$), an dem Mikrorisse in der Hydrogelprobe auftreten, ist G' größer als G'' , was auf eine gelartige Struktur und einen viskoelastischen Feststoff hinweist. Die Mikrorisse wachsen zu makroskopischen Rissen durch die gesamte Probe, wodurch ein dominantes viskoses Verhalten ($G'' > G'$) beginnt. Bei den untersuchten Hydrogelen konnten γ_L -Werte von 14 % bis 170 % verzeichnet werden. Auch in verschiedenen Literaturbeispielen ist eine große Varianz der linearen viskoelastischen Bereichen dokumentiert. HUANG *et al.* synthetisierten selbstheilende Hydrogеле, bestehend aus Polyallylamin und Tripolyphosphat, die ihre mechanischen Eigenschaften nach einem Amplitudensweep bis zu 200 % wiederherstellen konnten [140]. Amphiphile Blockcopolypeptide wurden von BREEDVELD *et al.* hergestellt und Amplitude-Sweep-Messungen durchgeführt. Die kritischen Dehnungsspannweiten von 0,1 % bis 5 % nahmen mit zunehmender Polypeptidkonzentration ab [141].

³ J. Claus, A. Jastram, E. Piktel, R. Bucki, P. Janmey, U. Kragl. Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels With Intrinsic Antibacterial Activity – Modern Weapons Against Multidrug-Resistant Infections. *J. Appl. Polym. Sci.*, submitted **2020**.

Als ein weiteres Beispiel wiesen Hybridhydrogele aus Carboxymethylcellulose, die magnetische Nanopartikel enthielten, eine kritische Dehnungsamplitude von über 20 % auf [142].

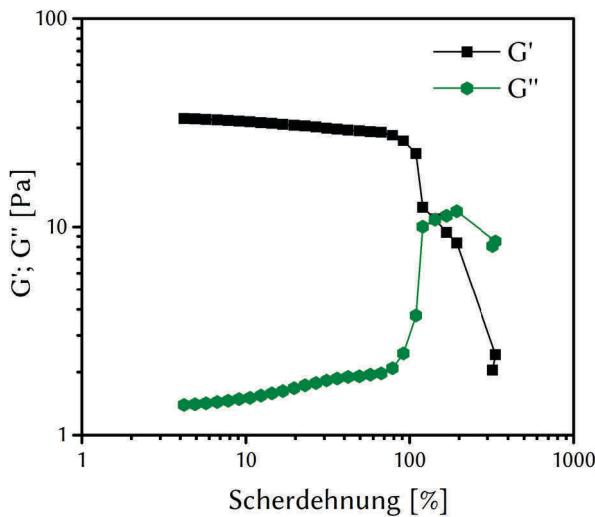


Abbildung 3.7. Amplitude-Sweep-Diagramm von pAE-TMA. Das Elastizitätsmodul G' und das Verlustmodul G'' sind gegen die Scherdehnung aufgetragen. Die Schwingungsfrequenz betrug 0,1 Hz (25 °C; Monomerkonzentration = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%).

Aus den Messungen konnten G' -Werte für alle Polymere berechnet werden (Abbildung 3.8). Diese Werte spiegeln die strukturelle Abhängigkeit der Hydrogele in Bezug auf ihre mechanischen Eigenschaften wider. Ein höherer G' bedeutet ein feststoffähnlicheres Verhalten und damit eine höhere Festigkeit und mechanische Steifigkeit. Die Hydrogele mit den höchsten G' -Werten sind das neutrale pHEMA, das zwitterionische pMAEDMA- SO_3 und pAE- SO_3 mit einem negativ geladenen Grundgerüst, woraus auf dem ersten Blick keine Tendenz abgeleitet werden kann. Allerdings liegen die G' -Werte für strukturell ähnliche Hydrogele wie die Hydrogele auf Vinylimidazolium Basis im gleichen Bereich von 15 bis 25 Pa. Diese Werte beschreiben ein eher sprödes Hydrogel. Hydrogele auf Vinylimidazolium-Basis mit jeweils einer Butylgruppe haben einen höheren G' -Wert, als das Hydrogel mit der kürzeren Ethylgruppe. Darüber hinaus konnte ein starker Einfluss der Ladung beobachtet werden, da die Hydrogele mit positiver Ladung einen viel kleineren G' -Wert als die negativ geladenen Proben aufweisen. Weiterhin hat das Gegenion auch einen Einfluss auf die mechanische Stabilität des Hydrogels. Für die Hydrogele mit dem positiven Polymernetzwerk wird als Anion Chlorid oder Bromid verwendet, während für die negativ geladenen Polymernetzwerke Kaliumionen verwendet wurden. Diese drei Arten von Ionen variieren in ihrem Ionenradius von 181 pm des Chlorids und 196 pm des Bromids bis 138 pm des Kaliumkations, was zu einem Unterschied in der Ladungsdichte führt [143,144]. Die Kaliumkationen sitzen aufgrund ihrer Größe näher am negativ geladenen Polymer. Zusätzlich haben sie eine stärkere ionische Wechselwirkung mit dem Polymernetzwerk. Das daraus resultierende engere Netzwerk bildet steifere und stärkere Hydrogele mit einem höheren G' -Wert. Ein weiterer Zusammenhang bildet sich mit der Zusammensetzung der Hydrogele. Mit einer Erhöhung der Monomerkonzentration in den pMAE- SO_3 -Hydrogelen nimmt G' stark zu. Der Vernetzer hat hier einen geringeren Einfluss, jedoch nimmt die Steifigkeit der Hydrogele mit Zunahme des Vernetzergehaltes zu. Aufgrund der sehr geringen Differenz zwischen 2 Mol% und 3 Mol% wird davon ausgegangen, dass sich die Steifigkeit des Hydrogels mit zunehmendem Vernetzergehalt langsam einem Maximalwert nähert. Dies lässt sich auch in den Quellungsgraden in Abhängigkeit des Vernetzergehaltes wiederfinden (Abbildung 3.2; 4.).

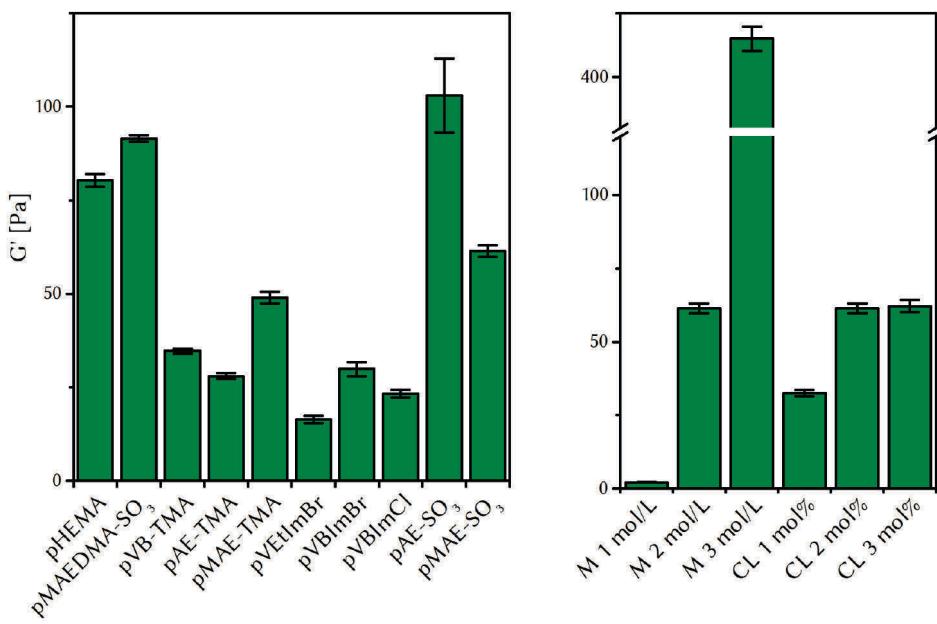


Abbildung 3.8. Vergleich der G' -Werte aller gemessenen Polymere mit unterschiedlichen Monomeren (links) und pMAE-SO₃ mit unterschiedlichem Monomer- und Vernetzgehalt (25 °C; links: Monomerkonzentration = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%; rechts: pMAE-SO₃ mit konstanter Vernetzerkonzentration von 2 mol% oder Monomerkonzentration von 2 mol/L).

Die Hydrogele wurden zusätzlich in ihren Druck- und Zugeigenschaften charakterisiert. Insbesondere pVB-TMA konnte um 47,9 % bis zum Bruch gedehnt werden. Dieses weiche flexible Material könnte beispielsweise als Beschichtungsmaterial für Stents verwendet werden. Die zusätzliche Hydrogelschicht schränkt die Beweglichkeit der Stents nicht ein, kann aber als Medikamentendepot zur lokalen Verabreichung verwendet werden [65,145]. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit für steifere Hydrogele könnte deren Verwendung als neues Kontaktlinsenmaterial sein. Das Hydrogel pHEMA wird in diesem Anwendungsfeld häufig eingesetzt, wenn es mit Methacrylsäure oder N-Vinylpyrrolidon co-polymerisiert wird [146]. Noch steifere Hydrogele, wie pMAEDMA-SO₃ mit einer Bruchdehnung von 7,8 %, könnten als Knorpelersatz oder Bandscheibenmaterial verwendet werden [147]. Andere Beispiele sind die Hydrogele auf Vinylimidazolium-Basis, von denen bekannt ist, dass sie sehr spröde sind. Im Beispiel von FUKUSHIMA *et al.* waren 1-Vinyl-3-ethyl-imidazoliumtriflat und 1-Methacrylbutyl-3-methylimidazoliumtriflat sogar zu brüchig und spröde, um ihre mechanischen Eigenschaften zu messen, da die benötigten Kräfte unterhalb der Messgrenze des Rheometers befanden [148]. Weiterhin konnte diese Verbindung zwischen der Struktur und den mechanischen Eigenschaften auch in den getesteten Hydrogele auf Imidazoliumbasis gefunden werden. Die Kompression beim Bruch betrug bei pVEtImBr 36,0 % und bei pVBImBr 28,6 %, während pVBImCl nur um 7,8 % komprimiert werden konnte. Dieser Trend lässt sich durch die Länge der Alkylkette zurückführen. Je länger die Alkylkettenlänge am Imidazolium-Kation, desto höher ist die Kompressibilität des Hydrogels. Eine Möglichkeit der Klassifizierung ist der Vergleich der Bruchdehnung bzw. der Bruchkompression in Abhängigkeit der Scherung, wobei eine Korrelation angenähert werden kann (Abbildung 3.9).

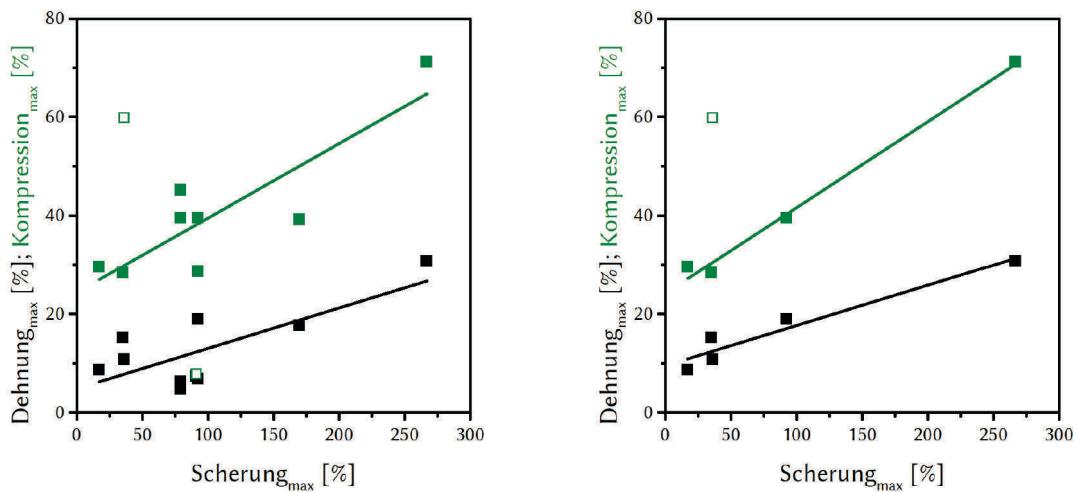


Abbildung 3.9. Vergleich der Bruchdehnung bzw. der Bruchkompression in Bezug auf die zugehörige Scherung mit unterschiedlichen Monomeren (links) und pMAE-SO₃ mit unterschiedlichem Monomer- und Vernetzergehalt (rechts) (25 °C; links: Monomerkonzentration = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%; rechts: pMAE-SO₃ mit konstanter Vernetzerkonzentration von 2 mol% oder Monomerkonzentration von 2 mol%).

Interessanterweise führt dies zu unterschiedlichen Anstiegen für die Druck- und Dehnungsmessungen, von 0,15 für die Druckmessungen und 0,08 für die Zugversuche. Für beide Zusammenhänge gilt, dass die Hydrogele in Bezug auf die maximale Scherung eine höhere Bruchfestigkeit (Flexibilität) bei Kompression als bei ihrer Dehnung aufweisen. Aufgrund des geringen Grades des linearen Zusammenhangs dieser linearen Annäherung ($R^2_{\text{comp}} = 0,70$; $R^2_{\text{stretch}} = 0,75$) wurde diese Korrelation mit den Variationen des pMAE-SO₃-Hydrogels kontrolliert. Aus diesem Diagramm ergaben sich sehr ähnliche Steigungen wie 0,17 für die Druckversuche und 0,11 für die Zugversuche ($R^2_{\text{comp}} = 0,98$; $R^2_{\text{stretch}} = 0,91$). Der Unterschied zwischen Zug- und Druckversuchen kann auf den Versuchsaufbau zurückgeführt werden: Während die Probe zwischen den Rheometerplatten zusammengedrückt wird, zeigen einige Hydrogele einen leichten Feuchtigkeitsfilm auf der Oberfläche. Werden die Proben jedoch langsam zwischen den Rheometerplatten auseinandergezogen, werden die dreidimensionalen Maschen des Hydrogels vergrößert. Die nun größeren Poren benötigen Wasser, welches jedoch nicht aus der Umgebungsluft geliefert werden kann.

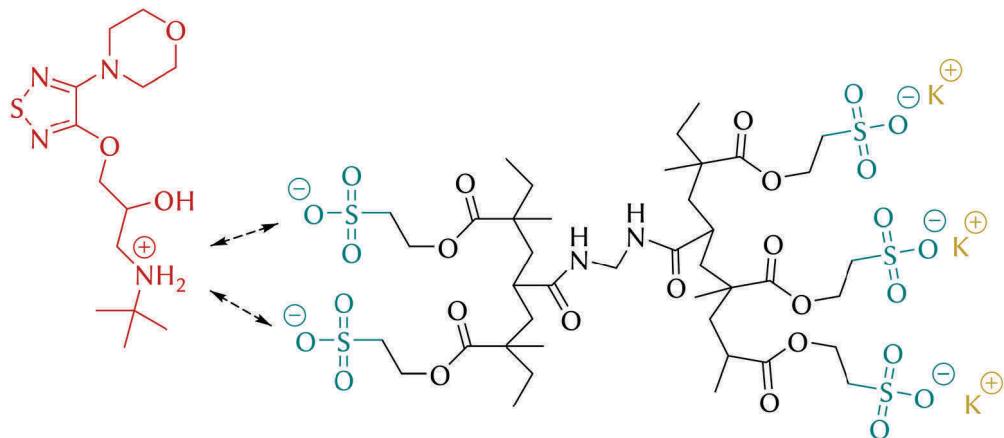
4 Anwendung von Hydrogelen als Drug-Delivery-System

Die Verhinderung einer explosionsartigen initialen Freisetzung, auch "Burst-Release" genannt, ist eine der Herausforderungen bei der Entwicklung eines Wirkstofffreisetzungssystems. Die anfängliche hohe Wirkstoffkonzentration im umgebenden Gewebe oder sogar im gesamten Stoffwechsel kann zu unerwünschten Nebenwirkungen führen oder gar toxische Auswirkungen haben. Eine mögliche Lösung ist die Verkapselung des Arzneimittels für eine direkte kontrollierte Freisetzung an den Zielkompartimenten. Ein Beispiel dafür sind Mikropellets, die mit wasserlöslichem Wachs beschichtet sind, das gegen Magensäure resistent ist, aber im alkalischen Milieu des Gastrointestinaltrakts ionisierbar ist. Durch die Nutzung dieses Depotsystems wird die Wirkstofffreisetzung vom Magen in den Dünndarm verlagert, was nicht nur zum Schutz der Magenschleimhaut vorteilhaft ist, sondern auch den Wirkstoff vor dem sauren Milieu bewahrt [149,150]. Wirkstofffreisetzungssysteme stehen seit mehreren Jahrzehnten im Fokus der modernen Medikamentenverabreichung, da das Medikament direkt am Wirkort platziert werden kann, was zu einer signifikanten Verringerung der zu applizierenden Menge im Vergleich zu einer systemischen Verabreichung führt. Darüber hinaus ermöglichen DDS die Vermeidung bestimmter therapeutischer Probleme, wie z. B. eine geringe Adhärenz der Patienten oder eine falsche Anwendung von regelmäßig topisch oder oral anwendbaren Medikamenten, und können somit die Lebensqualität der Patient*innen drastisch erhöhen. HEDBERG *et al.* verwendeten z. B. Polymilch-co-Glykolsäure und Polyethylenglykol-Mikropartikel in Kombination mit injizierbaren Polypropylenfumarat-Gerüsten, um ein osteogenes Peptid zur Knochengeweberegeneration freizusetzen. Durch Variation von Parametern wie dem Polyethylenglykol-Gehalt, der Mikropartikel-Konzentration oder der Medikamentendosierung, konnte die Medikamentenfreisetzung für verschiedene Anwendungsorte modifiziert werden [151–153].

Hydrogele sind aufgrund ihrer vielfältigen und biologisch vielversprechenden, bereits diskutierten, Eigenschaften in vielen medizinischen Anwendungen vielseitig verwendbar und zugänglich. Wichtige Beispiele sind auf Hydrogelen basierende Darreichungssysteme für verschiedene Krebstherapien, die eine lokalisierte verzögerte Freisetzung der Chemotherapeutika ermöglichen [154]. In den letzten Jahren wurde über viele neue DDS berichtet, die sich mit dem Problem der sprunghaften (Burst)-Freisetzung von Medikamenten befassen. SERRA *et al.* berichteten über ein DDS, das aus Polyacrylsäure-Ethylenglykol besteht, und beobachteten einen verringerten Burst-Release mit einer kürzeren Kettenlänge des Ethylenglykol-Vernetzungsmittels. Darüber hinaus beobachteten die Autoren, dass eine höhere Vernetzermenge und damit eine kleinere Maschenweite zu einer langsameren Diffusion, aber einer größeren Burst-Release führt [155]. Ein weiteres synthetisches Hydrogel DDS von HUANG *et al.*, bestehend aus Guargummi und Polyacrylsäure, setzte 82 % des Wirkstoffs Ketoprofen am ersten Tag frei [156]. DADSETAN *et al.* beschrieben die Verringerung des Burst-Releases ihrer DDS, bestehend aus Natriummethacrylat und Oligo-polyethylenglycolfumarat, von 53 % auf 5,9 % Wirkstofffreisetzung am ersten Tag durch Erhöhung der Natriummethacrylat-Konzentration [157].

4.1 Wirkstofffreisetzungsuntersuchungen

In **Publikation IV⁴** wurden unterschiedlich geladene Hydrogele untersucht, um einen Wirkstoff als ihr Gegenion zurückzuhalten und so die Wirkstofffreisetzung zu beeinflussen. Diese aktive Wechselwirkung zwischen dem geladenen Polymernetzwerk und dem Wirkstoff führt zu einer Ionenaustrauschfreisetzung anstatt eines diffusionskontrollierten Mechanismus (Schema 4.1).



Schema 4.1. Schematischer Überblick über die ionischen Wechselwirkungen zwischen kationischem Timololmaleat (TM) und anionischem, mit MBAA vernetztem pMAE-SO₃-Hydrogel.

Es wurde sich auf eine mögliche Anwendung als Glaukomtherapie konzentriert, da diese Krankheit von großer gesellschaftlicher Relevanz ist. Darüber hinaus ist der Einsatzort für minimal-invasive Eingriffe leicht zugänglich.

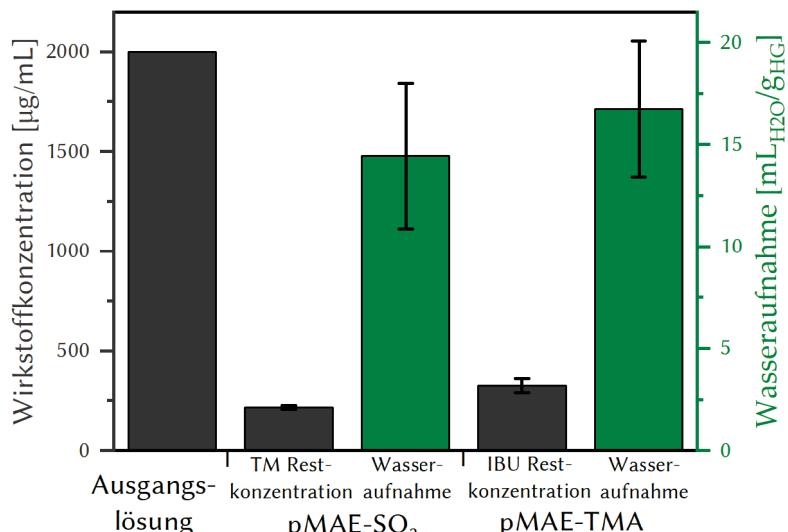


Abbildung 4.1. Vergleichende Darstellung der Wirkstoffkonzentration der anfänglichen Beladungslösungen und des Hydrogels nach der Beladung kombiniert mit der Wasseraufnahmefähigkeit.

Der subkonjunktivale Bereich weist im Vergleich zu anderen Regionen wie dem Herz-Kreislauf-System weniger Flüssigkeitsaustausch und Materialtransport auf, was für mechanisch anfällige Biomaterialien wie Hydrogele von Vorteil ist. Auf der Grundlage der untersuchten Hydrogel-eigenschaften wurde ein ionisches Arzneimittel in die Hydrogel-Matrix aufgenommen, um eine

⁴ J. Claus, T. Eickner, N. Grabow, U. Kragl, S. Oschatz. Ion exchange controlled drug release from polymerized ionic liquids. *Macromol. Biosci.* **2020**, 2000152, 1-9.

Verringerung des anfänglichen "Burst-Release" und insgesamt eine Verlängerung der Gesamtfreisetzung zu erreichen. Das negativ geladene Hydrogel pMAE-SO₃ enthält Sulfonsäuregruppen, die eine ionische Wechselwirkung mit dem Medikament ermöglichen. Als positiv geladener Wirkstoff wurde Timololmaleat (TM) gewählt, da es nachgewiesenermaßen den Augeninnendruck senkt [158]. Die Hydrogele wurden in einer Wirkstofflösung gequollen, wobei ein starker Abfall in der Restlösung beobachtet werden konnte und ein daraus folgender Anstieg der Wirkstoffkonzentration im Hydrogel (Abbildung 4.1).

Die Wirkstofffreisetzung von TM wurde für pMAE-SO₃ Hydrogelproben in Phosphatpuffer (PBS) bei pH = 7,4 und 37 °C untersucht. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden Medienwechsel durchgeführt und die kumulative Wirkstofffreisetzung bestimmt (Abbildung 4.2 oben). In den ersten 5 Stunden kann ein annähernd lineares Freisetzungsverhalten beobachtet werden, wobei danach eine halbwegs konstante Wirkstoffkonzentration festgestellt werden konnte. Diese Auftragung ähnelt einem schwachen Burst-Release. Wenn die kumulativ freigesetzte Wirkstoffmasse jedoch gegen die Anzahl der Medienwechsel und nicht gegen den Zeitpunkt aufgetragen wird, ist ein ganz anderes Freisetzungsverhalten zu erkennen (Abbildung 4.2 unten).

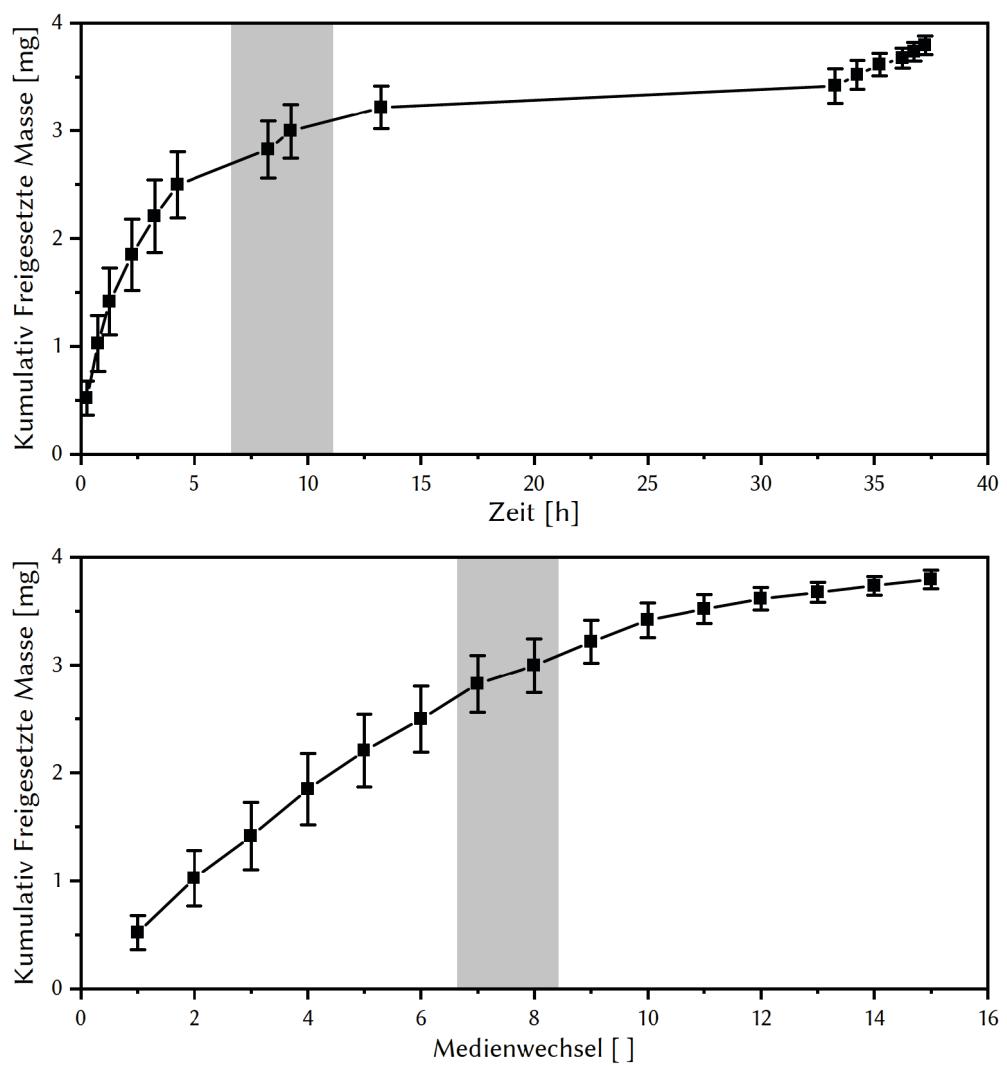


Abbildung 4.2. Bulkhydrogel-Freisetzungskinetik in Abhängigkeit der Zeit und des Medienwechsels von pMAE-SO₃ und TM in PBS-Puffer (n = 6; pH = 7.4).

Um dieses Verhalten weiter zu analysieren, wurde die Zeit zwischen den Medienwechseln stark verändert. Wie die grau hinterlegten Abschnitte zeigen, wurde das lineare

Freisetzungsverhalten beibehalten. Die Wirkstofffreisetzung hängt daher eher von der Restkonzentration des Wirkstoffes in der Lösung als von der tatsächlichen Freisetzungszeit ab. Somit hängt die Freisetzung nicht primär von der Diffusionsgeschwindigkeit des Wirkstoffs im Polymer ab, sondern von der Wechselwirkung geladener Polymerseitenketten mit dem ionischen TM-Molekül.

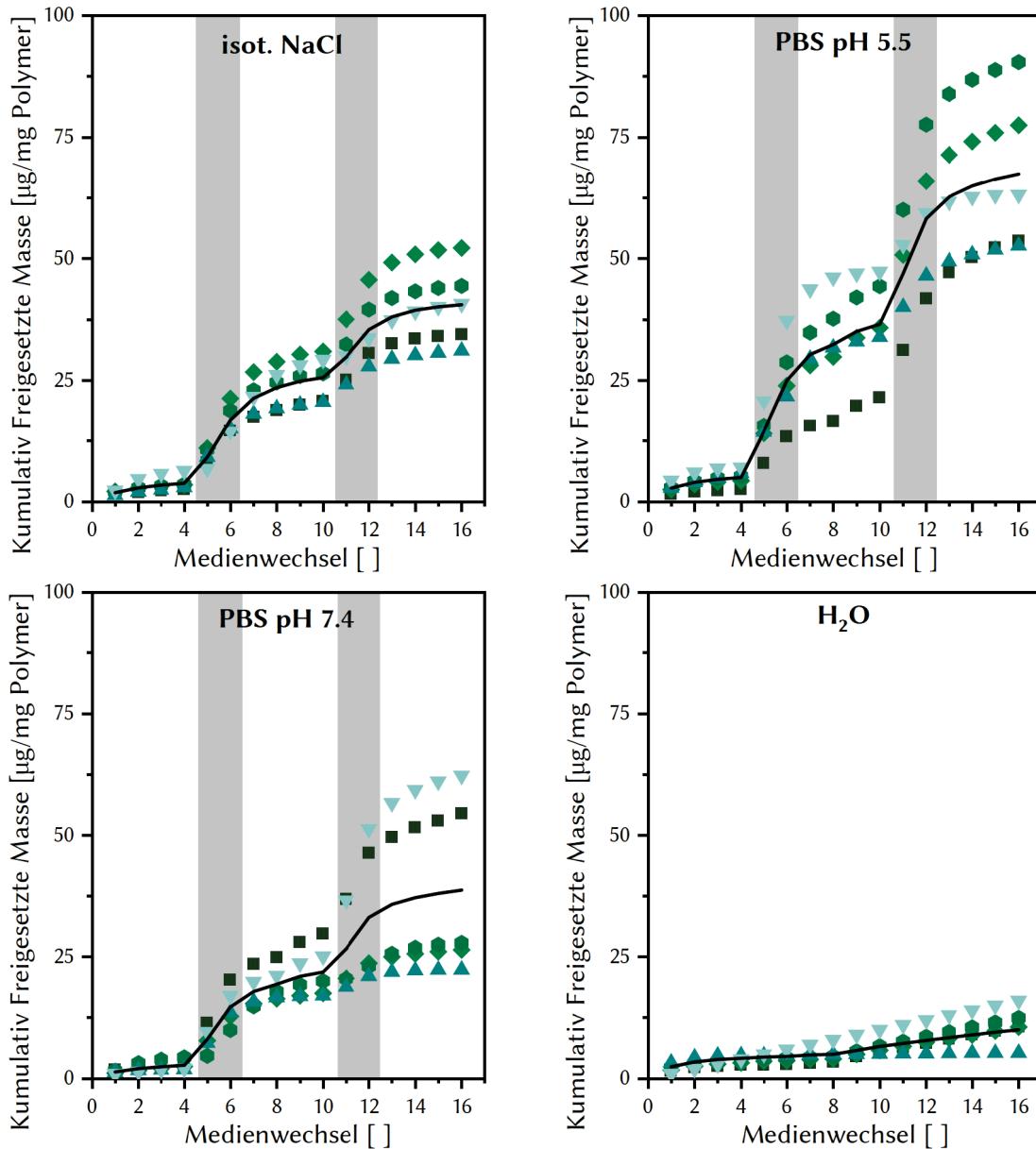


Abbildung 4.3. Wirkstofffreisetzungsprofil für mit TM beladenes pMAE-SO₃ (Einzelmessungen in Punkten; die schwarze Linie ist arithmetisches Mittel der Messpunkte zur gleichen Zeit; der Wechsel zum jeweiligen Medium ist grau unterlegt).

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse konnten Studien zur TM-Freisetzung aus pMAE-SO₃ Hydrogel auf ein sequentielles Freisetzungsprofil erweitert werden (Abbildung 4.3). Die beladenen Hydrogelproben wurden mit destilliertem Wasser und zweimal mit Salzlösungen (grau hinterlegt) behandelt. Um sicherzustellen, dass der beobachtete Effekt tatsächlich von den Gegenionen abhing, wurde eine Kontrollfreisetzungsstudie durchgeführt, bei der nur destilliertes Wasser als Medium verwendet wurde. Für alle Freisetzungen wurde kein Burst-Release beobachtet, jedoch konnte ein starker Anstieg der freigesetzten Wirkstoffmenge bei den Salzlösungen als Medium beobachtet werden. Durch den Wechsel zurück zu destilliertem Wasser wurde die Freisetzung wieder

minimiert, was in den Freisetzungsprotokollen als Plateaus für die Zeitpunkte 7-10 zu sehen ist. Durch das Zurückschalten auf die jeweilige Salzlösung konnte die Wirkstofffreisetzung wieder ausgelöst werden, was zu einem zweiten Plateau führte. Die Unterschiede in der Gesamtmenge des Wirkstoffs pro Masse an Hydrogel lassen sich durch inhomogene Verteilungen des Wirkstoffes im Hydrogel und Inhomogenitäten im Hydrogel erklären, die auf den synthetischen Weg der radikalischen Polymerisation zurückzuführen sind. Die während der Polymerisationsreaktion ansteigende Viskosität kann zu einer ungleichmäßigen Verteilung von Vernetzer oder Monomer führen, was zu unterschiedlichen Maschengrößen führt, die das Wirkstoffmolekül zurückzuhalten. Um ein breiteres Anwendungsfeld zu erschließen und das Ionenaustausch-Freisetzungsverhalten zu bestätigen, wurden die Studien auf Ibuprofen (IBU) als einen einfachen Vertreter für anionische Medikamente mit einem kationischen Hydrogel ausgedehnt. Das als Wirkstoffträger verwendete Polymer war ein Hydrogel auf der Basis von aminofunktionalisiertem Acrylat (pMAE-TMA). Dieses IBU-System zeigte ein vergleichbares Verhalten hinsichtlich des Freisetzungsprofils.

4.2 *In situ* polymerisierendes Zwei-Komponenten-DDS

Statt konventioneller Darreichungsformen, wie die der oralen Verabreichung mittels Tabletten und der Injektion von Wirkstofflösungen oder -emulsionen, stellt die topische Verabreichung durch wirkstoffbeladene Elektrolyt-Hydrogel-Partikel in Salben bzw. Gelen, Tropfen oder Zäpfchen eine gute Alternative dar. Diese kommen, aufgrund der Einschränkung auf einen lokalen Wirkort, mit geringeren Wirkstoffkonzentrationen aus. All diese Darreichungsformen haben jedoch das Problem der geringen Therapietreue des Patienten gemein, welche letztlich zu einer ineffizienten Medikation führt. Die Nutzung eines implantierbaren Wirkstoffdepotsystems kann Risiken minimieren und den Wirkstoff über einen langen, vorzugsweise mehrere Monate bis zu einem Jahr umfassenden, definierten Zeitraum abgeben. Etablierte Ansätze finden sich bereits bei Verhütungsstäbchen, wobei allerdings das subkutane Implantat nach beendeter Wirkstoffabgabe im Rahmen eines medizinischen Eingriffs wieder explantiert werden muss. Um diesen zusätzlichen medizinischen Eingriff zu vermeiden, werden seit einiger Zeit biologisch degradierbare Polymere und Polymere-mische als Wirkstoffträger in Wirkstoffdepotsystemen verwendet. Hierbei werden Wirkstoffe in die Polymere eingebettet und gezielt am vorgesehenen Wirkungsort freigesetzt. Für die gezielte Freisetzung ist zumeist die Porosität der Polymermatrix von besonderer Bedeutung, welche über die Vernetzungsdichte und die Hydrophilie des Monomers einstellbar ist. Die Polymerporen bestimmen die Wirkstoffbeladung des Systems und eine anschließende diffusionsgesteuerte Freisetzung des Wirkstoffs. Gegenwärtig werden oftmals naturstoffbasierte negativ geladene Alginat-Hydrogele verwendet, um Heparin-bindende Wachstumsfaktoren zur Förderung der Geweberegeneration zu liefern [159,160]. Weitere Hydrogele auf Basis natürlicher sowie synthetischer Polymere finden sich zudem in Anwendungen des Tissue-Engineerings und als Matrix für Wirkstoffdepotsysteme. ANSETH *et al.* beschreiben ein auf Polyethylenglykol und Polyvinylalkohol basierendes, photo-polymerisiertes Hydrogel, welches biodegradierbar ist. Das auf diesem Weg gebildete System wurde hinsichtlich des Freisetzungsverhaltens für den Knorpelgewebeaufbau unter Verwendung von Rinderserumalbumin untersucht [161].

Die im Kapitel 4.1 beschriebenen Hydrogele haben in ihren Eigenschaften viele Vorteile und können mit ihrem stimulus-responsiven Freisetzungsverhalten einen großen Vorteil gegenüber den oben beschriebenen Freisetzungssystemen bieten. Jedoch sind die "Bulk"-Hydrogele in dieser Form nicht durch eine Kanüle injizierbar. Daher wurden die fertigen Hydrogele mit einer Kugelmühle zu

kleinen injizierbaren Partikeln gemahlen. Die erhaltenen Partikel wurden in ihrem Größenverteilungsprofil untersucht, wobei signifikante Partikelmengen bis 80 μm und die meisten Partikel zwischen 10 und 20 μm vorkommen (Abbildung 4.4). Kleinere Partikelgrößen konnten aufgrund der Messtechnik nicht aufgenommen werden. Da Nanopartikel jedoch Migrationswege in biologischen Systemen aufweisen, können diese vor der Injizierung durch Sieben abgetrennt werden. Die Partikel selbst haben dabei eine unebene, raue Oberfläche sowie eine unregelmäßige Form.

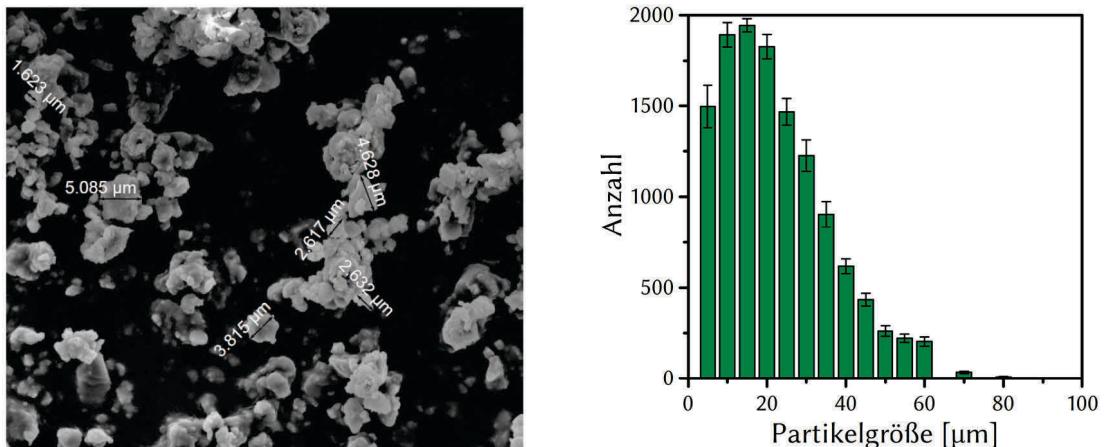


Abbildung 4.4. REM-Aufnahme der getrockneten Partikel und Größenverteilung der pMAE-SO₃ Partikel in Reinstwasser.

Um die Hydrogelpartikel am Wirkort über einen längeren Zeitraum zu fixieren, sollen sie in eine *in situ* polymerisierende Polymermatrix eingeschlossen werden. Dafür wird Hexamethylen-diisocyanat-funktionalisierte 1,2-Ethylenglykol-Bisdilaktsäure (ELA-NCO) genutzt, da es eine Polymermatrix bildet, die in der Literatur als biologisch abbaubares Gewebe mit hoher Haftfestigkeit und guter *in vivo* Biokompatibilität gehandelt wird [162,163]. Dies kann über die Polymerisation des Oligoesters Oligolactid mit endständigen Isocyanatgruppen mit Wasser unter der Freisetzung von Kohlenstoffdioxid zu endständigen Aminogruppen erfolgen. Diese Aminogruppen polymerisieren mit nicht-polymerisierten Isocyanatgruppen zu einer Polyharnstoffmatrix. Das benötigte Wasser wird durch die gequollenen Hydrogelpartikeln oder durch eine Hydrogelpartikel-Wasser Suspension bereitgestellt [89]. Das Einbetten der Mikropartikel in die biodegradierbare Polyharnstoffmatrix ermöglicht eine Immobilisierung der Mikropartikel im Verbund, sodass ein zu schnelles Ausschwemmen und somit ein "Burst"-Release am Applikationsort verhindert wird (**Publikation VI**⁵). Durch die hohe Viskosität des ELA-NCO und die *in situ* Polymerisation der beiden Komponenten entsteht ein sich der Form des Applikationsortes angepasstes Wirkstoffdepot. Dies bedingt eine verbesserte Immobilisation des Wirkstoffdepots am Applikationsort und begünstigt somit die örtlich selektive Freisetzung des Wirkstoffs über einen längeren Zeitraum. Das System soll über eine Zwei-Komponentenspritze injiziert werden, wobei die Hydrogelpartikel und das ELA-NCO in separaten Kammern getrennt vorliegen. Bei einer Injektion werden die beiden Komponenten in einem Mischextruder zusammengeführt (Abbildung 4.5).

⁵ S. Oschatz, J. Claus, A. Brietzke, T. Eickner, N. Grabow, U. Kragl; Universität Rostock, Germany. In situ polymerisierendes Depotssystem zur stimulusresponsiven Freisetzung (ioni-scher) Wirkstoffe. Einreichungsdatum: 2. Oktober 2019, DE P 10 2019 126 672.6 (2.10.2019)

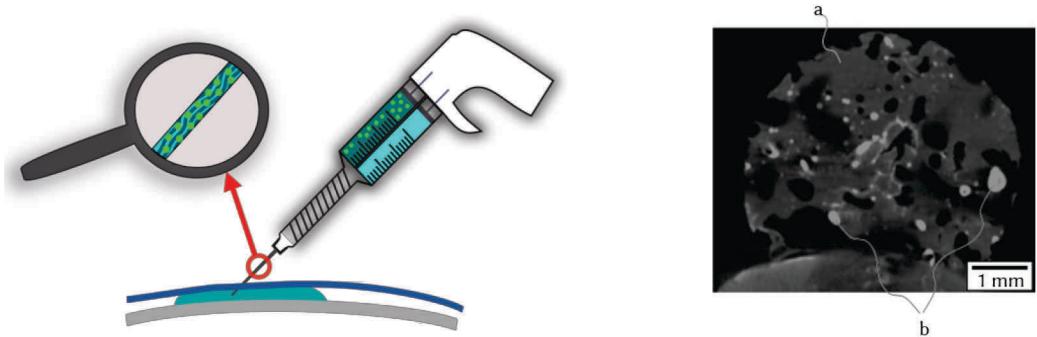


Abbildung 4.5. Schematische Darstellung eines *in situ* polymerisierenden DDS bestehend aus Hydrogelpartikeln-Suspension und eines Vernetzers in einer Zweikammerspritze (links) und eine Micro-CT Aufnahme des Polymersystems (rechts; a polymerisiertes ELA-NCO; b eingeschlossene Hydrogelpartikel).

5 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Dissertation wurden die Eigenschaften der dargestellten Hydrogele in Hinblick auf unterschiedliche Aspekte detailliert betrachtet. Dabei wurde ein genaues Augenmerk auf die Bestimmung der Biokompatibilität und der Quellungsgrade sowie auf die antibakteriellen und mechanischen Eigenschaften gelegt. Dabei konnten die Ergebnisse im Rahmen mehrerer peer-reviewed Arbeiten veröffentlicht werden. In einem zweiten Schritt konnte dieses Wissen bei der Entwicklung eines Wirkstofffreisetzungssystems angewendet werden. Das Hydrogel konnte mithilfe ionischer Wechselwirkungen mit dem geladenen Wirkstoff reversibel beladen werden, wobei die Wirkstofffreisetzung stimulus-responsiv und kontrolliert beobachtet wurde.

In einer ersten Studie (**Publikation I**) wurden die Quellungseigenschaften der Hydrogele in Bezug auf unterschiedlichste Abhängigkeiten untersucht. Dabei konnten Zusammenhänge zwischen Zusammensetzung und Quellungsgrad aufgestellt werden. Je höher die Monomer- oder Vernetzerkonzentration, desto geringer wurde der Quellungsgrad. Beispielsweise konnte der Quellungsgrad von pMAE-TMA von 16.8 ± 5.9 auf 4.4 ± 0.7 gesenkt werden, indem der Vernetzergehalt von 1 mol% auf 4 mol% erhöht wurde. Jedoch wird dieser Zusammenhang nicht nur von der Löslichkeit begrenzt, sondern auch von der minimalen Maschenweite des Polymernetzwerkes, da ab einer Vernetzerkonzentration von 3 mol% und einem Monomergehalt von 2 mol/L in pMAE-TMA der Quellungsgrad konstant verblieb. Zusätzlich konnten Zusammenhänge zwischen der Kettenlänge des Vernetzers und der Monomerstruktur aufgezeigt werden.

Da am Ende eine medizinische Anwendung dieser Materialien möglich sein soll, stand die Biokompatibilität dieser Materialien im Fokus der Studie (**Publikation I**). Die Elutionstoxizitäten dieser Materialien wurden bereits in der Literatur beschrieben [164]. Da aber die Hydrogele als Wirkstofffreisetzungssystem einen direkten Kontakt mit dem Gewebe eingehen werden, wurden sie im direkten Kontakt mit Fibroblasten untersucht. Neben ausgezeichneten Biokompatibilitäten der untersuchten Materialien (>80 % relative Zellviabilität der Hydrogele pAE-TMA, pMAE-SO₃, pAE-SO₃, pVETlMBr, pMAE-TMA, pAAMPSO₃H und pHEMA), konnte ein direkter Zusammenhang auf die Quellungsgrade der Hydrogele geschlossen werden, was für zukünftige Hydrogelsynthesen von Vorteil sein könnte. In Zukunft können auch Biokompatibilitätstests mit Makrophagen durchgeführt werden, um eine Immunreaktion des Körpers auf die Polymere auszuschließen.

In einer zweiten Studie (**Publikation II**) wurden die Materialien auf ihre antibakteriellen Eigenschaften untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass alle Hydrogele mit einem kationischen Gerüst eine gute bis sehr gute inhärente antibakterielle Wirkung (>70 %) sowohl gegen gram-negative (*P. aeruginosa* Xen 5) als auch gegen gram-positive (*S. aureus* Xen 30) Bakterien haben. Hervorragende Ergebnisse wurden durch die Verwendung von Hydrogelen auf Imidazolium-Basis mit einer Abtötungseffizienz von mindestens 95 % erzielt. Selbst bei einer Verringerung des Hydrogel-Bakterien-Verhältnisses auf 25 µL konnte eine Abtötungseffizienz ≥ 68.8 % von pVBlmCl und pVBlmCl auf die gram-positiven *S. aureus* Bakterien erreicht werden. Weiterhin zeigten nur die positiv geladenen Hydrogele einen Abtötungseffekt auf das Bakterienwachstum von *P. aeruginosa* Xen 5 aufgrund der Unterschiede in der Zellhüllenstruktur zwischen gram-positiven und gram-negativen Bakterien. Die Abtötungseffizienz der resultierenden Hydrogele ist aufgrund der vielfältigen Einsatzmöglichkeiten von Hydrogelen im medizinischen Bereich, z. B. als Implantate, Drug-Delivery-Systeme, Kontaktlinsenmaterial, Knochenersatz und Stentbeschichtungen, von besonderem Interesse.

Die mechanische Leistung jedes Materials mit biomedizinischer Anwendung ist vom hohen Interesse, insbesondere synthetische Hydrogele mit möglichen Anwendungen als Ersatz für Knorpel, Bandscheibe oder als Stentbeschichtung. Daher wurden die mechanischen Eigenschaften der Hydrogele ausführlich bestimmt (**Publikation III**). Die mechanischen Eigenschaften der MBAA-Hydrogele kann durch Variation der Monomer- oder Vernetzerkonzentration sowie der Monomerstruktur gesteuert werden. Die Reduktion der Monomerkonzentration für pMAE-SO₃ von 3 mol/L auf 1 mol/L führt zu einer Versiebenfachung des linearen viskoelastischen Bereichs von 35 % auf 267 % und der maximalen Kompression von 28 % auf 71 %. Die mechanischen Eigenschaften können durch Änderung der Vernetzerkonzentration feinjustiert werden. In diesem Beispiel wurde die MBAA-Menge von 3 mol% auf 1 mol% geändert und so konnte eine Ausdehnung des linearen viskoelastischen Bereichs von 17 % auf 36 % gemessen werden. Ein weiterer interessanter Punkt aus den Untersuchungen ist die Korrelation der Gelierungsgeschwindigkeit mit der Stabilität des Monomerradikals. Die labileren Monomerradikale unterstützen eine schnellere Polymerisation, während die stabileren Radikale eine hemmende Wirkung hatten.

Diese Erkenntnisse konnten genutzt werden, um aus den ionenfunktionalisierten Hydrogelen vielversprechende Kandidaten für die Entwicklung neuer Wirkstofffreisetzungssystem auszuwählen und zu untersuchen (**Publikation IV**). Die Untersuchungen weisen auf ein durch Ionenaustausch ausgelöstes Freisetzungssprofil hin, das im Vergleich zu diffusionsgesteuerten Systemen vorteilhaft ist. Darüber hinaus können diese Hydrogele durch Gammabestrahlung sterilisiert werden. Dies macht die Hydrogele auf Basis polymerisierter ionischer Flüssigkeiten (**Publikation V**) sehr vielversprechend für die Anwendung als Medikamentendepot in Körperregionen mit niedrigen Flussraten wie dem subkonjunktivalen Raum, dem Mittel- oder Innenohr.

Minimal-invasive Anwendungen sind Operationen in vielerlei Hinsicht überlegen. Daher wurde das in Publikation IV vorgestellte Wirkstofffreisetzungssystem, bestehend aus pMAESO₃ und MBAA, in injizierbare Mikropartikel verarbeitet (**Publikation VI**). Ein kritischer Parameter war dabei die Partikelgröße, da insbesondere die Quellung berücksichtigt werden muss. Wenn die resultierenden Partikel zu groß sind, wird eine Applikation über eine Kanüle unmöglich. Ist sie aber zu klein, können zelltoxische Effekte auftreten. Die erhaltenen Mikropartikel konnten mit ELA-NCO in ein *in situ* polymerisierendes Wirkstofffreisetzungssystem umgewandelt werden. In zukünftigen Versuchen könnte die Größenverteilung der Mikropartikel weiterführend untersucht werden, da in dem bisherigen Mahlprozess auch Nanopartikel hergestellt wurden. Eine Fragestellung könnte dabei die Abhängigkeit der Partikelgrößen von der Zusammensetzung der Hydrogele und der Veränderung des Mahlvorganges mit der Kugelmühle sein. Diese Untersuchungen können für den bevorstehenden Tierversuch von großem Vorteil sein. In ebendiesem Tierversuch soll das Zwei-Komponenten-DDS an Kaninchen getestet werden. Die Freisetzung des TM soll über die Konzentration im Kammerwasser und der Tränenflüssigkeit verfolgt werden.

Dieses Wirkstofffreisetzungssystem hat den großen Vorteil, dass es auf kommerziellen und preiswerten Monomeren basiert. Zudem sind die Hydrogele einfach herzustellen. Für zukünftige Studien ist demnach schnell neues Material zu günstigen Preisen herstellbar. Weiterhin kann die Herstellung unter einer Clean Bench vernachlässigt werden, da die Hydrogele mit Gammastrahlung sterilisierbar sind.

Um ein tieferes Verständnis für die Eigenschaften der Hydrogele zu schaffen, könnten die Diffusionseigenschaften näher untersucht werden. Dazu könnten unterschiedliche Methoden wie NMR oder MRT verwendet werden. Dieses Wissen könnte für die Untersuchung der Freisetzung der Wirkstoffe genutzt werden, indem beispielsweise Ibuprofen in einem pMAE-TMA Polymernetzwerk über ATR-IR-Messungen verfolgt wird [165]. Dadurch könnte der Mechanismus der Wirkstofffreisetzung aus den geladenen Hydrogelen besser verstanden werden.

In zukünftigen Studien sollen die Hydrogele auf weitere Anwendungen abgestimmt werden. Dabei stehen biodegradierbare Wirkstofffreisetzungssystem im Fokus. Hierfür können die Polymernetzwerke mit unterschiedlichsten degradierbaren Vernetzern genutzt oder das Polymerrückgrat mit Ester- oder Ethergruppen aufgelockert werden. Mögliche Vernetzer können dabei N,N'-1,2-Dihydroxyethylenbisacrylamid, Bis-2-Methacryloyloxyethylsulfid oder Polyethylenglycoldiacrylate sein. Ein Abbau der Hydrogele könnte dabei über eine pH-Abhängigkeit oder durch diverse Enzyme, wie Esterasen, Lipasen oder Proteasen gesteuert werden. Die Bestimmung der Degradation könnte dabei über den Quellungsgrad und die Trockenmasse verfolgt werden. Um diesen Degradationsprozess besser zu verstehen, könnten die Degradationsprodukte im Eluat mittels ESI-MS quantifiziert und verfolgt werden. Ergänzend könnten die Eluate auf ihre Biokompatibilität untersucht werden.

Weiterhin können vielseitige andere medizinische Anwendungsfelder dieser interessanten Materialien, wie Knorpelersatzmaterialien oder Stentbeschichtungen, erschlossen werden. Für die Anwendung von Hydrogelen als Knorpelersatz können andere Vernetzer wie z. B. 1,4-Piperazindiacrylamid verwendet werden, welche steifere Hydrogele erzeugen können [166].

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit dieser Wirkstofffreisetzungssysteme könnten Modellsysteme sein. Titanprothesen werden in ihrer Lebensspanne stark beansprucht, wodurch Abrieb entstehen kann. Dieser Abrieb könnte einen toxischen Einfluss auf das umliegende Gewebe haben. In einem Tierversuch mit Mäusen könnte die Prothese durch die geringe Krafteinwirkung aber keinen Abrieb erzeugen. Um eine Freisetzung des Abriebs zu simulieren, könnte ein Hydrogel als Abriebfreisetzungssystem genutzt werden.

Außerhalb des medizinischen Anwendungsbereiches finden sich noch viele weitere Möglichkeiten. Beispielsweise werden Hydrogele immer öfter für den 3D-Druck [167,168] oder auch für die Immobilisierung von Biokatalysatoren genutzt [169]. Um diese beiden Felder zu kombinieren, könnte ein Strömungsrohrreaktor aus dem Hydrogel selbst gedruckt werden und das genutzte Enzym im Hydrogel, also dem Reaktor selbst, immobilisiert werden.

6 Literaturverzeichnis

1. van Bemmelen, J.M. Das Hydrogel und das krystallinische Hydrat des Kupferoxyds. *Zeitschrift für Anorg. Chemie* **1894**, 5, 466–483.
2. Wichterle, O.; Lim, D. Hydrogels for Biological Use. *Nature* **1960**, 185, 117.
3. Buwalda, S.J.; Boere, K.W.M.; Dijkstra, P.J.; Feijen, J.; Vermonden, T.; Hennink, W.E. Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. *J. Control. Release* **2014**, 190, 254–273.
4. Jokl, J.; Kopeček, J.; Lím, D. Mechanism of three-dimensional polymerization of the system methyl methacrylate–glycol dimethacrylate. I. Determination of the structure of the three-dimensional product. *J. Polym. Sci. Part A-1 Polym. Chem.* **1968**, 6, 3041–3048.
5. Strachota, B.; Matějka, L.; Zhigunov, A.; Konefał, R.; Spěváček, J.; Dybal, J.; Puffr, R. Poly(N-isopropylacrylamide)-clay based hydrogels controlled by the initiating conditions: Evolution of structure and gel formation. *Soft Matter* **2015**, 11, 9291–9306.
6. Feng, X. De; Guo, X.Q.; Kun, Y.Q. Study of the initiation mechanism of the vinyl polymerization with the system persulfate/ N,N,N',N'-tetramethylethylenediamin. *Macromol. Chem.* **1988**, 189, 77–83.
7. Claus, J.; Sommer, F.O.; Kragl, U. Ionic liquids in biotechnology and beyond. *Solid State Ionics* **2018**, 314, 119–128.
8. Heskins, M.; Guillet, J.E. Solution Properties of Poly(N-isopropylacrylamide). *J. Macromol. Sci. Part A - Chem.* **1968**, 2, 1441–1455.
9. Kopecek, J. Hydrogels: From soft contact lenses and implants to self-assembled nanomaterials. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2009**, 47, 5929–5946.
10. Nalbandian, R.M.; Henry, R.L.; Wilks, H.S. Artificial skin. II. Pluronic F-127 silver nitrate or silver lactate gel in the treatment of thermal burns. *J. Biomed. Mater. Res.* **1972**, 6, 583–590.
11. Ward, M.A.; Georgiou, T.K. Thermoresponsive polymers for biomedical applications. *Polymers (Basel)* **2011**, 3, 1215–1242.
12. Elbert, D.L.; Pratt, A.B.; Lutolf, M.P.; Halstenberg, S.; Hubbell, J.A. Protein delivery from materials formed by self-selective conjugate addition reactions. *J. Control. Release* **2001**, 76, 11–25.
13. Chujo, Y.; Sada, K.; Saegusa, T. Cobalt(III) Bipyridyl-Branched Polyoxazoline Complex as a Thermally and Redox Reversible Hydrogel. *Macromolecules* **1993**, 26, 6320–6323.
14. Chujo, Y.; Sada, K.; Saegusa, T. Iron(II) Bipyridyl-Branched Polyoxazoline Complex as a Thermally Reversible Hydrogel. *Macromolecules* **1993**, 26, 6315–6319.
15. Liang-chang, D.; Qi, Y.; Hoffman, A.S. Controlled release of amylase from a thermal and pH-sensitive, macroporous hydrogel. *J. Control. Release* **1992**, 19, 171–177.
16. Ganji, F.; Vasheghani-Farahani, S.; Vasheghani-Farahani, E. Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review. *Iran. Polym. J.* **2010**, 19, 375–398.
17. Bajpai, A.K.; Shukla, S.K.; Bhanu, S.; Kankane, S. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Prog. Polym. Sci.* **2008**, 33, 1088–1118.
18. Crank, J.; Park, G.S. Diffusion in high polymers: Some anomalies and their significance. *Trans. Faraday Soc.* **1951**, 47, 1072–1084.

19. Liu, Q.; Wang, X.; De Kee, D. Mass transport through swelling membranes. *Int. J. Eng. Sci.* **2005**, *43*, 1464–1470.
20. Vrentas, J.S.; Vrentas, C.M. Steady viscoelastic diffusion. *J. Appl. Polym. Sci.* **2003**, *88*, 3256–3263.
21. Afif, A.E.L.; Grmela, M. Diffusion of One- and Two-Component Fluids into Polymeric Membranes. *Can. J. Chem. Eng.* **2002**, *80*, 1197–1205.
22. Lowman, A.M. Smart pharmaceuticals, 2008.
23. Wen, Y.; Liu, Y.; Zhang, H.; Zou, M.; Yan, D.; Chen, D.; Zhao, Y. A responsive porous hydrogel particle-based delivery system for oncotherapy. *Nanoscale* **2019**, *11*, 2687–2693.
24. Shi, B.H.; Yang, L.; Fan, S.S.; Lou, X. An investigation on repeated methane hydrates formation in porous hydrogel particles. *Fuel* **2017**, *194*, 395–405.
25. Pourjavadi, A.; Kurdtabar, M. Collagen-based highly porous hydrogel without any porogen: Synthesis and characteristics. *Eur. Polym. J.* **2007**, *43*, 877–889.
26. Williams, D.F. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* **2008**, *29*, 2941–2953.
27. Braatz, J.A.; Heifetz, A.H.; Kehr, C.L. A new hydrophilic polymer for biomaterial coatings with low protein adsorption. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **1992**, *3*, 451–462.
28. Cadée, J.A.; Van Luyn, M.J.A.; Brouwer, L.A.; Plantinga, J.A.; Van Wachem, P.B.; De Groot, C.J.; Den Otter, W.; Hennink, W.E. In vivo biocompatibility of dextran-based hydrogels. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *50*, 397–404.
29. Park, H.; Park, K. Biocompatibility Issues of Implantable Drug Delivery Systems. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 1770–1776.
30. Gaetano, G.; Giuseppe, P.; Salvatore, P.F.; Susanna, M.; Sara, S.; Luca, R.C. Hyaluronic-Based Antibacterial Hydrogel Coating for Implantable Biomaterials in Orthopedics and Trauma: From Basic Research to Clinical Applications. In *Hydrogels*; InTech, 2018; Vol. i, pp. 179–200.
31. Lei, J.; Li, X.; Wang, S.; Yuan, L.; Ge, L.; Li, D.; Mu, C. Facile Fabrication of Biocompatible Gelatin-Based Self-Healing Hydrogels. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2019**, *1*, 1350–1358.
32. Borzacchiello, A.; Ambrosio, L.; Netti, P.A.; Nicolais, L.; Peniche, C.; Gallardo, A.; San Roman, J. Chitosan-based hydrogels: Synthesis and characterization. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2001**, *12*, 861–864.
33. Kamoun, E.A.; Chen, X.; Mohy Eldin, M.S.; Kenawy, E.R.S. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers. *Arab. J. Chem.* **2015**, *8*, 1–14.
34. Rogero, S.O.; Malmonge, S.M.; Lugão, A.B.; Ikeda, T.I.; Miyamaru, L.; Cruz, Á.S. Biocompatibility study of polymeric biomaterials. *Artif. Organs* **2003**, *27*, 424–427.
35. Grover, G.N.; Lam, J.; Nguyen, T.H.; Segura, T.; Maynard, H.D. Biocompatible hydrogels by oxime click chemistry. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 3013–3017.
36. Martín, C.; Merino, S.; González-Domínguez, J.M.; Rauti, R.; Ballerini, L.; Prato, M.; Vázquez, E. Graphene Improves the Biocompatibility of Polyacrylamide Hydrogels: 3D Polymeric Scaffolds for Neuronal Growth. *Sci. Rep.* **2017**, *7*.
37. Saroia, J.; Yanen, W.; Wei, Q.; Zhang, K.; Lu, T.; Zhang, B. A review on biocompatibility nature of hydrogels with 3D printing techniques, tissue engineering application and its future prospective. *Bio-Design Manuf.* **2018**, *1*, 265–279.

38. Wei, Z.; Yang, J.H.; Liu, Z.Q.; Xu, F.; Zhou, J.X.; Zrínyi, M.; Osada, Y.; Chen, Y.M. Novel biocompatible polysaccharide-based self-healing hydrogel. *Adv. Funct. Mater.* **2015**, *25*, 1352–1359.
39. Bernard, M.; Jubeli, E.; Pungente, M.D.; Yagoubi, N. Biocompatibility of polymer-based biomaterials and medical devices-regulations,: In vitro screening and risk-management. *Biomater. Sci.* **2018**, *6*, 2025–2053.
40. Picone, P.; Sabatino, M.A.; Ajovalasit, A.; Giacomazza, D.; Dispenza, C.; Di Carlo, M. Biocompatibility, hemocompatibility and antimicrobial properties of xyloglucan-based hydrogel film for wound healing application. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *121*, 784–795.
41. Kenawy, E.R.; Worley, S.D.; Broughton, R. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: A state-of-the-art review. *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1359–1384.
42. Ikner, L.A.; Torrey, J.R.; Gundy, P.M.; Gerba, C.P. A Continuously Active Antimicrobial Coating effective against Human Coronavirus 229E. *medRxiv* **2020**, 2020.05.10.20097329.
43. Kampf, G.; Todt, D.; Pfaender, S.; Steinmann, E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J. Hosp. Infect.* **2020**, *104*, 246–251.
44. Silhavy, T.J.; Kahne, D.; Walker, S. The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, *2*, a000414–a000414.
45. Osborn, M.J.; Rick, P.D.; Lehmann, V.; Rupprecht, E.; Singh, M. Structure and Biogenesis of the Cell Envelope of Gram-Negative Bacteria. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1974**, *235*, 52–65.
46. Gram, H.C.J. The differential staining of Schizomycetes in tissue sections and in dried preparations. *Fortschr. Med.* **1884**, *2*, 185–189.
47. Sutcliffe, I.C. A phylum level perspective on bacterial cell envelope architecture. *Trends Microbiol.* **2010**, *18*, 464–470.
48. Li, P.; Poon, Y.F.; Li, W.; Zhu, H.Y.; Yeap, S.H.; Cao, Y.; Qi, X.; Zhou, C.; Lamrani, M.; Beuerman, R.W.; et al. A polycationic antimicrobial and biocompatible hydrogel with microbe membrane suctioning ability. *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 149–156.
49. Claus, J.; Jastram, A.; Bucki, R.; Janmey, P.; Kragl, U. Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels With Intrinsic Antimicrobial Activity – Modern Weapons Against Multidrug-Resistant Infections. *J. Appl. Polym. Sci.* **2021**, *138*, 50222.
50. Tse, J.R.; Engler, A.J. Preparation of hydrogel substrates with tunable mechanical properties. *Curr. Protoc. Cell Biol.* **2010**, 1–16.
51. Darnell, M.C.; Sun, J.Y.; Mehta, M.; Johnson, C.; Arany, P.R.; Suo, Z.; Mooney, D.J. Performance and biocompatibility of extremely tough alginate/polyacrylamide hydrogels. *Biomaterials* **2013**, *34*, 8042–8048.
52. Bandomir, J.; Schulz, A.; Taguchi, S.; Schmitt, L.; Ohno, H.; Sternberg, K.; Schmitz, K.-P.; Kragl, U. Synthesis and Characterization of Polymerized Ionic Liquids: Mechanical and Thermal Properties of a Novel Type of Hydrogels. *Macromol. Chem. Phys.* **2014**, *215*, 716–724.
53. Tummala, G.K.; Lopes, V.R.; Mihranyan, A.; Ferraz, N. Biocompatibility of nanocellulose-reinforced PVA hydrogel with human corneal epithelial cells for ophthalmic applications. *J. Funct. Biomater.* **2019**, *10*.
54. Janmey, P.A.; Georges, P.C.; Hvidt, S. Basic Rheology for Biologists. *Methods Cell Biol.* **2007**, *83*.

55. Zhao, W.; Lenardi, C.; Webb, P.; Liu, C.; Santaniello, T.; Gassa, F. A methodology to analyse and simulate mechanical characteristics of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogel. *Polym. Int.* **2013**, *62*, 1059–1067.
56. Sanabria-DeLong, N.; Crosby, A.J.; Tew, G.N. Photo-cross-linked PLA-PEO-PLA hydrogels from self-assembled physical networks: Mechanical properties and influence of assumed constitutive relationships. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2784–2791.
57. Hoffmann, M.; Reuter, T.; Lange, M.; Meuche, F.; Langensalza, B. Elastisches und hyperelastisches Modell von Gelenkknorpel – Ein Vergleich von Simulation und Experiment A elastic and a hyper elastic model of cartilage – the simulation in comparison with the experiment Material und Methode. In Proceedings of the 44. DGBMT Jahrestagung; 2010; Vol. 55, pp. 6–9.
58. Russell, R.J.; Axel, A.C.; Shields, K.L.; Pishko, M. V. Mass transfer in rapidly photopolymerized poly(ethylene glycol) hydrogels used for chemical sensing. *Polymer (Guildf.)* **2001**, *42*, 4893–4901.
59. Wu, P.-H.; Aroush, D.R.-B.; Asnacios, A.; Chen, W.-C.; Dokukin, M.E.; Doss, B.L.; Durand-Smet, P.; Ekpenyong, A.; Guck, J.; Guz, N. V.; et al. A comparison of methods to assess cell mechanical properties. *Nat. Methods* **2018**, *15*, 491–498.
60. Abd Alla, S.G.; Sen, M.; El-Naggar, A.W.M. Swelling and mechanical properties of superabsorbent hydrogels based on Tara gum/acrylic acid synthesized by gamma radiation. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *89*, 478–485.
61. Al-Jabari, M.; Ghyadah, R.A.; Alokey, R. Recovery of hydrogel from baby diaper wastes and its application for enhancing soil irrigation management. *J. Environ. Manage.* **2019**, *239*, 255–261.
62. Akhter, J.; Mahmood, K.; Malik, K.A.; Mardan, A.; Ahmad, M.; Iqbal, M.M. Effects of hydrogel amendment on water storage of sandy loam and loam soils and seedling growth of barley, wheat and chickpea. *Plant, Soil Environ.* **2004**, *50*, 463–469.
63. Arbona, V.; Iglesias, D.J.; Jacas, J.; Primo-Millo, E.; Talon, M.; Gómez-Cadenas, A. Hydrogel substrate amendment alleviates drought effects on young citrus plants. *Plant Soil* **2005**, *270*, 73–82.
64. Meyer, L.E.; Plasch, K.; Kragl, U.; Von Langermann, J. Adsorbent-Based Downstream-Processing of the Decarboxylase-Based Synthesis of 2,6-Dihydroxy-4-methylbenzoic Acid. *Org. Process Res. Dev.* **2018**, *22*, 963–970.
65. Mazzoli, R.A.; Raymond, W.R.; Ainbinder, D.J.; Hansen, E.A. Use of self-expanding , hydrophilic osmotic expanders (hydrogel) in the reconstruction of congenital clinical anophthalmos. *Curr Opin Ophthalmol.* **2004**, *15*, 426–431.
66. Smit, T.J.; Koornneef, L.; Zonneveld, F.W.; Groet, E.; Otto, A.J. Management of acquired anophthalmos: A historical review. *Orbit* **1991**, *10*, 63–76.
67. Verma, A.S.; FitzPatrick, D.R. Anophthalmia and microphthalmia. *Orphanet J. Rare Dis.* **2007**, *2*, 1–8.
68. Darwis, D.; Stasica, P.; Razzak, M.T.; Rosiak, J.M. Characterization of poly(vinyl alcohol) hydrogel for prosthetic intervertebral disc nucleus. *Radiat. Phys. Chem.* **2002**, *63*, 539–542.
69. Peppas, N.; Langer, R. Chemical and Physical Structure of Polymers as Carriers for Controlled Release of Bioactive Agents: A Review. *J. Macromol. Sci. Part C* **1983**, *23*, 61–126.
70. Abu-Thabit, N.Y.; Makhlouf, A.S.H. *Historical development of drug delivery systems: From*

- conventional macroscale to controlled, targeted, and responsive nanoscale systems*; Elsevier Ltd., 2018; ISBN 9780081019979.
71. Kim, H.S.; Yang, J.; Kim, K.; Shin, U.S. Biodegradable and injectable hydrogels as an immunosuppressive drug delivery system. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *98*, 472–481.
 72. Ullah, F.; Othman, M.B.H.; Javed, F.; Ahmad, Z.; Akil, H.M. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *57*, 414–433.
 73. Ganji, F.; Vasheghani-Farahani, E. Hydrogels in Controlled Drug Delivery Systems. *Iran. Polym. J.* **2009**, *18*, 63–88.
 74. Hoare, T.; Pelton, R. Impact of microgel morphology on functionalized microgel-drug interactions. *Langmuir* **2008**, *24*, 1005–1012.
 75. Lin, C.C.; Metters, A.T. Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58*, 1379–1408.
 76. Dai, Z.; Ngai, T. Microgel particles: The structure–property relationships and their biomedical applications. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2013**, *51*, 2995–3003.
 77. Peppas, N.A.; Huang, Y.; Torres-Lugo, M.; Ward, J.H.; Zhang, J. Physicochemical Foundations and Structural Design of Hydrogels in Medicine and Biology. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2000**, *2*, 9–29.
 78. Kim, J.H.; Kim, J.Y.; Lee, Y.M.; Kim, K.Y. Controlled release of riboflavin and insulin through crosslinked poly(vinyl alcohol)/chitosan blend membrane. *J. Appl. Polym. Sci.* **1992**, *44*, 1823–1828.
 79. Li, J.; Mooney, D.J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. *Nat. Rev. Mater.* **2016**, *1*.
 80. Paukkonen, H.; Kunnari, M.; Laurén, P.; Hakkarainen, T.; Auvinen, V.V.; Oksanen, T.; Koivuniemi, R.; Yliperttula, M.; Laaksonen, T. Nanofibrillar cellulose hydrogels and reconstructed hydrogels as matrices for controlled drug release. *Int. J. Pharm.* **2017**, *532*, 269–280.
 81. Pimenta, A.F.R.; Ascenso, J.; Fernandes, J.C.S.; Colaço, R.; Serro, A.P.; Saramago, B. Controlled drug release from hydrogels for contact lenses: Drug partitioning and diffusion. *Int. J. Pharm.* **2016**, *515*, 467–475.
 82. Coviello, T.; Palleschi, A.; Grassi, M.; Matricardi, P.; Bocchinfuso, G.; Alhaique, F. Scleroglucan: A versatile polysaccharide for modified drug delivery. *Molecules* **2005**, *10*, 6–33.
 83. Brannon-Peppas, L.; Peppas, N.A. Equilibrium Swelling Behaviour of pH-sensitive Hydrogels. *Chem. Eng.* **1991**, *46*, 715–722.
 84. Hong, W.; Zhao, X.; Zhou, J.; Suo, Z. A theory of coupled diffusion and large deformation in polymeric gels. *J. Mech. Phys. Solids* **2008**, *56*, 1779–1793.
 85. Caccavo, D.; Cascone, S.; Lamberti, G.; Barba, A.A.; Larsson, A. Swellable Hydrogel-based Systems for Controlled Drug Delivery. In *Smart Drug Delivery System*; 2016; pp. 237–303.
 86. Mumper, R.J.; Huffman, A.S.; Puolakkainen, P.A.; Bouchard, L.S.; Gombotz, W.R. Calcium-alginate beads for the oral delivery of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1). *J. Control. Release* **1994**, *30*, 241–251.
 87. Macarthur, J.W.; Purcell, B.P.; Shudo, Y.; Cohen, J.E.; Fairman, A.; Trubelja, A.; Patel, J.; Hsiao, P.; Yang, E.; Lloyd, K.; et al. Sustained release of engineered stromal cell-derived

- factor 1- α from injectable hydrogels effectively recruits endothelial progenitor cells and preserves ventricular function after myocardial infarction. *Circulation* **2013**, *128*, 79–86.
88. Boontheekul, T.; Kong, H.J.; Mooney, D.J. Controlling alginate gel degradation utilizing partial oxidation and bimodal molecular weight distribution. *Biomaterials* **2005**, *26*, 2455–2465.
89. Voss, K.; Falke, K.; Bernsdorf, A.; Grabow, N.; Kastner, C.; Sternberg, K.; Minrath, I.; Eickner, T.; Wree, A.; Schmitz, K.P.; et al. Development of a novel injectable drug delivery system for subconjunctival glaucoma treatment. *J. Control. Release* **2015**, *214*, 1–11.
90. Curvello, R.; Raghuvanshi, V.S.; Garnier, G. Engineering nanocellulose hydrogels for biomedical applications. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2019**, *267*, 47–61.
91. Um, S.H.; Lee, J.B.; Park, N.; Kwon, S.Y.; Umbach, C.C.; Luo, D. Enzyme-catalysed assembly of DNA hydrogel. *Nat. Mater.* **2006**, *5*, 797–801.
92. Witchey-Lakshmanan, L.C.; Li, Y. Controlled drug delivery and the companion animal. In *Controlled Release Veterinary Drug Delivery*; Elsevier, 2000; pp. 249–267.
93. Strohbach, A.; Busch, R. Polymers for Cardiovascular Stent Coatings. *Int. J. Polym. Sci.* **2015**, *2015*, 1–11.
94. San Juan, A.; Bala, M.; Hlawaty, H.; Portes, P.; Vranckx, R.; Feldman, L.J.; Letourneur, D. Development of a functionalized polymer for stent coating in the arterial delivery of small interfering RNA. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 3074–3080.
95. Bandomir, J.; Kaule, S.; Schmitz, K.P.; Sternberg, K.; Petersen, S.; Kragl, U. Usage of different vessel models in a flow-through cell: In vitro study of a novel coated balloon catheter. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 11604–11610.
96. Ghasemiyyeh, P.; Mohammadi-Samani, S. Hydrogels as Drug Delivery Systems; Pros and Cons. *Trends Pharm. Sci.* **2019**, *5*, 7–24.
97. Kim, S.W.; Bae, Y.H.; Okano, T. Hydrogels: Swelling, Drug Loading, and Release. *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.* **1992**, *9*, 283–290.
98. Jamadi, M.; Shokrollahi, P.; Houshmand, B.; Joupari, M.D.; Mashhadiabbas, F.; Khademhosseini, A.; Annabi, N. Poly (Ethylene Glycol)-Based Hydrogels as Self-Inflating Tissue Expanders with Tunable Mechanical and Swelling Properties. *Macromol. Biosci.* **2017**, *17*, 1–13.
99. Engstrom, T.A.; Pogoda, K.; Cruz, K.; Janmey, P.A.; Schwarz, J.M. Compression stiffening in biological tissues: on the possibility of classic elasticity origins. *Soft Condens. Matter* **2018**, 1–7.
100. Quinn, C.A.P.; Connor, R.E.; Heller, A. Biocompatible, glucose-permeable hydrogel for in situ coating of implantable biosensors. *Biomaterials* **1997**, *18*, 1665–1670.
101. Miranda, L.F. de; Cunha, K.L.G.; Barbosa, I.T.F.; Masson, T.J.; Junior, A.H.M. Obtaining Hydrogels based on PVP/PVAL/Chitosan Containing Pseudoboehmite Nanoparticles for Application in Drugs. In *Hydrogels*; InTech, 2018; Vol. i, pp. 141–158.
102. Taylor, C.; Pearson, J.P.; Draget, K.I.; Dettmar, P.W.; Smidsrød, O. Rheological characterisation of mixed gels of mucin and alginate. *Carbohydr. Polym.* **2005**, *59*, 189–195.
103. Xin, A.X.; Gaydos, C.; Mao, J.J. In vitro degradation behavior of photopolymerized PEG hydrogels as tissue engineering scaffold. *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. - Proc.* **2006**, 2091–2093.

104. Munoz-Pinto, D.J.; Samavedi, S.; Grigoryan, B.; Hahn, M.S. Impact of secondary reactive species on the apparent decoupling of poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogel average mesh size and modulus. *Polymer (Guildf)*. **2015**, *77*, 227–238.
105. Wyss, H.M. Rheology of soft materials. In *Fluids, Colloids and Soft Materials: An Introduction to Soft Matter Physics*; 2018; pp. 149–164 ISBN 9781118065624.
106. Sahiner, N.; Singh, M.; De Kee, D.; John, V.T.; McPherson, G.L. Rheological characterization of a charged cationic hydrogel network across the gelation boundary. *Polymer (Guildf)*. **2006**, *47*, 1124–1131.
107. Lee, K.Y.; J., M.D. Alginate: properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci*. **2013**, *37*, 106–126.
108. Brietzke, A.; von der Ehe, C.; Illner, S.; Matschegowski, C.; Grabow, N.; Kragl, U. Promising biocompatible hydrogels of crosslinked polyelectrolytes for biomedical applications. *Curr. Dir. Biomed. Eng.* **2017**, *3*, 695–698.
109. Highley, C.B.; Prestwich, G.D.; Burdick, J.A. ScienceDirect Recent advances in hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2016**, *40*, 35–40.
110. Yong, K.; Mooney, D.J. Progress in Polymer Science Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*, 106–126.
111. Mrksich, M. A surface chemistry approach to studying cell adhesion. *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 267–273.
112. Bongrand, P.; Capo, C.; Depieds, R. Physics of cell adhesion. *Prog. Surf. Sci.* **1982**, *12*, 217–285.
113. Altankov, G.; Groth, T. Reorganization of substratum-bound fibronectin on hydrophilic and hydrophobic materials is related to biocompatibility. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1994**, *5*, 732–737.
114. Chang, S.; Wang, Y.; Lin, L.; Kuo, S. Studies of Cell Adhesion and Growth on Different Material Surfaces by Using a Flow Chamber. *J. Med. Biol. Eng.* **2000**, *20*, 6–7.
115. Ng, V.W.L.; Chan, J.M.W.; Sardon, H.; Ono, R.J.; García, J.M.; Yang, Y.Y.; Hedrick, J.L. Antimicrobial hydrogels: A new weapon in the arsenal against multidrug-resistant infections. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2014**, *78*, 46–62.
116. Zheng, Z.; Xu, Q.; Guo, J.; Qin, J.; Mao, H.; Wang, B.; Yan, F. Structure-Antibacterial Activity Relationships of Imidazolium-Type Ionic Liquid Monomers, Poly(ionic liquids) and Poly(ionic liquid) Membranes: Effect of Alkyl Chain Length and Cations. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 12684–12692.
117. Siddiqui, A.R.; Bernstein, J.M. Chronic wound infection: Facts and controversies. *Clin. Dermatol.* **2010**, *28*, 519–526.
118. Loir, Y. Le; Baron, F.; Gautier, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* **2003**, *2*, 7–28.
119. Chambers, H.F.; DeLeo, F.R. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, *7*, 629–641.
120. Poole, K. *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to the max. *Front. Microbiol.* **2011**, *2*, 1–13.
121. Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*, 281–339.

122. Kausar, A. Research Progress in Frontiers of Poly(Ionic Liquids): A Review. *Polym. - Plast. Technol. Eng.* **2017**, *56*, 1823–1838.
123. Pendleton, J.N.; Gilmore, B.F. The antimicrobial potential of ionic liquids: A source of chemical diversity for infection and biofilm control. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2015**, *46*, 131–139.
124. Jain, A.; Duvvuri, L.S.; Farah, S.; Beyth, N.; Domb, A.J.; Khan, W. Antimicrobial Polymers. *Adv. Healthc. Mater.* **2014**, *3*, 1969–1985.
125. Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M. Poly(ionic liquid)s as antimicrobial materials. *Eur. Polym. J.* **2018**, *105*, 135–149.
126. Yaroslavov, A.A.; Melik-Nubarov, N.S.; Menger, F.M. Polymer-induced flip-flop in biomembranes. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 702–710.
127. Guan, Y.; Qian, L.; Xiao, H. Novel anti-microbial host-guest complexes based on cationic β -cyclodextrin polymers and triclosan/butylparaben. *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 2244–2248.
128. Codling, C.E.; Maillard, J.Y.; Russell, A.D. Aspects fo the antimicrobial mechanisms of action of a polyquaternium and an amidoamine. *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 1153–1158.
129. Xue, X.; Chen, X.; Mao, X.; Hou, Z.; Zhou, Y.; Bai, H.; Meng, J.; Da, F.; Sang, G.; Wang, Y.; et al. Amino-terminated generation 2 poly(amidoamine) dendrimer as a potential broad-spectrum, nonresistance-inducing antibacterial agent. *AAPS J.* **2013**, *15*, 132–142.
130. Milović, N.M.; Wang, J.; Lewis, K.; Klibanov, A.M. Immobilized N-alkylated polyethylenimine avidly kills bacteria by rupturing cell membranes with no resistance developed. *Biotechnol. Bioeng.* **2005**, *90*, 715–722.
131. Li, D.; Zhang, X.; Simon, G.P.; Wang, H. Forward osmosis desalination using polymer hydrogels as a draw agent: Influence of draw agent, feed solution and membrane on process performance. *Water Res.* **2013**, *47*, 209–215.
132. Shay, T.; Dickey, M.D.; Velev, O.D. Hydrogel-enabled osmotic pumping for microfluidics: Towards wearable human-device interfaces. *Lab Chip* **2017**, *17*, 710–716.
133. Uday, S.P.; Thiagarajan, D.; Goswami, S.; Adhikari, M.D.; Das, G.; Ramesh, A. Amphiphile-mediated enhanced antibiotic efficacy and development of a payload nanocarrier for effective killing of pathogenic bacteria. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 5818–5827.
134. Anselme, K.; Davidson, P.; Popa, A.M.; Giazzon, M.; Liley, M.; Ploux, L. The interaction of cells and bacteria with surfaces structured at the nanometre scale. *Acta Biomater.* **2010**, *6*, 3824–3846.
135. Isik, M.; Tan, J.P.K.; Ono, R.J.; Sanchez-Sanchez, A.; Mecerreyes, D.; Yang, Y.Y.; Hedrick, J.L.; Sardon, H. Tuning the Selectivity of Biodegradable Antimicrobial Cationic Polycarbonates by Exchanging the Counter-Anion. *Macromol. Biosci.* **2016**, 1360–1367.
136. McDonnell, G.; Russell, A.D. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, *12*, 147–179.
137. Thoma, L.M.; Boles, B.R.; Kuroda, K. Cationic methacrylate polymers as topical antimicrobial agents against *staphylococcus aureus* nasal colonization. *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 2933–2943.
138. Großheilmann, J.; Bandomir, J.; Kragl, U. Preparation of Poly(ionic liquid)s-Supported Recyclable Organocatalysts for the Asymmetric Nitroaldol (Henry) Reaction. *Chem. - A Eur. J.* **2015**, *21*, 18957–18960.

139. Killion, J.A.; Geever, L.M.; Devine, D.M.; Kennedy, J.E.; Higginbotham, C.L. Mechanical properties and thermal behaviour of PEGDMA hydrogels for potential bone regeneration application. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2011**, *4*, 1219–1227.
140. Huang, Y.; Lawrence, P.G.; Lapitsky, Y. Self-assembly of stiff, adhesive and self-healing gels from common polyelectrolytes. *Langmuir* **2014**, *30*, 7771–7777.
141. Breedveld, V.; Nowak, A.P.; Sato, J.; Deming, T.J.; Pine, D.J. Rheology of block copolypeptide solutions: Hydrogels with tunable properties. *Macromolecules* **2004**, *37*, 3943–3953.
142. Tang, Y.F.; Du, Y.M.; Hu, X.W.; Shi, X.W.; Kennedy, J.F. Rheological characterisation of a novel thermosensitive chitosan/poly(vinyl alcohol) blend hydrogel. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *67*, 491–499.
143. Marcus, Y. Thermodynamics of Solvation of Ions. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1993**, *89*, 713–718.
144. Kubota, S.; Ozaki, S.; Onishi, J.; Kano, K.; Shirai, O. Selectivity on ion transport across bilayer lipid membranes in the presence of Gramicidin A. *Anal. Sci.* **2009**, *25*, 189–194.
145. John, T.; Rajpurkar, A.; Smith, G.; Fairfax, M.; Triest, J. Antibiotic pretreatment of hydrogel ureteral stent. *J. Endourol.* **2007**, *21*, 1211–1215.
146. Musgrave, C.S.A.; Fang, F. Contact lens materials: A materials science perspective. *Materials (Basel)* **2019**, *12*, 1–36.
147. Vernengo, J.; Fussell, G.W.; Smith, N.G.; Lowman, A.M. Synthesis and characterization of injectable bioadhesive hydrogels for nucleus pulposus replacement and repair of the damaged intervertebral disc. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* **2010**, *93*, 309–317.
148. Fukushima, T.; Kosaka, A.; Yamamoto, Y.; Aimiya, T.; Notazawa, S.; Takigawa, T.; Inabe, T.; Aida, T. Dramatic effect of dispersed carbon nanotubes on the mechanical and electroconductive properties of polymers derived from ionic liquids. *Small* **2006**, *2*, 554–560.
149. Ullyot, G.E.; Hodsdon Ullyot, B.; Slater, L.B. The Metamorphosis of Smith-Kline & French Laboratories to Smith Kline Beecham: 1925–1998. *Bull. Hist. Chem.* **2000**, *25*, 16–22.
150. Yun, Y.H.; Lee, B.K.; Park, K. Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. *J. Control. Release* **2015**, *219*, 2–7.
151. Hedberg, E.L.; Kroese-Deutman, H.C.; Shih, C.K.; Crowther, R.S.; Carney, D.H.; Mikos, A.G.; Jansen, J.A. Effect of varied release kinetics of the osteogenic thrombin peptide TP508 from biodegradable, polymeric scaffolds on bone formation in vivo. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2005**, *72*, 343–353.
152. Hedberg, E.L.; Kroese-Deutman, H.C.; Shih, C.K.; Lemoine, J.J.; Liebschner, M.A.K.; Miller, M.J.; Yasko, A.W.; Crowther, R.S.; Carney, D.H.; Mikos, A.G.; et al. Methods: A comparative analysis of radiography, microcomputed tomography, and histology for bone tissue engineering. *Tissue Eng.* **2005**, *11*, 1356–1367.
153. Hedberg, E.L.; Tang, A.; Crowther, R.S.; Carney, D.H.; Mikos, A.G. Controlled release of an osteogenic peptide from injectable biodegradable polymeric composites. *J. Control. Release* **2002**, *84*, 137–150.
154. Norouzi, M.; Nazari, B.; Miller, D.W. Injectable hydrogel-based drug delivery systems for local cancer therapy. *Drug Discov. Today* **2016**, *21*, 1835–1849.
155. Serra, L.; Doménech, J.; Peppas, N.A. Drug transport mechanisms and release kinetics from molecularly designed poly(acrylic acid-g-ethylene glycol) hydrogels. *Biomaterials* **2006**, *27*,

- 5440–5451.
- 156. Huang, Y.; Yu, H.; Xiao, C. pH-sensitive cationic guar gum/poly (acrylic acid) polyelectrolyte hydrogels: Swelling and in vitro drug release. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 774–783.
 - 157. Dadsetan, M.; Liu, Z.; Pumberger, M.; Giraldo, C.V.; Ruesink, T.; Lu, L.; Yaszemski, M.J. A stimuli-responsive hydrogel for doxorubicin delivery. *Biomaterials* **2010**, *31*, 8051–8062.
 - 158. Goel, M. Aqueous Humor Dynamics: A Review. *Open Ophthalmol. J.* **2010**, *4*, 52–59.
 - 159. Kolambkar, Y.M.; Dupont, K.M.; Boerckel, J.D.; Huebsch, N.; Mooney, D.J.; Hutmacher, D.W.; Guldberg, R.E. An alginate-based hybrid system for growth factor delivery in the functional repair of large bone defects. *Biomaterials* **2011**, *32*, 65–74.
 - 160. Silva, E.A.; Mooney, D.J. Effects of VEGF temporal and spatial presentation on angiogenesis. *Biomaterials* **2010**, *31*, 1235–1241.
 - 161. Anseth, K.S.; Metters, A.T.; Bryant, S.J.; Martens, P.J.; Elisseeff, J.H.; Bowman, C.N. In situ forming degradable networks and their application in tissue engineering and drug delivery. *J. Control. Release* **2002**, *78*, 199–209.
 - 162. Sternberg, K.; Voss, K.; Kastner, C.; Bernsdorf, A.; Lurtz, C.; Stachs, O.; Guthoff, R.F.; Schmitz, K.-P. Development of an Injectable Polymer-Based Local Drug Delivery System for Subconjunctival Treatment of Glaucoma. *Biomed. Eng. / Biomed. Tech.* **2013**, *58*, 2–3.
 - 163. Rohm, H.W.; Lurtz, C.; Wegmann, J.; Odermatt, E.K.; Behrend, D.; Schmitz, K.P.; Sternberg, K. Development of a biodegradable tissue adhesive based on functionalized 1,2-ethylene glycol bis(dilactic acid). II. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* **2011**, *97 B*, 66–73.
 - 164. Brietzke, A.; Ehe, C. Von Der; Illner, S.; Matschegewski, C. Promising biocompatible hydrogels of crosslinked polyelectrolytes for biomedical applications. *Curr. Dir. Biomed. Eng.* **2017**, *3*, 695–698.
 - 165. Emel'Yanenko, V.N.; Stange, P.; Feder-Kubis, J.; Verevkin, S.P.; Ludwig, R. Dissecting intermolecular interactions in the condensed phase of ibuprofen and related compounds: The specific role and quantification of hydrogen bonding and dispersion forces. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22*, 4896–4904.
 - 166. Li, C.; Allen, J.; Alliston, T.; Pruitt, L.A. The use of polyacrylamide gels for mechanical calibration of cartilage - A combined nanoindentation and unconfined compression study. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2011**, *4*, 1540–1547.
 - 167. Mau, R.; Nazir, J.; John, S.; Seitz, H. Preliminary Study on 3D printing of PEGDA Hydrogels for Frontal Sinus Implants using Digital Light Processing (DLP). *Curr. Dir. Biomed. Eng.* **2019**, *5*, 249–252.
 - 168. Zhang, B.; Li, S.; Hingorani, H.; Serjouei, A.; Larush, L.; Pawar, A.A.; Goh, W.H.; Sakhaei, A.H.; Hashimoto, M.; Kowsari, K.; et al. Highly stretchable hydrogels for UV curing based high-resolution multimaterial 3D printing. *J. Mater. Chem. B* **2018**, *6*, 3246–3253.
 - 169. Grollmisch, A.; Kragl, U.; Großeheilmann, J. Enzyme Immobilization in Polymerized Ionic Liquids-based Hydrogels for Active and Reusable Biocatalysts. *SynOpen* **2018**, *02*, 0192–0199.

A Anhang: Originalpublikationen

Originalpublikationen:

A.1 **Publikation I, Full Paper:**

J. Claus, A. Brietzke, C. Lehnert, S. Oschatz, N. Grabow, U. Kragl.
Swelling characteristics and biocompatibility of ionic liquid based hydrogels for biomedical applications.
PLoS ONE **2020**, 15(4), e0231421.
DOI: 10.1371/journal.pone.0231421

Das Konzept dieser Studie wurde von N. Grabow und U. Kragl erarbeitet. Sämtliche experimentelle Arbeiten wurden von J. Claus, A. Brietzke und C. Lehnert durchgeführt. Die Ergebnisse wurden von J. Claus und A. Brietzke analysiert und ausgewertet. Der Manuskriptentwurf wurde von J. Claus verfasst und anschließend von S. Oschatz und U. Kragl überarbeitet.

A.2 **Publikation II, Full Paper:**

J. Claus, A. Jastram, E. Piktel, R. Bucki, P. Janmey, U. Kragl.
Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels With Intrinsic Antibacterial Activity – Modern Weapons Against Multidrug-Resistant Infections.
Journal of Applied Polymer Science **2021**, 138(16), 50222.
DOI: 10.1002/app.50222

Das Konzept dieser Studie wurde von J. Claus, A. Jastram und R. Bucki erarbeitet. Sämtliche experimentelle Arbeiten wurden von J. Claus, A. Jastram und E. Piktel durchgeführt. Die Ergebnisse wurden von J. Claus und A. Jastram ausgewertet. Der Manuskriptentwurf wurde von J. Claus und A. Jastram verfasst und anschließend von U. Kragl, R. Bucki und P. Janmey überarbeitet.

A.3 **Publikation III, Full Paper:**

A. Jastram, J. Claus, P. Janmey, U. Kragl.
Rheological Properties of Biomedically Interesting Ionic Liquid-Based Hydrogels.
Polymer Testing, **2021**, 93, 106943.
DOI: 10.1016/j.polymertesting.2020.106943

Das Konzept dieser Studie wurde von A. Jastram und J. Claus erarbeitet. Sämtliche experimentelle Arbeiten wurden von A. Jastram und J. Claus durchgeführt. Die Ergebnisse wurden von A. Jastram, J. Claus und P. Janmey analysiert und ausgewertet. Der Manuskriptentwurf wurde von A. Jastram und J. Claus verfasst und anschließend von P. Janmey und U. Kragl überarbeitet.

A.4 Publikation IV, Full Paper:

J. Claus, T. Eickner, N. Grabow, U. Kragl, S. Oschatz.
Ion exchange controlled drug release from polymerized ionic liquids.
Macromolecular Bioscience **2020**, 2000152, 1-9.
DOI: 10.1002/mabi.202000152

Das Konzept dieser Studie wurde von S. Oschatz und J. Claus erarbeitet. Sämtliche experimentelle Arbeiten wurden von J. Claus und S. Oschatz durchgeführt. Die Ergebnisse wurden von S. Oschatz und J. Claus analysiert und ausgewertet. Der Manuskriptentwurf wurde von S. Oschatz und J. Claus verfasst und anschließend von N. Grabow, T. Eickner und U. Kragl überarbeitet.

Weitere Publikationen:

A.5 Publikation V, Review Paper (peer-reviewed):

J. Claus*, F. Sommer*, U. Kragl.
Ionic liquids in biotechnology and beyond.
Solid State Ionics **2018**, 314, 119–128.
DOI: 10.1016/j.ssi.2017.11.012

*Beide Autoren haben gleichermaßen beigetragen; geteilte Erstautorschaft.

A.6 Publikation VI, Patent:

S. Oschatz, J. Claus, A. Brietzke, T. Eickner, N. Grabow, U. Kragl; Universität Rostock, Germany.
In situ polymerisierendes Depotsystem zur stimulusresponsiven Freisetzung (ionischer) Wirkstoffe.
Einreichungsdatum: 2. Oktober 2019
DE P 10 2019 126 672.6 (2.10.2019)

A.1 Publikation I

Full Paper. *Plos ONE*. 2020, 15(4), e0231421.

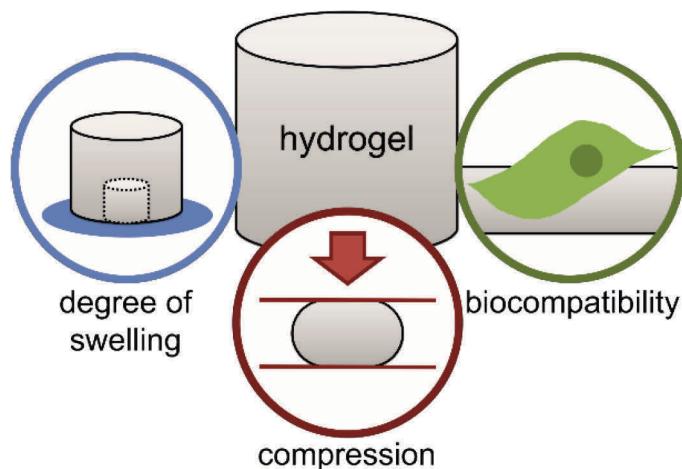
Swelling characteristics and biocompatibility of ionic liquid based hydrogels for biomedical applications.

J. Claus, A. Brietzke, C. Lehnert, S. Oschatz, N. Grabow, U. Kragl

Eingereicht: 06. Januar 2020, Angenommen: 23. März 2020

DOI: 10.1371/journal.pone.0231421

ABSTRACT: Polymers are commonly used in medical device manufacturing, e.g. for drug delivery systems, bone substitutes and stent coatings. Especially hydrogels exhibit very promising properties in this field. Hence, the development of new hydrogel systems for customized application is of great interest, especially regarding the swelling behavior and mechanical properties as well as the biocompatibility. The aim of this work was the preparation and investigation of various polyelectrolyte and poly-ionic liquid based hydrogels accessible by radical polymerization. The obtained polymers were covalently crosslinked with N,N'-methylenbisacrylamide (MBAA) or different lengths of poly(ethyleneglycol)diacrylate (PEGDA). The effect of different crosslinker-to-monomer ratios has been examined. In addition to the compression curves and the maximum degree of swelling, the biocompatibility with L929 mouse fibroblasts of these materials was determined in direct cell seeding experiments and the outcome for the different hydrogels was compared.



DOI: [10.1371/journal.pone.0231421](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231421)

A.2 Publikation II

Full Paper. *J. Appl. Polym. Sci.* **2021**, 138(16), 50222.

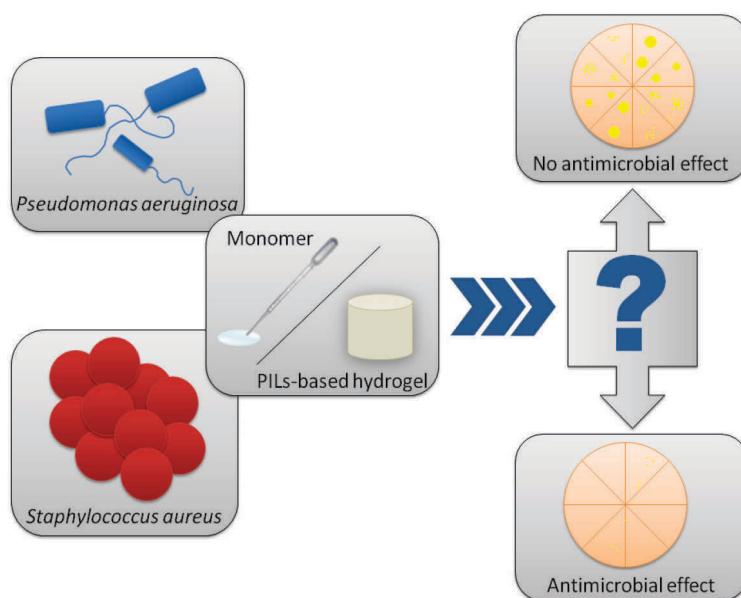
Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels With Intrinsic Antibacterial Activity – Modern Weapons Against Multidrug-Resistant Infections.

J. Claus, A. Jastram, E. Piktel, R. Bucki, P. Janmey, U. Kragl.

Eingereicht: 07. April 2020, Angenommen: 19. Oktober 2020

DOI: 10.1002/app.50222

ABSTRACT: In this study, the inherent antibacterial activity of eleven different polymerized ionic liquids (PILs)-based hydrogels as well as their corresponding monomers was examined in an extensive screening. The methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Xen 30 (MRSA Xen 30) and *Pseudomonas aeruginosa* Xen 5 (*P. aeruginosa* Xen 5) were chosen as test microorganisms. Both are typical representatives of gram-positive and gram-negative bacteria, respectively. Six of the eleven tested monomers were able to eradicate more than 80% of *P. aeruginosa* Xen 5 cells in suspension. Unfortunately, the anionic, neutral and zwitterionic representatives lost their function after polymerization. However, the cationic gels retained their antibacterial activity with nearly 100% elimination of colony forming units (CFU) – even at the highest dilution tested. Bactericidal activity against gram-positive MRSA Xen 30 was high when the bacteria were treated with the imidazolium-based monomers. Five of the tested compounds showed rather poor results of <50% killed bacteria. The weak antibacterial activities could be significantly increased by crosslinking them to three-dimensional networks. As a result, all the hydrogels possessed strong killing efficiencies of at least 68% and were able to maintain this activity even at low hydrogel volume fractions. These findings are very promising for the development of new antibacterial materials for medical applications, e.g. stent coatings.



DOI: 10.1002/app.50222

A.3 Publikation III

Full Paper. *Polym. Test.* 2021, 93, 106943.

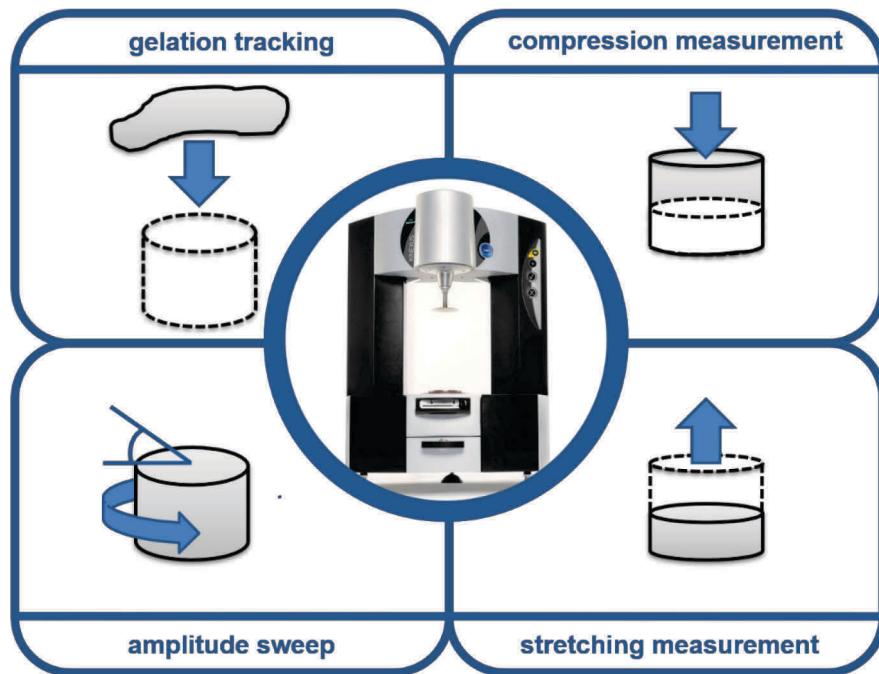
Rheological Properties of Biomedically Interesting Ionic Liquid-Based Hydrogels.

A. Jastram, J. Claus, P. Janmey, U. Kragl

Eingereicht: 12. Juni 2020, Angenommen: 30. Oktober 2020

DOI: 10.1016/j.polymertesting.2020.106943

ABSTRACT: Hydrogels, based on polymerized ionic liquids, are increasingly used in the medical and pharmaceutical industry as implants, drug delivery systems, contact lens material, bone substitutes and stent coatings. Therefore they need to be biocompatible, flexible and resistant to external stress. In order to meet these requirements, there is a large interest in design, synthesis and characterization of these interesting polymers. In this work, mechanical properties such as gelation kinetics, shear strain resistance, and response to compression and stretching of ten different polymerized ionic liquid-based hydrogels were examined, completing the picture of the rheological behavior of these materials. Interestingly, the investigations of stretching measurements showed a wide range of critical strains leading to failure from 4.4% to 47.9% and compression measurements from 7.8% to higher than 59.8% of deformation, as well as a linear viscoelastic range from 35% to 267%. These results allow improved design with a “choose-the-best-material”-toolbox for medical applications.



DOI: 10.1016/j.polymertesting.2020.106943

A.4 Publikation IV

Full Paper. *Macromol. Biosci.* **2020**, 2000152, 1-9.

Ion exchange controlled drug release from polymerized ionic liquids.

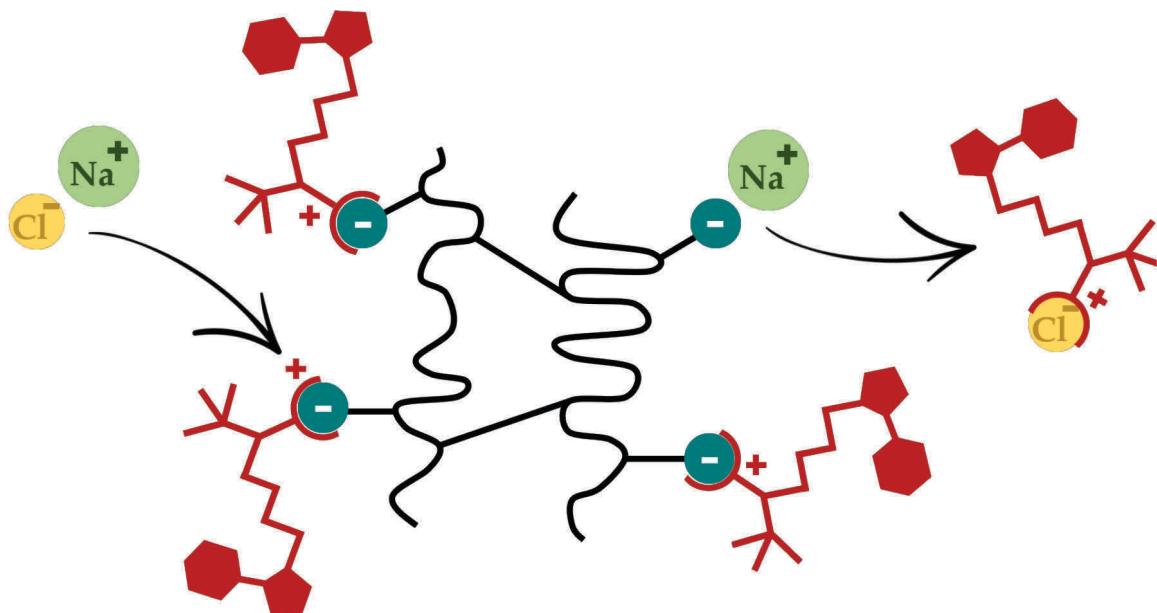
J. Claus, T. Eickner, N. Grabow, U. Kragl, S. Oschatz

Eingereicht: 06. Januar 2020, Angenommen: 23. März 2020

DOI: 10.1002/mabi.202000152

ABSTRACT:

In this work ion functionalized hydrogels as potent drug delivery systems are presented. The ion functionalization of the hydrogel enables the retention of ionic drug molecules and thus a reduction of burst release effects. Timolol maleate in combination with polymerized anionic 3-sulfopropylmethacrylate potassium and ibuprofen combined with cationic poly[2-(methacryloyloxy)ethyl] trimethylammonium chloride have been investigated in respect to their drug release profile. The results are showing an ion exchange depending release behavior instead of a diffusion-controlled drug release as it is known from common drug delivery systems. Furthermore, the suitability of such hydrogels for standard methods for sterilization is investigated.



DOI: 10.1002/mabi.202000152

A.5 Publikation V

Review Article. *Solid State Ion.* **2018**, 314, 119–128.

Ionic liquids in biotechnology and beyond.

J. Claus*, F. Sommer*, U. Kragl

*Beide Autoren haben gleichermaßen beigetragen; geteilte Erstautorschaft.

Eingereicht: 30. September 2017, Angenommen: 18. September 2017

DOI: 10.1016/j.ssi.2017.11.012

ABSTRACT: In the past decades, ionic liquids (IL) evolved from a “designer solvent” to a well-known and well-characterized class of compounds useful in reactions, extractions, and other applications. By an increasing number of synthesized ILs also new fields of application were uncovered. The today’s research interest covers a range for direct use of ILs, application as embedding material or as catalyst. In this brief review, we present diverse applications of pure native ILs as well as these of polymerized ionic liquids (PILs). These charged polymers unite the presented advantages of both, ionic liquids and solid polymer structures. We also show the recent developments in the areas of drug delivery, catalysis and catalyst immobilization where these particular compositions demonstrate improvements compared to existing solutions. Besides the advantages, we likewise discuss some limitations and drawbacks.

DOI: 10.1016/j.ssi.2017.11.012

A.6 Publikation VI

Patent

Wirkstoffdepotsystem sowie Kit zur *in situ* Polymerisation des Wirkstoffdepotsystems.

S. Oschatz, J. Claus, T. Eickner, A. Brietzke, N. Grabow, U. Kragl

Anmeldetag: 02. Oktober 2019

DE P 10 2019 126 672.6 (2.10.2019)

ABSTRACT: Die orale Verabreichung von Wirkstoffen mittels Tabletten oder Wirkstofflösungen oder -emulsionen bringen einige Nachteile mit sich. So wird beispielweise bei der oralen Verabreichung der Wirkstoff systemisch aufgenommen, wodurch eine erhöhte Wirkstoffkonzentrationen appliziert werden muss, um den gewünschten Effekt zu erhalten. Dies hat häufig Nebenwirkungen zur Folge. Einen großen Vorteil bieten dabei die sogenannten Drug-Delivery-Systemen zur kontrollierten Medikamentenfreisetzung. Dabei wird ein Reservoir in oder auf den Körper gebracht, aus dem ein Wirkstoff kontrolliert abgegeben wird. Die vorliegende Erfindung kann einige Nachteile der bisher verwendeten Wirkstoffdepotsysteme für die subkutanen, subkonjunktivalen und intramuskulären Anwendungen vermindern und anteilig sogar auflösen. Als bioabbaubare Matrix dient eine funktionalisierte Ethylen-Glykol-di-Milchsäure, in die der Wirkstoff in Elektrolyt-Hydrogele eingebettet ist. Eine stimulus-responsive Freisetzung kann durch das ionisch funktionalisierte Hydrogelsystem erreicht werden. Diese örtlich steuerbare und kontinuierliche Freisetzung des Wirkstoffes ist als innovatives Merkmal des biodegradierbaren Wirkstofffreisetzungssystems hervorzuheben, da dadurch eine unkontrollierte, schlagartige Freisetzung, wie sie bei rein diffusions- und degradationsgesteuerten Freisetzungsprozessen auftreten kann, umgangen wird bzw. sich das Risiko hierfür verringern lässt.

DE P 10 2019 126 672.6 (2.10.2019)