

**Universität  
Rostock**



Traditio et Innovatio

# **Charakterisierung und Anwendung von polyelektrolytbasierten Hydrogelen**

**- Untersuchung der rheologischen und  
antibakteriellen Eigenschaften sowie des  
Diffusionsverhaltens -**

## **Kumulative Dissertation**

zur

Erlangung des akademischen Grades

*doctor rerum naturalium* (Dr. rer. nat.)

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

**Ann Jastram, geb. Grollmisch**

geboren am 15.08.1990 in Ludwigslust

Hanse- und Universitätsstadt Rostock, Mai 2021



Die vorliegende Dissertation und die zugrunde liegenden praktischen Arbeiten wurden im Zeitraum von Oktober 2017 bis Mai 2021 am Lehrstuhl für Technische Chemie der Universität Rostock 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. Thomas Scheper**  
Leibniz Universität Hannover  
Institut für Technische Chemie  
Callinstraße 5  
30167 Hannover

Eingereicht am: 14. Mai 2021  
Promotionskolloquium: 13. Juli 2021



# Danksagung

Die Anfertigung dieser Doktorarbeit stellte mich vor die unterschiedlichsten Herausforderungen und ich lernte in dieser Zeit, dass -egal was passiert- nur zwei Dinge wirklich wichtig sind: erstens lasse niemals den Kopf hängen und zweitens schätze die Leute, die dich dabei unterstützen! Diesen Menschen möchte ich an dieser Stelle danken.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Udo Kragl für die Bereitstellung des Forschungsthemas und das in mich gesetzte Vertrauen. Die hilfreichen sowie motivierenden Gespräche halfen mir, wenn es nicht so voranging wie geplant. Die Möglichkeit des freien und selbstbestimmten Arbeitens hat mich zwar oft stark gefordert, aber letztlich auch gestärkt.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof. Janmey und seiner Arbeitsgruppe in Philadelphia bedanken. Ich denke gern an die Seminare zurück, in denen man sich bei Kuchen und anderen Leckereien auf den neuesten Stand brachte und über Forschungsergebnisse diskutierte. Danke an Emile Kraus und Fitzroy Byfield für die Betreuung und Hilfe in dieser Zeit – ich hätte nichts gefunden im Labor ohne euch. Vielen Dank an Johanna Claus – mit dir hat das Abenteuer USA viel mehr Spaß gemacht.

Außerdem möchte ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe der Technischen Chemie bedanken! Unsere gemeinsamen Kaffeepausen haben sich in der letzten Zeit (vor Corona) zwar eher zu Teepausen entwickelt, waren aber immer einzigartig und eine erfrischende Abwechslung. Selbst an grauen Tagen habt ihr mich aufgeheitert. Besonders erwähnen möchte ich Sandra Diederich - die gute Seele der Technischen Chemie. Ohne dich wäre nichts, wie es ist! Du bist stets hilfsbereit und niemand spürt Laborgeräte so gut auf wie du. Danke, dass du immer für mich da warst und meine Freundin wurdest. Ein großer Dank geht auch an Dennis Hülsewede - aus uns „Leidensgenossen“ in der Bibliothek, wurden Freunde und Kollegen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meiner ehemaligen Betreuerin Frau Jun.-Prof. Dr. Julia Großeheilmann bedanken. Als Studentin bei dir habe ich so viele Dinge gelernt, die mich jetzt weiterbringen. Und dank dir hörten wir regelmäßig SDP und fragten uns wo wir in der Nacht von Freitag auf Montag waren...

Vielen Dank an den grandiosen Rest für die schönen Mädelsabende – egal wie ätzend manche Tage waren - mit Wein, (Aal)Sushi und euch beiden wurde es gleich viel besser.

Ein großer Dank gilt auch meinen Eltern und Großeltern, Tini und Jörg sowie meine Schwiegereltern Heidrun und Detlef. Ihr habt immer an mich geglaubt und mich stets auf meinem Weg unterstützt. In schwierigen Phasen habt ihr mir mit Karten und „Motivationspäckchen“ das Leben leichter machen wollen – das werde ich euch nie vergessen!

Das größte Dankeschön geht aber an meinen Ehemann Stefan Jastram – für deine Liebe, Geduld und Unterstützung. Du warst immer an meiner Seite und hast mich mit deiner ruhigen Art geerdet. Außerdem hast du mich und meine Laptops vor vielen technischen Katastrophen bewahrt. Ich rechne dir auch hoch an, dass du zumindest versucht hast die chemischen Begriffe fehlerfrei auszusprechen.

**DANKE!**



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1	Hydrogele – Geschichte und Entwicklung.....	1
1.2	Klassifizierung und Synthese von Hydrogelen .....	2
1.3	Einsatzmöglichkeiten der Hydrogele.....	7
<b>2</b>	<b>ZIELSTELLUNG .....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>RHEOLOGISCHE UND MECHANISCHE EIGENSCHAFTEN VON HYDROGELN.....</b>	<b>15</b>
3.1	Rheologische und mechanische Charakterisierung der Polyelektrolyt-Hydrogele.....	18
<b>4</b>	<b>ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG VON HYDROGELN.....</b>	<b>21</b>
4.1	Die inhärente antibakterielle Wirkung von Hydrogelen auf Polyelektrolytbasis.....	24
<b>5</b>	<b>PILS-BASIERTE HYDROGELE ALS IMMOBILISIERUNGSMATRIX IN DER KATALYSE .....</b>	<b>27</b>
5.1	Immobilisierung von Biokatalysatoren .....	28
5.2	Anwendungsbeispiel als Matrix zur Einschlussimmobilisierung von Enzymen .....	30
<b>6</b>	<b>QUELLUNG, TRANSPORT UND DIFFUSION IN HYDROGELN.....</b>	<b>31</b>
6.1	Kinetische Betrachtung der Quellprozesse .....	32
6.2	Beispiele für Methoden zur Diffusionsmessung in Hydrogelen.....	34
6.3	Quellung und Diffusion in pILs-basierten Hydrogelen .....	35
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG DER PUBLIKATIONEN UND AUSBLICK.....</b>	<b>38</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>41</b>
<b>A</b>	<b>ANHANG: ORIGINALPUBLIKATIONEN.....</b>	<b>49</b>
A.1	Publikation I.....	51
A.2	Publikation II.....	61
A.3	Publikation III.....	75
A.4	Publikation IV .....	85
<b>B</b>	<b>ANHANG: LEBENS LAUF MIT PUBLIKATIONS LISTE .....</b>	<b>103</b>
B.1	Lebenslauf .....	103

## Abkürzungsverzeichnis

AAMPSO <sub>3</sub> H	2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure
ADC	bekannter oder offensichtlicher Diffusionskoeffizient, engl. Apparent Diffusion Coefficient
AE-SO <sub>3</sub>	Kalium-3-sulfopropylacrylat
AE-TMA	[2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid
APS	Ammoniumperoxodisulfat
CalB	Lipase B aus <i>Candida antarctica</i>
CHT	Chitosan
CLEA	verknüpftes Enzymaggregat, engl. Cross-Linked Enzyme Aggregate
CLEC	verknüpfter Enzymkristall, engl. Cross-Linked Enzyme Crystal
CS	Chondroitinsulfatmethacrylat
DOSY-NMR	diffusionsorientierte NMR-Spektroskopie
DGT	Diffusionsgradienten-Messung in dünnen Filmen, engl. Diffusive Gradients in Thin Films
E-Modul	Elastizitätsmodul
HEMA	Hydroxyethylmethacrylat
IL	ionische Flüssigkeit, engl. Ionic Liquid
IPN	interpenetrierendes Netzwerk, engl. Interpenetrating Network
MAEDMA-SO <sub>3</sub>	[2-(Methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammoniumhydroxid
MAE-SO <sub>3</sub>	Kalium-3-sulfopropylmethacrylat
MAE-TMA	[2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid
MBAA	<i>N,N'</i> -Methylenbisacrylamid
MRSA	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
(DW-)MRT	(diffusionsgewichtete) Magnetresonanztomographie
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie, engl. Nuclear Magnetic Resonance
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung, engl. Phosphate Buffered Saline
PEG	Polyethylenglykol
pIL	polymerisierte ionische Flüssigkeit, engl. polymerized Ionic Liquid
PVA	Polyvinylalkohol
<i>rac</i>	racemisch

RH	relative Feuchte, engl. Relative Humidity
SAP	superabsorbierende Polymere
SARS-CoV-2	Coronavirus Typ 2, engl. severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethyldiamin
TMA-VB	Trimethyl-vinylbenzyl-ammoniumchlorid
UV/Vis-Spektroskopie	Spektroskopie im ultravioletten und sichtbaren Lichtbereich
VBI <sub>m</sub> Br	1-Vinyl-3-butylimidazoliumbromid
VBI <sub>m</sub> Cl	1-Vinyl-3-butylimidazoliumchlorid
VEI <sub>m</sub> Br	1-Vinyl-3-ethylimidazoliumbromid
VEI <sub>m</sub> Tf <sub>2</sub> N	1-Vinyl-3-ethylimidazoliumbis(trifluormethansulfonyl)imid

## Wichtige Gleichungen und Definitionen

HOOKE'sches Gesetz  $F = k \cdot \Delta x$  (0.1)

Spannung bzw. Shear Modulus  $\sigma(t) = \gamma_0(G' \sin \omega t + G'' \sin \omega t)$  (0.2)

Enantiomerenüberschuss:  $ee = \frac{|m_1 - m_2|}{m_1 + m_2}$  (0.3)

Enantioselektivität:  $E = \frac{k_1}{k_2} = \frac{\ln[1 - \chi \cdot (1 + ee_p)]}{\ln[1 - \chi \cdot (1 - ee_p)]} = \frac{\ln[1 - \chi \cdot (1 + ee_s)]}{\ln[1 - \chi \cdot (1 - ee_s)]}$  (0.4)

Umsatz:  $\chi = \frac{ee_p}{ee_s + ee_p}$  (0.5)

Quellungsgrad:  $S = \frac{M_t - M_0}{M_0} (\cdot 100\%)$  (0.6)

Wassergehalt im Gleichgewicht:  $EWG = \frac{M_\infty - M_0}{M_\infty}$  (0.7)

Massenzunahme in quellenden Polymeren:  $\frac{M_t}{M_\infty} = k' t^n$  (0.8)

1. FICK'sches Gesetz:  $J = -D \frac{\delta c}{\delta x}$  (0.9)

Annäherung des 1. FICK'schen Gesetztes für quellende Materialien:  $\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \cdot \left(\frac{D \cdot t}{\pi \cdot l^2}\right)^{0.5}$  (0.10)

$\Delta x$	Änderung der freien Weglänge
$k$	Proportionalitätsfaktor; Steifigkeit des Polymernetzwerkes
$\sigma$	Spannung
$\gamma$	Amplitude, Scherdehnung
$G'$	Speicher-Schermodul
$G''$	Verlust-Schermodul
$\omega$	Kreisfrequenz
$m_{1/2}$	Masse des Enantiomers 1 bzw. 2
$k_{1/2}$	Reaktionsgeschwindigkeit des abreagierenden (S)- bzw. (R)-Enantiomers
$M_t$	Masse des Hydrogels zum Zeitpunkt t

$M_0$	Trockenmasse des Hydrogels
$M_\infty$	Masse des Hydrogels im Gleichgewicht ( $t = \infty$ )
$k'$	charakteristische Konstante des quellenden Polymers
$n$	Diffusionsexponent
$J$	Teilchenstromdichte
$D$	Diffusionskoeffizient
$c$	Konzentration des Quellmittels
$\pi$	Kreiszahl $\pi \approx 3,14$
$l$	Durchmesser des Hydrogelzylinders

## Vom SI-System abweichende Einheiten, Typografie

Nachstehend sind alle Einheiten aufgeführt, die vom Internationalen Maßeinheitensystem (SI) abweichen. Die gelisteten Einheiten sind wie beschrieben umzurechnen. Weitere, in dieser Arbeit verwendete Maßeinheiten entsprechen dem SI-System. Um Wortneuschöpfungen zu vermeiden, werden literaturgebräuchliche Bezeichnungen nicht immer übersetzt, sondern entsprechend gekennzeichnet.

°C	Grad Celsius, $\{\vartheta\}_{\text{C}} = \{T\}_{\text{K}} - 27,15 \vartheta$
L	Liter, $1 \text{ L} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3$
min	Minute, $1 \text{ min} = 60 \text{ s}$
h	Stunde, $1 \text{ h} = 60 \text{ min} = 3600 \text{ s}$
cm	Zentimeter, $1 \text{ cm} = 0,01 \text{ m}$
w%	Massenanteil, $w_i = m_i / (m_i + m_j)$

## Abbildungs-, Schemata-, und Tabellenverzeichnis

<b>Abbildung 1.1</b> Zusammenfassung der Hydrogel-Epochen .....	1
<b>Abbildung 1.2</b> Möglichkeiten zur Klassifizierung von Hydrogelen .....	3
<b>Abbildung 1.3</b> Beispiele für mögliche Anwendungsbereiche von Hydrogelen .....	7
<b>Abbildung 2.1</b> Zielsetzung dieser Arbeit.....	14
<b>Abbildung 3.1</b> Vergleich von HOOKE'schem und NEO-HOOKE'schem Verhalten.....	16
<b>Abbildung 3.2</b> Schematische Zusammenfassung mechanischer Untersuchungen .....	17
<b>Abbildung 3.3</b> Amplitude-Sweep-Diagramm von poly(AE-TMA).....	19
<b>Abbildung 3.4</b> Experimentell ermittelte $G'$ -Werte .....	20
<b>Abbildung 4.1</b> Aufbau der Zellhülle in gram-positiven und gram-negativen Bakterien .....	23
<b>Abbildung 4.2</b> Wirkmechanismus kationischer Hydrogele.....	24
<b>Abbildung 4.3</b> Antibakterielle Wirksamkeit gegen <i>P. aeruginosa</i> Xen 5 .....	25
<b>Abbildung 4.4</b> Antibakterielle Wirksamkeit gegen <i>S. aureus</i> MRSA Xen 30.....	26
<b>Abbildung 5.1</b> Immobilisierungsmethoden für Enzyme .....	29
<b>Abbildung 6.1</b> Typische Sorptionskurven von nicht-FICK'schen Diffusionsprozessen.....	32
<b>Abbildung 6.2</b> T2-gewichtete Visualisierung der Wasserdiffusionsfront in poly(VEImBr) .....	37
<b>Abbildung 7.1</b> Wichtige Hydrogeleigenschaften für verschiedene Anwendungsbereiche .....	38
<b>Schema 1.1</b> Mechanismus zur primären Radikalbildung.....	5
<b>Schema 1.2</b> Hydrogelsynthese am Beispiel von VEImBr.....	6
<b>Schema 1.3</b> Übersicht der in dieser Arbeit verwendeten Monomere.....	6
<b>Tabelle 1.1</b> Kommerziell verfügbare Wundauflagen auf Hydrogelbasis .....	10
<b>Tabelle 1.2</b> Kommerziell erhältliche Hydrogelprodukte für die Gewebeersatztechnologie .....	13
<b>Tabelle 6.1</b> Übersicht zu den Transportmechanismen in Hydrogelen .....	34

## **Kurzfassung**

Hydrogele sind dreidimensionale Netzwerke aus verknüpften Polymerketten, die große Mengen an Wasser oder anderen polar protischen Lösungsmitteln absorbieren und in den Zwischenräumen ihrer Ketten zurückhalten können. Makroskopisch wird die Quellung des Gels beobachtet, ohne dass es dabei in Lösung geht.

Anfänglich unterschätzt, entwickelten sich die Hydrogele in den vergangenen fünf Jahrzehnten zu einem unverzichtbaren Bestandteil des aktuellen Forschungsgeschehens. Die große Palette an verschiedenen Strukturen und Synthesemöglichkeiten ist vielversprechend und garantiert ein breites Anwendungsspektrum in den unterschiedlichsten Fachgebieten. Besonders attraktiv ist dabei die Feinjustierung der Eigenschaften, die stark von der Zusammensetzung, den verwendeten Monomeren und Crosslinkern sowie von der Vernetzungsmethode abhängig sind. Für den optimalen Einsatz, die vollständige Ausschöpfung ihres Potenzials sowie einer gezielten Anpassung in Bezug auf den anvisierten Verwendungszweck ist eine fundierte Kenntnis über die Eigenschaften der jeweiligen Hydrogele deshalb unabdingbar.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte die Charakterisierung von polyelektrolyt-Hydrogelen hinsichtlich verschiedener Eigenschaften. Neben der Begutachtung ihrer Druck-, Zug- und Scherbelastung, wurde auch der Gelierungsprozess durch Verfolgung der rheologischen Eigenschaften genauer beleuchtet. Des Weiteren wird vielen Polymeren eine intrinsische antibakterielle Aktivität zugesprochen, welche die Attraktivität für den medizinischen Gebrauch steigert. Als klassische Krankenhauskeime gelten die gram-positiven *S. aureus* sowie die gram-negativen *P. aeruginosa*, welche als Testorganismen in den antibakteriellen Tests dieser Arbeit verwendet wurden. Durch die breite Vielfalt der getesteten Substanzen konnte ein Zusammenhang zwischen Struktur und Wirkung festgestellt und dargelegt werden. Aufgrund ihrer hohen mechanischen Stabilität besitzen Hydrogele gute Voraussetzungen für die Immobilisierung von Wirkstoffen und einer Verwendung als Drug Delivery System. Zur Erweiterung des Anwendungsfeldes wurden Hydrogele basierend auf polymerisierten ionischen Flüssigkeiten zur Verkapselung von Enzymen eingesetzt. Die auftretenden Diffusionslimitierungen konnten mit Hilfe von Quell- und Sorptionsexperimenten sowie durch MRT-Messungen ausführlicher charakterisiert werden.

## Abstract

Hydrogels are three-dimensional networks of crosslinked polymer chains that can absorb large amounts of water or other polar protic solvents and retain them in the spaces between their chains. Macroscopically, the gel is observed to swell without being dissolved.

Initially underestimated, over the past five decades hydrogels have become an indispensable part of current research. The wide range of different structures and synthesis options is promising and guarantees a broad spectrum of applications in a wide variety of disciplines. Particularly attractive is the fine-tuning of the properties, which are strongly dependent on the composition, the monomers and crosslinkers as well as the crosslinking method. A sound knowledge of the hydrogel properties is indispensable for an optimal use taking advantage of their full potential as well as for a targeted adaptation with regard to the intended use.

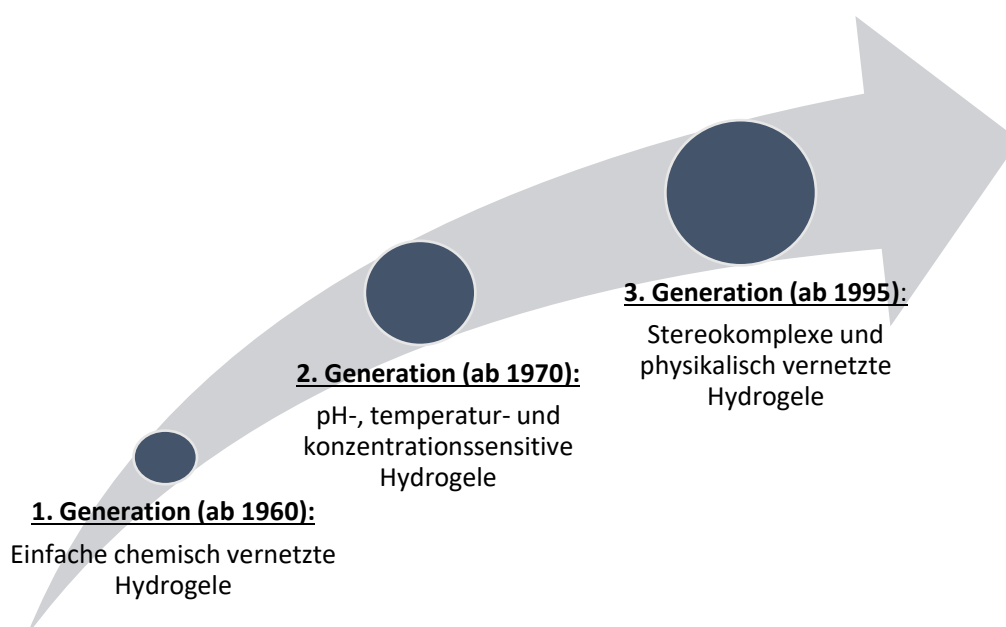
Within the scope of this work, polyelectrolyte hydrogels were characterized with respect to various properties. In addition to the assessment of their behavior towards compressive, tensile and shear stress, the gelation process was also examined in more detail by means of rheological tracking. Furthermore, many polymers are said to have intrinsic antibacterial activity, which increases their attractiveness for medical use. Gram-positive *S. aureus* as well as gram-negative *P. aeruginosa* are considered as classical hospital germs. Based on this, both were used as test organisms in the antibacterial tests of this study. Due to the wide variety of the substances tested, a correlation between the hydrogel structure and the antibacterial effect could be established and demonstrated. Generally, hydrogels have good prerequisites for the immobilization of active ingredients and the usage as drug delivery systems due to their high mechanical stability. To extend the field of application, hydrogels based on polymerized ionic liquids were tested for the encapsulation of enzymes. The diffusion limitations that occur were characterized in more detail by the help of swelling and sorption experiments as well as MRI measurements.



# 1 Einleitung

## 1.1 Hydrogele – Geschichte und Entwicklung

VAN BEMMELEM verwendete Ende des 19. Jahrhunderts erstmals in einer seiner Arbeiten die Bezeichnung *Hydrogel* zur Beschreibung eines kolloidalen Gels bestehend aus Kupferoxid.<sup>[1]</sup> Damit weicht diese Definition stark von der heute verwendeten ab, welche Hydrogele als dreidimensionale Netzwerke aus verknüpften Polymerketten beschreibt, die große Wassermengen absorbieren und in den Zwischenräumen ihrer Ketten zurückhalten können, sich dabei aber nicht im Wasser lösen.<sup>[2]</sup> In Deutschland begann die Forschung hinsichtlich der Kinetik solcher quervernetzten Polymere bereits Mitte der 1930er Jahre. Die Arbeiten von PAUL FLORY aus den 40ern ermöglichten es, erstmals den Aufbau, die stattfindenden Wechselwirkungen während des Quellvorgangs sowie die Deformation in wässrigen und physiologischen Lösungen umfassend zu verstehen.<sup>[3,4]</sup> Bereits 1949 erschien das erste Hydrogel auf Basis von Vinylalkohol vernetzt mit Formaldehyd auf dem Markt. Das unter dem Namen IVALON vertriebene Produkt wurde in biomedizinischen Implantaten eingesetzt.<sup>[5]</sup> Dennoch blieb der Durchbruch der Hydrogele zunächst aus. Erst die Publikation von WICHTERLE und LIM aus dem Jahr 1960, in welcher über die Synthese von quervernetztem Polyhydroxyethylmethacrylat (poly(HEMA)) und dessen dauerhafter Verwendung in direkter Nachbarschaft zu menschlichem Gewebe berichtet wurde, markierte den offiziellen Beginn der Forschung auf diesem Gebiet.<sup>[6]</sup> Seither spiegelt sich der Erfolg in der stetig wachsenden Zahl der Publikationen wider. Über die Zeit wurde ein breites Repertoire an Materialien für unterschiedlichste Zielanwendungen entwickelt. Alles in allem lässt sich der Fokus der Forschung jedoch in drei verschiedene Epochen zusammenfassen (Abbildung 1.1).



**Abbildung 1.1** Zusammenfassung der Hydrogel-Epochen.

Hydrogele erster Generation sind dreidimensionale Polymernetzwerke einfacher Zusammensetzung mit vergleichsweise starkem Quellverhalten sowie hoher mechanischen Stabilität. Sie bestehen

hauptsächlich aus quervernetzten wasserlöslichen Monomeren oder verknüpften hydrophilen Polymeren und entstehen hauptsächlich durch radikalische Polymerisation von Vinylmonomeren und einer initiiierenden freien Radikalspezies. Die Hydrogele eignen sich hervorragend zur Erforschung grundlegender Eigenschaften, aber auch zur Anpassung spezieller Merkmale wie beispielsweise der Vernetzungsdichte. Hauptvertreter dieser Kategorie sind auch heute noch Polyacrylamid, poly(HEMA), Polyvinylalkohol (PVA) und Polyethylenglykol (PEG). In der zweiten Epoche verlagerte sich der Schwerpunkt auf die Erforschung von Stimuli-responsiven Hydrogelen. Diese smarten Materialien werden vor allem durch ionische oder hydrophobe Wechselwirkungen gebildet und reagieren auf pH-Wert-, Temperatur- oder Konzentrationsänderungen bestimmter Nachbarmoleküle mit verschiedenen Reaktionen. So kann durch die Änderung ihrer direkten Umgebung beispielsweise der Polymerisationsvorgang oder die Degradation, aber auch die Wirkstofffreisetzung oder eine *in situ* Porenbildung initiiert werden. Temperatursensitive Hydrogele basieren meistens auf einem Übergang von fester zu gelartiger Phase und umgekehrt. Besonders nennenswert sind dabei PEG-Polyester-Block-Copolymere. Die pH-Abhängigkeit beruht auf acidischen oder basischen Komponenten des Hydrogels, welche je nach pH-Wert hydratisiert oder dehydratisiert werden. Mitte der 90er Jahre rückten dann Vernetzungsmethoden in den Vordergrund, die eine Einstellung der mechanischen und thermischen Eigenschaften sowie eine stärkere Regulierung der Degradation und eine *in situ* Gelbildung erlaubten. Hierzu zählen beispielsweise die Stereokomplexierung, Einschlusskomplexbildung, Metall-Ligand-Koordination und die Peptidwechselwirkungen.<sup>[7-10]</sup>

Der Vollständigkeit halber wird an dieser Stelle kurz auf die Klasse der Organogele hingewiesen. Diese bikontinuierlichen Systeme, in denen die flüssige organische Phase innerhalb des dreidimensionalen Netzwerkes koexistiert, bieten den Vorteil, dass gewünschte Texturen mit geringem Gelatoreinsatz hergestellt werden können.<sup>[11]</sup>

## 1.2 Klassifizierung und Synthese von Hydrogelen

Die Kategorisierung der Hydrogele bietet zahlreiche Möglichkeiten, da je nach Schwerpunkt unterschiedliche Zugehörigkeiten innerhalb einer Gruppe entstehen. In Abbildung 1.2 sind die Kriterien, welche am häufigsten zur Klassifizierung herangezogen werden, zusammengestellt. Hierzu zählen neben dem Ursprung der Monomere und deren Verknüpfungsart auch der Aufbau und die Konfiguration der entstehenden Hydrogele sowie deren physikalischen Eigenschaften, das Quellverhalten, die Ladung, die Degradation und die Sensitivität gegenüber physikalischen, chemischen oder biochemischen Reizen. Auf physikalischer Ebene kann der Impuls in Form von Licht, Ultraschall, Temperatur- und Druckänderungen sowie Variationen im elektrischen oder magnetischen Feld ausgeübt werden. Es handelt sich also fast immer um äußere Reize, bis auf die Temperatur, die auch als innerer Reiz definiert werden kann. Im Gegensatz dazu reagieren chemisch responsive Gele auf die Anwesenheit von Glucose oder Kohlendioxid, auf Änderungen des pH-Wertes oder der Ionenstärke und auf den Oxidationsstatus bestimmter Redoxsysteme. Im biochemischen Bereich werden die Hydrogele durch entsprechende Antigene, Enzyme oder Liganden getriggert. Hierbei handelt es sich um innere Reize. Die Reaktion auf solche Impulse ist ein Merkmal der smarten Hydrogele, welche im Allgemeinen mit einer Form- oder Volumenänderung reagieren. Es kann aber auch zur Porenbildung kommen oder die Wirkstofffreisetzung aus dem Drug Delivery System impliziert werden.<sup>[9,12,13]</sup>

Über die Jahre intensiver Forschung hat sich eine breite Vielfalt an verschiedenen Hydrogelen entwickelt, die sich hinsichtlich ihres Aufbaus zu vier verschiedenen Kategorien zusammenfassen lässt. So bestehen homopolymere Gele aus vernetzten Monomeren einer einzigen Art, während für die Bildung copolymerer Hydrogele zwei unterschiedliche Typen verknüpft werden. Kommt es schließlich zur Reaktion von mindestens drei Comonomeren bilden sich multipolymere Hydrogele. Die vierte Gruppe beinhaltet sogenannte interpenetrierende Polymernetzwerke (IPN). Sie bestehen aus zwei einander durchdringenden Geflechtes, welche sequenziell oder simultan hergestellt werden können. Im sequenziellen Verfahren wird zu einem bereits vorgeformten Polymernetzwerk, dem Erstopolymer, ein Monomeren-Vernetzer-Gemisch gegeben, welches als Zweitpolymer zur Bildung des IPN führt. Seltener erfolgt eine simultane Vernetzung, bei der sich die Komponenten in einer homogenen Lösung befinden und durch völlig verschiedene Polymerisationsmechanismen das interpenetrierende Netzwerk bilden.<sup>[14]</sup> Bei allen Herstellungsmethoden sollte mindestens eine der verwendeten (Co-)Monomereinheiten hydrophiler Natur sein, um die Wasseraufnahme und den Quellvorgang sicherzustellen. Die Entscheidung für oder gegen bestimmte Monomere erfolgt immer in Hinblick auf den späteren Verwendungszweck der jeweiligen Hydrogele. Prinzipiell können aber Monomere unterschiedlichster Ladung zur Herstellung genutzt werden. Die entstandenen ionischen Hydrogele werden entsprechend der Ladung ihrer Rückgratpolymere unterteilt. Neben ungeladenen, neutralen Polymergerüsten gibt es ebenso kationische oder anionische Gele, welche ausschließlich positive oder nur negative Ladungen auf dem Netzwerkskelett tragen. Ampholyte Hydrogele hingegen besitzen sowohl kationische als auch anionische Ladungen und können nach außen eine neutrale, positive oder negative Nettoladung besitzen.<sup>[4]</sup>

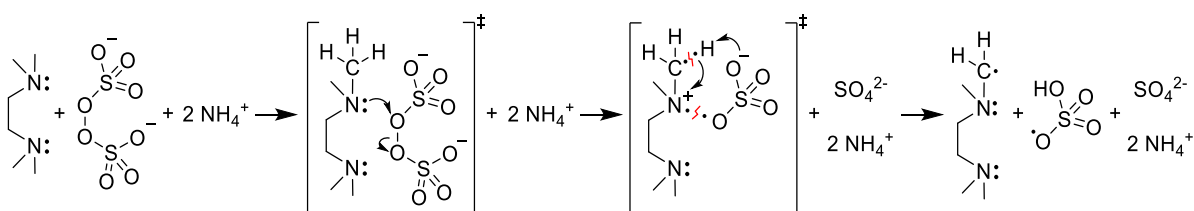


**Abbildung 1.2** Möglichkeiten zur Klassifizierung von Hydrogelen nach verschiedenen Merkmalen. Adaptiert nach ULLAH et al.<sup>[12]</sup>

Für eine zielgerichtete Hydrogelsynthese reicht die Betrachtung der Monomere allein jedoch nicht aus. Ebenso wichtig ist die Entscheidung über die verwendete Vernetzungsart, da diese einen

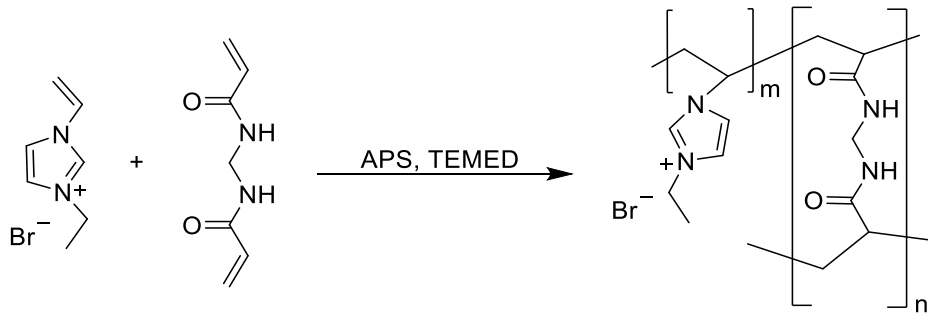
unmittelbaren Einfluss auf zahlreiche Komponenten wie beispielsweise die mechanische Stabilität oder die Abbaubarkeit des entstehenden Hydrogels hat. Es gibt zahlreiche Verknüpfungsmethoden, die alle im Wesentlichen auf physikalischen Wechselwirkungen oder chemischen Reaktionen basieren. In der Regel werden die einzelnen Vertreter je nach Verlinkung einer der beiden Gruppen zugeordnet, jedoch gibt es auch sogenannte Dual-Network-Hydrogele. Sie entstehen durch die elektrostatische Interaktion zwischen physikalisch und chemisch verknüpften Netzwerken. FAJARDO et al. berichteten über die Synthese von Chitosan- (CHT) oder Chondroitinsulfatmethacrylatgelen (CS), welche nach der chemischen Verknüpfung mit *N, N'*-Methylenbisacrylamid (MBAA) in CS- oder CHT-Stammlösungen gegeben wurden, um die physikalischen Netzwerke zu bilden.<sup>[15]</sup> Die entstandenen Gele zeigten nicht nur eine andere Morphologie im Vergleich zu den rein chemisch verknüpften Proben, sondern ebenso eine veränderte Aufnahmekapazität gegenüber Flüssigkeiten. Zudem besitzen sie eine gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber pH-Wertänderungen, können aber dennoch recht große Flüssigkeitsmengen über einen weiten pH-Bereich hinweg aufnehmen. Generell schaffen Dual-Network-Hydrogele einen interessanten Ansatz für unterschiedlichste Anwendungen, da sie die Vorteile von physikalisch und chemisch verlinkten Netzwerken vereinen. Die Verknüpfung zum dreidimensionalen Netzwerk mittels Wasserstoffbrückenbindungen, ionischen Wechselwirkungen, hydrophoben Assoziationen, Kettenaggregation oder Kristallisation ist kennzeichnend für physikalische Gele und besticht durch eine einfache Herstellung sowie dem Verzicht auf zusätzliche Vernetzungsreagenzien, welche oft toxisch sind und dadurch die Integrität von einzuschließenden Proteinen oder Zellen gefährden können. Zusätzlich geht die physikalische Verknüpfung ausschließlich mit Konformationsänderungen einher und wird deshalb als reversibel betrachtet. Im Gegensatz dazu basieren chemisch vernetzte Hydrogele auf irreversiblen Konfigurationsänderungen, die im Allgemeinen durch die Reaktion der polymerisierbaren Gruppen von Monomeren oder Oligomeren untereinander ausgelöst werden. Seltener agieren diese kleineren multifunktionellen Moleküle auch mit größeren Polymeren.<sup>[4,12,16]</sup> Ein Beispiel ist das Grafting, wo die Anlagerung eines Monomers an ein bereits vorhandenes Polymer durch die Aktivierung des Polymerrückgrats mittels eines chemischen Additivs oder der Einwirkung hochenergetischer Strahlung stattfindet. Weiterhin werden Gamma- und Elektronenstrahlung auch zur Polymerisation ungesättigter Verbindungen genutzt. Sie vereinfachen unter anderem die Bildung von Hydroxylgruppen aus Wasser. Ihr Angriff auf vorhandene Polymerketten führt zur Formation von Mikroradikalen, welche durch Rekombination an unterschiedlichen Ketten schließlich kovalente Bindungen schaffen. Dies kann im wässrigen Milieu bei Raumtemperatur, physiologischem pH-Wert und ohne Zusatz toxischer Vernetzungsreagenzien ablaufen. Allerdings resultiert die Bildung von C-C-Bindungen in biologisch nicht abbaubaren Hydrogelen.<sup>[17]</sup> Eine andere Möglichkeit zur chemischen Verknüpfung bieten Kondensationsreaktionen. In der Regel werden in diesem Zusammenhang Monomere mit Hydroxylgruppen oder Amine mit Carbonsäuren bzw. deren Derivate verwendet. Um die Jahrtausendwende berichteten DE NOOY et al. über die erfolgreiche Anwendung der PASSERINI- und UGI-Kondensation zur Synthese von Hydrogelen, die Ester- bzw. Amidstrukturen in ihren Bindungen aufweisen.<sup>[18]</sup> Recht neu ist außerdem die Vernetzung durch enzymatische Reaktionen, welche bisher vielversprechende Ergebnisse lieferte. In einer Studie aus dem Jahr 2017 zeigten RAIJA et al. die enzymatische Verknüpfung von Seidenfibronin und Hyaluronsäure in Gegenwart der Meerrettichperoxidase zur Herstellung biokompatibler Komposithydrogele, deren mechanische Eigenschaften denen von nativem Gewebe angepasst werden konnten.<sup>[19]</sup> Dieses Enzym wurde ebenfalls zur Herstellung von *in situ*-bildenden injizierbaren Hydrogelen aus Polymer-Phenol- oder Polymer-Catechol-Konjugaten in Anwesenheit von Wasserstoffperoxid verwendet.<sup>[20]</sup> Am häufigsten werden chemisch verknüpfte Hydrogele allerdings nach wie vor durch die radikalische Polymerisation hergestellt. Diese Methode hat sich

bereits in der ersten Hydrogelgeneration etabliert und geht typischerweise mit einer Kettenaddition von wasserlöslichen, niedermolekularen Substanzen, meistens Vinylmonomere, in Anwesenheit eines multifunktionalen Vernetzers wie beispielsweise Glutaraldehyd einher. Der Mechanismus startet mit dem Angriff eines freien Radikals auf ein Vinylmonomer, woraufhin sich dessen  $\pi$ -Bindung öffnet und es zur Addition der initiierenden Radikalspezies an das Vinylmonomer unter der Formation eines neuen Radikals kommt. Letzteres reagiert wiederum auf die gleiche Weise mit anderen Monomeren bis die Polymerisation durch Rekombination zweier Radikalspezies oder durch Disproportionierung beendet wird.<sup>[21]</sup> Kennzeichnend für die radikalische Polymerisation ist die rasche Gelbildung, die auch unter milden Bedingungen ablaufen kann. In der Vergangenheit erwies sich das Redoxsystem bestehend aus Ammoniumperoxodisulfat (APS) und *N,N,N',N'*-Tetramethylethyldiamin (TEMED) als besonders einfach und effizient. Das APS fungiert dabei als Polymerisationsinitiator und liefert durch seine Zersetzung freie Radikale, welche die oben beschriebenen Angriffe einleiten. Bei alleiniger Verwendung des APS muss das System zur Polymerisation auf 70 °C erhitzt werden. Die Zugabe von TEMED senkt die Aktivierungsenergie  $E_a$  der APS-Zersetzung von 62 kJ mol<sup>-1</sup> auf 22 kJ mol<sup>-1</sup> und fördert damit die Bildung der freien Radikale, sodass die Polymerisation bereits bei Raumtemperatur abläuft.<sup>[22]</sup> Der von FENG et al. angenommene Initiationsmechanismus für das APS/TEMED-System ist in Schema 1.1 abgebildet und setzt sich im Wesentlichen aus einem Ladungstransferkomplex und einem zyklischen Übergangszustand zusammen.<sup>[23]</sup>



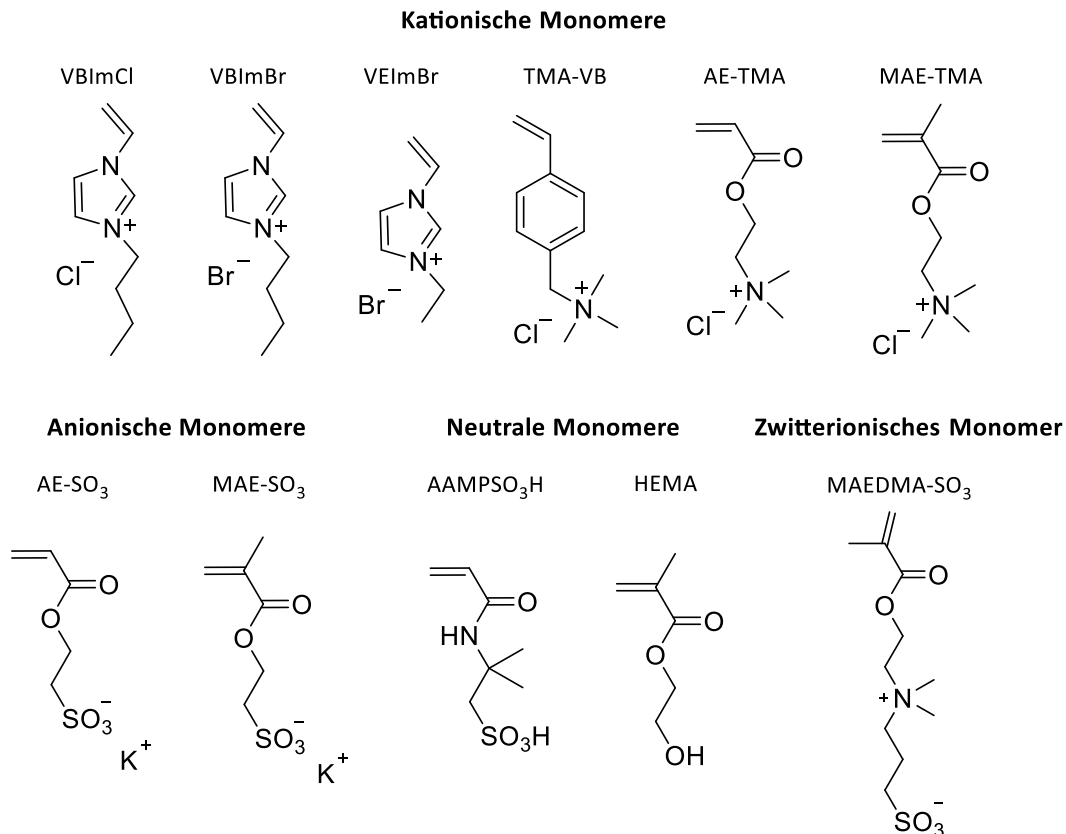
**Schema 1.1** Mechanismus zur primären Radikalbildung bei der Initiation durch APS und TEMED. <sup>[23,22]</sup>

Neben den zunächst priorisierten Vinylmonomeren und ihren Gemischen werden auch derivatisierte hydrophile Polymere mit polymerisierbaren Gruppen für die Hydrogelherstellung mittels radikalischer Verknüpfung verwendet. Dabei spielt es keine Rolle ob es sich um natürliche, synthetische oder halbsynthetische Substanzen handelt.<sup>[24]</sup> Allerdings besitzen natürliche Polymere im Vergleich zu synthetischen Vertetern entscheidende Nachteile. Hierzu zählen unter anderem die unspezifische Zusammensetzung gekoppelt mit einer geringen Reproduzierbarkeit und die geringe mechanische Stabilität sowie eine unzureichende Haltbarkeit.<sup>[25]</sup> Aus diesen Gründen wird häufig auf den großen Pool der synthetischen Polymere zurückgegriffen. Ein Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt in der Synthese von Hydrogelen auf Basis von polymerisierten ionischen Flüssigkeiten (engl. polymerized Ionic Liquids, pILs). Sie gehören zu den Polyelektrolyt-Hydrogelen, die besonders interessant sind, da sie Ladungen haben oder entwickeln, welche sich unter Komplexbildung mit entgegengesetzt geladenen Spezies verbinden.<sup>[12]</sup> Außerdem besitzen pILs-basierte Hydrogele durch ihre IL-Abstammung eine erhöhte Leitfähigkeit sowie die Möglichkeit ihre Eigenschaften durch die Veränderung des Gegenions zu variieren.<sup>[26]</sup> In einer Publikation von 2014 beschrieben BANDOMIR et al. für vier imidazolhaltige ILs die radikalische Verknüpfung über die am Imidazolring befindliche Vinylgruppe in Gegenwart von MBAA als Quervernetzer (Schema 1.2).<sup>[27]</sup>



**Schema 1.2** Hydrogelsynthese am Beispiel von VEImBr als Monomer mit MBA als Vernetzer und APS/TEMED als Radikalstartersystem.

Die Synthese wird bei Raumtemperatur ohne Schutzgasatmosphäre durchgeführt. Alle Hydrogele zeigten in den Tests eine herausragende mechanische sowie thermische Stabilität. Das bestehende Hydrogelspektrum wurde im vergangenen Jahr schließlich um zehn Polyelektrolyt-Hydrogele erweitert. Neben unterschiedlichen Strukturen wiesen die getesteten Monomere auch verschiedene Ladungen auf. Neben positiv-geladenen Vertretern wurden auch negative, zwitterionische und neutrale Spezies zu dreidimensionalen Netzwerken verknüpft.<sup>[26,28]</sup>



**Schema 1.3** Übersicht der in dieser Arbeit verwendeten Monomere: 1-Vinyl-3-butylimidazoliumchlorid (**VBImCl**); 1-Vinyl-3-butylimidazoliumbromid (**VBImBr**); 1-Vinyl-3-ethylimidazoliumbromid (**VEImBr**); Trimethyl-vinylbenzylammoniumchlorid (**TMA-VB**); [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid (**AE-TMA**); [2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammoniumchlorid (**MAE-TMA**); Kalium-3-sulfopropylacrylat (**AE-SO<sub>3</sub>**); Kalium-3-sulfopropyl-methacrylat (**MAE-SO<sub>3</sub>**); 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure (**AAMPSO<sub>3</sub>H**); Hydroxyethylmethacrylate (**HEMA**); [2-(Methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammonium-hydroxid (**MAEDMA-SO<sub>3</sub>**).

### 1.3 Einsatzmöglichkeiten der Hydrogele

In den vergangenen 60 Jahren wurde das Repertoire an Hydrogelen durch intensive Forschung erheblich vergrößert, sodass mittlerweile auf ein breites Strukturspektrum mit unterschiedlichsten Eigenschaften zurückgegriffen werden kann, welches kontinuierlich wächst. Die junge Materialklasse eröffnete zusehends neue Wege in den verschiedensten Bereichen außerhalb des Labors und entwickelte sich so zu einem festen Bestandteil in Industrie und Alltag. Am häufigsten werden Hydrogele heute im biologischen, medizinischen und pharmazeutischen Bereich, im Hygiene- und Kosmetiksektor, aber auch in den Umweltwissenschaften und im technischen Segment eingesetzt (Abbildung 1.3). Fast alle etablierten Anwendungen basieren auf der Fähigkeit, dass die Polymernetzwerke unter Volumenänderung große Wassermengen absorbieren, speichern und wieder freisetzen können. Ein Pluspunkt ist die Beibehaltung der Form. Je nach Gelzusammensetzung können diese Abläufe durch minimale Veränderungen in der Umgebung wie z.B. Lösungsmittel-, pH-Wert-, Temperaturänderungen, einer Variation im elektrischen Feld oder Magnetfeld hervorgerufen werden. Besonders attraktiv sind auch die herausragenden mechanischen und rheologischen Eigenschaften, die je nach Hydrogel auf die Bedürfnisse der Zielanwendung angepasst werden können. Vor allem im biomedizinischen Bereich sind zudem die teilweise sehr gute Biokompatibilität und die inhärente antimikrobielle Wirkung von Vorteil. Für die Mehrheit der Anwendungen erwiesen sich Hydrogele auf Polyelektrolytbasis aufgrund ihrer Ladungen als besonders nützlich.

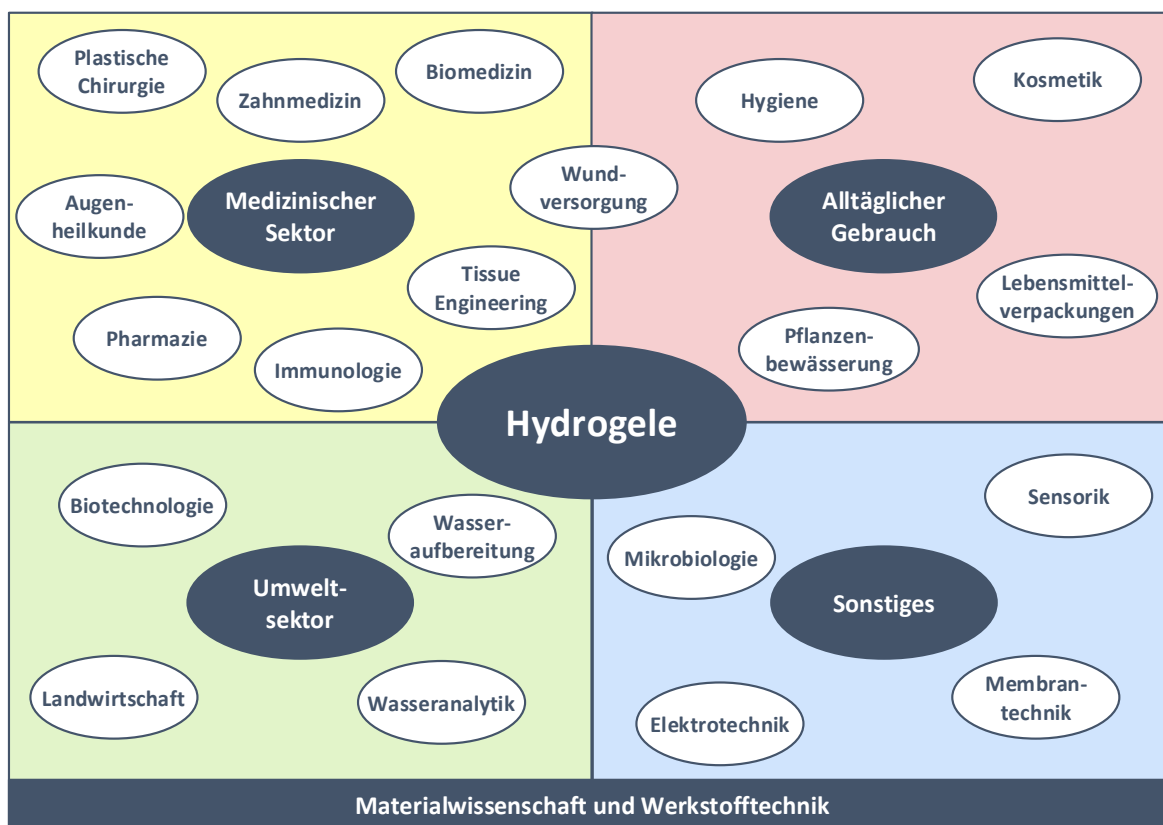


Abbildung 1.3 Beispiele für mögliche Anwendungsbereiche von Hydrogelen.

### **Anwendungen im alltäglichen Bereich: Hygiene und Kosmetik**

Im alltäglichen Leben spielen Hydrogele vor allem in der Hygiene, der Kosmetik und der Versorgung von Insektenstichen oder leichten Verbrennungen eine Rolle. Bei den hydrogelbasierten Hygieneprodukten geht es vor allem um die Aufnahme recht großer Flüssigkeitsmengen, welche sicher zurückgehalten werden sollen. Dies wird durch den Einsatz superabsorbierender Polymere (SAP) realisiert. Dabei handelt es sich um dreidimensional verknüpfte lineare oder verzweigte Polymere mit exzellenten hydrophilen Eigenschaften und hohen Quellkapazitäten, die in der Lage sind, das Tausendfache ihres eigenen Gewichtes an Wasser und anderen biologischen Flüssigkeiten aufzunehmen.<sup>[29]</sup> Die gebräuchlichsten Polymere basieren auf vernetzten synthetischen Polymeren, wie beispielsweise Acrylsäure und deren Copolymere mit Acrylamid. Ebenfalls gängig sind cellulosebasierte Materialien kombiniert mit synthetischen Partikeln aus Polyacrylat, PVA oder sulfoniertem Polystyrol. Ebenfalls möglich ist die Verbindung mit natürlichen Polymerpartikeln auf Grundlage von Cellulose oder Stärke.<sup>[30]</sup> Der Hauptvorteil aller SAP besteht darin, dass die Materialien trotz Flüssigkeitsaufnahme weiterhin trocken bleiben, da die Flüssigkeit vom gesamten Netzwerk festgehalten und nicht wie bei herkömmlichen Artikeln unsicher in die Poren gesaugt wird. Dadurch wird die Kolonisation der Krankheitserreger drastisch verringert und zudem das Kontaminationsrisiko gesenkt. Innerhalb der letzten 25 Jahre konnte so die Zahl der dermatologischen Erkrankungen, die durch längeren Kontakt mit feuchtem Material entstehen, erheblich reduziert werden.<sup>[31]</sup> Aktuell ist der Hauptabnehmer dieser Technologie die Windelindustrie, welche schon seit den 70er Jahren reges Interesse an neuen Entwicklungen zeigte. Die erste kommerzielle Herstellung solcher SAP erfolgte 1978 in Japan zur Verwendung in Damenbinden. Erst zwei Jahre später begannen Deutschland und Frankreich mit der Nutzung in Babywindeln. Heute werden sie ebenfalls in Inkontinenzmaterialien für Erwachsene genutzt.<sup>[32]</sup>

Ein anderer Bereich mit dem die meisten Menschen täglich in Kontakt treten, ist der stetig wachsende Kosmetiksektor, dessen Produkte die Beschaffenheit und das Aussehen der Haut verbessern sollen. Diese ist vielen äußeren Einflüssen ausgesetzt und kann im Rahmen der natürlichen Alterung aufgrund genetischer Faktoren, durch Lichtalterung aufgrund von Sonneneinstrahlung oder durch klimatische Bedingungen sowie Umweltverschmutzung geschädigt werden.<sup>[33]</sup> Eine ausreichende Versorgung mit Feuchtigkeit ist für die Aufrechterhaltung der äußeren Erscheinung und der Struktur unabdingbar, weshalb Feuchtigkeitscremes, Bodylotions und Hautreiniger zur gewohnten Ausstattung gehören.<sup>[34]</sup> Mittlerweile hat sich die Kosmetikindustrie zu einem großen Abnehmer von hydrogelbasierten Produkten entwickelt. Die Branche profitiert dabei enorm von den langwierigen Zulassungsprozessen für medizinische Geräte und Verfahren sowie Medikamenten oder Biomolekülen. Aufgrund der weniger aufwendigen Produktzulassung dient sie häufig als erste Anlaufstelle für medizinische Präparate. Da die meisten der verwendeten Hydrogele für Zellkulturen oder andere biomedizinische Anwendungen geeignet sind, erreichen die neuen Produkte problemlos die im Rahmen der Zulassung für die kosmetische Anwendung geforderten primären Irritationsindizes. Hinzukommt, dass der Index vergleichsweise einfach bestimmt werden kann und so der zur Genehmigung nötige Aufwand seitens der Firma relativ gering ausfällt.<sup>[8]</sup> Die Hydrogele können beispielsweise zur professionellen Behandlung von Pigmentierungsanomalien, mangelnder Hautfeuchtigkeit, Cellulite, Falten und anderen Alterserscheinungen eingesetzt werden. So verbessern koffeinhaltige bioadhäsive Hydrogele das Hautbild und die -textur bei Cellulite oder gynäkologischer Lippendystrophie, indem sie Koffein in die Haut abgeben.<sup>[35]</sup> Zudem

wurde ein Liposom-Hydrogel-Komplexsystem entwickelt, welches die Lichtalterung verzögert und gleichzeitig die Permeation der Medikamente durch die Haut erleichtert.<sup>[36]</sup> Für den privaten Gebrauch sind außerdem Gesichts- und Lippenmasken sowie Unter-Augen-Pads oder Wimperntuschen auf dem Markt erhältlich. Die Masken bestehen im Allgemeinen aus Polyacrylaten, Kollagen, Hyaluronsäure sowie Glycerol und helfen bei der Hydratation der Haut sowie der Regeneration und Wiederherstellung ihrer Weichheit und Elastizität. Die Gelmasken werden häufiger mit Biomolekülen wie Vitamin C oder Vitamin B3 versetzt, welche dann sukzessive aus dem Gel entlassen werden. Die Versorgung mit kosmetischen Wirkstoffen zur Faltenbehandlung oder Hautaufhellung auf diese Weise ist ebenfalls bekannt.<sup>[37]</sup> Des Weiteren produziert die Firma PHOENIX CHEMICALS INC. unterschiedlich verknüpfte Hydrogele auf Basis verschiedener Polyvinylpyrrolidine, die unter dem Namen PECOGEL in Wimperntuschen und Sonnencremes verwendet werden.<sup>[8]</sup>

### **Anwendungen in der Biomedizin: Kontaktlinsen, Wundversorgung und Gewebeersatz**

Im biomedizinischen Sektor gibt es unzählige Verwendungsmöglichkeiten für hydrogelbasierte Materialien, die je nach Einsatzort und Aufgabe mehr oder weniger komplexe Anforderungen an ihren Aufbau und ihre Beschaffenheit erfüllen müssen. Eine Kontaktlinse beispielsweise wird zur Sehkraftkorrektur und Verabreichung ophthalmischer Medikamente verwendet. Sie wird direkt in das Auge eingesetzt, ist also sichtbar und muss deshalb auch einen kosmetischen Zweck erfüllen.<sup>[38]</sup> Prinzipiell wird zwischen starren und weichen Kontaktlinsentypen unterschieden. Erstere werden oftmals aus Polymethylmethacrylat gefertigt und besitzen ein hohes Elastizitätsmodul, eine ausgezeichnete Haltbarkeit und Oberflächenbenetzbarkeit. Ein großer Nachteil ist die Sauerstoffundurchlässigkeit des Polymers, da dieser für eine intakte Hornhaut und klares Sehen benötigt wird. Als Folge fanden starre Linsentypen nur einen beschränkten Anwendungsbereich und sind mittlerweile fast vollständig vom Markt verschwunden.<sup>[39]</sup> Poly(HEMA) war schließlich das erste Hydrogel, welches zur Verwendung als weiche Kontaktlinse beschrieben wurde.<sup>[6]</sup> In den Folgejahren wurden andere hydrophile Polymere wie PVA oder Polyacrylnitril als mögliche Bausteine sowie silikon- und fluorbasierte Hydrogele untersucht. Mit der Zeit setzten sich Gele auf Silikonbasis durch, welche heute den Markt dominieren.<sup>[40]</sup> Ausschlaggebend für die Eignung als Kontaktlinsenmaterial sind neben der Biokompatibilität in erster Linie die Klarheit des Materials verbunden mit einer guten Lichtdurchlässigkeit sowie einem passenden Brechungsindex. Weitere Anforderungen an diese Materialien sind ein hoher Tragekomfort, die Ausbildung eines kontinuierlichen Tränenfilms für klares Sehen, die Gewährleistung der Ionenpassage, geringe bis möglichst keine Reizbarkeit sowie die Vermeidung von Tränenfilmansammlungen.<sup>[41]</sup> Weiche Hydrogel-Kontaktlinsen besitzen zudem einen hohen Wassergehalt und die Fähigkeit zum Feuchtigkeitstransfer. Die einstellbare Sauerstoffdurchlässigkeit ist ein erheblicher Vorteil, da dieser für die richtige Funktionalität der Hornhaut überaus wichtig ist.<sup>[42]</sup> Ist die Sauerstoffversorgung nicht ausreichend kann es zur Hypoxie und somit zur Schädigung der Cornea kommen. Dies wurde bei längerem Tragen von herkömmlichen Hydrogel-Kontaktlinsen beobachtet, kann aber durch den Einsatz silikonbasierter Hydrogel-Linsen weitestgehend vermieden werden. Allerdings führen auch diese bei längerer Nutzung zu Störungen der Hornhaut.<sup>[43]</sup> Die erste kommerziell erhältliche Hydrogel-Kontaktlinse wurde 1971 von BAUSCH + LOMB auf den Markt gebracht.<sup>[44]</sup> Heute kann der Konsument zwischen mehreren Herstellern wie JOHNSON & JOHNSON, COOPER VISION oder CIBA VISION und verschiedenen Tragezeiträumen von Tages- über Wochen- bis hin zu Monatslinsen wählen.

**Tabelle 1.1** Kommerziell verfügbare Wundauflagen auf Hydrogelbasis. Adaptiert nach ASWATHY et al. <sup>[13]</sup>

Produktname	Art & Inhaltsstoffe	Anwendung	Firma
<b>SUPRASORB® G</b>	Hydrogelfilm; Acrylpolymer, Polyethylen, Phenoxyethanol, 70% Wasser	trockene Wunden, Unterschenkel- & Druckgeschwüre, Verbrennungen ersten & zweiten Grades	LOHMANN & RAUSCHER GLOBAL
<b>AQUADERM™</b>	Hydrogelfolie; Acrylamidomethylpropansulfonsäure, Propylenglykol, 38-55% Wasser	Druckgeschwüre, leichte Verbrennungen, Strahlenschäden	DERMARITE INDUSTRIES
<b>DERMAGAUZE™</b>	hydrogelimprägnierter Mullverband; Acrylpolymer	akute & großflächige Wunden	DERMARITE INDUSTRIES
<b>NEOHEAL® HYDROGEL</b>	Hydrogelfolie; Polythylenglykol, Agar, ca. 90% Wasser	Abschürfungen, Verbrennungen, chronische Wunden, (Druck-)Geschwüre	KIKGEL
<b>DERMASYN®</b>	Gelform; amorphes Hydrogel, Vitamin E	primäre Wundauflage; akute & chronische Wunden	DERMARITE INDUSTRIES
<b>PURILON®</b>	Gelform; Calciumalginat, Natriumcarboxymethylcellulose, Reinstwasser	Bein- & Druckgeschwüre, diabetische Fußgeschwüre, Verbrennungen ersten & zweiten Grades	COLOPLAST
<b>WOUN'DRES®</b>	Gelform; Polyacrylsäure, Kollagen, andere Polymere	trockene Wunden	COLOPLAST

Bei der Verwendung als Wundauflage für die Versorgung innerer und äußerer Wunden stehen wiederum andere Kriterien im Vordergrund. In diesem Fall sollen die Materialien das Eindringen von Fremdkörpern verhindern und idealerweise auch ein heilungsförderndes Wundklima schaffen, antimikrobiell wirksam sein oder durch verkapselte Inhaltsstoffe die Schmerzen lindern. Neben den klassischen Verbandsmaterialien wie Gaze- oder Mullkompressen und Vliesstoffen, werden heutzutage vor allem interaktive Wundauflagen in Form von Folien, Polyacrylatkissen, Polyurethanschaumstoffen sowie Hydrokolloiden, -fasern und -gelen verwendet. Sie haben den Vorteil, dass sie die Wunde nicht zusätzlich austrocknen und danach schmerzarm entfernt werden können. Hydrogele taten sich hierbei besonders hervor, da sie die Wundstelle nicht nur feuchthalten, sondern auch wieder befeuchten können. Zusätzlich helfen sie bei der Entfernung von Wundexsudaten, verhindern Infektionen und unterstützen bestmöglich die Geweberegeneration.<sup>[45]</sup> Forschungsergebnisse zeigen, dass vor allem Gele auf Polysaccharidbasis durch ihre enorme Wasserabsorptionsfähigkeit ein großes Potenzial in der Behandlung von nekrotischem Gewebe und anderen Wunden besitzen. CATANZANO et al. berichteten beispielsweise über die Entwicklung eines Alginat-Hyaluron-Kombi-Hydrogels, welches die Auswirkungen beider Komponenten auf den Wundheilungsprozess optimal verknüpft. Während das Alginat für die Aufrechterhaltung des

feuchten Milieus und damit für die Verminderung der Wundsekretion sorgt, unterstützt die Hyaluronsäure die Migration und Proliferation der hornbildenden Zellen als Hauptbestandteil der äußeren Hautschicht.<sup>[46]</sup> Weiterhin wurde über die positive Beeinflussung der Adhäsion und Proliferation von Fibroblasten durch hemicellulosebasierte Hydrogele mit nanointegrierter Cellulose berichtet.<sup>[47]</sup> Ebenfalls sehr vielversprechend ist der Einsatz antibakteriell wirksamer und entzündungshemmender Hydrogele. So synthetisierten NINAN et al. ein pH-responsives, aus carboxylierter Agarose und Gerbsäure bestehendes Hydrogel, welches mit Hilfe von Zinksalzen ionisch vernetzt wurde. Neben der entzündungshemmenden und antioxidativen Fähigkeit der Gerbsäure besaß das entstandene Komposithydrogel eine gesteigerte Druckfestigkeit sowie eine erhöhte antibakterielle Wirkung.<sup>[48]</sup> In der Erforschung neuer Wundheilungsmaterialien spielt auch Chitosan eine wichtige Rolle. Es wird bereits in mehreren biomedizinischen Anwendungen genutzt und überzeugt dort durch seine antibakteriellen, antiviralen und antiallergenen Eigenschaften. Die hämostatische Wirkung sowie die biologische Abbaubarkeit machen es zusätzlich attraktiv.<sup>[49]</sup> Auf dem kommerziellen Markt sind derzeit Hydrogelfolien und -filme oder hydrogelimprägnierte Gazen zu finden. Sie alle verringern die Narbenbildung und vermeiden wundbedingte Krankheiten. Eine Auswahl der erhältlichen Produkte mit den jeweiligen Anwendungen ist in Tabelle 1.1 zusammengestellt.

Die Gewebetechnologie beschäftigt sich mit der Herstellung künstlicher Gerüste, die der extrazellulären Matrix strukturell und mechanisch so stark ähneln, dass es zur Anregung der Geweberegeneration in den angrenzenden Bereichen kommt. So gehört das Tissue Engineering streng genommen nicht zum biomedizinischen Sektor, sondern vereint als interdisziplinäres Gebiet verschiedene Aspekte aus der Materialwissenschaft, Zellbiologie und dem Ingenieurwesen.<sup>[50]</sup> Potenzielle Gerüstmaterialien sollten einfach zu händeln, biokompatibel, biologisch abbaubar und sterilisierbar sein. Neben ihrer Ähnlichkeit zum nativen Gewebe, die als strukturelle Unterstützung zur Anlagerung, Proliferation und Differenzierung der Zellen dient, sollten die Ersatzmaterialien eine vernetzte und poröse Struktur besitzen, welche das Einwachsen von Zellen, den Transport von Nährstoffen sowie den Abfallstofftransport erlaubt.<sup>[10]</sup> Neben der dreidimensionalen Netzwerkstruktur der Hydrogele weckte vor allem ihre starke Ähnlichkeit zur extrazellulären Matrix das Interesse an einer intensiveren Erforschung dieser Materialien. Die Kommunikation zwischen der Umgebung, bestehend aus extrazellulärer Matrix oder Ersatzmatrix, und den jeweiligen Zellen ist ein zentrales Problem im Tissue Engineering, da extrazelluläre Signale durch ihre Aufnahme und Verarbeitung auf zellulärer Ebene die Bildung von Organen und Geweben koordinieren. Hydrogele haben den entscheidenden Vorteil, dass sich in ihnen die Peptidliganden für Zellmembranrezeptoren einfacher kovalent einlagern lassen als in weniger hydrophilen Alternativen wie beispielsweise Poly(lactid-co-glycolid), ein Copolymer bestehend aus Lactid und Glycolid. Dadurch wird die Zellanlagerung, -ausbreitung und deren Wachstum innerhalb der Matrix stimuliert. Ebenfalls gilt es die viskoelastischen Eigenschaften zu beachten, da diese einen Einfluss auf das Zellschicksal haben.<sup>[51]</sup> Andere Herausforderungen für diesen Anwendungsbereich bestehen in der Synthese von geeigneten Hydrogelen, die ohne eine Schädigung der Struktur sterilisiert werden können und die benötigte mechanische Härte besitzen. Trotz der großen Forschungserfolge befinden sich die Hydrogele im Bereich des Tissue Engineerings größtenteils noch im Forschungsstadium. Nur ein paar wenige Produkte befinden sich bereits in den klinischen Studien. Hierbei geht es meist um die Regeneration von Herzgewebe, Knochen und Knorpel. Die aktuelle

Forschung konzentriert sich hauptsächlich auf degradierbare Hydrogele aus Dextran, Gelatine, Chitosan, Hyaluronsäure, Pektin oder Alginat. Sie bieten den Vorteil der graduellen Zellmigration während ihrer eigenen Zersetzung und fördern somit die lückenlose Geweberegeneration.<sup>[8]</sup> Die hierzu erforderlichen Gerüste können beispielsweise durch Lyophilisierung, Emulgierung, Lösungsmittelgießen, Gasschäumen, Photolithographie, Mikrofluidik, Mikroformung oder 3D-Druck hergestellt werden.<sup>[52]</sup> Um die vorgefertigten Strukturen an ihren Bestimmungsort im menschlichen Körper zu bringen, sind allerdings chirurgische Eingriffe unterschiedlicher Komplexität notwendig. Injizierbare Hydrogele machen die zusätzliche Operation überflüssig und können zudem unregelmäßige Defekte leichter auffüllen als die normalen Gerüste, weshalb sie in den Vordergrund der aktuellen Interessen rückten. In diesem Zusammenhang wurde beispielsweise ein *in situ* vernetzbares Hydrogel auf Basis von Hyaluronsäure entwickelt. Als Bestandteil der extrazellulären Matrix fördert diese die Adhäsion, Proliferation und Differenzierung von Zellen und eignet sich demnach gut zur Synthese solcher Gele.<sup>[53]</sup> Zur Regeneration von Knochengewebe können *in situ* photopolymerisierbare Hydrogele auf Basis von modifiziertem PEG injiziert werden. Das GELRIN C™ ist ein Gel bestehend aus PEG und humanem Fibrinogenprotein. Es ist eins der wenigen Materialien mit kommerzieller Nutzung und wird zur Knorpelregeneration im Knie verwendet.<sup>[54]</sup> Des Weiteren entwickelten CONNELL et al. den sogenannten BIOPEN, der für die *in situ* Produktion von Hydrogelmatrizen genutzt werden kann. Dabei handelt es sich um einen handgehaltenen Stift, der zwei voneinander getrennte Kammern besitzt, welche die simultane Auftragung von Hydrogel und lebenden Zellen ermöglichen. Die Ergebnisse des Gelatine-Methacrylamid/Hyaluronsäure-Methacrylat-Hydrogels, das mit humanen Stammzellen getestet wurde, schaffen die Voraussetzungen für den Einsatz des Biodrucks während chirurgischer Eingriffe.<sup>[55]</sup> Zurzeit gibt es außerdem eine Auswahl von Hydrogelen, die zwar auf dem Markt erhältlich sind, jedoch ausschließlich zu Forschungszwecken genutzt werden (Tabelle 1.2). In der 3D-Kultivierung von Säugetierzellen gehören sie derzeit zu den gefragtesten Materialien.<sup>[56]</sup> Die allgemeine Kommerzialisierung der Hydrogele im Bereich der Gewebeersatztechnologie ist allerdings noch in der Entwicklung.

Alles in allem haben sich die Hydrogele im biomedizinischen Bereich zu sehr häufig genutzten Biomaterialien entwickelt. Neben den hier beschriebenen Beispielen gibt es noch zahlreiche andere Anwendungsmöglichkeiten wie beispielsweise im Bereich der Tränenersatzmittel, der Impfstoff- und Immuntherapie, der Wirkstofffreisetzung oder der Diagnostik und Bildgebung.<sup>[57]</sup> Ein beeindruckendes Beispiel ist das schluckbare Hydrogel-Gerät, welches vor kurzem am Massachusetts Institute of Technology (MIT) entwickelt wurde. Es besteht aus Polyacrylsäure eingebettet in einer PVA-Membran und kann beispielsweise zur kontinuierlichen Medikamentenfreisetzung, zur Messung von Biosignalen, zur Überprüfung von Medikamentenmustern oder mit Hilfe einer zusätzlichen Kamera zur Visualisierung des Magen-Darm-Trakts verwendet werden.<sup>[58]</sup> Andere Anwendungen betreffen den landwirtschaftlichen Sektor, wo die Gele als Minireservoir zur Unterstützung der natürlichen Bewässerung dienen.<sup>[59]</sup> In der Wasseraufbereitung werden Hydrogele dank ihrer großen Wasseraffinität auf zwei unterschiedliche Arten eingesetzt. Die erste Möglichkeit besteht in der Verkapselung wasserreinigender Mikroorganismen in synthetischen oder natürlichen Hydrogelen. Am geläufigsten ist die Verwendung von *Chlorella*-Algen oder *Spirulina*-Bakterien in alginat-, carrageen- oder agarbasierten Hydrogelen.<sup>[60]</sup> Die zweite Technik umfasst die Modifizierung der Hydrogele,

sodass sie die zu entfernenden Schadstoffe aus dem Wasser aufnehmen und in ihrem Netzwerk einschließen.<sup>[61]</sup> Aufgrund ihrer Vielseitigkeit weckten die neuartigen Polymernetzwerke auch im technischen Bereich und in der Biotechnologie großes Interesse. In letzterer werden Hydrogele beispielsweise häufig als Sensormembran mit justierbarer Härte, Elastizität, Brechungsindex und selektiver Diffusion genutzt. Außerdem konnten viele positive Ergebnisse bei der Zusammenarbeit mit Enzymen beobachtet werden. So wurden makroporöse, temperaturabhängige Hydrogele auf der Basis von Poly(*N*-Isopropylacrylamid) zur Aufkonzentrierung wässriger Lösungen aus Proteinen und Enzymen genutzt, ohne die Enzymaktivität zu stören.<sup>[62]</sup> OVERSTREET et al. berichteten zudem, dass Hydrogele durch eine Änderung ihres Quellverhaltens die Umsetzung von Substraten an immobilisierten Enzymen steuern können.<sup>[63]</sup> Auch die Immobilisierung katalytisch aktiver Komponenten, speziell Enzyme, ist ein Anwendungsgebiet der Hydrogele.<sup>[64,65]</sup>

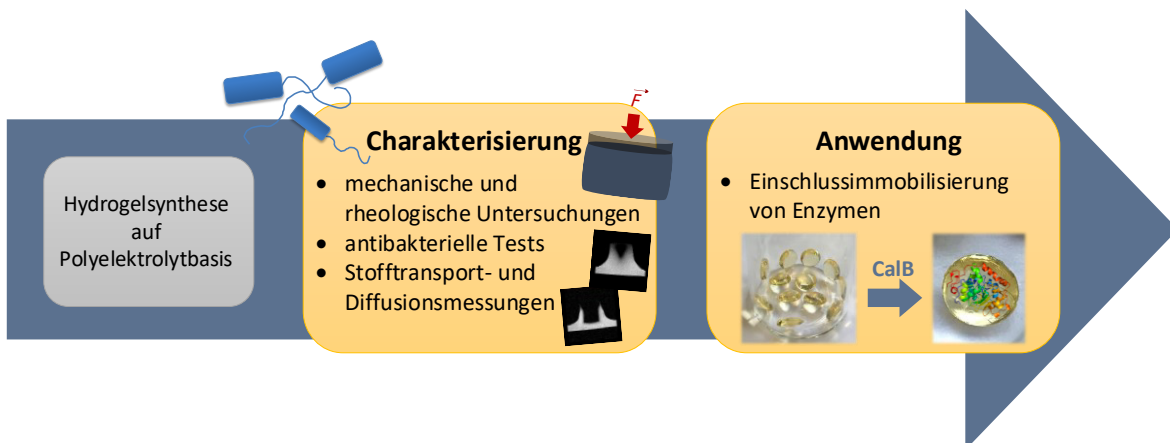
**Tabelle 1.2** Kommerziell erhältliche Hydrogelprodukte für die Gewebeersatztechnologie. <sup>[13]</sup>

Produktname	Art & Inhaltsstoffe	Anwendung	Firma
<b>MEBIOL®GEL</b>	thermoreversibles Hydrogel; Poly( <i>N</i> -isopropylacrylamid), Poly(ethylenglykol)	Stammzellkultur, Zellimplantation, Organ- & Geweberegeneration, Drug Delivery System	COSMO BIO USA
<b>HYSTEM® HYDROGEL KITS</b>	UV-Licht gesteuertes Hydrogel; Hyaluronsäure	3D-Zellkultur & 3D-Druck	ESI BIO
<b>CORNING® MATRIGEL® MATRIX</b>	Hydrogel basierend auf extrazellulär Matrix-Extrakt; Laminin, Kollagen, Proteoglykane	2D- & 3D-Zellkulturen	CORNING B.V. LIFE SCIENCES
<b>CORNING® PURAMATRIX™</b>	Peptidhydrogel; 99% Reinstwasser, 1% Aminosäure	3D-Zellkulturen	CORNING B.V. LIFE SCIENCES
<b>BIOGELX™</b>	synthetisches Peptidpulver zur Hydrogelformation; BIOGELX™-S – ohne weitere Funktionalisierung BIOGELX™-RGD – funktionalisiert mit Fibronectin BIOGELX™-IKVAV – funktionalisiert mit Laminin BIO-GELX™-GFOGER – funktionalisiert mit Kollagen	3D-Zellkulturen	BIOGELX LTD.

## 2 Zielstellung

In den vergangenen fünf Jahrzehnten entwickelten sich die Hydrogele zu einem unverzichtbaren Bestandteil des aktuellen Forschungsgeschehens. Aufgrund der großen Palette an verschiedenen Strukturen und Synthesemöglichkeiten bieten diese vielversprechenden Materialien ein breites Anwendungsspektrum, welches sich in den unterschiedlichsten Fachgebieten wiederfindet. Für den optimalen Einsatz, der vollständigen Ausschöpfung ihres Potenzials sowie einer gezielten Anpassung hinsichtlich des anvisierten Verwendungszwecks ist eine fundierte Kenntnis über die Eigenschaften der jeweiligen Hydrogele jedoch unabdingbar.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit werden Hydrogele auf der Basis von Polyelektrolyten näher untersucht. Ein zentraler Punkt besteht in ihrer Charakterisierung hinsichtlich der mechanischen und rheologischen Eigenschaften. Mit Hilfe von Zug-, Druck- und Scherexperimenten soll das Verhalten der Gele auf die unterschiedlichen Kraftarten begutachtet werden. Am Rheometer werden außerdem die ablaufenden Prozesse während der Gelbildung genauer beleuchtet. In Bezug auf die medizinische Anwendung soll weiterhin die inhärente antibakterielle Wirkung gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien betrachtet werden.



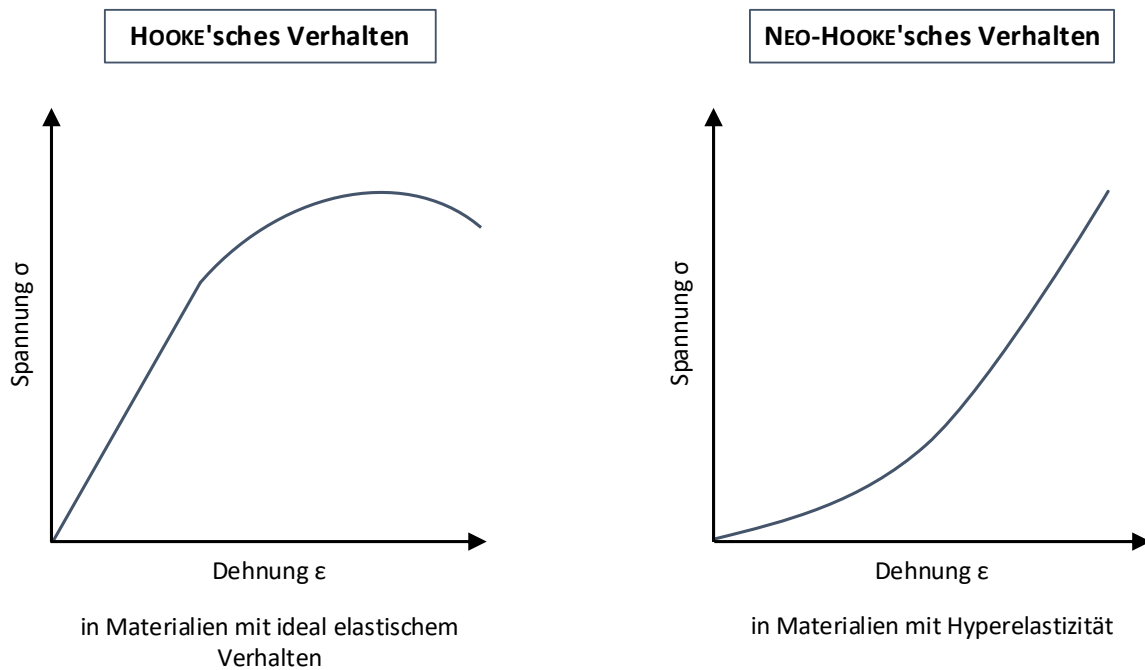
**Abbildung 2.1** Zielsetzung dieser Arbeit.

Darüber hinaus wird die Eignung der Hydrogele für andere, nichtmedizinische Anwendungen getestet. Im Speziellen soll es um die Verwendung von Hydrogelen bestehend aus polymerisierten imidazolbasierten ionischen Flüssigkeiten als Matrix zur Einschlussimmobilisierung in der Biokatalyse gehen. Neben der Eruiierung der idealen Reaktionsparameter spielt auch die Stabilität des Immobilisats sowie die Vergleichbarkeit mit kommerziell erhältlichen Produkten eine Rolle. Abschließend sollen die ablaufenden Transportprozesse näher charakterisiert werden. Einerseits sind hierzu klassische Quellversuche in verschiedenen Lösungsmitteln angesetzt, deren Ergebnisse mit der Aufnahme von Sorptionskurven verglichen werden sollen. Andererseits soll die Magnetresonanztomographie, als bildgebendes Verfahren der Medizin, für die weitere Aufklärung herangezogen werden. Zur Vervollständigung der Untersuchungen gilt es die Diffusionskoeffizienten mit den genannten Methoden zu ermitteln.

### 3 Rheologische und mechanische Eigenschaften von Hydrogelen

Hydrogele besitzen zahlreiche Schlüsseleigenschaften, die ihre breite Anwendungsvielfalt ermöglichen. Neben der Quellung in polaren Medien sowie der Biokompatibilität zählen hierzu auch die rheologischen und mechanischen Eigenschaften. Diese sind stark von der Struktur des jeweiligen Polymergrundgerüsts abhängig, sodass die Wahl des Vernetzers, des Monomers und deren Konzentrationen von entscheidender Bedeutung für die Widerstandsfähigkeit gegenüber Druck- und Zugzwängen sind.<sup>[66]</sup> Allerdings müssen alle Eigenschaften als Gesamtheit betrachtet werden, da die strukturellen Gegebenheiten natürlich auch Einfluss auf den Quellungsprozess und die Wirkung auf biologische Gewebe haben. Ergebnisse von DARNELL et al. zeigten beispielsweise, dass eine gute Biokompatibilität zur Verminderung der mechanischen Beständigkeit führt.<sup>[67]</sup> Die Rheologie als Teilgebiet der Physik beschäftigt sich mit der Verformung sowie dem Fließverhalten von Materialien und trägt mit ihren Untersuchungen zum besseren Verständnis der komplexen Zusammenhänge zwischen Struktur und Wirkung bei. Mit diesem Wissen kann das Potenzial der Hydrogele vollständig ausgeschöpft werden.

Wirkt eine Kraft auf ein Material, so wird sich dieses in der Regel entsprechend seiner Beschaffenheit verformen. Dabei wurden zwei ideale Arten der Verformung definiert, die auf den unterschiedlichen Eigenschaften von Flüssigkeiten und Festkörpern basieren. Kommt es beispielsweise zur Krafteinwirkung auf einen idealen Festkörper, verformt sich dieser bis zu einem gewissen Punkt und verweilt so lange in diesem Zustand bis die Kraft aufgehoben wird und der Körper in seine ursprüngliche Form zurückkehren kann. Es handelt sich also um eine elastische und vollständig rückstellbare Deformation. Charakteristisch für diesen Prozess ist, dass die Verformungsenergie im Material gespeichert und mit Nachlassen der Krafteinwirkung ohne Verluste wiederhergestellt wird. Im Gegensatz dazu weichen ideale Flüssigkeiten der Krafteinwirkung aus, indem sie sich gleichmäßig nach allen Seiten ausbreiten. Wird die Krafteinwirkung aufgehoben, kehrt eine ideale Flüssigkeit nicht in den Ausgangszustand zurück. Wenngleich das Ausmaß der Verformung nicht begrenzt ist, wird die Geschwindigkeit der Formänderung jedoch exakt durch die Stärke der Kraft definiert. Aus dem Verhältnis beider Größen ergibt sich eine Viskosität, die Vorhersagen über die Fließgeschwindigkeit der Flüssigkeit erlaubt. Grundsätzlich bleibt diese Geschwindigkeit konstant, so lange die festgelegte Kraft aufgebracht wird. Bleibt die Verformung aus, weil die einwirkende Scherspannung unterhalb der Fließgrenze ist, wird von einem ideal plastischen Körper gesprochen. Dieser verhält sich wie ein starrer Festkörper und wird erst durch Scherspannungen oberhalb der Fließgrenze irreversibel sowie unbegrenzt verformbar. Im Umgang mit realen Materialien gibt es jedoch immer Effekte, die beispielsweise auf molekularen Umlagerungen basieren und zu einer Abweichung vom beschriebenen Idealverhalten führen. Normalerweise handelt es sich also nicht um ideale Feststoffe oder ideale Flüssigkeiten, sondern um eine Kombination aus elastischem sowie viskosem Verhalten. Sie werden deshalb als viskoelastische Stoffe bezeichnet, auch wenn sie keinesfalls ideale Mischungen der beiden Grenzfälle darstellen.<sup>[68]</sup>

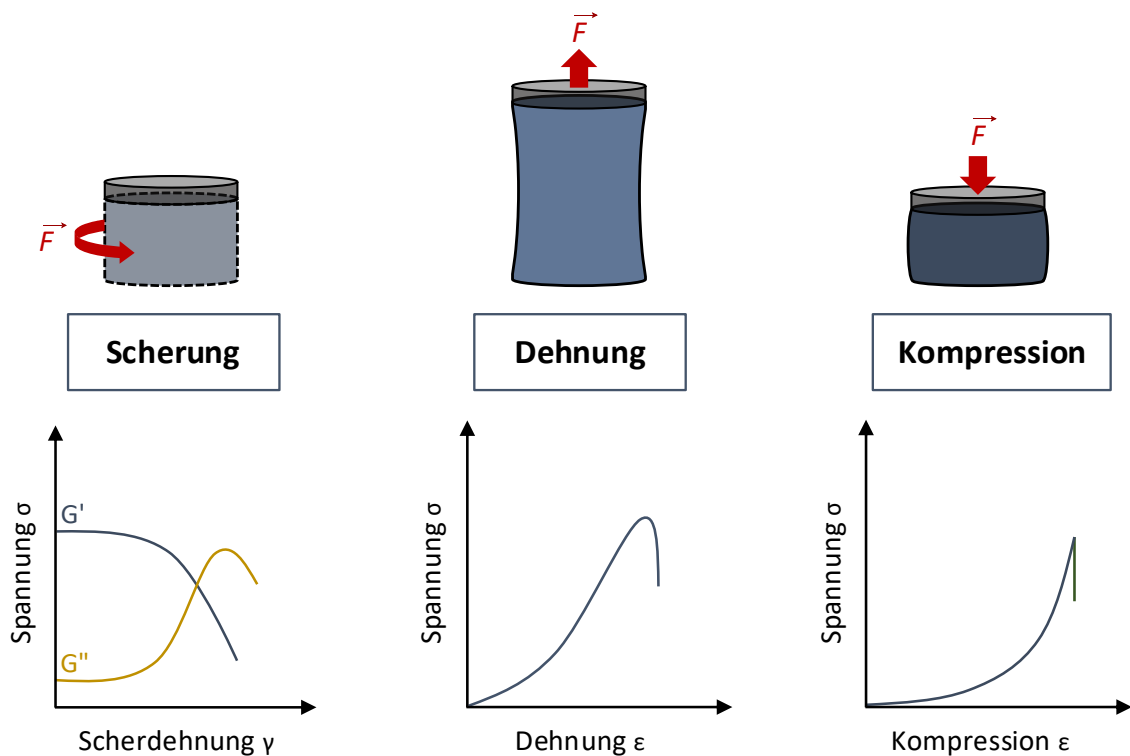


**Abbildung 3.1** Vergleich von HOOKE'schem und NEO-HOOKE'schem Verhalten.

Dennoch ist das mechanische Verhalten sowohl von elastischen als auch von viskosen Systemen wichtig, da sie als Referenz zur Beschreibung und Diskussion realer Stoffe herangezogen werden. Ideal elastische Verformungen werden durch das HOOKE'sche Gesetz beschrieben, wobei die Verformung zunächst proportional zur ausgeübten Kraft ist. Dementsprechend ist auch die auf das System ausgeübte Spannung  $\sigma$  proportional zu seiner Dehnung  $\epsilon$  (Abbildung 3.1). Jenseits des linearen Bereichs wird der Körper bei Krafteinwirkung reversibel verformt. Die Elastizitätsgrenze kennzeichnet schließlich den Übergang zur irreversiblen Deformation, welche bis hin zum Bruch des Materials führen kann. Aussagen über die Duktilität des Systems können zudem in Form des Elastizitätsmoduls  $E$  aus dem Anstieg des linearen Abschnitts der Auftragung gewonnen werden. Stehen vernetzte Polymerketten allerdings unter moderater Belastung bewegen sie sich erstmal relativ zueinander bis sie durch die Begrenzung ihrer Verknüpfungen ihre maximale Dehnung erreichen. An diesem Punkt steigen die Spannung und das E-Modul stark an. Hydrogele weisen also gewöhnlicherweise keine linearen Spannungs-Dehnungskurven auf. Somit ist das Elastizitätsgesetz nach HOOKE streng genommen nicht anwendbar, da es nur linear-elastische Reaktionen korrekt wiedergibt. Hyperelastizität, wie sie bei gummiähnlichen Materialien und vernetzten Polymerketten auftaucht, wird unter anderem durch das NEO-HOOKE'sche Gesetz beschrieben. Es ist das einfachste Stoffgesetz, welches auch bei größeren Verzerrungen von 50% - 100% sicher angewendet werden kann. Berechnungen zeigten, dass eine Dehnung ab 200% dann nicht mehr zuverlässig durch das Modell abgebildet werden kann.<sup>[69]</sup> Kleinere Verformungen von nicht-linearen Materialien werden dennoch häufig mit Hilfe des HOOKE'schen Gesetzes beschrieben, indem es nur auf den linearen Bereich angewendet wird. Auf diese Weise kann auch die Elastizität des Gelnetzwerkes beschrieben werden.<sup>[70]</sup>

Biomaterialien müssen vor ihrer Zulassung als solche ausgiebig hinsichtlich ihrer mechanischen Belastbarkeit getestet werden (Abbildung 3.2), da sie durch Einflüsse wie die Schwerkraft oder den Blutdruck permanent unter Beanspruchung stehen. Da Hydrogele mittlerweile oft verwendete Biomaterialien sind, müssen auch sie diesen Anforderungen standhalten. Für viskoelastische

Materialien werden häufig Oszillations- und Scherexperimente mit kleiner Amplitude durchgeführt. Der Vorteil der oszillierenden Methode gegenüber einer beständigen Scherrate besteht in der schonenderen Behandlung fragiler Strukturelemente, wodurch mehr Informationen über die intakten Netzwerke erhalten werden. Dabei gibt der komplexe Schermodul  $G$  die Steifigkeit des Materials an. Wirkt nun eine oszillierende Scherdehnung mit der Amplitude  $\gamma_0$  und der Kreisfrequenz  $\omega$  auf die Probe ein, variiert die Spannung  $\sigma$  phasenverschoben mit der Zeit  $t$ . Liegt die Phasenverschiebung zwischen  $0^\circ$  und  $90^\circ$  werden die Materialien als Summe ihrer elastischen und viskosen Beiträge ausgedrückt. Somit setzt sich  $G$  aus dem elastischen Speicher-Schermodul  $G'$  und dem viskosen Verlust-Schermodul  $G''$  zusammen. Die Verfolgung beider Module in einer stetigen Oszillationsmessung wird auch zur näheren Betrachtung der Gelierung genutzt. Typischerweise besitzt die Probe zunächst einen flüssigkeitsähnlichen Charakter, weshalb bis zum Gelierungspunkt folgendes gilt:  $G'' > G'$ . Der Gelierungspunkt selbst ist als Schnittpunkt beider Module definiert, wohingegen danach die elastischen Eigenschaften des Hydrogels überwiegen ( $G'' < G'$ ).<sup>[68]</sup>



**Abbildung 3.2** Schematische Zusammenfassung mechanischer Untersuchungen. Adaptiert nach JANMEY et al. <sup>[68]</sup>

Um die Dehnungs- und Kompressionsfähigkeit einer viskoelastischen Probe zu untersuchen, wird die Spannung  $\sigma$  in Bezug auf die entsprechende Dehnung  $\epsilon$  verfolgt. Dabei hat die Geschwindigkeit mit der zwischen den Dehnungs- oder Kompressionsstufen gewechselt wird einen großen Einfluss auf die Messung. Mit Blick auf den späteren Einsatz gilt es eine realistische Intervalldauer zu wählen, da ein zu schneller Wechsel zur (frühzeitigen) Beschädigung der Probe führen kann. Weiche und flexible Materialien besitzen naturgemäß einen größeren Dehnungs- und Kompressionsspielraum als sprödere. Während weiche Hydrogele zur Beschichtung von Gefäßprothesen wie beispielsweise Stents eingesetzt werden, besitzen mechanisch härtere Vertreter ein großes Potenzial zur Kontaktlinsherstellung oder als Knorpel- und Bandscheibenersatz.<sup>[40,71]</sup> Ein extremes Verhalten berichteten FUKUSHIMA et al. aus der Untersuchung der rheologischen Eigenschaften von 1-Vinyl-3-ethylimidazoliumtriflat und 1-Methacrylatbutyl-3-methylimidazoliumtriflat die sich als so brüchig

und spröde erwiesen, dass die aufzubringende Kraft unterhalb der Messgrenze des verwendeten Rheometers lag.<sup>[72]</sup> Zur vertiefenden Charakterisierung der Eigenschaften werden sehr häufig auch Scher-Dehnungsuntersuchungen herangezogen, in denen die Widerstandsfähigkeit des Hydrogels gegenüber verschiedenen Verdrillungen festgestellt wird. Die schrittweise Vergrößerung der Auslenkungsamplitude erfolgt dabei typischerweise bei konstanter Frequenz. Beobachtet werden die Änderungen von  $G'$  und  $G''$  über die Messzeit, welche Aufschluss über die Probenkonsistenz sowie über den viskoelastischen Bereich geben. Das Plateau der  $G'$ -Kurve zu Beginn der Messung zeigt, dass  $G'$  bei kleineren Scherraten unabhängig von der Dehnungsamplitude ist. Dieses Verhalten kennzeichnet den viskoelastischen Bereich, in dem die Probe ohne strukturelle Veränderung deformiert werden kann. Ein Blick in die Literatur zeigt, dass die Ausmaße des viskoelastischen Bereichs stark variieren. HUANG et al. berichteten beispielsweise über Hydrogele aus Polyallylamin und Tripolyphosphat, die sogar nach einer Auslenkung von bis zu 200% zu ihren ursprünglichen Eigenschaften zurückkehrten.<sup>[73]</sup> Im Gegensatz dazu synthetisierten BREEDVELD et al. amphiphile Blockcopolypeptide, deren kritische Dehnungsamplituden mit steigender Polypeptidkonzentration von 5% auf 0,1% sanken.<sup>[74]</sup> Generell besitzen stabilere Materialien in der Regel auch einen breiteren viskoelastischen Bereich.<sup>[75]</sup> Weiterhin gilt: liegt  $G'$  in diesem Abschnitt über  $G''$  weist die Probe eine gelartige bzw. feste Konsistenz auf, ist  $G'$  hingegen kleiner besitzt die Probe eher einen flüssigen Charakter.

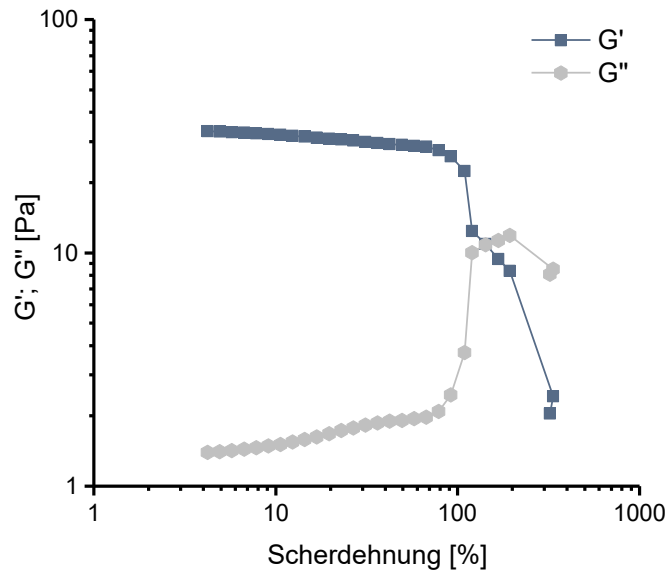
### 3.1 Rheologische und mechanische Charakterisierung der Polyelektrolyt-Hydrogele

Aktuell erstreckt sich das breite Anwendungsfeld der Hydrogele bereits über viele verschiedene Gebiete und ständig kommen neue dazu. Gleiches gilt für die Strukturvielfalt dieser Materialien und damit verbunden auch für die Eigenschaften. Ob in der Industrie oder im kleinen Maßstab, zur optimalen und gezielten Nutzung ist eine grundlegende rheologische und mechanische Charakterisierung unabdingbar. Ein paar der rheologischen Studien aus den vergangenen Jahren beschäftigten sich mit polymerisierten vinylhaltigen ILs und verglichen diese mit Hydrogelen auf Basis natürlicher Polymere für den Einsatz der Katalysator-Immobilisierung.<sup>[76,77]</sup> Auch eine Bewertung dieser pILs als potenzielles Knochenregenerationsmaterial gemessen an Hydrogelen aus Poly(ethylenglycol)dimethacrylaten wurde vorgenommen.<sup>[78]</sup> Die Untersuchungen aus **Publikation I**<sup>1</sup> geben einen umfassenden Bericht über eine breite Auswahl an unterschiedlich geladenen und variabel strukturierten Hydrogelen der ersten Generation. Der Fokus lag auf chemisch vernetzten Hydrogelen, gebildet aus pILs, und der Charakterisierung ihres rheologischen Verhaltens sowie der Untersuchung des Polymerisationsprozesses. Die Ergebnisse tragen zum gesamtheitlichen Verständnis von Hydrogelen auf Polyelektrolytbasis bei.

Um die nicht-linearen Eigenschaften zu untersuchen, wurden Amplitude-Sweep-Messungen mit allen Proben durchgeführt. Es ergaben sich die klassischen Diagramme für solche Messungen, die beispielhaft für das kationische poly(AE-TMA) erläutert werden (Abbildung 3.3). Auf den linear viskoelastischen Bereich bei kleineren Scherraten folgt an der Linearitätsgrenze  $\gamma_L$  ein starker Abfall des Moduls  $G'$ , was auf ein sprödes Bruchverhalten hinweist. Im linearen Bereich gilt außerdem  $G' > G''$  als typisches Verhalten eines viskoelastischen Feststoffes mit gelartiger Struktur. Am Schnittpunkt der beiden Module ( $G' = G''$ ) treten Mikrorisse in der Probe auf, deren Größerwerden

<sup>1</sup> A. Jastram, J. Claus, P.A. Janmey, U. Kragl, *Polym. Test.* **2020**, *93*, 106943.

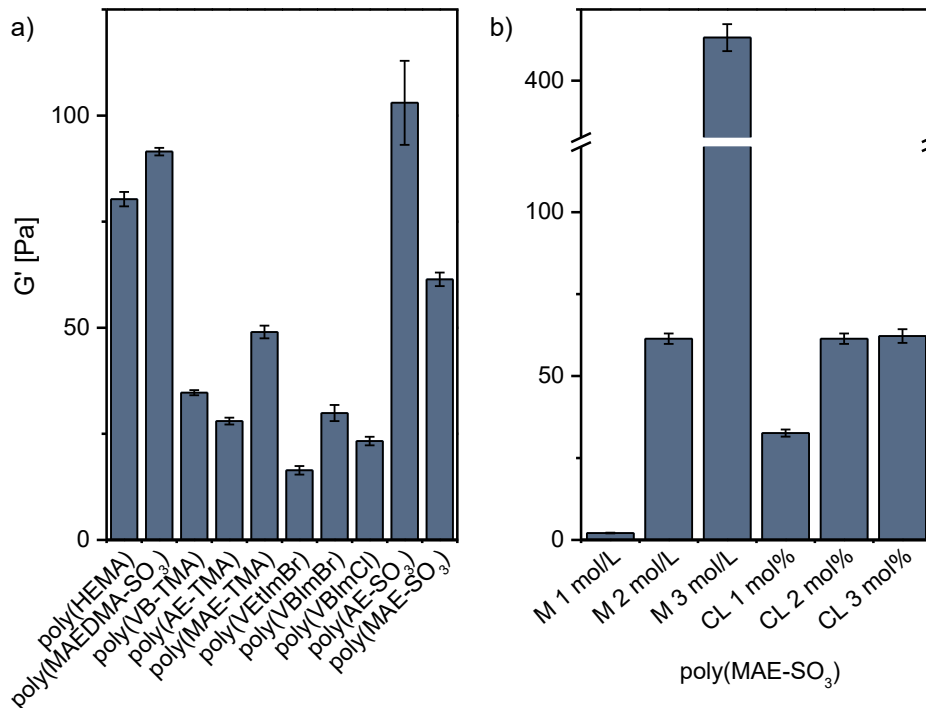
zur Entwicklung eines dominant viskosen Verhaltens mit  $G'' > G'$  führen. Während für poly(AE-TMA) ein  $\gamma_L$ -Wert von  $49 \pm 7\%$  verzeichnet wurde, wiesen die anderen Hydrogele Linearitätsgrenzen zwischen 14% und 170% auf. Damit liegen diese Werte im Bereich der bereits diskutierten Literaturangaben.



**Abbildung 3.3** Amplitude-Sweep-Diagramm von poly(AE-TMA) [25 °C; Monomerkonzentration = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%,  $\omega = 0,1$  Hz].

Mögliche Korrelationen zwischen Struktur und mechanischem Verhalten lassen sich durch die Berechnung der  $G'$ -Werte feststellen. Dabei stehen große  $G'$ -Werte für feststoffähnliches Verhalten, das mit einer ausgeprägteren mechanischen Steifigkeit und einer höheren Festigkeit einhergeht. In Abbildung 3.4 sind die ermittelten Werte für alle Polymere zusammengefasst, wobei auf den ersten Blick keine Abhängigkeit ersichtlich ist. Die höchsten Werte stammen vom neutralen poly(HEMA), vom zwitterionischen poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) und vom anionischen poly(AE-SO<sub>3</sub>). Bei genauerer Betrachtung fällt auf, dass die strukturähnlichen Vinylimidazolium-Proben vergleichbare Werte im Bereich von 15 bis 25 Pa erreichten, weshalb sie den spröden Hydrogelen zuzuordnen sind. Außerdem wiesen Hydrogele mit kationischem Grundgerüst deutlich geringere  $G'$ -Werte auf als Vertreter mit anionischer Ladung am Netzwerk. Zudem ließ sich eine Abhängigkeit der mechanischen Stärke von den verwendeten Gegenionen Chlorid (Cl<sup>-</sup>), Bromid (Br<sup>-</sup>) und Kalium (K<sup>+</sup>) beobachten. Alle drei besitzen einen anderen Ionenradius und weisen daher eine unterschiedliche Ladungsdichte auf. Das Kation K<sup>+</sup> ist mit einem Radius von 138 pm deutlich kleiner als das Cl<sup>-</sup> mit 181 pm und das Br<sup>-</sup> mit 196 pm.<sup>[79]</sup> Verglichen mit den größeren Anionen sitzt das kleinere Kation nicht nur dichter am negativen Polymergerüst, sondern geht mit diesem aufgrund der höheren Ladungsdichte auch eine intensivere Wechselwirkung ein. Folglich entstehen solidere und unbeweglichere Netzwerke mit höheren  $G'$ -Werten. Um den Einfluss der Hydrogelzusammensetzung einschätzen zu können, wurde für das anionische poly(MAE-SO<sub>3</sub>) sowohl die Monomerkonzentration als auch der Crosslinkergehalt variiert. In beiden Fällen resultierte die Erhöhung der jeweiligen Komponente in steigenden  $G'$ -Werten, wobei der Einfluss des Monomers deutlich ausgeprägter war. Beispielsweise bewirkte die Reduktion der Monomerkonzentration von 3 mol% auf 1 mol% eine Vergrößerung des viskoelastischen Bereichs von 35% auf 267%. Bei der Variation der Vernetzerkonzentration von 2 mol% auf 3 mol% nahm die

Steifigkeit der Gele nur minimal zu, weshalb davon auszugehen ist, dass eine langsame Annäherung an einen Maximalwert stattfindet.



**Abbildung 3.4** Experimentell ermittelte G'-Werte von a) allen untersuchten Hydrogelen und b) poly(MAE-SO<sub>3</sub>) mit variierenden Monomer- und Vernetzergehalten [ a): c(Monomer) = 2 mol/L; c(MBAA) = 2 mol%; b): poly(MAE-SO<sub>3</sub>) mit c(MBAA) = 2 mol% oder c(Monomer) = 2 mol/L; 25 °C].

In den Experimenten zur Zugstabilität überzeugte vor allem das sehr flexible poly(TMA-VB) mit einer maximalen Dehnung um  $47,9 \pm 15,1$  %. Solch weiche Hydrogele werden in der Medizin bevorzugt zur Beschichtung von Stents verwendet, da sie durch ihre hohe Flexibilität den Bewegungsspielraum nicht einschränken und zugleich Medikamente freisetzen können.<sup>[80]</sup> Mit Dehnungsmaxima von  $17,6 \pm 1,6$ % und  $18,9 \pm 4,3$ % lagen das kationische poly(MAE-TMA) und das anionische poly(MAE-SO<sub>3</sub>) im Mittelfeld der Messungen. In den Kompressionsexperimenten zeigten die imidazoliumbasierten Hydrogele erneut eine strukturelle Korrelation. Die höheren G'-Werte der butylhaltigen Gele resultierten erwartungsgemäß in einer geringeren Bruchkompression von  $28,6 \pm 2,8$ % für poly(VBImBr) und  $7,8 \pm 3,6$ % für poly(VBImCl), während poly(VEImBr) um  $36 \pm 8,3$ % komprimiert werden kann bevor es bricht. Zurückzuführen ist dieses Verhalten auf die Länge der Alkylkette, welche mit zunehmender Länge eine Verringerung der Kompressibilität bewirkt.

Zur Klassifizierung der Messergebnisse wurden die ermittelten Werte der Bruchdehnung bzw. der Bruchkompression als Funktion der maximalen Scherrate aufgetragen. Die Auftragungen zeigten, dass alle Hydrogele bei maximaler Scherung beständiger auf Kompression als auf Dehnung reagierten. Beim Anlegen einer linearen Korrelationsgeraden fiel außerdem auf, dass abweichende Anstiege für beide Auftragungen vorliegen: 0,15 im Fall der Kompressionsmessungen und 0,08 für die Zugversuche. Die grafischen Darstellungen der poly(MAE-SO<sub>3</sub>)-Variation ergaben mit 0,17 und 0,11 ähnliche Anstiege für die Druck- und Zugexperimente. Sehr wahrscheinlich ist der Unterschied mit dem experimentellen Ablauf zu erklären, denn einige Hydrogele bildeten während ihrer Kompression ein feines Feuchtigkeitsnetz auf der Oberfläche. Durch das Zusammendrücken des Gewebes treten offensichtlich minimale Flüssigkeitsmengen aus. Ziehen sich die Rheometerplatten

in den Dehnungsversuchen auseinander, kommt es zu einer Vergrößerung der Hydrogelmaschen, welche das Bestreben haben sich mit Wasser zu füllen. Jedoch kann dies nicht in ausreichender Menge aus der Umgebungsluft aufgenommen werden. Infolgedessen wird das Hydrogel spröder und reißt schließlich. Durch Experimente in einer Klimakammer mit hoher Luftfeuchte kann dieser Effekt eliminiert werden.

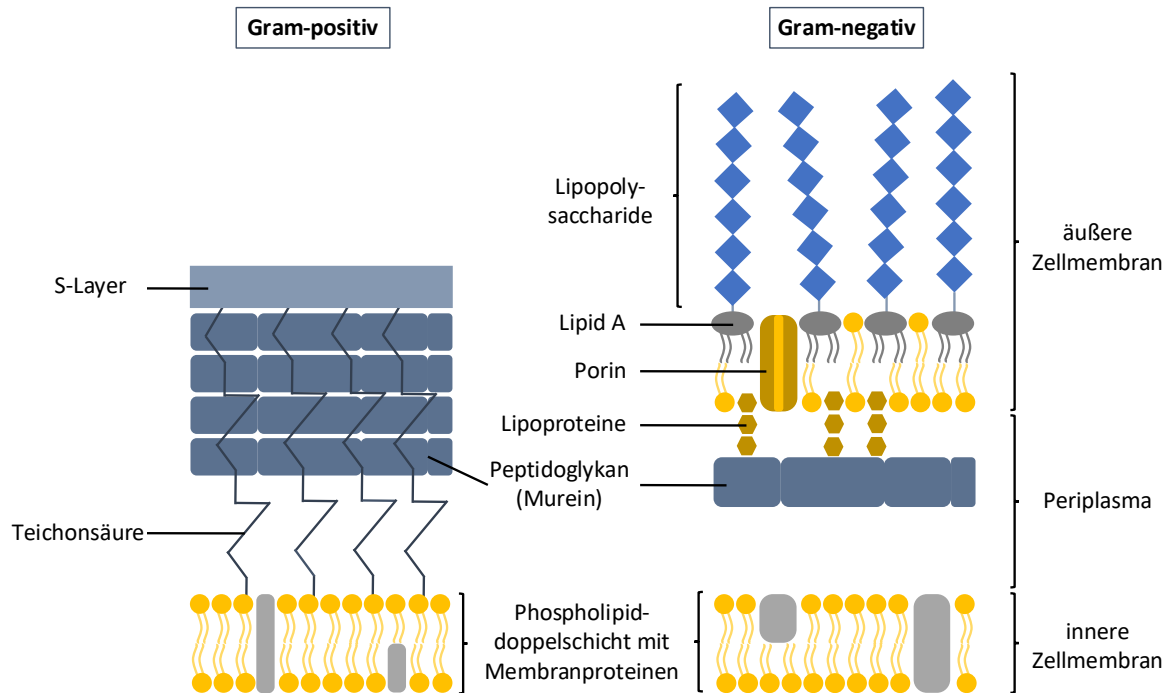
Die rheologische Verfolgung der Gelierungsprozesse wies außerdem auf eine längere Gelierungsdauer bei stabileren Monomerradikalen hin. In Prozessen mit instabileren Radikalen wie beispielsweise im Fall der Vinylimidazol-Spezies verlief die Gelbildung deutlich schneller.

## 4 Antibakterielle Wirkung von Hydrogelen

Bakterien, Viren, Hefen und Pilze sind überwiegend mikroskopisch kleine Lebewesen, welche als einzelne Individuen ohne Hilfsmittel für uns Menschen nicht erkennbar sind. Viele von ihnen finden Anwendung im industriellen Sektor bei der Produktion verschiedener Produkte oder erfüllen ihre Funktion in lebenswichtigen Prozessen für die Gesundheit von Menschen und Tieren. Allerdings sind pathogene Mikroorganismen auch der Grund für die stetig steigende Zahl an Infektionskrankheiten, die trotz der hohen Standards noch immer ein Problem für die öffentliche Gesundheit darstellen.<sup>[81]</sup> Abgesehen vom Gesundheitswesen führen sie auch zu Erschwernissen in der Wasseraufbereitung und hinsichtlich der Lebensmittelsicherheit, wo toxikogene Bakterienstämme jährlich Kosten in Milliardenhöhe verursachen.<sup>[82,83]</sup> Die Entwicklung neuer antimikrobieller Wirkstoffe ist deshalb ein Thema mit beständiger Wichtigkeit für Forschung und Industrie. Problematisch ist dabei die verhältnismäßig rasche Anpassungsfähigkeit der Organismen an neue Gegebenheiten wie es derzeit auch bei den Coronaviren und dem daraus hervorgegangenen SARS-CoV-2 beobachtet wird. Die entstehenden Mutationen sollen die Erhaltung der Spezies sichern. So wurde unter anderem bei der aus Großbritannien stammenden Linie B.1.1.7 eine sehr große Zahl an Mutationen festgestellt, die zu einer gesteigerten Übertragbarkeit sowie einer höheren Reproduktionszahl führen.<sup>[84]</sup> Häufig gehen diese Veränderungen bis hin zur Ausbildung von Resistenzen gegenüber den entsprechenden Medikamenten, welche den Krankheitserreger unschädlich machen sollen. In Bakterien gibt es im Wesentlichen fünf verschiedene Angriffsorte. Primäre Bakterizide schädigen die Zytoplasmamembran, während sekundäre Bakterizide wirken, indem sie die Zellwandsynthese stören. Als bakteriostatisch werden Wirkstoffe bezeichnet, welche die Synthese der Proteine, der Nukleinsäuren oder der essenziellen Metabolite manipulieren.<sup>[85]</sup> In Anbetracht der Antibiotikavielfalt und der verschiedenen Wirkungsmechanismen entwickeln Bakterien jedoch keine speziellen Abwehrreaktionen, sondern generelle Resistenzmechanismen. Diese bieten einen allgemeinen Schutz indem die Organismen beispielsweise ihre äußere Hülle verändern und so ein Eindringen verhindern. Falls dies nicht ausreicht, transportieren Membran-ATPasen die Antibiotika vor Entfaltung ihrer Wirkung wieder nach draußen. In manchen Bakterien werden die eingedrungenen Substanzen auch durch Enzyme gezielt modifiziert oder zerlegt.<sup>[86]</sup> Deshalb werden vor allem bei bakteriellen Infektionen immer mehr Erkrankungen gezählt, für die es keine therapeutischen Ansätze gibt.<sup>[87]</sup>

Im täglichen Leben wird unser Körper mit einer Vielzahl verschiedener Bakterienstämme konfrontiert, einige von ihnen sitzen sogar auf der Haut oder in den Schleimhäuten ohne, dass gesunde Menschen an ihnen erkranken. Ist allerdings das Immunsystem geschwächt, können diese Organismen schwerwiegende Infektionen auslösen. Wichtige Vertreter in diesem Zusammenhang

sind die gram-positiven Bakterien der Art *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Diese gelblich gefärbten Kokken leben fakultativ anaerob, bilden keine Sporen, sind unbeweglich und nahezu überall in der Natur zu finden. Außerdem besiedeln sie die menschliche Haut sowie die oberen Atemwege, wodurch lebensbedrohliche Infektionen wie Lungenentzündung, Osteomyelitis, Meningitis oder Arthritis ausgelöst werden können.<sup>[88,89]</sup> Unglücklicherweise haben einige Stämme Resistenzen gegenüber gängigen Antibiotika wie Penicilline oder Cephalosporine und Vancomycine gebildet. Methicillin-resistente Stämme (MRSA) sind sowohl unempfindlich gegenüber  $\beta$ -Laktam-Antibiotika, mit Ausnahme von Ceftarolin, als auch gegenüber anderen Antibiotikagruppen wie beispielsweise Makrolide.<sup>[90]</sup> Als Vertreter der gram-negativen Gruppe spielen vor allem die stäbchenförmigen Bakterien der *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) eine Rolle. Hierbei handelt es sich um einen weit verbreiteten Boden- und Wasserkeim, der auch in allen anderen feuchten Umgebungen wie Waschbecken und Duschen, aber ebenso in medizinischen Geräten sowie Medikamenten vorkommt. Er ist asporogen, besitzt eine Flagelle zur Fortbewegung und benötigt Sauerstoff für einen optimalen Stoffwechsel, wenngleich auch eine anaerobe Atmung möglich ist. Als einer der häufigsten Krankenhauskeime verursacht *P. aeruginosa* Erkrankungen der Lunge, Harnwege, Haut, Augen und Ohren. Mittlerweile erweisen sich Präparate auf der Basis von  $\beta$ -Laktamen, Fluorchinolonen und Aminoglykosiden zur Behandlung leider als unwirksam.<sup>[91,89]</sup> Angesichts der zunehmenden Medikamentenresistenz wächst die Notwendigkeit zur Entwicklung von neuartigen Materialien mit antibakterieller Aktivität. Die Wirksamkeit der Präparate wird für gewöhnlich mit Hilfe von Bakterientests beurteilt, wobei der Einfluss auf gram-positive und gram-negative Bakterien variieren kann. Dies ist auf den unterschiedlichen Aufbau der Zellhülle (Abbildung 4.1) zurückzuführen. Ausgehend von der Anzahl der vorhandenen Membranen werden die Bakterientypen auch häufig als Monoderm und Diderm bezeichnet.<sup>[92]</sup> Neben der einfachen Zellmembran ist eine Besonderheit der gram-positiven Bakterien das Vorhandensein der Teichonsäuren, welche die Peptidoglykanschichten versteifen und gleichzeitig mit der weiter innen liegenden Phospholipiddoppelschicht verbinden. Nach außen hin wird die Zelle durch eine Schicht aus Proteinkristallen, der sogenannten S-Layer, begrenzt. Im Gegensatz dazu besteht die Hülle der gram-negativen Bakterien aus zwei Membranen. Innen befindet sich die dünnere Membran, welche über eine schmale Peptidoglykanschicht und Lipoproteinen mit der äußeren verbunden ist. Letztere präsentiert die auf ihrer Oberfläche verankerten Lipopolysaccharide nach außen.<sup>[93]</sup> Zudem ist die Stärke der Peptidoglykanschicht indirekt für die Kategorisierung in gram-positiv und gram-negativ verantwortlich. Dies resultiert aus einer Gram-Färbemethode, welche zur Differenzierung von Bakterien in mikroskopischen Untersuchungen verwendet wird. Nachdem die Probe mit Kristallviolett und LUGOL'scher Lösung versetzt wurde, färben sich die Bakterien zunächst aufgrund des gebildeten Farbstoff-Iod-Komplexes blau. Da dieser Komplex in der Peptidoglykanschicht sitzt, wird er durch die anschließende Behandlung mit Ethanol recht zügig aus den dünnen Schichten herausgewaschen, während er in den dickeren Schichten mit dunkelvioletter Farbe verbleibt. Gram-positive Bakterien würden sich erst nach einer viel längeren und intensiveren Behandlung mit Ethanol entfärben. Im Nachgang werden die gram-negativen Bakterien häufig mit Fuchsin- oder Safranlösung angefärbt, wodurch sie rot bzw. rotorange erscheinen und unter dem Mikroskop besser erkennbar sind.<sup>[94]</sup>



**Abbildung 4.1** Aufbau der Zelloberfläche in gram-positiven und gram-negativen Bakterien. Adaptiert nach SILHAVY et al. <sup>[93]</sup>

Bei der Testung von Substanzen mit niedrigem Molekulargewicht zeigten diese zwar eine direkte antibakterielle Wirkung, erwiesen sich jedoch als problematisch, da sie nur eine kurze Wirkdauer besaßen und zudem toxische Auswirkungen auf die Umwelt zeigten. Eine Möglichkeit, diese Nachteile zu umgehen, besteht in der Fixierung von organischen oder anorganischen Stoffen auf oder in geeigneten Trägermaterialien. Neben Metallen und Keramiken eignen sich vor allem Polymere hervorragend zur Oberflächenbeschichtung, aber auch um die wirksame Substanz im gesamten Material einzuschließen. In Folienform können sie dann als antibakterielle Verpackung eingesetzt werden.<sup>[95]</sup> Viel interessanter ist allerdings die Anwendung von hochmolekularen Materialien mit inhärenter antibakterieller Wirkung wie sie beispielsweise bei bestimmten Polymeren festgestellt wurde. Ohne Zusatz von Additiven zeigen diese Vertreter eine länger anhaltende Wirkung und ein minimiertes Risiko hinsichtlich ihrer Toxizität für menschliche Zellen aufgrund des Fehlens von niedermolekularen Bioziden.<sup>[96]</sup> Intrinsisch wirksame Hydrogele sind durch ihren strukturell bedingten antibakteriellen Effekt noch attraktiver für den medizinischen Gebrauch. Als Beschichtungsmaterial von Implantaten sind sie beispielsweise in der Lage, eine bakterielle Infektion ohne zusätzliche Verkapselung aktiver Stoffe abzuwenden. PILs-basierte Hydrogele und solche auf Polyelektrolytbasis scheinen besonders geeignet, da die Wirkung der ILs gegen gram-positive und gram-negative Bakterien sowie Pilze und Algen bereits recht ausführlich in der Literatur beschrieben wurde.<sup>[83,97]</sup> Vor allem ILs mit Imidazolium-, Pyridinium- und quaternärer Ammoniumstruktur erzielten hervorragende Ergebnisse.<sup>[98]</sup> Aufgrund ihrer Größe sind Hydrogele natürlich nicht in der Lage in die Bakterien einzudringen, sondern rufen den Zelltod durch die Zerstörung der Zellmembran hervor und gehören somit zu den primären Bakteriziden. Voraussetzung für die erfolgreiche Wirkung sind COULOMB'sche Wechselwirkungen, die zwischen den negativ geladenen Teilen der bakteriellen Membran und den positiv geladenen Hydrogelkomponenten auftreten. Nur wenn diese Anziehungskräfte ausreichend groß sind, werden Teile der Membran in die Nanoporen des Hydrogels gezogen und es kommt zu einer Schädigung der Membran, wodurch ihre Zerstörung und infolgedessen auch der Bakterientod eingeleitet wird

(Abbildung 4.2). Dieser Vorgang geht mit einer Minimierung der Energie sowie einer Maximierung der Entropie einher.<sup>[99]</sup> Zudem läuft der Prozess recht schnell ab und beruht auf einer physikalisch-chemisch Veränderung der Bakterienmembran, was die Entwicklung einer Resistenz stark erschwert.<sup>[100]</sup>

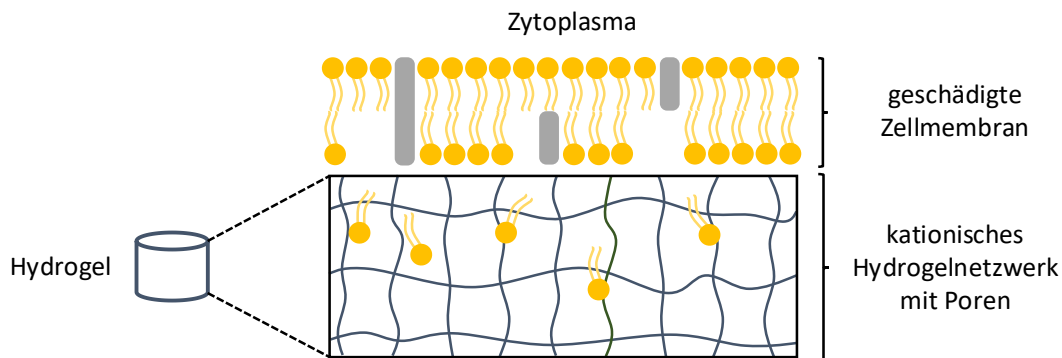


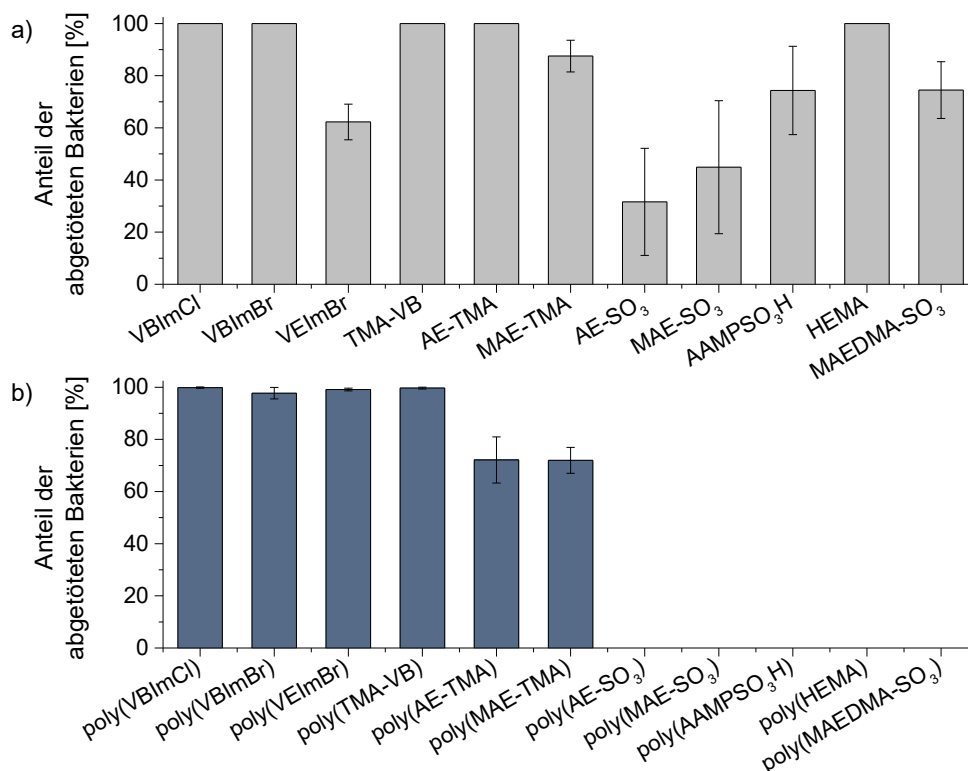
Abbildung 4.2 Wirkmechanismus kationischer Hydrogele. Adaptiert nach Li et al.<sup>[99]</sup>

#### 4.1 Die inhärente antibakterielle Wirkung von Hydrogelen auf Polyelektrolytbasis

Für den medizinischen Gebrauch müssen die potenziellen Materialien einer Reihe von Tests unterzogen werden, um überflüssige Risiken auszuschließen. Vorangegangene Studien attestierten den in dieser Arbeit verwendeten Hydrogelen bereits eine gute bis sehr gute Biokompatibilität sowie eine geringe Toxizität gegenüber Mausfibroblasten.<sup>[28]</sup> Außerdem konnten die Gele ohne strukturelle Veränderung mittels  $\gamma$ -Strahlung sterilisiert werden. Mit **Publikation II<sup>2</sup>** wurde die Charakterisierung der Eigenschaften um die Untersuchung der intrinsischen antibakteriellen Wirkung erweitert. Dazu wurden die in Schema 1.3 dargestellten Monomere sowie die daraus resultierenden Hydrogele hinsichtlich ihres Effekts auf gram-positive *S. aureus* als auch auf gram-negative *P. aeruginosa* getestet. Des Weiteren ergaben die Experimente auch Aufschluss über die Länge der Wirkdauer. Dies ist das erste Mal, dass ein so breit gefächertes Screening mit Hydrogelen unterschiedlichster Struktur und Ladung durchgeführt wurde.

In der höchsten Konzentrationsstufe wurden 50  $\mu\text{L}$  Bakterien-Stammlösung mit dem gleichen Volumen an Monomer-PBS-Lösung versetzt. Letztere wies je nach Monomer eine Konzentration von 250 – 400  $\text{mg mL}^{-1}$  auf. Bei dieser Zusammensetzung zeigten alle getesteten Monomere eine Aktivität gegenüber *P. aeruginosa* und töteten mindestens 30% der Bakterien (Abbildung 4.3). Erwartungsgemäß sank die Abtötungseffizienz mit geringerer Monomerkonzentration. Im Fall von AE-SO<sub>3</sub> verschwand der Effekt nahezu, sodass nur noch 6% der gram-negativen Bakterien eliminiert wurden. Mit Blick auf die unterschiedlichen Ladungen zeigten die kationischen Monomere durchgehend eine höhere Effizienz als die anionischen, neutralen oder zwitterionischen Vertreter.

<sup>2</sup> J. Claus, A. Jastram, E. Pikel, R. Bucki, P.A. Janmey, U. Kragl, *J. Appl. Polym. Sci.* **2020**, *138*, 50222.

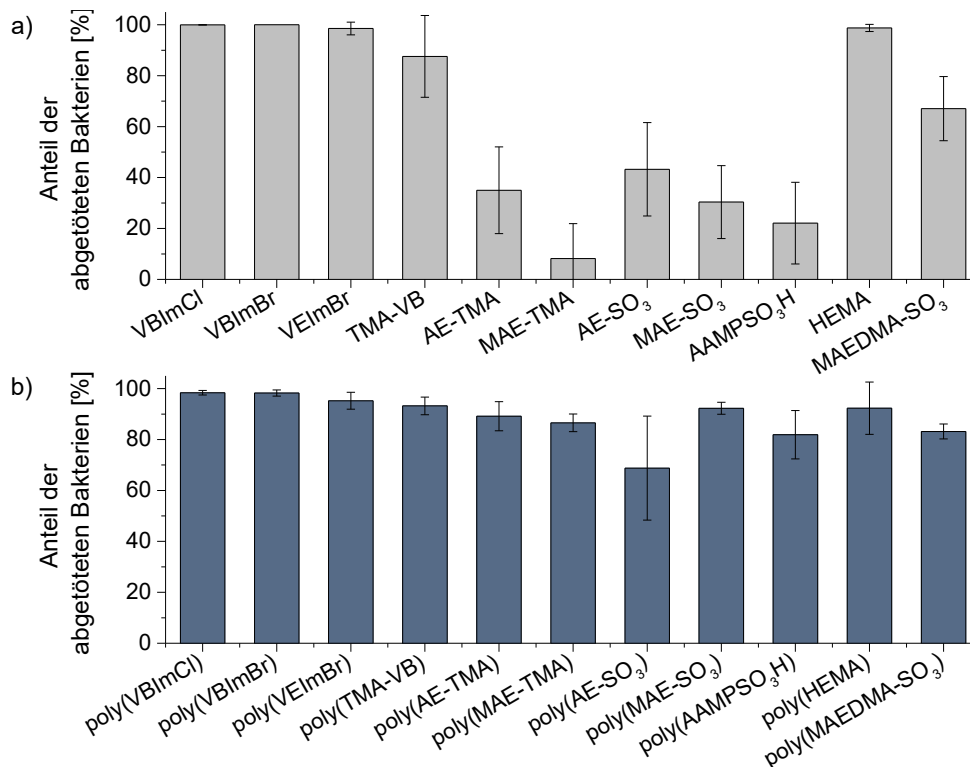


**Abbildung 4.3** Antibakterielle Wirksamkeit gegen *P. aeruginosa* Xen 5 von a) Monomeren und b) Hydrogelen [ a): 50  $\mu$ L Monomerlösung, 50  $\mu$ L Bakterien-Stammlösung; b): 100  $\mu$ L Hydrogel ( $c = 2$  mol/L), 400  $\mu$ L PBS1X, 500  $\mu$ L Bakterien-Stammlösung, 1h Inkubation bei 37  $^{\circ}$ C,  $n = 3$ ].

Mit VBImCl, VBImBr, TMA-VB und AE-TMA besaßen vier der sechs kationischen Substanzen sogar einen 100%igen Effekt und erlaubten kein Bakterienwachstum. Die stärkere Wirkung kationischer Verbindungen wurde auch von anderen Forschungsgruppen beobachtet.<sup>[83]</sup> Verantwortlich dafür ist der Mechanismus über den die getesteten Monomere ihre Wirkung erzielen. Dabei treten die kationischen Substanzen mit den negativ geladenen Phosphat- und Carboxylatgruppen der Zellmembran in Kontakt und es kommt zur Einlagerung ihrer hydrophoben Abschnitte in die Phospholipiddoppelschicht, wodurch Poren in der Hülle entstehen. Je stärker die Wechselwirkungen und je größer die Anzahl der eingelagerten Komponenten, desto poröser wird die Membran bis die Zellorganellen schließlich austreten und das Bakterium stirbt.<sup>[101]</sup> Dieser Mechanismus wurde ebenfalls für viele nichtpolymere und polymere Bakterizide mit kationischen sowie neutralen Komponenten gezeigt.<sup>[102]</sup> Eine attraktive Interaktion mit den anionischen Vertretern erscheint auf den ersten Blick eher unwahrscheinlich, dennoch zeigten diese Substanzen zumindest eine verminderte Aktivität. Sehr wahrscheinlich spielen hier die vorhandenen Gegenionen eine Rolle. In polymerisierter Form sind schließlich nur noch Vertreter mit kationischem Rückgrat in der Lage, das Wachstum der gram-negativen Bakterien zu unterbinden. Mit 97,7% getöteter Bakterien zeigten die imidazoliumbasierten Hydrogele sowie das poly(TMA-VB) die stärkste Wirkung.

In den Experimenten mit der höchsten Konzentrationsstufe erreichten erneut fast alle Monomere gegenüber *S. aureus* Abtötungseffizienten von mindestens 30%, lediglich AE-TMA wies eine geringere Aktivität auf (Abbildung 4.4). Die imidazolhaltigen Proben erzielten die besten Ergebnisse und vernichteten mindestens  $98,5 \pm 2,5\%$  der Bakterien im Fall von VEImBr bis hin zur Abtötung aller Organismen in der Messreihe mit VBImBr. Ähnlich gut war das neutrale HEMA-Monomer mit nur 1% überlebende Bakterien nach Ablauf der Inkubationszeit. Durch den Vergleich der Ergebnisse

vor und nach der Polymerisation fällt auf, dass die Verknüpfung zu Polymernetzwerken für die meisten Substanzen mit einer Steigerung der antibakteriellen Aktivität einherging. Möglicherweise ist dies eine Folge des osmotischen Druckgradienten zwischen der Bakterienzelle und dem Hydrogel.



**Abbildung 4.4** Antibakterielle Wirksamkeit gegen *S. aureus* MRSA Xen 30 von a) Monomeren und b) Hydrogelen [ a): 50  $\mu$ L Monomerlösung, 50  $\mu$ L Bakterien-Stammlösung; b): 100  $\mu$ L Hydrogel (c = 2 mol/L), 400  $\mu$ L PBS1X, 500  $\mu$ L Bakterien-Stammlösung; 1h Inkubation bei 37  $^{\circ}$ C, n = 3].

Das Bestreben zur Adsorption großer Wassermengen ist charakteristisch für Hydrogele und wird in vielen Bereichen gezielt eingesetzt. Wie beispielsweise in der Verwendung als Ziehmittel in osmotischen Prozessen kann dieser Effekt auch hier zum Tragen kommen.<sup>[103]</sup> Es wird angenommen, dass die Bakterienzelle je nach Quellungsgrad des Hydrogels unterschiedlich stark von diesem dehydriert und somit die antibakterielle Wirksamkeit verstärkt wird. Die Ausbildung einer Hydrogel-Bakterien-Grenzfläche erleichtert den Wassertransport. Da die Hydrogele zu groß sind, als dass sie in die Bakterienmembran eindringen könnten, kommt es zur Adhäsion des Bakteriums auf der Hydrogeloberfläche, wodurch die genannte Grenzfläche entsteht. Entsprechend dieser These gehen die hohen Quellungsgrade von 13,7 für poly(MAE-TMA) und 20,8 für poly(TMA-VB) mit der deutlichen Aktivitätssteigerung beider Proben nach der Polymerisation einher. Ebenso lässt sich die nahezu unveränderte Aktivität von HEMA und poly(HEMA) durch die sehr schwache Quellung des Polymers erklären.<sup>[28]</sup> Alles in allem konnte selbst poly(AE-SO<sub>3</sub>) als das Hydrogel mit der geringsten Aktivität noch 68% der gram-positiven *S. aureus* abtöten. Um die Auswirkungen einer Volumenverringerung zu testen, wurde das Hydrogelvolumen von den ursprünglichen 100  $\mu$ L auf 50  $\mu$ L und 25  $\mu$ L reduziert. Dadurch kommt es auch zu einer Verkleinerung der Kontaktfläche, dennoch besaßen poly(VBImBr) und poly(VBImCl) eine sehr starke Wirksamkeit. Somit schnitten die beiden Vertreter besser ab als das poly(VEImBr), welches nur noch knapp 58% der Bakterien abtötete. Auch in den Monomereexperimenten wurde dieser Unterschied zwischen den Substanzen beobachtet. Somit scheint die Kettenlänge einen größeren Einfluss auf die antibakterielle Wirkung

zu haben als das Gegenion. Unterstützt wird diese Annahme durch den zuvor beschriebenen Mechanismus (Abbildung 4.2). Da die längere C4-Kette hydrophober ist als eine C2-Kette, kann sie die Phospholipiddoppelschicht deutlich stärker perforieren und fördert somit den Zelltod. Ähnliche Beobachtungen machten ZHENG et al. in ihren Untersuchungen mit verschiedenen ILs dieser Art.<sup>[87]</sup>

Wie die unterschiedlichen Ergebnisse aus den Messungen belegen, ist die Wirksamkeit gegenüber den gram-positiven *S. aureus* nicht auf die gram-negativen *P. aeruginosa* übertragbar. Es ist bekannt, dass gram-positive Bakterien wie die *S. aureus* im Vergleich zu den gram-negativen Spezies eine generell erhöhte Anfälligkeit gegenüber Bakteriziden zeigen.<sup>[104]</sup> Auch in den Messungen zu Publikation II traten starke Unterschiede hinsichtlich des antibakteriellen Effekts auf, welche äußerst wahrscheinlich auf die strukturellen Unterschiede der Zellhüllen beider Bakterienarten zurückzuführen ist (Abbildung 4.1) Ausschlaggebend sind hier einerseits die Teichonsäuren der gram-positiven Bakterien, welche bis in den extrazellulären Raum ragen und dort mit anderen Substanzen interagieren können. Aufgrund ihrer Verankerung in der Phospholipiddoppelschicht sowie dem Verlauf durch die Peptidoglykanschicht begünstigen die negativ geladenen Teichonsäuren das Eindringen fremder Stoffe. Andererseits besitzen gram-negative Bakterien eine zweite Phospholipiddoppelschicht, die als äußere Membran fungiert und damit eine zusätzliche Barriere darstellt. Die negativ geladenen Lipopolysaccharide in der Hülle sind zwar vorteilhaft für den Kontakt mit kationischen Substanzen, spielen aber im Zusammenhang mit den Hydrogelen kaum eine Rolle, da die eingeschränkte Beweglichkeit der kationischen Hydrogelkomponenten gepaart mit der natürlichen Barriere der zweiten Membran diesen Effekt überwiegen.<sup>[105]</sup>

## 5 PILs-basierte Hydrogele als Immobilisierungsmatrix in der Katalyse

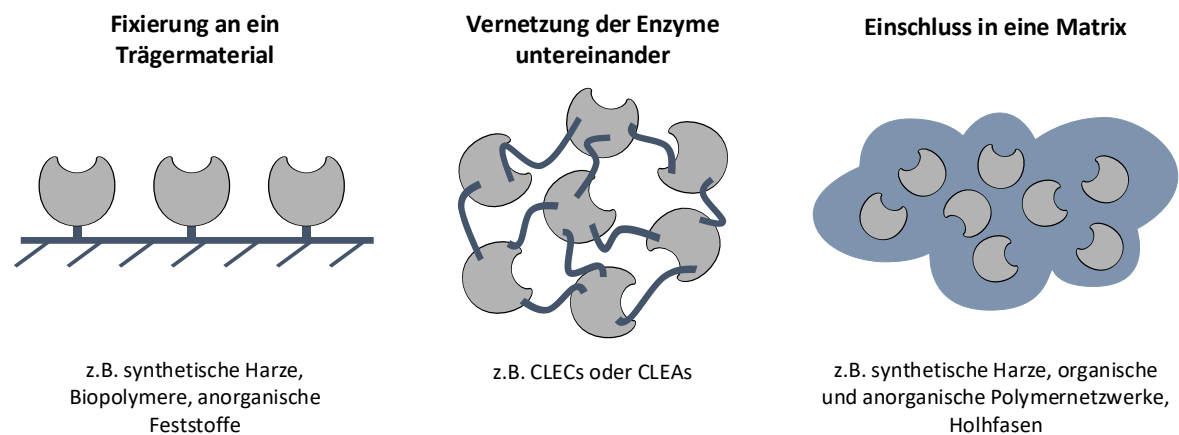
Wie in Publikation I untersucht, besitzen die getesteten Hydrogele sehr interessante rheologische Eigenschaften und eine hohe mechanische Belastbarkeit, wodurch sie für eine Verwendung als Immobilisierungsmatrix von großem Interesse sind. Mit dem Ende der 1980er Jahre wuchs zunehmend das Interesse an der Entwicklung umweltschonender und nachhaltiger Prozesse. Heute sind die Prinzipien der *Green Chemistry* ein fundamentaler Bereich der Forschung sowie ein ständiger Begleiter des chemischen Arbeitens – vor allem im industriellen Bereich. Neue Prozesse müssen den wachsenden Forderungen in Bezug auf ihre Umweltverträglichkeit sowie Nachhaltigkeit entsprechen, ohne dabei den Kostenaspekt zu vernachlässigen.<sup>[106]</sup> Mit Blick auf die ökologischen Aspekte erwiesen sich die enzymkatalysierten Syntheserouten als besonders interessante Alternative, weshalb die Zahl der biotechnologischen Prozesse im industriellen Sektor zunehmend wächst. In den meisten Fällen ist der großtechnische Einsatz von Enzymen aber nicht problemlos möglich, da diese aufgrund ihres natürlichen Ursprungs für andere Arbeitsbedingungen ausgelegt sind. In den letzten drei Jahrzehnten hat sich die Immobilisierung als Schlüsseltechnologie zur Lösung dieses Problems herauskristallisiert, sodass der Großteil der biokatalytischen Prozesse im industriellen Segment heute auf der Verwendung von immobilisierten Enzymen basiert.<sup>[107]</sup> Obwohl derzeit bereits ein breites Spektrum an etablierten Immobilisierungsmethoden mit den entsprechenden Materialien am Markt ist, bleibt das Interesse an neuen Materialien aufgrund der steigenden Zahl an biotechnologischen Anwendungen im industriellen Maßstab weiterhin groß.

## 5.1 Immobilisierung von Biokatalysatoren

Im Vergleich zu den metallbasierten und oft toxischen Chemokatalysatoren bieten Biokatalysatoren zahlreiche Vorteile. Bedingt durch ihren natürlichen Ursprung befinden sie sich bereits unter milden Reaktionsbedingungen wie Wasser als Reaktionsmedium, einem physiologischen pH-Wert, atmosphärischen Druck sowie gemäßigter Temperaturen in ihrem optimalen Arbeitsbereich und erreichen nicht selten sehr hohe Aktivitäten. Zudem besitzen sie oft ausgeprägte Chemo-, Regio- und Stereoselektivitäten und können nach ihrer Erschöpfung biologisch abgebaut werden.<sup>[107,108]</sup> Trotzdem ist die Überführung in den großtechnischen Maßstab oftmals eine Herausforderung, weil es gilt den Ansprüchen der verschiedenen Katalysatorstrukturen gerecht zu werden ohne dabei die Wirtschaftlichkeit des Prozesses aus den Augen zu verlieren. Hierbei spielt die Rückgewinnung der Biokatalysatoren eine zentrale Rolle. Diese ist im Allgemeinen sehr aufwendig und unter Umständen mit hohen Kosten verbunden, weshalb ganze Zellen aber auch Enzyme häufig bereits nach einmaligem Gebrauch verworfen werden. Zur Senkung der Katalysatorkosten pro Kilogramm Produkt hat sich die Immobilisierung als Schlüsseltechnologie im industriellen Bereich etabliert. Dabei fallen zwar zusätzliche Kosten für Träger- oder Matrixmaterialien an, die aber oftmals toleriert werden, da die Vorteile der heterogenen Katalyse in diesem Zusammenhang fast immer überwiegen.<sup>[109]</sup> Die unkomplizierte und rückstandslose Entfernung des immobilisierten Biokatalysators aus dem Prozessstrom sowie dessen Rezyklierung führen in der Regel zu einer Vereinfachung der Prozessstruktur, einer erhöhten Produktreinheit und der Reduktion des ökologischen Fußabdruckes.<sup>[110,106]</sup> Außerdem ermöglicht der Übergang von homogener zu heterogener Katalyse den Einsatz von Enzymen im kontinuierlichen Betrieb mit anderen Reaktorkonzepten.<sup>[107,111]</sup> Direkte Folgen für den Biokatalysator äußern sich in einer gesteigerten Stabilität und einer erhöhten Widerstandsfähigkeit gegenüber organischen Lösungsmitteln, da die Entfaltung und Denaturierung der Proteine durch die Immobilisierung unterbunden wurden.<sup>[112]</sup>

Grundsätzlich kann zwischen reversiblen und irreversiblen Methoden unterschieden werden, je nachdem ob die Trennung von Katalysator und Träger bzw. Matrix unter milden Bedingungen problemlos möglich ist oder nicht. Prinzipiell gibt es drei Immobilisierungsmethoden, die bei der Arbeit mit Enzymen eine führende Rolle spielen: Bindung an ein Trägermaterial, Quervernetzung, Einschlussimmobilisierung (Abbildung 5.1). Aufgrund der Komplexität des Katalysators wird indessen im Umgang mit ganzen Zellen die Einschlussimmobilisierung klar favorisiert. Die *Bindung an ein Trägermaterial* ist die populärste Methode, bei der die Art der Wechselwirkungen zwischen dem immobilisierten Enzym und dem Trägermaterial die chemischen, biochemischen, mechanischen und kinetischen Eigenschaften des Immobilisates bestimmen. Die Verknüpfung kann beispielsweise durch hydrophobe, van-der-Waals- oder ionische Wechselwirkungen erfolgen. Diese physikalischen Kräfte sind relativ schwach und unterliegen im Allgemeinen den Reaktionsbedingungen der industriellen Prozesse. Deshalb werden Enzyme üblicherweise kovalent an einen vorgefertigten Träger gebunden. Beliebte Materialien dafür sind synthetische Harze, Biopolymere basierend auf Cellulose, Stärke, Agarose oder Chitosan aber auch anorganische Feststoffe wie Zeolithe oder mesoporöse Silikate.<sup>[113]</sup> Ein Nachteil dieser Technik liegt häufig in einer verringerten Aktivität bedingt durch die Abschirmung des aktiven Zentrums.<sup>[114]</sup> Die zweite Methode ist seit Mitte des 20. Jahrhunderts bekannt und beruht auf einem Extremfall der kovalenten Bindung, welche in der *Quervernetzung der Enzyme* untereinander zu wasserunlöslichen Partikeln besteht. Auf den Einsatz eines zusätzlichen Trägermaterials kann verzichtet werden, da das Enzym

gewissermaßen als sein eigenes Trägermaterial fungiert. Die Verknüpfung erfolgt im Wesentlichen über die Interaktion der Aminogruppen an der Enzymoberfläche mit einem bifunktionellen Reagenz, häufig Glutaraldehyd. Dies bietet den Vorteil einer sehr hohen Enzymdichte im Immobilisat. Im Wesentlichen gibt es zwei recht ähnliche Formen, die CLECs (engl. Cross-Linked Enzyme Crystals) und die CLEAs (engl. Cross-Linked Enzyme Aggregates).<sup>[115]</sup> Nachteile bestehen in der schlechten Reproduzierbarkeit sowie der geringen mechanischen Stabilität, welche durch den Einschluss der Biokatalysatoren in eine Matrix deutlich verbessert werden kann. Die *Einschlussimmobilisierung* bezeichnet die Einbettung ganzer Zellen oder isolierter Enzyme in Polysaccharide, synthetische Harze, Zeolithe, organische sowie anorganische Polymernetzwerke aber auch in Hohlfasern oder Mikrokapselfasern.<sup>[116]</sup> In allen Fällen soll keine chemische Interaktion zwischen der Matrix und dem eingeschlossenen Biokatalysator stattfinden. Charakteristisch für diese Immobilisierungsmethode ist zudem die eingeschränkte Diffusion der Stoffe aufgrund der Matrixbeschaffenheit. Vor allem bei der Mikroverkapselung von Enzymen erweist sich diese Methode aufgrund der unter Umständen großen Substrate als ungeeignet. Umso wichtiger ist die Wahl der geeigneten Matrix, sodass der Stofftransport keine zusätzlichen Einschränkungen erfährt und sowohl Reaktanten als auch Produkte das Matrixnetzwerk passieren können. Eine mögliche Migration des Biokatalysators in das umgebende Nähr- oder Reaktionsmedium sollte durch die Maschenweite der Matrix weitestgehend unterbunden werden. Dennoch kommt es häufig doch zum Austritt des Katalysators, dem so genannten Leaching, und einer herabgesetzten Enzymaktivität bedingt durch die Struktur der Matrix. Ein entscheidender Vorteil dieser Methode liegt hingegen in der Anwendbarkeit auf Ganzellsysteme.<sup>[108,113]</sup>



**Abbildung 5.1** Immobilisierungsmethoden für Enzyme.

Die Wahl des richtigen Trägermaterials spielt also eine große Rolle und orientiert sich stark an der anvisierten Reaktorkonfiguration, der Aufarbeitungsart und den charakteristischen Produktmengen im entsprechenden Branchensektor. Idealerweise sollten die Materialien folgende Punkte erfüllen: inert gegenüber dem Reaktionssystem, kostengünstig, strapazierfähig mit einer hohen mechanischen Stabilität, regenerierbar, positive Beeinflussung der Enzymaktivität oder -spezifität, geringe mikrobielle Kontamination, reduzierte Produktinhibition sowie geringe unspezifische Adsorption.<sup>[113,117]</sup>

## 5.2 Anwendungsbeispiel als Matrix zur Einschlussimmobilisierung von Enzymen

Mit der Erforschung neuer Materialien gilt es die geschilderten Schwächen der Immobilisierung weitestgehend zu beseitigen. Auf der Suche nach attraktiven Alternativen zu den etablierten Immobilisierungsmaterialien taten sich im Bereich der Einschlussimmobilisierung vor allem die Verkapselungen von Enzymen in polymerisierten ILs hervor. Schon im Jahr 2000 wurde der positive Einfluss der ILs als Reaktionsmedium in biokatalytischen Reaktionen erstmals beschrieben und ist mittlerweile hinreichend bekannt.<sup>[118]</sup> In der polymerisierten Form besitzen diese Materialien nicht nur die polymertypischen Eigenschaften, sondern ebenfalls die vielversprechenden Aspekte der ILs, welche in der guten Ionenleitfähigkeit, der thermischen und chemischen Stabilität sowie der modifizierbaren Zusammensetzung liegen. Dadurch bieten sie in mehreren Forschungsbereichen wie der Sensortechnik, der Material- und Umweltforschung aber eben auch in der Biokatalyse interessante Anwendungsmöglichkeiten.<sup>[119]</sup> So testeten GOTO et al. den Einschluss der Merrettichperoxidase in pILs-Mikropartikeln, die durch Polymerisation eines IL-Monomers in einer konzentrierten Wasser-in-Öl-Emulsion hergestellt wurden.<sup>[120]</sup> Das eingekapselte Enzym wurde chemisch mit wabenförmigen PEG-veredelten Molekülen modifiziert und zeigte anschließend mehr als die doppelte Aktivität verglichen mit einem in Polyacrylamid mikroverkapselten Enzym. Außerdem konnte die Peroxidase durch die Bildung von wässrigen Mikroemulsionstropfen in einer hydrophoben IL gelöst werden ohne dabei ihre katalytische Aktivität einzubüßen.<sup>[121]</sup> Dieselbe Forschungsgruppe berichtete später auch über die erfolgreiche Verkapselung einer Lipase aus *Candida rugosa* in Tensidaggregaten, die in einem pILs-Monomer (VEImTf<sub>2</sub>N) gebildet wurden. In der Lipase-katalysierten Hydrolyse von *p*-Nitrophenylbutyrat zeigte das Immobilisat über fünf Zyklen eine ausgezeichnete Stabilität.<sup>[122]</sup>

Die pILs-basierten Hydrogele besitzen außerdem den Vorteil eines einstellbaren Wassergehaltes, welcher die Proteinfaltung der Enzyme unterstützt und somit eine gute Ausgangssituation für deren Einschlussimmobilisierung bietet. GROßEHEILMANN et al. zeigten bereits ihre Tauglichkeit im Bereich der Organokatalyse, indem sie einen chininbasierten Organokatalysator erfolgreich in poly(VEImBr) verkapselten. In der asymmetrischen Nitroaldol-Reaktion erreichte das Immobilisat sehr gute Enantioselektivitäten von bis zu 91%.<sup>[123]</sup> Durch den Einschluss eines flüssigen Rohextrakts der *Candida antarctica* Lipase B (CalB) in poly(VEImBr) wurde die Anwendbarkeit auf die Biokatalyse untersucht. Bei der CalB handelt es sich um eine aus basidiomycetischen Hefen stammende Lipase, welche in der Literatur sehr umfassend beschrieben ist und häufig zur Erprobung neuer Reaktionsbedingungen und -modellen in der Forschung eingesetzt wird. Gründe dafür sind unter anderem die große Temperaturstabilität bis 60 °C, das breite Substratspektrum gegenüber einer Vielzahl nicht-natürlicher Ester bis hin zu Carbonsäuren und Alkoholen sowie der erfolgreiche Einsatz in organischen Lösungsmitteln und anderen nicht konventionellen Reaktionsmedien.<sup>[124]</sup> Wie in **Publikation III**<sup>3</sup> beschrieben, wurde die verkapselte CalB in der kinetischen Racematspaltung von *rac*-1-Phenylethanol mit Vinylacetat in *n*-Dodecan getestet und erzielte hohe Enantioselektivitäten von >99%. Zudem konnte nach der Immobilisierung weder ein Aktivitätsverlust noch ein Herauswaschen des Enzyms aus der Matrix nachgewiesen werden. Ein Vergleich mit den etablierten Lipase-Immobilisaten NOVOZYM 435 und LIPOZYM RM IM ergab, dass die Hydrogel-immobilisierte CalB zwar 44% Ausbeute erreichte, dies allerdings erst nach 49 h. Die kommerziell erhältlichen Produkte

<sup>3</sup> A. Grollmisch, U. Kragl, J. Großeheilmann, *SynOpen* **2018**, 2, 0192-0199.

erreichten bereits nach 5 h Ausbeuten von 49% (NOVOZYM 435) bzw. 47% (LIPOZYM RM IM). Die beobachtete Abweichung lässt sich höchstwahrscheinlich mit der reduzierten Diffusion der Stoffe aufgrund der polymeren Struktur sowie dem relativ hohen Wassergehalt im Hydrogel erklären. Letzterer ist zwar für die Enzymfaltung vorteilhaft, stört jedoch die Reaktion, indem das Wasser die Bildung von Acetaldehyd als unerwünschtes Nebenprodukt der Reaktion förderte und somit eine eventuelle Deaktivierung des Enzyms durch die Bildung von SCHIFF'schen Basen mit den Lysinresten begünstigte.<sup>[125]</sup> Für einen objektiven Vergleich sollte außerdem die Verschiedenheit der angewendeten Immobilisierungsmethoden berücksichtigt werden. Bei der Herstellung von NOVOZYM 435 wird eine *Candida antarctica* Lipase B durch Grenzflächenaktivierung auf ein makroporöses Acrylpolymerharz adsorbiert.<sup>[126]</sup> Im Fall des LIPOZYM RM IM erfolgt die Fixierung des Enzyms auf einem schwachen Anionenaustauscherharz bestehend aus Phenol-Formaldehyd-Copolymeren mittels ionischer und adsorptiver Wechselwirkungen.<sup>[127]</sup> Die Übertragbarkeit auf andere Lipasen erwies sich als möglich, wenn auch das flüssige CalB-Rohextrakt mit einer Ausbeute von 44% das beste Ergebnis erzielte. Allerdings zeigten die Immobilisate der gefriergetrockneten CalB mit 40% und der Amano PS mit 37% Ausbeute immer noch eine gute Aktivität.

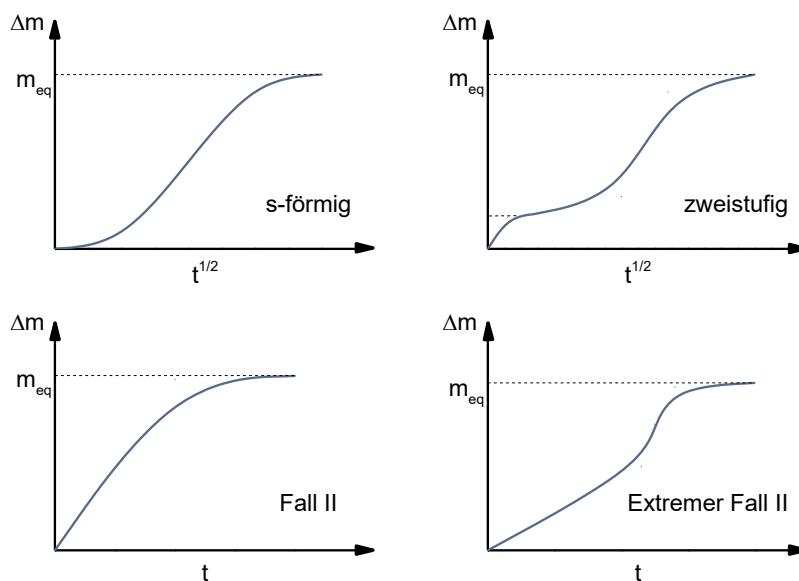
## 6 Quellung, Transport und Diffusion in Hydrogelen

In den vorangegangenen Abschnitten dieser Arbeit wurden bereits die rheologischen und mechanischen Charakteristika sowie die inhärente antibakterielle Wirkung als attraktive Merkmale der Hydrogele ausführlich betrachtet. Viele der beschriebenen Anwendungsmöglichkeiten basieren außerdem auf der Fähigkeit zur Aufnahme und Speicherung großer Flüssigkeitsmengen, was häufig mit einer starken Quellung der Hydrogele einhergeht, bis sie durch die Abgabe der Flüssigkeit wieder zu kleineren Volumina zurückkehren. Die hohe Affinität besteht vor allem gegenüber Wasser, aber auch zu anderen polaren Lösungsmitteln, und basiert auf den hydrophilen Komponenten der Polymernetzwerke, welche die Einlagerung der Lösungsmittelmoleküle in das Polymerrückgrat bedingen. Aufgrund der Bindungen und Verflechtungen innerhalb des Gerüsts bleibt die dreidimensionale Form während dieses Prozesses erhalten, sodass die Quellung reversibel verläuft.<sup>[128]</sup> Für die zielorientierte und optimale Nutzung dieser Eigenschaft müssen je nach Verwendung verschiedene Parameter bekannt sein. Diese werden in der Regel durch die zeitliche Verfolgung der Massenzunahme des Hydrogels nach Zugabe zum Lösungsmittel zugänglich. Diese gravimetrischen Quellversuche stellen die geläufigste Methode zur Untersuchung der Quell- und Diffusionseigenschaften von Hydrogelen dar und bestechen durch ihren simplen experimentellen Aufwand. Hinsichtlich der grafischen Präsentation der Messdaten gibt es verschiedene Möglichkeiten wie beispielsweise die Charakterisierung über den Quellungsgrad  $S$  (häufig auch als  $q_t$  bezeichnet), welcher in Abhängigkeit von der Zeit  $t$  aufgetragen wird. Dieser ergibt sich aus der aufgenommenen Wassermenge zum Zeitpunkt  $t$  ( $M_t - M_0$ ) bezogen auf die Trockenmasse des Hydrogels  $M_0$  und wird häufig auch als prozentuale Angabe ( $S\%$ ) gehandhabt (Formel (0.6)) Typischerweise quellen die Proben anfangs stärker, sodass die Kurven einen recht steilen Anstieg besitzen. Über die Zeit wird die Quellrate kleiner und geht schließlich gegen Null, sobald das Gleichgewicht erreicht ist. In diesem Zustand wird der Quellungsgrad  $S$  schließlich als  $S_\infty$  bezeichnet. Die quantitative Repräsentation der absorbierten Wassermenge erfolgt häufig durch den Wassergehalt im Hydrogel zum Zeitpunkt des Gleichgewichts, der über den Quotienten aus der aufgenommenen Wassermenge im Gleichgewicht ( $M_\infty - M_0$ ) durch die Gleichgewichtsmasse der Probe berechnet wird (Formel (0.7)).<sup>[129]</sup> Als wichtige Besonderheit der Hydrogele wird häufig auch

die Quellrate bestimmt. Neben anderen physikochemischen Parametern wird sie vor allem durch den Porositätsgrad und die Art der Porosität bestimmt.<sup>[130]</sup> Da Hydrogele oft auch zur Freisetzung von Medikamenten, Düngemitteln und anderen Komponenten genutzt werden und außerdem das Potenzial als Matrix in der Katalysatorimmobilisierung besitzen, ist die tiefere Kenntnis über kinetische Parameter sowie über die ablaufenden Quell- und Transportmechanismen unabdingbar.

## 6.1 Kinetische Betrachtung der Quellprozesse

Der Quellvorgang ist ein kontinuierlicher Übergang des Polymers vom glasartigen in den gummiartigen Zustand, bei dem die auftretenden Quellmechanismen nicht immer durch die FICK'schen Gesetze, also als Teilchenbewegung entlang eines Konzentrationsgefälles beschrieben werden können. Auch wenn diese häufig zur Charakterisierung der Lösungsmittelaufnahme in gummiartige Polymere verwendet werden, so verhält sich der Prozess in glasartigen Vertretern jedoch deutlich komplexer. Allgemein lassen sich für den Molekültransport während der Quellung drei verschiedene Mechanismen unterscheiden. Liegt die Temperatur des Mediums deutlich über der Glasübergangstemperatur  $T_g$  des Polymers, folgt der Prozess der FICK'schen Diffusion, welche auch als Fall I-Transport bezeichnet wird. Kennzeichnend für diesen Prozess ist die hohe Mobilität der Polymerketten im gummiartigen Zustand, weshalb das Lösungsmittel relativ leicht in die Probe eindringen kann. Im Vergleich zur Relaxationsrate der Polymerketten ( $R_{relax}$ ), ist die Diffusionsrate ( $R_{diff}$ ) also deutlich geringer ( $R_{diff} \ll R_{relax}$ ). Eine Abweichung vom FICK'schen Verhalten ist schließlich bei Messungen im Bereich der  $T_g$  sowie darunter zu beobachten, da die starren Ketten ein rasches Eindringen des Lösungsmittels in das glasartige Polymer verhindern.<sup>[131]</sup> Dabei gibt es Unterschiede hinsichtlich der Verhältnisse von  $R_{diff}$  und  $R_{relax}$  zueinander, sodass das nicht-FICK'sche Verhalten in zwei Untergruppen gegliedert werden kann. Erfolgt die Diffusion in die Probe deutlich schneller als die beobachtbare Neuausrichtung der Polymerketten ( $R_{diff} \gg R_{relax}$ ), ist dies typisch für einen Fall II-Transport. Bei anormalem Verhalten sind beide Raten ungefähr gleich groß, sodass  $R_{diff} \approx R_{relax}$ .<sup>[132]</sup>



**Abbildung 6.1** Typische Sorptionskurven von nicht-FICK'schen Diffusionsprozessen. Adaptiert nach KRÜGER<sup>[133]</sup>

Nicht-Fick'sche Diffusionsprozesse sind äußerst interessant und wurden intensiv erforscht. Im Allgemeinen werden sie anhand der für sie typischen Sorptionskurven identifiziert (Abbildung 6.1). Bei der anormalen Diffusion werden, abhängig von der Messtemperatur, zwei Verläufe unterschieden. Sigmoidale Kurven entstehen, wenn weit unterhalb der  $T_g$  gemessen wird. Knapp unterhalb werden hingegen zweistufige Verläufe beobachtet.<sup>[133]</sup> In manchen Fällen ist eine eindeutige Zuordnung zur jeweiligen Gruppe trotzdem schwierig.<sup>[134]</sup> Fick'sche Sorptionskurven hingegen besitzen das typische Erscheinungsbild, in dem die Massenzunahme über einen weiten Bereich, der mindestens 60% der Gleichgewichtsmasse entspricht, linear zu  $t^{1/2}$  ist. Oberhalb dieses Abschnittes verlaufen sie konkav zur Abszisse. In Tabelle 6.1 sind die Abhängigkeiten zwischen der Massenzunahme  $\Delta m$  und der Messzeit  $t$  für ausgewählte Diffusionsarten zusammengetragen.

Zur mathematischen Beschreibung der Quellkinetik wurden in den Jahren zahlreiche Modelle veröffentlicht, welche im Wesentlichen drei verschiedene Ansätze abdecken. Die erste Kategorie umfasst Diffusionsmodelle, deren Beschreibung der Lösungsmittelverteilung in Polymeren auf den FICK'schen Gesetzen fußen. Die beschriebenen Sorptionskurven zeigen stets einen typischen Verlauf, der aus einem linearen Anstieg in Abhängigkeit von  $t^{1/2}$  besteht, bevor der Graph abflacht und schließlich parallel zur Abszisse auf einem Gleichgewichtsplateau endet. Ohne weitere Ergänzungen können sigmoidal verlaufende Kurven mit diesen Modellen nicht ausreichend beschrieben werden.<sup>[135]</sup> Zur zweiten Gruppe gehören die kollektiven Diffusionsmodelle, welche den Quellprozess als Expansion des Polymernetzwerkes beschreiben. Sie wurden ursprünglich von TANAKA et al entwickelt, gelten aber nur für kleine Volumenänderungen und sind somit nicht auf sigmoidale Verläufe anwendbar.<sup>[136]</sup> Letztere sind ein Zeichen für größere Volumenänderungen und implizieren häufig ein nicht-FICK'sches Verhalten. Für gewöhnlich sind eine variable Oberflächenkonzentration, ein von der Quellgeschwindigkeit abhängiger Diffusionskoeffizient  $D$ , die Neuausrichtung der Polymerketten sowie auftretende Spannungen zwischen unterschiedlich stark gequollenen Netzwerkteilen verantwortlich für die Abweichung vom FICK'schen Ideal. Diese Punkte wurden schließlich in den Modellen von CRANK et al. und JOSHI et al. erfolgreich berücksichtigt, sodass eine zuverlässige Vorhersage von sigmoidal verlaufenden Sorptionskurven basierend auf größeren Volumenänderungen möglich ist.<sup>[76,137]</sup> Allerdings wird die Grenzflächendiffusion nicht berücksichtigt und zur Anpassung an die experimentellen Daten sind mehr als zwei Parameter nötig. Zudem kann  $D$  je nach Zusammensetzung variieren. MAZICH et al. fanden schließlich heraus, dass die Nutzung der FICK'schen Gesetze unter Anpassung der Randbedingungen sowie mit Festlegung eines pauschalisierten Koeffizienten zur Beschreibung von nicht-FICK'schem Verhalten für die meisten quellenden Polymere durchaus geeignet ist.<sup>[138]</sup> Zur Untersuchung der Diffusionsart in Polymeren setzte sich deshalb die grafische Bestimmung über Gleichung (0.8) mit den systemspezifischen Konstanten  $k$  und  $n$  durch.<sup>[139]</sup> Dabei steht  $n$  für den jeweiligen Diffusionsexponenten, der von der Probengeometrie und der Art der Lösungsmittelaufnahme bzw. der Stofffreisetzung abhängt. Somit gibt die Ermittlung des Exponenten Auskunft über die Art des vorliegenden Transportmechanismus. Im Idealfall der FICK'schen Bewegung in einem Polymerfilm ist  $n = 0,5$ . In der Literatur werden vor allem Werte nahe 0,5 oder knapp darüber, seltener auch knapp darunter zu dieser Kategorie gezählt. Es gilt allerdings zu beachten, dass eine sehr geringe  $R_{diff}$  zu  $n < 0,5$  führen kann obwohl definitionsgemäß eine FICK'sche Diffusion vorliegt. Dieser Sonderfall wird in der Fachliteratur häufig als *Less Fickian Behavior* bezeichnet. Ist  $n > 0,5$  weist dies in der Regel auf ein anormales Verhalten hin, während  $n = 1$  dem Fall II-Transport entspricht.<sup>[130,140]</sup>

**Tabelle 6.1** Übersicht zu den Transportmechanismen in Hydrogelen. Adaptiert nach GANJI et al.<sup>[130]</sup>

Diffusionsart	Verhältnis Penetrations- und Relaxationsrate	Diffusionsexponent n	Zeitabhängigkeit
FICK'sche Diffusion	$R_{diff} \ll R_{relax}$	0,5	linear zu $t^{1/2}$
Anormale Diffusion	$R_{diff} \approx R_{relax}$	$0,5 < n < 1$	linear zu $t^{n-1}$
Fall II-Transport	$R_{diff} \gg R_{relax}$	1	proportional zu t

## 6.2 Beispiele für Methoden zur Diffusionsmessung in Hydrogelen

Es gibt viele verschiedene Methoden zur Untersuchung der Diffusion, wovon einige auch auf Polymernetzwerke angewendet werden können. Grundsätzlich wird dabei zwischen makroskopischen und mikroskopischen Techniken unterschieden. Erstere beziehen sich auf Messungen außerhalb des Gels und gehen weder auf die Eigenschaften des Lösungsmittels im Inneren noch auf die Mechanismen der diffusionssteuernden Prozesse ein. Vielmehr werden makroskopische Größen wie die Änderung der Masse registriert, um Rückschlüsse auf die mikroskopisch ablaufenden Prozesse zu ziehen. Hierzu zählen neben den bereits erörterten Quell- und Sorptionsmessungen auch die häufig verwendeten Release-Experimente, bei denen die zeitliche Freisetzung eines im Hydrogel befindlichen Stoffes detektiert wird. Die Beladung des Gels kann dabei entweder direkt oder indirekt erfolgen. Bei der direkten Beladung wird die Substanz zur Syntheselösung gegeben und im Rahmen des Polymerisationsprozesses in das entstehende Netzwerk eingeschlossen. Die indirekte oder auch Gleichgewichtsbeladung ist weniger invasiv, aber mit einem höheren Zeitaufwand verbunden, da das Hydrogel bis zur Gleichgewichtsausbildung in der Beladungslösung verbleibt.<sup>[134,141]</sup> Im Vergleich zu den meisten mikroskopischen Methoden können die genannten makroskopischen Verfahren mittels eines einfachen experimentellen Aufbaus und ohne großen technischen Aufwand betrieben werden. Natürlich können auch komplexere Apparaturen zur Messung genutzt werden. So verwendeten beispielsweise KRÜGER et al. eine Sorptionsanlage mit Magnetschwebewaage, um Sorptionsmessungen von glasartigem Polystyrol bei unterschiedlichen Toluol-Dampfdrücken durchzuführen. Zur Messung wird die Polymerprobe entweder frei in das temperierte Probenrohr gehängt oder in einem Glaskorbchen, welches über eine Feder mit der Magnetschwebewaage verbunden ist, platziert. Danach kann der Probenraum luftdicht verschlossen, evakuiert und schließlich mit dem entsprechenden Partialdruck des Lösungsmittels gefüllt werden.<sup>[142]</sup> Die automatische Aufzeichnung der Messparameter sowie der Schutz der Probe vor äußeren Einflüssen durch die Apparatur minimieren den Arbeitsaufwand und das Fehlerrisiko. Eine andere Möglichkeit bieten DGT-Messungen (engl. Diffusive Gradients in Thin Films), welche im umweltchemischen Sektor zur Bestimmung von chemischen Substanzen in wässrigen Lösungen genutzt werden. Wichtig ist, dass die zu detektierenden Stoffe in einer messbaren Rate durch die Gelschicht diffundieren. Gemessen werden schließlich die Ionen und Komplexe in der wässrigen Lösung, deren Konzentration Rückschlüsse auf die akkumulierte Masse im Gel ziehen lässt. WANG et al. wählten diese Technik, um Agarosegele hinsichtlich ihrer Eigenschaften für verschiedene An- und Kationen zu testen.<sup>[143]</sup>

Im Gegensatz dazu arbeiten mikroskopische Verfahren auf molekularer Ebene und sammeln Informationen über die ablaufenden Prozesse unmittelbar während des Geschehens. Lange Zeit waren solche Messungen nur für große Moleküle mit kleinem  $D$  und längeren Diffusionszeiten möglich. Mittlerweile gibt es Methoden, die beispielsweise auf der konfokalen 1D-Raman-

Spektroskopie basieren und durch ihre hohe zeitliche sowie örtliche Auflösung die Untersuchung kleiner Moleküle ermöglicht.<sup>[144]</sup> Außerdem wurde die Fluoreszenzkorrelationsspektroskopie genutzt, um die Struktur von Hydrogelen auf PEG-basis und deren dynamische Veränderung während des Quellvorgangs zu untersuchen. Andererseits konnte damit auch die Proteingröße und das Diffusionsvermögen verfolgt werden.<sup>[145]</sup> SUN et al. berichteten außerdem über die Untersuchung der Diffusion in agarosebasierten Hydrogelen durch die Aufnahme der UV/Vis-Absorptionsbanden.<sup>[146]</sup> Als effizientes Werkzeug zur Untersuchung von Diffusionsprozessen in Gelen gelten auch die gepulsten Magnetresonanztechniken mit starken Feldgradienten.<sup>[147]</sup> Ihnen liegt die 1950 durch ERWIN HAHN beschriebene Spin-Echo-Sequenz zugrunde. Dabei werden Teilchen mit Eigendrehimpuls, welche in einem statischen Magnetfeld um ihre Larmorfrequenz präzedieren durch die Schaltung eines Wechselfeldes über die Dauer  $\pi/2$  um  $90^\circ$ , also senkrecht zur Magnetfeldrichtung, ausgelenkt. Nach einer bestimmten Zeitspanne  $t$ , in der die Spins durch unterschiedliche Rotationsgeschwindigkeiten sowie Inhomogenitäten im Magnetfeldes dephasieren, wird das Wechselfeld erneut geschaltet. Dieses Mal allerdings doppelt so lange ( $\pi$ ), sodass die Spins um  $180^\circ$  gedreht und erneut senkrecht zum Magnetfeld stehen. Würde keine Diffusion vorliegen, so würden alle Spins nach der Zeit  $t$  wieder in Phase sein und ein Echo erzeugen. Aufgrund der Diffusion bewegen sich die Moleküle jedoch während dieses Vorgangs, weshalb das Echo abnimmt.<sup>[148]</sup> Die Quermagnetisierung ist außerhalb der Probe messbar, wodurch die Aufnahme orts aufgelöster Prozesse ermöglicht und somit eine Echtzeitüberwachung des Lösungsmitteltransportes in feste Systeme geliefert wird. Zu diesen Methoden zählt auch die Magnetresonanztomographie (MRT), welche üblicherweise in der medizinischen und biologischen Diagnostik eingesetzt wird. Sie ist nichtinvasiv und dient der Darstellung von Geweben und Strukturen in lebenden Organismen oder von festen Materialien. Im Bereich der Hydrogele kann sie eingesetzt werden, um Informationen über mögliche abnormale Diffusionsprozesse zu erhalten, die Freisetzung von Medikamenten zu kontrollieren oder die Fixierung von Hydrogelen in der Gewebeersatztechnologie zu überprüfen. Der Vorteil gegenüber konventionellen Praktiken besteht in der Informationsbeschaffung auf mikroskopischer Ebene mit örtlichen Auflösungen im Bereich von 50-100  $\mu\text{m}$ .<sup>[149]</sup> Als Sonderform der MRT ermöglicht die diffusionsgewichtete MRT (engl. Diffusion Weighted, DW-MRT) die Messung und Visualisierung der Diffusion von Lösungsmitteln, typischerweise Wasser, die durch BROWN'sche Bewegung verursacht wird. Diese Art der Molekularbewegung wird als Selbstdiffusion bezeichnet und erfordert keine Konzentrationsgradienten, da sie ausschließlich durch die thermische Energie der Lösungsmittelmoleküle verursacht wird. Die DW-MRT misst jedoch keine freie Diffusion, da die Molekularbewegung durch strukturelle Hindernisse in den entsprechenden Geweben eingeschränkt wird.<sup>[150]</sup> Deshalb werden die gemessenen Koeffizienten als *bekannte* oder *offensichtliche* Diffusionskoeffizienten (engl. Apparent Diffusion Coefficient, ADC) bezeichnet. Eine weitere Besonderheit besteht in ihrer Abhängigkeit zur Richtung und Länge der Diffusion.<sup>[151]</sup>

### 6.3 Quellung und Diffusion in pILs-basierten Hydrogelen

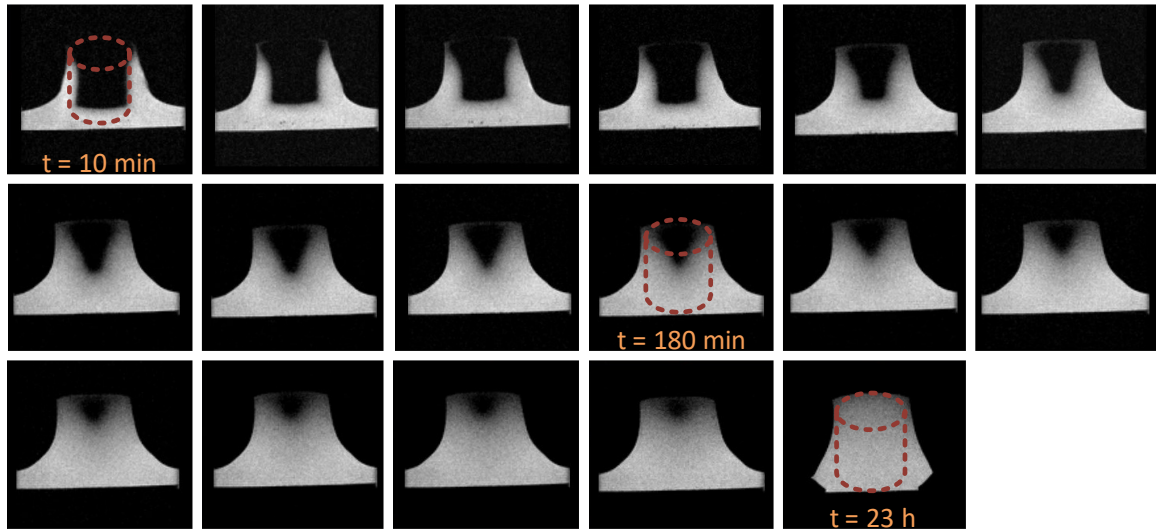
Sowohl der Einschluss des chininbasierten Organokatalysators in poly(VEImBr) als auch die in Publikation III beschriebene Verkapselung der CalB in dem gleichen Polymernetzwerk sind Beispiele, die das Potenzial der pILs-basierten Hydrogele für die Immobilisierung von Katalysatoren zeigen. Trotz der guten Ergebnisse wurde in beiden Fällen eine reduzierte Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber dem homogen gelösten Katalysator oder den kommerziell erhältlichen Immobilisaten

festgestellt.<sup>[65,123]</sup> Die Untersuchungen aus **Publikation IV**<sup>4</sup> geben erste Aufschlüsse hinsichtlich des Quellverhaltens und der ablaufenden Diffusionsprozesse in diesen Hydrogelen. Als Modellsubstanz fungierte erneut poly(VEImBr). Die erhaltenen Ergebnisse wurden durch Variationen im Crosslinkergehalt sowie zusätzliche Experimente mit poly(VBImBr) und poly(VBImCl) erweitert.

Die Untersuchung des Quellvorgangs erfolgte mit Hilfe von gravimetrischen Experimenten, in denen die Proben vollständig in das entsprechende Lösungsmittel (Wasser, Ethanol, n-Heptan oder Tetrahydrofuran) gegeben wurden (Methode 1). Parameter wie der Quellungsgrad oder der Lösungsmittelgehalt im Gleichgewicht wurden ebenso zur Charakterisierung herangezogen wie die Betrachtung der kinetischen Effekte. Wie erwartet, quollen die Gele in Wasser am stärksten. Die Seitenkettenverlängerung von poly(VEImBr) zu poly(VBImBr) besaß nur einen geringen Einfluss und steigerte die Gleichgewichtsquellung von 23,44 auf 25,16. Im Gegensatz dazu führte der Austausch des Gegenions von Br<sup>-</sup> zu Cl<sup>-</sup> zu einer Steigerung des Quellungsgrades auf 29,02. Den größten Effekt zeigte jedoch die Veränderung des Crosslinkergehaltes. Eine Steigerung der MBAA-Konzentration von 2 mol% über 3 mol% auf 5 mol% führte zu einer Abnahme der Gleichgewichtsquellung von 23,44 über 13,80 auf 8,00. Für Ethanol lagen die Werte deutlich geringer wie am Beispiel des poly(VEImBr) mit einem Quellungsgrad von 7,45 zu sehen ist. Außerdem benötigten die Gele für die Einstellung des Quellungsgleichgewichtes in Ethanol eine um den Faktor 14 verlängerte Quellzeit verglichen mit der in Wasser. Dies lässt sich mit den strukturellen Unterschieden der beiden Lösungsmittel erklären. Ethanol ist durch die Ethylkette sowohl größer als auch etwas hydrophober und diffundiert deshalb sowohl langsamer als auch in geringerem Maße in die Gele. Vergleichbare Beobachtungen wurden auch zwischen Methanol, Ethanol und Propanol beschrieben.<sup>[152]</sup> In n-Heptan konnte keine Massenzunahme beobachtet werden, da es sich weder mit Wasser mischen lässt, noch eine nennenswerte Löslichkeit in Wasser besitzt. Demnach ist der Übergang in die wässrige Phase und in das Hydrogel auszuschließen. Im Fall von Tetrahydrofuran sank die Probenmasse sogar über die Zeit. Zur Erweiterung wurden Intervallsorptionsmessungen durchgeführt, in denen die Hydrogelproben stufenweise 25%, 50% und 75% des Partialdruckes der entsprechenden Lösungsmittel ausgesetzt waren (Methode 2). Durch die Ergebnisse wurden die vorherigen Beobachtungen in Tetrahydrofuran und n-Heptan bestätigt. Möglicherweise findet in diesen Proben keine Diffusion in das Hydrogele statt. Im Fall von n-Heptan kann dies mit der geringen Löslichkeit der beiden Stoffe ineinander und den hydrophilen Hydrogelkomponenten erklärt werden. Tetrahydrofuran scheint hingegen eher das noch vorhandene Wasser herauszuziehen, wodurch die Gewichtsabnahme hervorgerufen wird. Mit Blick auf den zugrunde liegenden Diffusionsmechanismus ergaben beide Methoden eine Abweichung vom Fick'schen Idealverhalten, welche auf die längeren Relaxationszeiten der Polymerstrukturen zurückzuführen ist. Allerdings lieferte die Datenauswertung von Methode 1 n-Werte im Bereich von 0,5 bis 1, was auf einen anormalen Transport schließen lässt. Die Sorptionskurven hingegen zeichneten das Bild eines Fall II-Transportes. Erfahrungsgemäß ist die exakte Bestimmung des Diffusionsmechanismus bei einer Abweichung vom Idealverhalten nicht immer eindeutig.<sup>[134]</sup> Deshalb wurde die DW-MRT eingesetzt, um die Natur der beobachteten Diffusionsprozesse auf einer räumlich aufgelösten Ebene zu beleuchten (Methode 3). Die Visualisierung der Wasserdiffusionsfront in poly(VEImBr) zeigte scharfe Grenzen zwischen den Bereichen mit unterschiedlichem Wassergehalt (Abbildung 6.2). Dies ist ein typisches Zeichen für einen Fall II-Transport.<sup>[133]</sup>

---

<sup>4</sup> A. Jastram, T. Lindner, C. Lübbert, G. Sadowski, U. Kragl, *Polymers* **2021**, *13*, 1834.

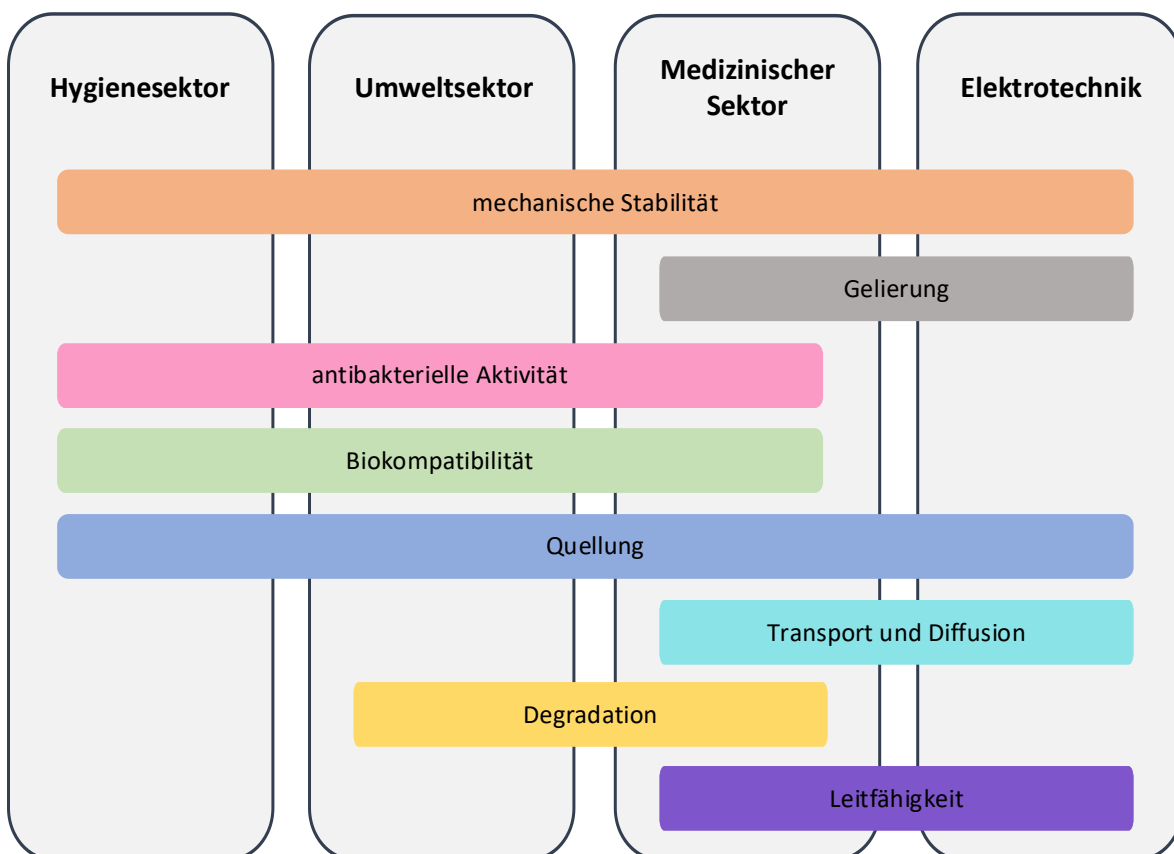


**Abbildung 6.2** T2-gewichtete Visualisierung der Wasserdiffusionsfront in poly(VEImBr) [ $21.5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , TR: 2500 ms, TE: 35 ms, MBAA: 2 mol%].

Ein wesentlicher Teil der Studie konzentrierte sich auch auf die Bestimmung von  $D$  mit Hilfe der drei beschriebenen Methoden. Weitethin erfolgte erste Bestimmung von  $D$  über die DOSY-NMR, die bisher jedoch zu keinen reproduzierbaren Ergebnissen führte. Über Methode 1 wurden für Wasser Koeffizienten im Bereich von  $10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  berechnet. Laut Literatur bewegen sich die Werte aus vergleichbaren Messungen normalerweise im Bereich von  $10^{-11}$  bis  $10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , wobei BAJPAI et al. ebenfalls über Koeffizienten in der hier erhaltenen Größenordnung berichteten.<sup>[153]</sup> Insgesamt variierten die ermittelten Werte von Wasser in poly(VEImBr) für die gravimetrischen Methoden zwischen  $10^{-10}$  und  $10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Wie erwartet, sind die gemessenen  $D$  geringer als der Selbstdiffusionskoeffizient von freiem Wasser bei  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , welcher  $2,59 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  und somit mindestens eine Zehnerpotenz größer ist.<sup>[154]</sup> Im Gegensatz dazu erfolgten die MRT-Messungen bei  $21 \text{ }^\circ\text{C}$  und lieferten Werte im Bereich von  $10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Die Abweichungen resultieren aus den völlig unterschiedlichen Voraussetzungen der Messungen. Während bei der echten Selbstdiffusion der Teilchentransport innerhalb derselben Substanz, also in diesem Fall Wassermoleküle in Wasser, völlig ungehindert und ohne jeglichen makroskopischen Gradienten ablaufen kann, wird die Diffusion in den Hydrogelen durch mehrere Parameter wie die Poren, die Polymerketten und den damit einhergehenden Quellprozess oder den vorliegenden Konzentrationsgradienten beeinflusst. Dies gilt auch für die Experimente in Ethanol. Hier lagen die berechneten  $D$  in der Regel auch eine Zehnerpotenz unter dem der freien Diffusion mit  $1,08 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .<sup>[155]</sup> Da in n-Heptan und Tetrahydrofuran keine Massenzunahme beobachtet wurde, erwiesen sich die gravimetrischen Methoden als ungeeignet. Die ermittelten ADC-Werte aus den DW-MRT-Messungen entsprachen in diesen Lösungsmitteln ungefähr dem Hintergrundrauschen und lagen mit Werten im Bereich von  $10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  ungefähr zwei Zehnerpotenzen unter den ermittelten ADC-Werten von reinem n-Heptan und reinem Tetrahydrofuran. Somit wurde die zuvor aufgestellte Hypothese, dass keine Diffusion des Lösungsmittels in die Proben stattgefunden hat, untermauert.

## 7 Zusammenfassung der Publikationen und Ausblick

Wie bereits beschrieben, besitzen Hydrogele durch ihre besonderen Merkmale ein enormes Potenzial für viele verschiedene Bereiche. Jedoch ist die Gewichtung der einzelnen Eigenschaften je nach Verwendungszweck unterschiedlich, weshalb nicht immer eine vollständige Charakterisierung unbedingt notwendig ist. In Abbildung 7.1 wurden die zahlreichen Anwendungsmöglichkeiten zu vier großen Bereichen zusammengefasst, denen die für sie wichtigen Schlüsseleigenschaften zugeordnet wurden. Einige dieser Charakteristika konnten im Rahmen dieser Arbeit für Hydrogele auf Polyelektrolytbasis untersucht werden. Das wissenschaftliche Interesse an den Erkenntnissen ist durch die Publikation dieser Arbeiten in entsprechenden Fachzeitschriften belegt.



**Abbildung 7.1** Wichtige Hydrogeleigenschaften für verschiedene Anwendungsbereiche.

**Publikation I** fasst die Ergebnisse eines breiten Screenings der mechanischen Eigenschaften mit den verwendeten Hydrogelen zusammen. In Zug-, Druck- und Scherexperimenten wurde die mechanische Antwort auf die Einwirkung unterschiedlicher Kraftarten beobachtet. Dabei besaßen Hydrogele mit positiv geladenem Rückgrat deutlich geringere  $G'$ -Werte als andere. Poly(MAE-TMA) erreichte mit  $49,0 \pm 1,5$  Pa das Maximum der kationischen Vertreter, während das anionische poly(AE-SO<sub>3</sub>) mit  $103,0 \pm 9,9$  Pa mehr als doppelt so hoch lag. Die  $G'$ -Werte des neutralen poly(HEMA) sowie des zwitterionischen poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) betragen  $80,3 \pm 1,7$  Pa sowie  $91,5 \pm 0,9$  Pa und bildeten das Mittelfeld. Auch wenn eine Klassifizierung aller Hydrogele nach strukturellen Gesichtspunkten nicht immer auf den ersten Blick erkennbar war, so konnte eine Abhängigkeit von der Hydrogelzusammensetzung durch eine Variation der Monomer- und Vernetzerkonzentration für poly(MAE-SO<sub>3</sub>) jedoch eindeutig belegt werden. In diesem

Zusammenhang führte eine um zwei Drittel verringerte Monomerkonzentration zu gravierenden Veränderungen wie der starken Expansion des linear-viskoelastischen Bereichs um den Faktor sieben oder dem Anstieg der maximalen Kompression von 28% auf 71%. Im Gegensatz dazu zeigte die Variation des Crosslinkergehalts geringe Auswirkungen. Dennoch beweist dies die Justierbarkeit der mechanischen Eigenschaften.

Ein großes Problem im Gesundheitswesen ist die Zunahme der antimikrobiellen Erkrankungen innerhalb der letzten Jahre. Deshalb beschäftigte sich **Publikation II** mit der inhärenten antibakteriellen Wirksamkeit dieser Hydrogele gegenüber *S. aureus* und *P. aeruginosa* als typische Vertreter der gram-positiven und gram-negativen Bakterien. Der Vollständigkeit halber wurden auch die Monomere untersucht. Aus den Messergebnissen geht hervor, dass sechs der elf getesteten Monomere über 80% der gram-negativen *P. aeruginosa* abtöteten. Leider verloren die anionischen, neutralen und zwitterionischen Vertreter nach der Polymerisation ihre antibakterielle Wirkung. Im Gegensatz dazu zeigten die kationischen Gele sehr hohe Aktivitäten mit Tötungseffizienzen von bis zu 100%. Im Fall von poly(TMA-VB) und den vinylimidazoliumbasierten Gelen konnten hohe Abtötungsraten von >88% auch nach der Halbierung des eingesetzten Hydrogelvolumens auf 50 µL nachgewiesen werden. Bei der Behandlung der gram-positiven *S. aureus* mit den Monomeren töteten fünf der getesteten Substanzen jeweils weniger als 50% der Bakterien: AE-TMA, MAE-TMA, AE-SO<sub>3</sub>, MAE-SO<sub>3</sub> und AAMPSO<sub>3</sub>H. Ihre Wirksamkeit steigerte sich nach der Polymerisation auf mindestens 68% für poly(AE-SO<sub>3</sub>), die anderen Hydrogele eliminierten in der Regel sogar >80% der Bakterien. HEMA und die vinylimidazoliumbasierten Proben besaßen sowohl vor als auch nach der Verknüpfung sehr hohe Abtötungszahlen von >92%.

Mit den Ergebnissen der mechanischen und rheologischen Experimente sowie den Daten über die antibakterielle Wirksamkeit gegenüber zwei klassischen Vertretern der gram-positiven und gram-negativen Bakterien wurden wichtige Eigenschaften für die Verwendung als Biomaterial erforscht. Um das Anwendungspotenzial für andere Bereiche aufzuzeigen, untersuchte **Publikation III** die Tauglichkeit der pILs-basierten Hydrogele als Matrix zur Einschlussimmobilisierung von Enzymen näher. Im Rahmen der Studie gelang die erfolgreiche Verkapselung eines CalB-Rohextraktes in poly(VEImBr). Bei der kinetischen Racematspaltung von *rac*-1-Phenylethanol mittels Vinylacetat und Immobilisat konnte ein Umsatz von 44%, bei maximal möglichen 50%, erzielt werden. Zusätzlich zu der hohen Ausbeute, wurde eine ausgezeichnete Enantioselektivität von >99% für das *R*-Produkt erhalten. Im Vergleich mit den kommerziell erhältlichen Lipase-Immobilisaten NOVOZYM 435 und LIPOZYM RM IM zeigten sich die Nachteile der Einschlussimmobilisierung in Form von längeren Reaktionszeiten. Die etablierten Produkte, bestehend aus Lipasen immobilisiert auf Trägermaterialien, erreichten bereits nach einer Reaktionszeit von fünf Stunden Umsätze von mindestens 47%. Zu der Zeit betrug die Ausbeute der im Hydrogel immobilisierten Variante erst 36%. Für einen objektiven Vergleich der Ergebnisse muss auf die Unterschiede hinsichtlich der Immobilisierungsmethode hingewiesen werden.

Ein typischer Nachteil bei der Einbettung oder Verkapselung von Katalysatoren besteht in den limitierten Diffusionsraten hervorgerufen durch die Beschaffenheit der Matrix. Zum besseren Verständnis der ablaufenden Transportprozesse wurde diese Thematik in **Publikation IV** für die pILs-basierten Hydrogele genauer beleuchtet. In den Quellversuchen zeigte sich folgendes Quellverhalten poly(VBImCl) > poly(VBImBr) > poly(VEImBr), wobei alle Hydrogele nach spätestens 7 h vollständig gequollen waren. Nach der Erhöhung des Crosslinkergehaltes von 2 mol% auf 5 mol%

benötigte poly(VEImBr) nur noch 4 h bis zur Gleichgewichtsquellung. In Ethanol lag der maximale Quellungsgrad von poly(VEImBr) mit 7,35 deutlich geringer als der in Wasser mit 23,4. Die Berechnung des Diffusionsexponenten wies für alle Messungen in Wasser und Ethanol eine Abweichung der Transportmechanismen vom Fick'schen Verhalten auf. Diese Beobachtung wurde durch die Intervallsorptionsexperimente an der Magnetschwebewaage und den MRT-Messungen bestätigt. In der Visualisierung der Diffusionsfront wurden die scharfen Konzentrationsgefälle während des Quellvorgangs im Hydrogel dargestellt. Diese sprechen typischerweise für einen Fall II-Transport und untermauern somit die Ergebnisse der Intervallsorptionsmessungen. Hinsichtlich der berechneten Diffusionskoeffizienten in Wasser und Ethanol ergeben sich aus den verschiedenen Messmethoden Werte im Bereich von  $10^{-09}$  bis  $10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Bedingt durch die Art der Diffusion, der Porengröße der Gele und aufgrund der Einschränkung im Gelinneren durch das Polymernetzwerk liegen die ermittelten Werte selbstverständlich unterhalb der Selbstdiffusionskoeffizienten der reinen Lösungsmittel. Für die Diffusion von Wasser in zylindrischen Gelen sind in der Literatur häufig Koeffizienten im Bereich von  $10^{-11}$  bis  $10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  zu finden. Die Abweichung kann durch den vergleichsweise hohen osmotischen Druck der getrockneten Hydrogele erklärt werden. In n-Heptan und Tetrahydrofuran wurde keine Massenzunahme registriert, vielmehr kam es zu einem Massenverlust in den Messungen mit Tetrahydrofuran. Möglicherweise zieht das Tetrahydrofuran die Reste des freien Wassers aus dem Gerüst und diffundiert selbst nicht oder nur minimal in das Hydrogel, was zu einer Abnahme der Masse führt. Diese Annahme konnte durch die ADC-Werte der MRT-Messungen bekräftigt werden.

Der Stofftransport in Polymeren und Hydrogelen ist eine komplexe Thematik. Mit den Ergebnissen in Publikation IV wurde bisher jedoch nur ein erster Einblick in die ablaufenden Prozesse erlangt. Da es zunächst eher um die Erforschung der Diffusion reiner Lösungsmittel ging, ist die Studie als Grundstein für aufbauende Untersuchungen an den dargestellten Hydrogelen zu sehen. In zukünftigen Arbeiten sollte beispielsweise mit Hilfe der Fluoreszenzkorrelationspektroskopie die Gelstruktur sowie deren Veränderung während des Quellprozesses tiefgründig untersucht werden. In Hinblick auf die Anwendung als Immobilisierungsmatrix von Katalysatoren ist es außerdem wichtig die Verteilung der Reaktionsteilnehmer innerhalb des Gels zu kennen. Exakte Konzentrationsprofile können beispielsweise mittels der konfokalen 1D-Raman-Spektroskopie erstellt werden. Sie haben den Vorteil, dass sie auch Totzonen oder Akkumulationsorte der Reaktionsteilnehmer innerhalb des Gels identifizieren und dadurch notwendige Informationen bereitstellen. Außerdem besteht weiterhin großer Forschungsbedarf hinsichtlich der Verkapselung von Biokatalysatoren. Die CalB weist nicht nur ein breites Substratspektrum auf, sondern gilt auch als sehr robust hinsichtlich der Reaktionsbedingungen wie Temperatur, Druck oder Reaktionsmedium. Die Übertragbarkeit der Immobilisierung in pILs-basierten Hydrogelen wurde zwar für andere Lipasen erfolgreich gezeigt, jedoch wurden im Rahmen der Studie keine weiteren Enzymklassen verkapselt. Dies könnte ein Ansatzpunkt für zukünftige Forschungen sein. Zudem beschäftigen sich viele Bereiche zunehmend mit der Thematik des 3D-Drucks und deren Anwendung zur unkomplizierten Material- und Reaktorherstellung. Auch Hydrogele werden immer häufiger eingesetzt um beispielsweise Biomaterialien formgerecht zu produzieren.<sup>[156]</sup> Hier könnten zukünftige Untersuchungen anknüpfen, indem die Hydrogel-immobilisierten Lipase als Druckmaterial für die Herstellung eines Strömungsrohrreaktors genutzt wird. Anschließend könnte dieser für verschiedene Lösungsmittel und Reaktionen charakterisiert werden.

## 8 Literaturverzeichnis

- [1] J. M. van Bemmelen, *Z. Anorg. Chem.* **1894**, 5, 466.
- [2] M. Yar, S. Shahzad, S. A. Siddiqi, N. Mahmood, A. Rauf, M. S. Anwar, A. A. Chaudhry, I. u. Rehman, *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, 56, 154.
- [3] a) P. J. Flory, *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, 63, 3083; b) P. J. Flory, J. Rehner, *J. Chem. Phys.* **1943**, 11, 512.
- [4] W. Wagner, S. Sakiyama-Elbert, G. Zhang (Hrsg.) *Biomaterials science. An introduction to materials in medicine*, Elsevier, San Diego, **2020**.
- [5] C. M. Kirschner, K. S. Anseth, *Acta Mater.* **2013**, 61, 931.
- [6] O. Wichterle, D. Lim, *Nature* **1960**, 185, 117.
- [7] S. J. Buwalda, K. W. M. Boere, P. J. Dijkstra, J. Feijen, T. Vermonden, W. E. Hennink, *J. Controlled Release* **2014**, 190, 254.
- [8] N. Chirani, L.'H. Yahia, L. Gritsch, F. L. Motta, S. Chirani, S. Fare, *J. Biomed. Sci.* **2015**, 4, 1.
- [9] M. Rizwan, R. Yahya, A. Hassan, M. Yar, A. D. Azzahari, V. Selvanathan, F. Sonsudin, C. N. Abouloula, *Polymers* **2017**, 9, 137.
- [10] S. Cascone, G. Lamberti, *Int. J. Pharm.* **2020**, 573, 118803.
- [11] H.-S. Hwang, S. Kim, M. Singh, J. K. Winkler-Moser, S. X. Liu, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2012**, 89, 639.
- [12] F. Ullah, M. B. H. Othman, F. Javed, Z. Ahmad, H. Md Akil, *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, 57, 414.
- [13] S. H. Aswathy, U. Narendrakumar, I. Manjubala, *Heliyon* **2020**, 6, e03719.
- [14] L. H. Sperling, *Interpenetrating Polymer Networks and Related Materials*, Springer US, Boston, **1981**.
- [15] A. R. Fajardo, S. L. Fávoro, A. F. Rubira, E. C. Muniz, *React. Funct. Polym.* **2013**, 73, 1662.
- [16] S. Sharma, S. Tiwari, *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, 162, 737.
- [17] W.E. Hennink, C.F. van Nostrum, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54, 13.
- [18] a) A. E. J. de Nooy, G. Masci, V. Crescenzi, *Macromolecules* **1999**, 32, 1318; b) A. E. de Nooy, D. Capitani, G. Masci, V. Crescenzi, *Biomacromolecules* **2000**, 1, 259.
- [19] N. R. Raia, B. P. Partlow, M. McGill, E. P. Kimmerling, C. E. Ghezzi, D. L. Kaplan, *Biomaterials* **2017**, 131, 58.
- [20] J. Hou, C. Li, Y. Guan, Y. Zhang, X. X. Zhu, *Polym. Chem.* **2015**, 6, 2204.
- [21] J. Jokl, J. Kopeček, D. Lím, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **1968**, 6, 3041.
- [22] B. Strachota, L. Matějka, A. Zhigunov, R. Konefał, J. Spěváček, J. Dybal, R. Puffr, *Soft Matter* **2015**, 11, 9291.
- [23] X. de Feng, X. Q. Guo, K. Y. Qiu, *Makromol. Chem.* **1988**, 189, 77.
- [24] M. F. Akhtar, M. Hanif, N. M. Ranjha, *Saudi Pharm. J.* **2016**, 24, 554.
- [25] A.G.A. Coombes, E. Verderio, B. Shaw, X. Li, M. Griffin, S. Downes, *Biomaterials* **2002**, 23, 2113.
- [26] A. X. Xin, C. Gaydos, J. J. Mao (Hrsg.) *In vitro degradation behavior of photopolymerized PEG hydrogels as tissue engineering scaffold*, **2006**.
- [27] J. Bandomir, A. Schulz, S. Taguchi, L. Schmitt, H. Ohno, K. Sternberg, K.-P. Schmitz, U. Kragl, *Macromol. Chem. Phys.* **2014**, 215, 716.
- [28] J. Claus, A. Brietzke, C. Lehnert, S. Oschatz, N. Grabow, U. Kragl, *PLoS One* **2020**, 15, e0231421.

- [29] M. N. Alam, L. P. Christopher, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2018**, *6*, 8736.
- [30] a) A. Sannino, C. Demitri, M. Madaghiele, *Materials* **2009**, *2*, 353; b) M. I. H. Mondal (Hrsg.) *Polymers and Polymeric Composites*, Springer International Publishing, Basel, **2019**.
- [31] A. M. Grumezescu (Hrsg.) *Nanostructures for the engineering of cells, tissues and organs. From design to applications*, Elsevier, Oxford, United Kingdom, **2018**.
- [32] a) M. O. Haque, M. I. H. Mondal **2018**, *1*; b) M. I. H. Mondal (Hrsg.) *Polymers and Polymeric Composites*, Springer International Publishing, Basel, **2019**.
- [33] L. Baumann, *J. Pathol.* **2007**, *211*, 241.
- [34] S. Verdier-Sévrain, F. Bonté, *J. Cosmet. Dermatol.* **2007**, *6*, 75.
- [35] M. E. Parente, A. Ochoa Andrade, G. Ares, F. Russo, Á. Jiménez-Kairuz, *Int. J. Cosmet. Sci.* **2015**, *37*, 511.
- [36] S. J. Kim, S. S. Kwon, S. H. Jeon, E. R. Yu, S. N. Park, *Int. J. Cosmet. Sci.* **2014**, *36*, 553.
- [37] a) E. Papakonstantinou, M. Roth, G. Karakioulakis, *Derm.-Endocrinol.* **2012**, *4*, 253; b) S. M. An, H. Ham, E. J. Choi, M. K. Shin, S. S. An, H. O. Kim, J. S. Koh, *Int. J. Cosmet. Sci.* **2014**, *36*, 62.
- [38] N. M. Farandos, A. K. Yetisen, M. J. Monteiro, C. R. Lowe, S. H. Yun, *Adv. Healthcare Mater.* **2015**, *4*, 792.
- [39] P. C. Nicolson, J. Vogt, *Biomaterials* **2001**, *22*, 3273.
- [40] C. S. A. Musgrave, F. Fang, *Materials* **2019**, *12*, 261.
- [41] E. Caló, V. V. Khutoryanskiy, *Eur. Polym. J.* **2015**, *65*, 252.
- [42] J. Munčan, I. Mileusnić, J. Šakota Rosić, A. Vasić-Milovanović, L. Matija, *Int. J. Polym. Sci.* **2016**, *2016*, 737916.
- [43] F. Stapleton, S. Stretton, E. Papas, C. Skotnitsky, D. F. Sweeney, *Ocul. Surf.* **2006**, *4*, 24.
- [44] R. E. Kirk, D. F. Othmer (Hrsg.) *Encyclopedia of chemical technology. Contact Lenses*, Wiley, New York, NY, **2014**.
- [45] S. Rimmer (Hrsg.) *Woodhead Publishing in Materials*, Woodhead Publishing, Cambridge, **2011**.
- [46] O. Catanzano, V. D'Esposito, S. Acierno, M. R. Ambrosio, C. de Caro, C. Avagliano, P. Russo, R. Russo, A. Miro, F. Ungaro et al., *Carbohydr. Polym.* **2015**, *131*, 407.
- [47] J. Liu, G. Chinga-Carrasco, F. Cheng, W. Xu, S. Willför, K. Syverud, C. Xu, *Cellulose* **2016**, *23*, 3129.
- [48] N. Ninan, A. Forget, V. P. Shastri, N. H. Voelcker, A. Blencowe, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 28511.
- [49] S. Ahmed, S. Ikram, *Achiev. Life Sci.* **2016**, *10*, 27.
- [50] F. J. O'Brien, *Mater. Today* **2011**, *14*, 88.
- [51] J.-H. Lee, H.-W. Kim, *J. Tissue Eng.* **2018**, *9*, 2041731418768285.
- [52] a) I. M. El-Sherbiny, M. H. Yacoub, *Glob. Cardiol. Sci. Pract.* **2013**, *2013*, 316; b) M. Kirsch, A.-C. Herder, C. Boudot, A. Karau, J. Rach, W. Handke, A. Seltsam, T. Scheper, A. Lavrentieva, *Materials* **2020**, *13*, 3399.
- [53] X. Zheng Shu, Y. Liu, F. S. Palumbo, Y. Luo, G. D. Prestwich, *Biomaterials* **2004**, *25*, 1339.
- [54] a) J. A. Burdick, K. S. Anseth, *Biomaterials* **2002**, *23*, 4315; b) S. Trattnig, K. Ohel, V. Mlynarik, V. Juras, S. Zbyn, A. Korner, *Osteoarthr. Cartil.* **2015**, *23*, 2224.
- [55] C. D. O'Connell, C. Di Bella, F. Thompson, C. Augustine, S. Beirne, R. Cornock, C. J. Richards, J. Chung, S. Gambhir, Z. Yue et al., *Biofabrication* **2016**, *8*, 15019.

- [56] F. Ruedinger, A. Lavrentieva, C. Blume, I. Pepelanova, T. Scheper, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99*, 623.
- [57] a) K. Park (Hrsg.) *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*, Springer Science+Business Media LLC, New York, NY, **2010**; b) A. Kumar, S. S. Han, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* **2017**, *66*, 159; c) D. Qureshi, S. K. Nayak, S. Maji, A. Anis, D. Kim, K. Pal, *Eur. Polym. J.* **2019**, *120*, 109220; d) J. Claus, T. Eickner, N. Grabow, U. Kragl, S. Oschatz, *Macromol. Biosci.* **2020**, *20*, 2000152.
- [58] X. Liu, C. Steiger, S. Lin, G. A. Parada, J. Liu, H. F. Chan, H. Yuk, N. V. Phan, J. Collins, S. Tamang et al., *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 1.
- [59] a) M. Kargar, R. Suresh, M. Legrand, P. Jutras, O. G. Clark, S. O. Prasher, *J. Environ. Prot. Sci.* **2017**, *5*, 27; b) M. Klein, E. Poverenov, *J. Sci. Food Agric.* **2020**, *100*, 2337.
- [60] I. Moreno-Garrido, *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 3949.
- [61] a) H. Yan, J. Dai, Z. Yang, H. Yang, R. Cheng, *Chem. Eng. J.* **2011**, *174*, 586; b) M. Irani, H. Ismail, Z. Ahmad, M. Fan, *J. Environ. Sci.* **2015**, *27*, 9.
- [62] a) E. Vashghani-Farahani, D. G. Cooper, J. H. Vera, M. E. Weber, *Chem. Eng. Sci.* **1992**, *47*, 31; b) H. L. Abd El-Mohdy, A. Safrany, *Radiat. Phys. Chem.* **2008**, *77*, 273.
- [63] D. J. Overstreet, R. Y. McLemore, B. D. Doan, A. Farag, B. L. Vernon, *Soft Mater.* **2013**, *11*, 294.
- [64] a) M. M. M. Elnashar, M. A. Yassin, T. Kahil, *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *109*, 4105; b) Y. Lee, D. N. Kim, D. Choi, W. Lee, J. Park, W.-G. Koh, *Polym. Adv. Technol.* **2008**, *19*, 852; c) H. Liang, S. Jiang, Q. Yuan, G. Li, F. Wang, Z. Zhang, J. Liu, *Nanoscale* **2016**, *8*, 6071; d) S. Park, S. H. Kim, K. Won, J. W. Choi, Y. H. Kim, H. J. Kim, Y.-H. Yang, S. H. Lee, *Carbohydr. Polym.* **2015**, *115*, 223; e) H. J. Kim, J. N. Jin, E. Kan, K. J. Kim, S. H. Lee, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2017**, *22*, 89.
- [65] A. Grollmisch, U. Kragl, J. Großeheilmann, *SynOpen* **2018**, *2*, 192.
- [66] J. R. Tse, A. J. Engler, *Curr. Protoc. Cell Biol.* **2010**, *1*, 1-16.
- [67] M. C. Darnell, J.-Y. Sun, M. Mehta, C. Johnson, P. R. Arany, Z. Suo, D. J. Mooney, *Biomaterials* **2013**, *34*, 8042.
- [68] P. A. Janmey, P. C. Georges, S. Hvidt, *Methods Cell Biol.* **2007**, *83*, 1.
- [69] a) G. Marckmann, E. Verron, *Rubber Chem. Technol.* **2006**, *79*, 835; b) W. Zhao, C. Lenardi, P. Webb, C. Liu, T. Santaniello, F. Gassa, *Polym. Int.* **2013**, *62*, 1059.
- [70] a) R. J. Russell, A. C. Axel, K. L. Shields, M. V. Pishko, *Polymer* **2001**, *42*, 4893; b) N. Sanabria-DeLong, A. J. Crosby, G. N. Tew, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2784.
- [71] a) T. John, A. Rajpurkar, G. Smith, M. Fairfax, J. Triest, *J. Endourol.* **2007**, *21*, 1211; b) J. Vernengo, G. W. Fussell, N. G. Smith, A. M. Lowman, *J. Biomed. Mater. Res.* **2010**, *93*, 309.
- [72] T. Fukushima, A. Kosaka, Y. Yamamoto, T. Aimiya, S. Notazawa, T. Takigawa, T. Inabe, T. Aida, *Small* **2006**, *2*, 554.
- [73] Y. Huang, P. G. Lawrence, Y. Lapitsky, *Langmuir* **2014**, *30*, 7771.
- [74] V. Breedveld, A. P. Nowak, J. Sato, T. J. Deming, D. J. Pine, *Macromolecules* **2004**, *37*, 3943.
- [75] C.-W. Liew, R. Durairaj, S. Ramesh, *PloS One* **2014**, *9*, e102815.
- [76] J. Crank, G. S. Park, *Trans. Faraday Soc.* **1951**, *47*, 1072.
- [77] Cadée J. A., M.J.A. van Luyn, L. A. Brouwer, J. A. Plantinga, P. B. van Wachem, C. J. de Groot, W. den Otter, W. E. Hennink, *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *50*, 397.
- [78] H. Park, K. Park, *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 1770.
- [79] a) Y. Marcus, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1993**, *89*, 713; b) S. Kubota, S. Ozaki, J. Onishi, K. Kano, O. Shirai, *Anal. Sci.* **2009**, *25*, 189.

- [80] R. A. Mazzoli, W. R. Raymond, D. J. Ainsbinder, E. A. Hansen, *Curr. Opin. Ophthalmol.* **2004**, *15*, 426.
- [81] a) V. W. L. Ng, J. M. W. Chan, H. Sardon, R. J. Ono, J. M. García, Y. Y. Yang, J. L. Hedrick, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2014**, *78*, 46; b) P. Chairatana, T. Zheng, E. M. Nolan, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 4458.
- [82] Y. Dong, P. Wang, T. Wei, T. Zhou, M. Huangfu, Z. Wu, *Adv. Mater. Interfaces* **2017**, *4*, 1700953.
- [83] A. Muñoz-Bonilla, M. Fernández-García, *Eur. Polym. J.* **2018**, *105*, 135.
- [84] Robert Koch Institut, "Epidemiologischer Steckbrief zu SARS-CoV-2 und COVID-19. Erreger", zu finden unter [www.rki.de](http://www.rki.de), **2021**.
- [85] S. Suerbaum, G. D. Burchard, S. H. E. Kaufmann, T. F. Schulz, G.-D. Burchard, S. H.E. Kaufmann (Hrsg.) *Springer-Lehrbuch*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2016**.
- [86] H. Herwald, *Infektionskrankheiten. Geschichte, Medizin, Wissenschaft, Wirtschaft, Politik und ihre Wechselwirkungen*, 1. Aufl., Springer, Berlin, **2019**.
- [87] Z. Zheng, Q. Xu, J. Guo, J. Qin, H. Mao, B. Wang, F. Yan, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 12684.
- [88] Y. Le Loir, F. Baron, M. Gautier, *Genet. Mol. Res.* **2003**, *2*, 7.
- [89] M. T. Madigan, K. S. Bender, D. H. Buckley, W. M. Sattley, D. A. Stahl, *Brock biology of microorganisms*, Pearson, New York, NY, **2017**.
- [90] a) H. F. Chambers, F. R. Deleo, *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, *7*, 629; b) F. D. Lowy, *J. Clin. Investig.* **2003**, *111*, 1265; c) K. Trzcinski, B. S. Cooper, W. Hryniewicz, C. G. Dowson, *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, *45*, 763.
- [91] K. Poole, *Front. Microbiol.* **2011**, *2*, 1.
- [92] I. C. Sutcliffe, *Trends Microbiol.* **2010**, *18*, 464.
- [93] T. J. Silhavy, D. Kahne, S. Walker, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* **2010**, *2*, a000414.
- [94] C. Gram, *Fortschr. Med.* **1884**, *2*, 185.
- [95] E.-R. Kenawy, S. D. Worley, R. Broughton, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1359.
- [96] A. Muñoz-Bonilla, M. Fernández-García, *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*, 281.
- [97] a) J. N. Pendleton, B. F. Gilmore, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2015**, *46*, 131; b) A. Kausar, *Polym.-Plast. Technol. Eng.* **2017**, *56*, 1823.
- [98] a) A. Jain, L. S. Duvvuri, S. Farah, N. Beyth, A. J. Domb, W. Khan, *Adv. Healthcare Mater.* **2014**, *3*, 1969; b) M. Messali, M. R. Aouad, A. A.-S. Ali, N. Rezki, T. Ben Hadda, B. Hammouti, *Med. Chem. Res.* **2015**, *24*, 1387.
- [99] P. Li, Y. F. Poon, W. Li, H.-Y. Zhu, S. H. Yeap, Y. Cao, X. Qi, C. Zhou, M. Lamrani, R. W. Beuerman et al., *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 149.
- [100] X. Xue, X. Chen, X. Mao, Z. Hou, Y. Zhou, H. Bai, J. Meng, F. Da, G. Sang, Y. Wang et al., *AAPS J.* **2013**, *15*, 132.
- [101] N. M. Milović, J. Wang, K. Lewis, A. M. Klibanov, *Biotechnol. Bioeng.* **2005**, *90*, 715.
- [102] a) C. E. Codling, J.-Y. Maillard, A. D. Russell, *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 1153; b) A. P. Fraise, P. A. Lambert, J.-Y. Maillard (Hrsg.) *Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization*, Blackwell Pub, Malden, Mass, **2004**; c) A. A. Yaroslavov, N. S. Melik-Nubarov, F. M. Menger, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 702; d) Y. Guan, L. Qian, H. Xiao, *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 2244.

- [103] a) D. Li, X. Zhang, G. P. Simon, H. Wang, *Water Res.* **2013**, *47*, 209; b) T. Shay, M. D. Dickey, O. D. Velev, *Lab Chip* **2017**, *17*, 710.
- [104] a) G. McDonnell, A. D. Russell, *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, *12*, 147; b) L. M. Thoma, B. R. Boles, K. Kuroda, *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 2933.
- [105] a) K. Anselme, P. Davidson, A. M. Popa, M. Giazzon, M. Liley, L. Ploux, *Acta Biomater.* **2010**, *6*, 3824; b) S. P. Uday, D. Thiyagarajan, S. Goswami, M. D. Adhikari, G. Das, A. Ramesh, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 5818.
- [106] M. Lancaster, *Green chemistry. An introductory text*, 3. Aufl., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2016**.
- [107] R. A. Sheldon, *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 1289.
- [108] W. Reschetilowski (Hrsg.) *Springer Reference*, **2020**.
- [109] a) R. DiCosimo, J. McAuliffe, A. J. Poulouse, G. Bohlmann, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6437; b) A. Liese, L. Hilterhaus, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6236; c) I. Eş, J. D. G. Vieira, A. C. Amaral, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99*, 2065.
- [110] a) P. Anastas, N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301; b) R. A. Sheldon, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1437.
- [111] a) U. T. Bornscheuer, *Angew. Chem.* **2003**, *42*, 3336; b) A. Schmid, J. S. Dordick, B. Hauer, A. Kiener, M. Wubbolts, B. Witholt, *Nature* **2001**, *409*, 258.
- [112] a) R. A. Sheldon, D. Brady, *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 6088; b) A. Basso, S. Serban, *Mol. Catal.* **2019**, *479*, 110607.
- [113] R. A. Sheldon, S. van Pelt, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6223.
- [114] C. Mateo, J. M. Palomo, G. Fernandez-Lorente, J. M. Guisan, R. Fernandez-Lafuente, *Enzyme Microb. Technol.* **2007**, *40*, 1451.
- [115] U. Hanefeld, L. Gardossi, E. Magner, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 453.
- [116] a) J. M. González-Sáiz, C. Pizarro, *Eur. Polym. J.* **2001**, *37*, 435; b) L. R. Nemzer, A. Schwartz, A. J. Epstein, *Macromolecules* **2010**, *43*, 4324.
- [117] S. Datta, L. R. Christena, Y. R. S. Rajaram, *3 Biotech* **2013**, *3*, 1.
- [118] a) R. Madeira Lau, F. van Rantwijk, K. R. Seddon, R. A. Sheldon, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4189; b) U. Kragl, M. Eckstein, N. Kaftzik, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, *13*, 565; c) N. Kaftzik, P. Wasserscheid, U. Kragl, *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 553; d) R. A. Sheldon, *Chemistry* **2016**, *22*, 12984.
- [119] a) O. Green, S. Grubjesic, S. Lee, M. A. Firestone, *Polym. Rev.* **2009**, *49*, 339; b) J. Lu, F. Yan, J. Texter, *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 431; c) D. Mecerreyes, *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 1629; d) W. Qian, J. Texter, F. Yan, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 1124; e) J. Claus, F. O. Sommer, U. Kragl, *Solid State Ionics* **2018**, *314*, 119; f) S.-Y. Zhang, Q. Zhuang, M. Zhang, H. Wang, Z. Gao, J.-K. Sun, J. Yuan, *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49*, 1726.
- [120] K. Nakashima, N. Kamiya, D. Koda, T. Maruyama, M. Goto, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2353.
- [121] a) M. Moniruzzaman, N. Kamiya, K. Nakashima, M. Goto, *ChemPhysChem* **2008**, *9*, 689; b) M. Moniruzzaman, N. Kamiya, K. Nakashima, M. Goto, *Green Chem.* **2008**, *10*, 497; c) M. Moniruzzaman, N. Kamiya, M. Goto, *Langmuir* **2009**, *25*, 977.
- [122] M. Moniruzzaman, K. Ino, N. Kamiya, M. Goto, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7707.
- [123] J. Großeheilmann, J. Bandomir, U. Kragl, *Chemistry* **2015**, *21*, 18957.
- [124] a) H. Treichel, D. de Oliveira, M. A. Mazutti, M. Di Luccio, J. V. Oliveira, *Food Bioprocess Technol.* **2010**, *3*, 182; b) K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry. A Textbook*, 6.

- Aufl., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2011**; c) A. Kundys, E. Białecka-Florjańczyk, A. Fabiszewska, J. Małajowicz, *J. Polym. Environ.* **2018**, *26*, 396.
- [125] B. Franken, T. Eggert, K. E. Jaeger, M. Pohl, *BMC Biochem.* **2011**, *12*, 1.
- [126] C. R. Johnson, S. J. Bis, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 7287.
- [127] a) A. Basso, M. Hesseler, S. Serban, *Tetrahedron* **2016**, *72*, 7323; b) P. Ungcharoenwiwat, A. H-Kittikun, *Electron. J. Biotechnol.* **2020**, *47*, 10.
- [128] a) C.-C. Lin, A. T. Metters, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, *58*, 1379; b) C.-C. Lin, K. S. Anseth, *Pharm. Res.* **2009**, *26*, 631.
- [129] a) C. Yanfeng, Y. Min, *Radiat. Phys. Chem.* **2001**, *61*, 65; b) E. Karadağ, D. Saraydin, *Polym. Bull.* **2002**, *48*, 299; c) E. Karadağ, Ö. Bariş Üzümlü, D. Saraydin, *Mater. Des.* **2005**, *26*, 265.
- [130] F. Ganji, S. Vasheghani-Farahani, E. Vasheghani-Faraahani, *Iran. Polym. J.* **2010**, *19*, 375.
- [131] H. Li, T. Y. Ng, Y. K. Yew, K. Y. Lam, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 109.
- [132] A. K. Bajpai, S. K. Shukla, S. Bhanu, S. Kankane, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33*, 1088.
- [133] K.-M. Krüger, *Dissertation*, Universität Dortmund, Dortmund, **2017**.
- [134] M. Sanopoulou, J. H. Petropoulos, *Macromolecules* **2001**, *34*, 1400.
- [135] J. Singh, M. E. Weber, *Chem. Eng. Sci.* **1996**, *51*, 4499.
- [136] Y. Li, T. Tanaka, *J. Chem. Phys.* **1990**, *92*, 1365.
- [137] S. Joshi, G. Astarita, *Polymer* **1979**, *20*, 455.
- [138] a) Rossi, Mazich, *Phys. Rev. A* **1991**, *44*, 4793-4796; b) K. A. Mazich, G. Rossi, C. A. Smith, *Macromolecules* **1992**, *25*, 6929.
- [139] F. Ganji, E. Vasheghani-Faraahani, *Iran. Polym. J.* **2009**, *18*, 63.
- [140] J. Wang, W. Wu, Z. Lin, *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *109*, 3018.
- [141] a) A. A. Dinerman, J. Cappello, H. Ghandehari, S. W. Hoag, *J. Controlled Release* **2002**, *82*, 277; b) A. Seidlitz, S. Nagel, B. Semmling, N. Grabow, H. Martin, V. Senz, C. Harder, K. Sternberg, K.-P. Schmitz, H. K. Kroemer et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2011**, *78*, 36.
- [142] K.-M. Krüger, G. Sadowski, *Macromolecules* **2005**, *38*, 8408.
- [143] Y. Wang, S. Ding, M. Gong, S. Xu, W. Xu, C. Zhang, *Anal. Chim. Acta* **2016**, *945*, 47.
- [144] P. Beumers, K. Masuch, C. Pauls, A. Bardow, *Chem. Ing. Tech.* **2012**, *84*, 1289.
- [145] S. P. Zustiak, H. Boukari, J. B. Leach, *Soft Matter* **2010**, *6*.
- [146] Y. Sun, H. Jensen, N. J. Petersen, S. W. Larsen, J. Østergaard, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2018**, *150*, 95.
- [147] R. París, J. M. Barrales-Rienda, I. Quijada-Garrido, *Polymer* **2009**, *50*, 2065.
- [148] E. L. Hahn, *Phys. Rev.* **1950**, *80*, 580.
- [149] a) M. Knörger, K.-F. Arndt, S. Richter, D. Kuckling, H. Schneider, *J. Mol. Struct.* **2000**, *554*, 69; b) M. Recillas, L. L. Silva, C. Peniche, F. M. Goycoolea, M. Rinaudo, W. M. Argüelles-Monal, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 1633.
- [150] H. C. Thoeny, F. de Keyzer, *Eur. Radiol.* **2007**, *17*, 1385.
- [151] D. P. Sari, S. A. Kristanto, R. E. Wahyudi, Y. Dwihapsari, Darminto (Hrsg.) *Brain tumor consistency assessment using digital penetrometer and Diffusion Weighted MRI*, **2013**.
- [152] M. C. Arndt, G. Sadowski, *Macromolecules* **2012**, *45*, 6686.
- [153] S. K. Bajpai, S. Johnson, *React. Funct. Polym.* **2005**, *62*, 271.
- [154] M. Holz, S. R. Heil, A. Sacco, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 4740.
- [155] R. L. Hurlé, A. J. Easteal, L. A. Woolf, *J. Chem. Soc.* **1985**, *81*, 769.

- [156] a) Z. Tan, C. Parisi, L. Di Silvio, D. Dini, A. E. Forte, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1; b) Z. Chen, D. Zhao, B. Liu, G. Nian, X. Li, J. Yin, S. Qu, W. Yang, *Adv. Funct. Mater.* **2019**, *29*, 1900971; c) J. Li, C. Wu, P. K. Chu, M. Gelinsky, *Mater. Sci. Eng. R Rep.* **2020**, *140*, 100543.



## A Anhang: Originalpublikationen

### Originalpublikationen:

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

**A. Jastram**, J. Claus, P.A. Janmey, U. Kragl.  
Rheological properties of hydrogels based on ionic liquids.  
*Polymer Testing* **2020**, 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.A. Janmey analysiert und ausgewertet. Der Manuskriptentwurf wurde von A. Jastram und J. Claus verfasst und anschließend von P.A. Janmey und U. Kragl überarbeitet.

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

J. Claus, **A. Jastram**, E. Piktel, R. Bucki, P.A. Janmey, U. Kragl.  
Polymerized ionic liquids-based hydrogels with intrinsic antibacterial activity: Modern weapons against antibiotic-resistant infections.  
*Journal of Applied Polymer Science* **2020**, 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.A. Janmey überarbeitet.

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

**A. Grollmisch**, U. Kragl, J. Großeheilmann.

Enzyme Immobilization in Polymerized Ionic Liquids-based Hydrogels for Active and Reusable Biocatalysts.

*SynOpen* **2018**, 2, 192-199.

DOI: 10.1055/s-0037-1610144

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

**A.4 Publikation IV, Full Paper:**

**A. Jastram**, T. Lindner, C. Lübbert, G. Sadowski, U. Kragl.

Swelling and Diffusion in Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels.

*Polymers* **2021**, 13, 1834.

DOI: 10.3390/polym13111834

Das Konzept dieser Studie wurde von A. Jastram und U. Kragl erarbeitet. Sämtliche experimentelle Arbeiten wurden von A. Jastram durchgeführt. Die MRT-Messungen wurden von T. Lindner umgesetzt. C. Lübbert und G. Sadowski unterstützten bei der Konzeptionierung der Sorptionsmessungen und übernahmen die Betreuung von A. Jastram während ihrer Messzeit. Die Ergebnisse wurden von A. Jastram analysiert und ausgewertet. Der Manuskriptentwurf wurde von A. Jastram verfasst und anschließend von C. Lübbert, G. Sadowski und U. Kragl überarbeitet.

Weitere Publikationen:

**A.5 Publikation V, Buchartikel:**

**A. Jastram**, F. Langschwager, U. Kragl.

Reaktoren für spezielle technisch-chemische Prozesse: Biochemische Reaktoren.

In: W. Retischilowski (eds) Handbuch Chemische Reaktoren

*Springer Spektrum*, Berlin, Heidelberg **2019**.

DOI: 10.1007/978-3-662-56444-8\_35-2

## A.1 Publikation I

Full Paper. *Polym. Test.* **2020**, *106943*, 1-8,

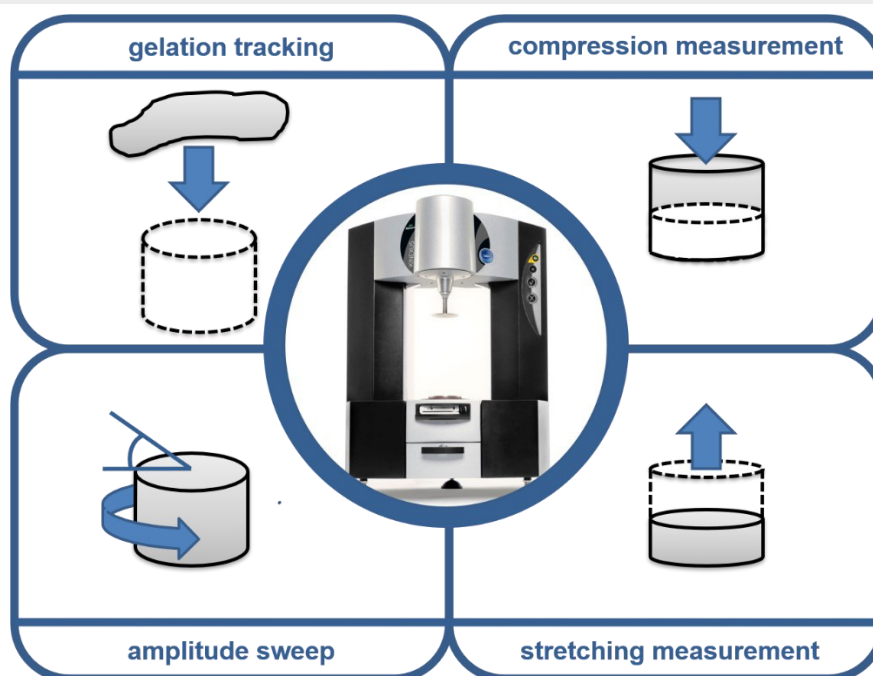
### Rheological properties of hydrogels based on ionic liquids.

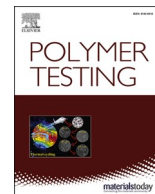
A. Jastram, J. Claus, P.A. Janmey, U. Kragl

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  $4.8 \pm 1.1$  to  $47.9 \pm 15.1\%$  and in compression measurements critical strain from  $7.8 \pm 3.6$  to higher than  $59.8 \pm 17.3\%$ , as well as a linear viscoelastic range in shear from  $14 \pm 8$  to  $267 \pm 26\%$ . These results allow improved design with a “choose-the-best-material”-toolbox for medical applications.





## Rheological properties of hydrogels based on ionic liquids

A. Jastram<sup>a</sup>, J. Claus<sup>a,b</sup>, P.A. Janmey<sup>c</sup>, U. Kragl<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Institute of Chemistry, Industrial Chemistry, University of Rostock, Albert-Einstein-Straße 3a, 18059, Rostock, Germany

<sup>b</sup> Department Life, Light & Matter, Faculty for Interdisciplinary Research, University of Rostock, Albert-Einstein-Straße 25, 18059, Rostock, Germany

<sup>c</sup> University of Pennsylvania, School of Engineering and Applied Science and Cell and Molecular Biology Graduate Group, Philadelphia, PA, 19104–6315, USA

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Hydrogel

Polymerized ionic liquids

Rheological characterization

Mechanical characterization

### 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  $4.8 \pm 1.1$  to  $47.9 \pm 15.1\%$  and in compression measurements critical strain from  $7.8 \pm 3.6$  to higher than  $59.8 \pm 17.3\%$ , as well as a linear viscoelastic range in shear from  $14 \pm 8$  to  $267 \pm 26\%$ . These results allow improved design with a “choose-the-best-material”-toolbox for medical applications.

### 1. Introduction

Hydrogels are three-dimensional networks of hydrophilic polymeric structures, which can absorb 90% or more water [1,2]. These superabsorbent polymers retain their shape while swelling and enlarging their volume [3]. The resulting degree of swelling depends mainly on the structure of the monomer, the type of crosslinking and the crosslinking ratio. Hydrogels were first mentioned in the 1930's and the synthesis of methacrylic polymers was published, mentioning poly(2-hydroxyethylmethacrylate) (poly(HEMA)) as a hard and glassy polymer [4]. In the 1960's one of the classic first-generation hydrogels was found, establishing a wide range of mostly chemical crosslinking procedures with the general aim to develop hydrogels having good mechanical properties, swelling behavior and other physico-chemical hydrogel properties [5]. With respect to the interesting poly(HEMA) polymers, Wichterle and Lim described a synthesis using crosslinking agents in the presence of water and/or other solvents, for application as soft contact lenses [6]. Instead of a glassy and brittle polymer, they obtained a water swellable, clear and relatively elastic hydrogel. Due to insufficient oxygen transport and poor elasticity of poly(HEMA) itself, copolymerization with other monomers was developed to improve their properties. *N*-vinylpyrrolidone was used for copolymerization, increasing biocompatibility, but due to the low reactivity of

*N*-vinylpyrrolidone, a large inconsistency in terms of water content, dimensional control, and conversion, other solutions had to be found [7].

To overcome these limitations, alternative comonomers have been investigated, including acrylamides, vinyl acetates and various substituted methacrylates, such as ionic liquids or electrolytes [5]. Polymerized ionic liquids or polyelectrolytes have gained a great interest in the fields of polymer chemistry and polymer material science, because of their unique ionic liquid-like properties within the macromolecular structure. Major advantages of using poly(ionic liquid)s or polyelectrolytes are due to their mobile ions and the highly charged polymer backbone, which can be designed for various applications. One of the first poly(ionic liquid)s, dating back to the early 1960's was synthesized by radical polymerization of various cationic vinyl monomers [8]. Vinylpyridinium as well as vinylimidazolium polymers gained special interest due to the positive charge attached on an aromatic ring system. These solid polyelectrolytes have the potential to replace ionic liquids for electrochemical applications [9].

Since then, the number of hydrogel studies has increased over the past years as well as their possible applications as implants [10], drug delivery-systems [11–16], matrices for enzyme and catalyst immobilization [17–19], contact lens materials [20,21], in tissue engineering [22], coatings for stents or neural interfaces [23,24], wound treatments

\* Corresponding author. Institute of Chemistry, Industrial Chemistry, University of Rostock, Albert-Einstein-Straße 3a, 18059, Rostock, Germany.

E-mail address: [udo.kragl@uni-rostock.de](mailto:udo.kragl@uni-rostock.de) (U. Kragl).

<https://doi.org/10.1016/j.polymeresting.2020.106943>

Received 12 June 2020; Received in revised form 23 October 2020; Accepted 30 October 2020

Available online 4 November 2020

0142-9418/© 2020 The Authors.

Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

[25,26] and even sensors or actuators [27]. The properties of these charged hydrogels have to be optimized for each specific application. Hydrogels are especially interesting, because of the possibility to use them as an efficient coverage. The smooth polymeric layer should be biocompatible, elastic, flexible and resistant to crimping during the surgical procedure.

To establish more industrially applicable polymers, mechanical properties, biocompatibility and durability of first-generation hydrogels need to be improved. In the last few years there have been several rheological studies to characterize, for example, vinylimidazolium-based poly(ionic liquid)s in comparison to natural polymer hydrogels for catalyst immobilization [18,28] or poly(ethyleneglycol) dimethacrylate-based hydrogels as potential bone regeneration materials [29]. But as far as we know there has not been any comprehensive report on a wide selection of different charged and variably structured first-generation hydrogels. In this work, we focus on chemically cross-linked hydrogels based on poly(ionic liquid)s and the characterization of their rheological behavior as well as the investigation of the variation of these properties during polymerization. The effects of monomer structure on the gelation time was investigated. In addition, the effects of monomer concentration and crosslinker amount on the gelation time as well as the rheological behavior of the hydrogel were examined. Additionally shear strain amplitude sweeps, and uniaxial compression and tensile tests were performed to examine the nonlinear properties of these materials.

## 2. Materials

*N,N'*-Methylenebis(acrylamide) (MBAA) (99%; Sigma Aldrich), *N,N,N',N'*-Tetramethylethylenediamine (TMEDA) ( $\geq 99.5\%$ ; Sigma Aldrich), Ammonium persulfate (APS) (98%; Roth), 3-Sulfopropylmethacrylate potassium (MAE-SO<sub>3</sub>) (98%; Sigma Aldrich), 3-Sulfopropylacrylate potassium (AE-SO<sub>3</sub>) (Sigma Aldrich), (Vinylbenzyl)trimethylammonium chloride (VB-TMA) (99%; ACROS Organics), [2-(Acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (AE-TMA) (80 wt% in H<sub>2</sub>O; Aldrich), [2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (MAE-TMA) (75 wt% in H<sub>2</sub>O; Aldrich), 2-Hydroxyethylmethacrylate (HEMA) (97%; Alfa Aesar), [2-(Methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl)ammoniumhydroxide (MAEDMA-SO<sub>3</sub>) (95%; Sigma Aldrich), 1-Vinylimidazole ( $\geq 99\%$ ; Alfa Aesar), 1-Bromobutane ( $\geq 99\%$ ; Sigma Aldrich), 1-Chlorobutane ( $\geq 99\%$ ; Sigma Aldrich), 1-Bromoethane ( $\geq 99\%$ ; Sigma Aldrich) were used as received.

## 3. Experimental

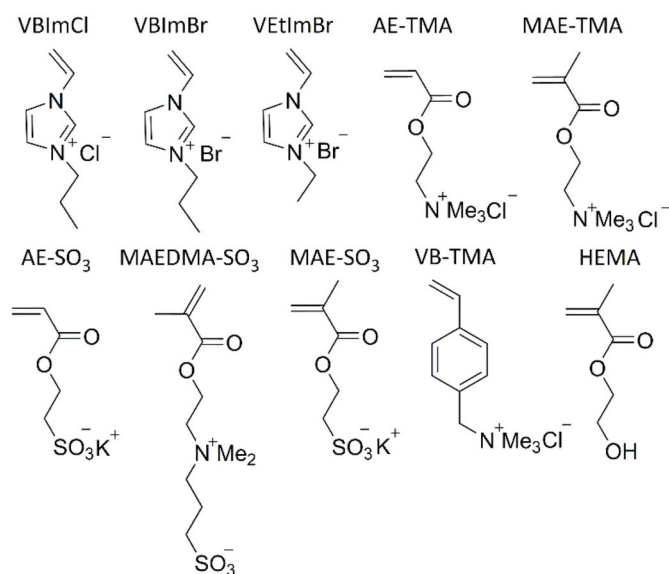
### 3.1. Synthesis of polymerizable monomers

1-Vinyl-3-ethyl-imidazoliumbromide (VEtImBr), 1-Vinyl-3-butyl-imidazoliumchloride (VBIImCl) and 1-Vinyl-3-butyl-imidazoliumbromide (VBIImBr) were prepared according to published procedures [30–33].

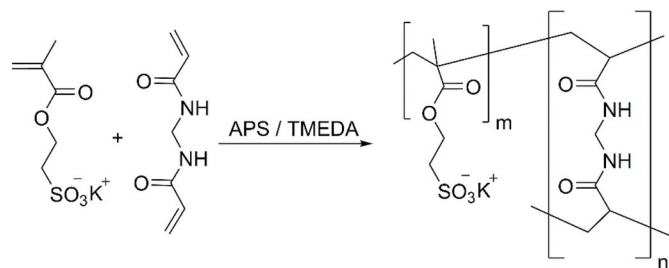
VEtImBr: <sup>1</sup>H NMR [300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane (TMS)]: 9.64 (s, 1H, N=CH-N), 8.24 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.98 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.32 (dd, *J* = 15.77 Hz, *J* = 8.82 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 5.99 (dd, *J* = 15.73 Hz, *J* = 2.37 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 5.41 (dd, *J* = 8.78 Hz, *J* = 2.29 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 4.24 (q, *J* = 7.41 Hz, 2H, ethyl- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.45 (t, *J* = 14.64 Hz, 3H, ethyl- $\beta$ -CH<sub>3</sub>).

VBIImCl: <sup>1</sup>H NMR [250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane (TMS)]: 9.84 (s, 1H, N=CH-N), 8.27 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.98 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.34 (dd, *J* = 15.75 Hz, *J* = 8.80 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 6.02 (dd, *J* = 15.63 Hz, *J* = 2.37 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 5.41 (dd, *J* = 8.78 Hz, *J* = 2.29 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 4.23 (t, *J* = 7.18 Hz, 2H, butyl- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.81 (q, 2H, butyl- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 1.28 (sxt, 2H, butyl- $\gamma$ -CH<sub>2</sub>), 0.89 (t, 3H, butyl- $\delta$ -CH<sub>3</sub>).

VBIImBr: <sup>1</sup>H NMR [300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane (TMS)]: 9.64 (s, 1H, N=CH-N), 8.24 (s, 1H, N-CH=CH-N),



**Scheme 1.** Overview of the monomers (M) used in this study.



**Scheme 2.** Polymerization reaction for the synthesis of poly(MAE-SO<sub>3</sub>) with MBAA as a crosslinker (CL).

7.98 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.32 (dd, *J* = 15.58 Hz, *J* = 8.78 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 5.99 (dd, *J* = 15.71 Hz, *J* = 2.39 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 5.42 (dd, *J* = 8.76 Hz, *J* = 2.29 Hz, 1H, N-CH=CH<sub>2</sub>), 4.23 (t, *J* = 7.27 Hz, 2H, butyl- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.82 (q, 2H, butyl- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 1.28 (sxt, 2H, butyl- $\gamma$ -CH<sub>2</sub>), 0.88 (t, 3H, butyl- $\delta$ -CH<sub>3</sub>).

### 3.2. General procedure for hydrogel syntheses

The hydrogels were synthesized from ten different monomers (Scheme 1) by radical polymerization.

The monomer and the corresponding amount of the crosslinker MBAA (2 mol%) were dissolved in deionized water to adjust the total monomer concentration to the required value (2 mol/L). Subsequently, the free radical initiator APS (0.1 mol% of total monomer amount) and TMEDA (1.9 mol% of total monomer amount) were added just before the reaction solution was mixed and filled into cylindrical shaped molds (Scheme 2) [34].

### 3.3. Rheological characterization

Oscillatory parallel plate rheological shear measurements were performed with all hydrogels using a Kinexus rheometer (Malvern Instruments) equipped with 20 mm parallel plates at 25 °C. For every hydrogel, three separately polymerized samples were tested. To prevent drying of the sample a protective cover and a ring of water were placed around the sample after polymerization was complete. For kinetic investigations, 0.5 mL of the reaction mixture was set between roughened stainless steel plates (diameter 20 mm) starting the measurement with

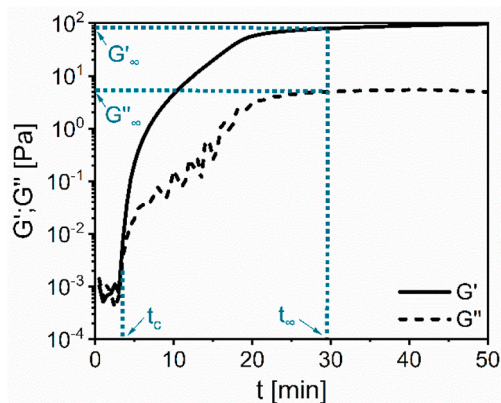


Fig. 1. Polymerization tracking of poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) [25 °C; M = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%].

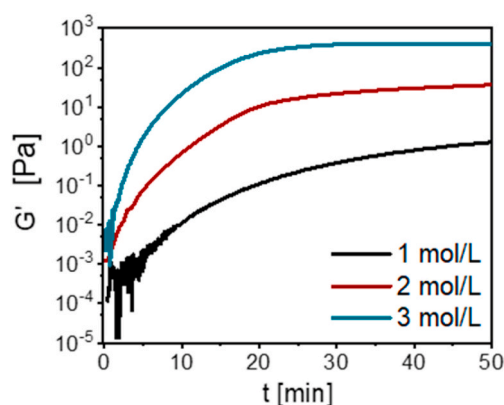


Fig. 2. Polymerization tracking measurements of different monomer and crosslinker amounts of poly(MAE-SO<sub>3</sub>) [25 °C; MBAA = 2 mol%].

0.1 Hz and 1% strain immediately after the sample was loaded (~15 s). In order to characterize both the linear and non-linear viscoelastic properties of chemically cross-linked hydrogels, oscillatory shear measurements were performed at 1 Hz over a range of strain amplitudes (amplitude sweeps). The initial hydrogel sample thickness for amplitude sweeps, tensile and compression tests was between 5 and 7 mm. For tensile tests, the hydrogels were glued on the stainless steel plates, and the gap between the plates was increased in 0.15 mm steps while shear measurements were made at 0.1 Hz and 2% strain. For compression measurements a stainless steel plate with a diameter of 8 mm was glued on a hydrogel with the same diameter, and the gap between the plates was decreased in 0.1 mm steps while shear measurements were made at 0.1 Hz and 2% strain. The linearity limit  $\gamma_L$  was calculated around the  $G'$  plateau value with a tolerance range of  $\pm 5\%$  deviation.

## 4. Results and discussion

### 4.1. Gelation tracking

The rheological behavior of the forming hydrogel is monitored as a function of time, following the shear storage modulus  $G'$  and the loss modulus  $G''$  (Fig. 1). The storage modulus  $G'$  characterizes the elastic and the loss modulus  $G''$  the viscous part of the viscoelastic behavior. The values of  $G'$  represent the stored energy, while  $G''$  stands for the deformation energy that is lost by internal friction during shearing [35, 36]. Until the gelation point ( $t_c$ )  $G'$  is larger than  $G''$ . This crossing point of  $G'$  and  $G''$  represents the transition from liquid-like behavior to solid-like behavior and is taken as the indication of the gelation time of

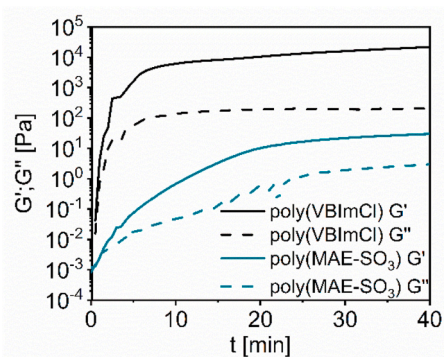


Fig. 3. Gelation tracking measurements of different poly(VBImCl) and poly(MAE-SO<sub>3</sub>) [25 °C; monomer concentration = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%].

the hydrogel. The strong variation of  $G''$  at the beginning of the measurements is due to the sensitivity limit of the rheometer. After a certain induction time, in which the elastic modulus is negligible,  $G'$  increases rapidly until it reaches a steady state plateau and is much higher than  $G''$ , indicating a more elastic response, thus solid-like behavior, of the hydrogel. The higher the  $G'$  value the stronger the gel. In this paper, these equilibrium values of  $G'$  and  $G''$  are symbolized as  $G'_\infty$  and were calculated at the point  $t_\infty$ .

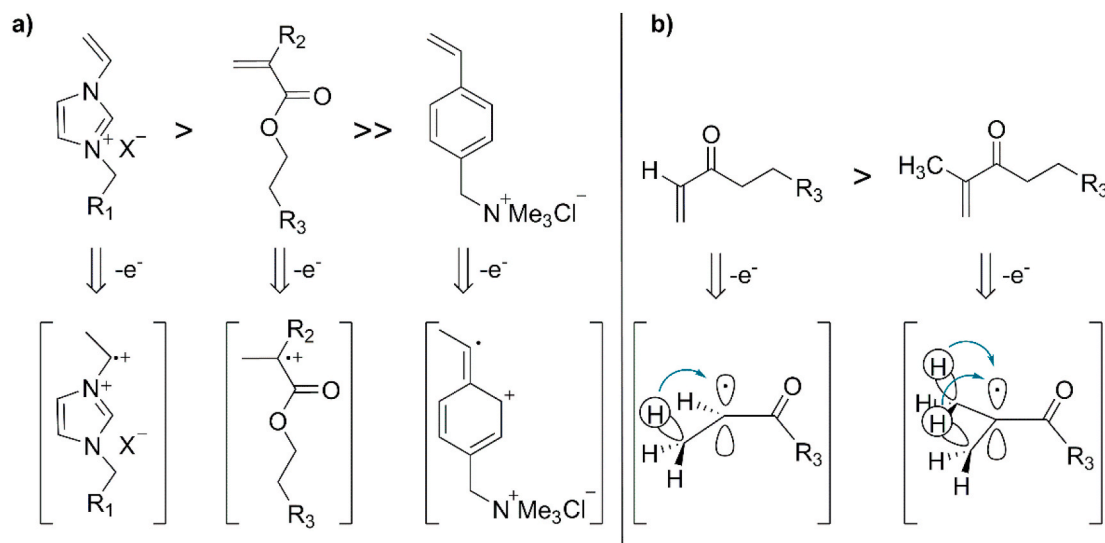
The value of  $G'_\infty$  as well as  $t_c$  depends on the rate of polymerization (which depends on the monomer and initiator amounts) and crosslinking [37]. The influence of the monomer concentration on the gelation process, as shown in Fig. 2, shows a steeper increase of  $G'$ , a higher  $G'$  value and consequently a stronger hydrogel as monomer concentration increases with constant crosslinker concentration. The gelation point is at an early stage in the polymerization process, where the three-dimensional network is not fully developed due to elastically ineffective dangling ends, loops and stray chains [38]. The observation of the polymerization reaction can help to understand the crosslinking rate, depending on the crosslinker concentration. In the following series of hydrogel investigations, the monomer concentration and crosslinker amount are held constant.

The different gelation processes of two example hydrogels, poly(VBImCl) and poly(MAE-SO<sub>3</sub>), are shown in Fig. 3. Comparing the gelation time, the plateau of poly(VBImCl) is reached much faster than the poly(MAE-SO<sub>3</sub>) plateau. The comparison of the different hydrogels reveals a structure dependency to the gelation time. The imidazolium-based hydrogels like poly(VBImBr) have the fastest polymerization time with  $5 \pm 2.1$  to  $11 \pm 3.9$  min whereas the sulfopropylacrylate-based hydrogels like poly(AE-SO<sub>3</sub>) polymerize from  $10.5 \pm 2.0$  to  $29 \pm 4.3$  min (Table 1). Compared to the gelation process of polyacrylamide, reaching the steady state in 25 min, the imidazolium-based hydrogels polymerize much faster [39]. This structure-gelation time-correlation could also be found in the crossover points. While the imidazolium-based hydrogels showed a crossover point around 2 min and the sulfopropylacrylate-based hydrogels have a  $t_c$  in a range between  $1.5 \pm 0.7$  and  $10.5 \pm 3.6$  min. The hydrogel poly(VB-TMA), with the polymerization time of  $215 \pm 27.2$  min, has a crossover point at  $28.5 \pm 8.6$  min.

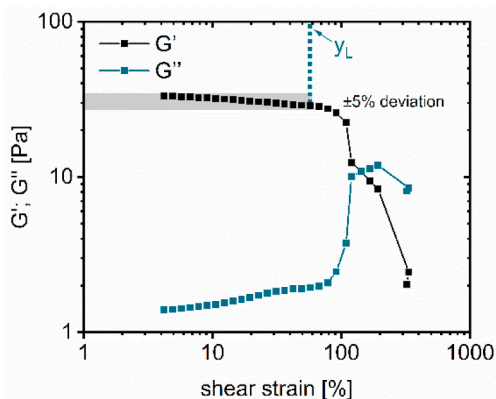
These polymerization speed differences can be explained by the mesomeric structures of the radicals shown in Scheme 3a). The two positive charges of the imidazolium-based radicalic monomer are close together, leading to a destabilization of the monomer. Additionally, the radicalic monomer is extremely electrophilic, thus it is highly reactive with another vinyl group and continues the chain reaction. The hydrogel poly(VB-TMA) has the lowest polymerization time in this compilation, because of the strong mesomeric stabilization of the radical, resulting in a lesser electrophilicity and slower conversion. Another relation between the polymerization process and the structure of the monomers becomes apparent by comparing MAE-SO<sub>3</sub> and AE-SO<sub>3</sub>, as well as MAE-

**Table 1**  
Overview of the measured parameters [N/A = not applicable; ND = not determined].

polymer	$\gamma_L$ [%]	$G'$ [Pa]	$G''$ [Pa]	$t_c$ [min]	$t_\infty$ [min]	stretch <sub>break</sub> [%]	comp <sub>break</sub> [%]
poly(VEtImBr)	92 ± 3	16.4 ± 1.0	5.0 ± 0.8	2.0 ± 0.1	5.0 ± 2.1	N/A	36.0 ± 8.3
poly(VBImBr)	92 ± 7	29.9 ± 1.9	0.5 ± 0.4	2.0 ± 0.5	8.0 ± 1.9	6.8 ± 5.9	28.6 ± 2.8
poly(VBImCl)	91 ± 2	23.3 ± 1.0	0.2 ± 0.1	2.5 ± 0.2	11.0 ± 3.9	7.4 ± 3.8	7.8 ± 3.6
poly(VB-TMA)	164 ± 23	34.7 ± 0.6	4.6 ± 0.2	28.5 ± 8.6	215 ± 27.2	47.9 ± 15.1	ND
poly(AE-TMA)	49 ± 7	28.0 ± 0.8	2.2 ± 0.2	5.0 ± 1.2	10.0 ± 1.1	4.8 ± 1.1	45.1 ± 4.3
poly(MAE-TMA)	170 ± 14	49.0 ± 1.5	4.7 ± 0.4	9.0 ± 3.3	11.5 ± 3.2	17.6 ± 1.6	39.2 ± 8.8
poly(HEMA)	106 ± 8	80.3 ± 1.7	7.4 ± 0.1	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.8	6.2 ± 2.1	39.5 ± 2.7
poly(MAEDMA-SO <sub>3</sub> )	14 ± 8	91.5 ± 0.9	5.9 ± 1.4	3.0 ± 0.4	29.0 ± 4.3	7.8 ± 5.7	N/A
poly(AE-SO <sub>3</sub> )	ND	103.0 ± 9.9	19.4 ± 3.2	10.5 ± 3.6	10.5 ± 2.0	9.9 ± 2.9	26.9 ± 5.4
poly(MAE-SO <sub>3</sub> )	92 ± 5	61.4 ± 1.6	5.0 ± 0.6	1.5 ± 0.7	23.5 ± 6.7	18.9 ± 4.3	39.5 ± 0.9
poly(MAE-SO <sub>3</sub> ) M 1 mol/L	267 ± 26	2.1 ± 0.1	0.6 ± 0.1	9.5 ± 5.3	66.5 ± 8.2	30.7 ± 7.8	71.1 ± 14.2
poly(MAE-SO <sub>3</sub> ) M 3 mol/L	35 ± 3	430.2 ± 9.5	312.0 ± 2.0	1.5 ± 0.8	19.0 ± 2.9	15.2 ± 0.8	28.4 ± 4.8
poly(MAE-SO <sub>3</sub> ) CL 1 mol%	36 ± 9	32.6 ± 1.1	5.2 ± 0.9	2.0 ± 0.6	22.5 ± 2.9	10.7 ± 6.2	59.8 ± 17.3
poly(MAE-SO <sub>3</sub> ) CL 3 mol%	17 ± 6	62.2 ± 2.1	13.4 ± 0.8	2.5 ± 0.9	17.0 ± 1.3	8.6 ± 5.5	29.5 ± 9.6



**Scheme 3.** Overview of the mesomeric radical monomer structures [ $R_1 = \text{CH}_3$ ;  $\text{C}_2\text{H}_5$ ;  $R_2 = \text{H}$ ;  $\text{CH}_3$ ;  $R_3 = \text{SO}_3\text{K}$  or  $\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ ].

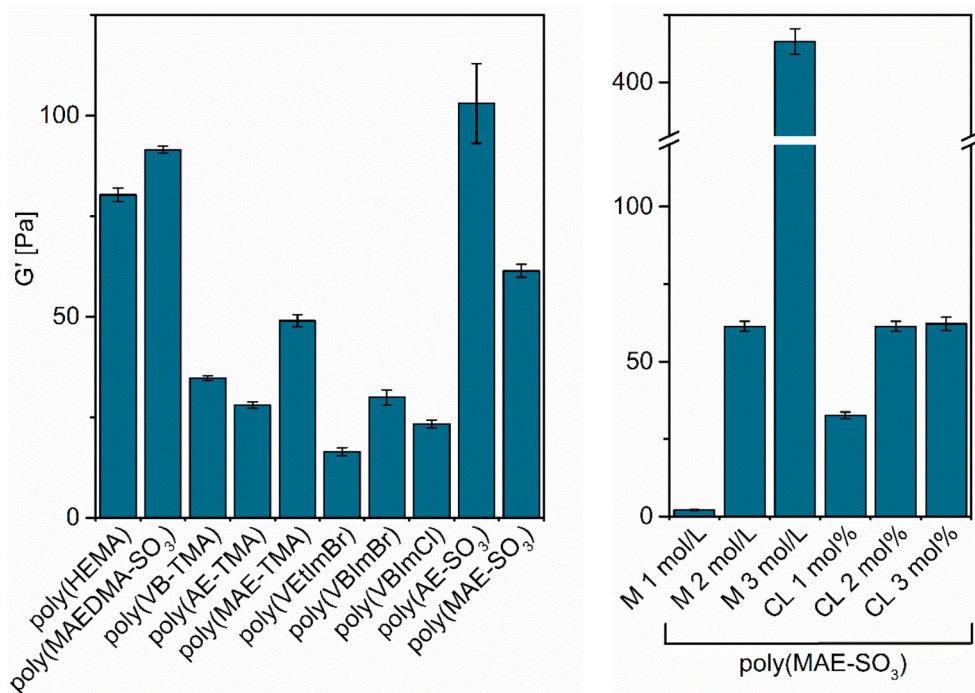


**Fig. 4.** Strain-sweep measurements on poly(AE-TMA). The elastic modulus ( $G'$ ) and the loss modulus ( $G''$ ) are plotted versus shear strain. The oscillating frequency was 0.1 Hz at room temperature [25 °C; monomer concentration = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%].

TMA and AE-TMA. When a free radical center is surrounded by one or more  $\pi$ -systems, a stabilizing resonance interaction between these orbitals is possible and therefore results in a lower reactivity (Scheme 3b).

#### 4.2. Amplitude sweep measurements

The following amplitude sweep measurements show the range of the linear viscoelastic (LVE) response, where  $G'$  is independent of the strain amplitude, indicating the span over which the sample can be deformed without destroying the sample and can be equated with the toughness of the sample (Fig. 4). The sharp downturn of  $G'$  points out brittle fracturing behavior. Before the crossover point ( $G' = G''$ ), where micro cracks occur in the hydrogel sample,  $G'$  is bigger than  $G''$  indicating a gel-like structure and a viscoelastic solid material. The micro cracks grow to continuous macro cracks through the entire sample, starting a dominant viscous behavior ( $G'' > G'$ ). Comparing the  $\gamma_L$ -values of the different tested hydrogels, a wide differential from 14 ± 8 to 267 ± 26% stands out (Table 1). A large range of critical strains can be seen in different literature examples as well. Huang et al., for instance, synthesized self-healing hydrogels, consisting of poly(allylamine) and triphosphosphate, which were able to recover their mechanical properties after an amplitude sweep up to 200% [40]. Amphiphilic block copolypeptides were prepared by Breedveld et al. and amplitude sweep measurements performed. The critical strain amplitudes from 0.1 to 5% decreased with increasing polypeptide concentration [41]. As another example, hybrid hydrogels of carboxymethylcellulose, containing magnetic nanoparticles, had a critical strain amplitude over 20% [42]. Wang et al. reported hydrogels consisting of water, clay and polymeric ions. Evaluating their mechanical properties, the hydrogels had a rapid recovery after a force impact and an elastic response to strain amplitude



**Fig. 5.** Comparison of shear moduli of all measured polymers with different monomers (left) and poly(MAE-SO<sub>3</sub>) with different monomer- or crosslinker concentrations (right) [25 °C; left: monomer concentration = 2 mol/L; MBAA = 2 mol%; right: poly(MAE-SO<sub>3</sub>) with stable crosslinker concentration of 2 mol% or monomer amount of 2 mol/L ].

sweeps [43]. The high resistance to shear deformation of our hydrogels like poly(MAE-TMA) can be of importance in many applications. For example, metallic stents can be dip-coated with hydrogels to provide supplementary functions such as local drug delivery and gene transfer. For this application their mechanical dilation has to be high, to ensure the flexibility of the stent without destroying the coating.

From the investigations carried out, the values obtained for  $G'$  could be compared for all polymers (Fig. 5). These values also reflect the structural dependence of the hydrogels with respect to their mechanical properties. A higher  $G'$  denotes a more solid-like behavior and therefore a higher strength and/or mechanical rigidity. The hydrogels with the highest  $G'$  values are the neutral poly(HEMA), the zwitterionic poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) and poly(AE-SO<sub>3</sub>) with a negatively charged backbone, from which no tendency can be deduced at first glance. However, the  $G'$  values for structurally similar hydrogels like the vinylimidazolium-based ones are in the same range of  $16.4 \pm 1.0$  to  $29.9 \pm 1.9$  Pa. These values describe a rather brittle hydrogel. Since the vinylimidazolium-based hydrogels with one butyl group each have a higher  $G'$  value than the hydrogel with the shorter ethyl group, it could be concluded that a hydrogel with a longer alkyl chain results in a stronger hydrogel. In addition, we observed a strong influence of the nature of charge, which has not described in literature before. In our screening the hydrogels with positive charge have a much smaller  $G'$  value than the negatively charged samples. We assume, that the counterion has a certain influence as well. For the hydrogels with the positive backbone chloride or bromide is used as an anion, whereas potassium ions were used for the negatively charged polymer networks. These three types of ions vary in their ion radius from 181 pm of the chloride and 196 pm of the bromide to 138 pm of the potassium ion, leading to a difference in charge density [44,45]. The smaller potassium cations sit probably closer to the negatively charged polymer backbone due to their size. Additionally they have a stronger ionic interaction with the backbone. The resulting tighter network forms stiffer and stronger hydrogels with a higher  $G'$ -value. As already described, the composition of a hydrogel consisting of a linear polymer in combination with a

crosslinker component has a decisive effect on the mechanical properties. This correlation is also reflected in the  $G'$  values, because with an increase of the monomer concentration in the poly(MAE-SO<sub>3</sub>) hydrogels, the mechanical resistance in the form of  $G'$  increases strongly (Fig. 5). The crosslinker component has a smaller but nevertheless noticeable effect on the mechanical properties. Due to the very small difference between 2 mol% and 3 mol%, the assumption is that the stiffness of the hydrogel slowly approaches a maximum value as the crosslinker content increases. So, the density of the gel network has a large impact on its rheological behavior, due to narrower meshes of the polymer network in the hydrogel.

#### 4.3. Stretch- and compression-measurements

These different hydrogels can additionally be characterized in their properties of compression and tension. Especially poly(VB-TMA) had special tensile strength and could be stretched by  $47.9 \pm 15.1\%$  till rupture. This soft flexible material could be used as a coating material for stents. The additional hydrogel layer does not restrict the mobility of the stents, but can be used as a drug depot for local delivery [23,46]. Another application possibility for stiffer hydrogels could be their use as a new contact lens material. Poly(HEMA) is often used in this field of application when it is co-polymerized with methacrylic acid or *N*-vinylpyrrolidone [47]. Even stronger hydrogels, like poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) with a stretch at break of  $7.8 \pm 5.7\%$ , could be used as cartilage replacement or intervertebral disc material [48]. Other examples are the vinylimidazolium-based hydrogels, which are known to be very brittle. In the example of Fukushima et al. 1-vinyl-3-ethyl-imidazoliumtriflate and 1-methacrylbutyl-3-methylimidazoliumtriflate were too fragile and brittle to evaluate their mechanical properties [49]. We could also find this linkage between the structure and mechanical properties in our imidazolium-based hydrogels. The compression at break of poly(VETImBr) was  $36.0 \pm 8.3\%$  and  $28.6 \pm 2.8\%$  of poly(VBImBr), whereas poly(VBImCl) could only be compressed to  $7.8 \pm 3.6\%$ . This trend in the compression measurements can be explained due to the length of the

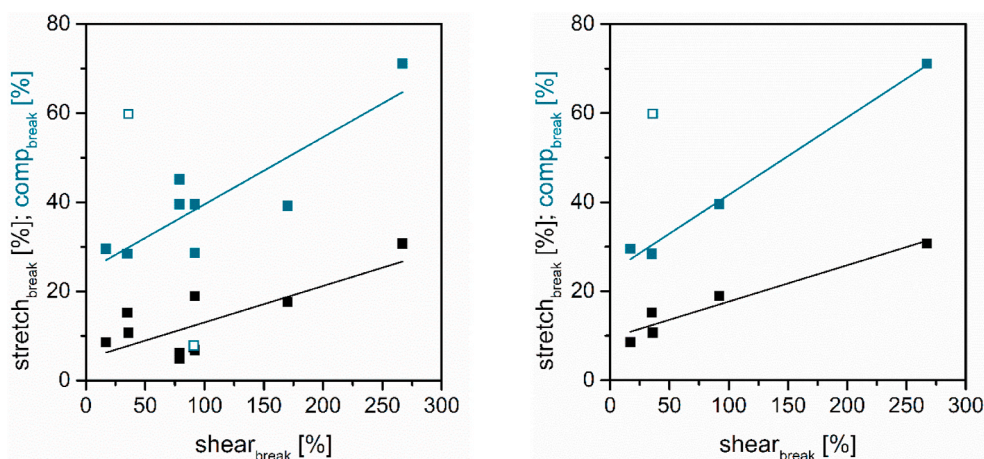


Fig. 6. Comparison of the stretch at break or the compression at break relating to the shear at break (left: all investigated polymers; right: all investigated poly(MAE-SO<sub>3</sub>) variations with different crosslinker amount and monomer concentration; the unfilled data points were not considered in the calculation of the plot).

alkyl chain. The longer the alkyl chain length on the imidazolium cation, the higher the compressibility of the hydrogel.

Some of the hydrogels described above are relatively fragile and brittle in the expanded states, in comparison to hydrogels with additional components like graphene oxide. Cong et al. reported highly stretchable polyacrylamide hydrogels containing Ca<sup>2+</sup>-ions and graphene oxide. These interactions led to a Ca<sup>2+</sup>-induced graphene oxide network within the chemically crosslinked polyacrylamide and hydrogen bonds formed between the graphene oxide and the polyacrylamide site chains, creating a strong reversible elasticity (up to 1350% of the initial length) [50]. Another possibility to enhance the elasticity of hydrogels is an introduction of dual crosslinking, e.g. a permanent crosslinker like glutaraldehyde and a transient crosslinker such as borate ions in a polyvinylalcohol hydrogel [51]. Otherwise, these first-generation hydrogels have the advantage of their simplicity in procurement of monomers, synthesis and handling.

One possibility of classification is the comparison of the stretch at break or respectively the compression at break relating to the shear at break (Fig. 6). If these data are plotted for all measured hydrogels, a correlation can be established by using an approximation line. Interestingly, this results in different increases for the compression and stretching measurements, from 0.15 for the compression measurements and 0.08 for the tensile tests. For both curves it applies that the gel breaks at lower strains in stretch and compression than in shear. This correlation is even more pronounced in stretch than in compression. Due to the slightly lower accuracy of these plots ( $R^2_{\text{comp}} = 0.70$ ;  $R^2_{\text{stretch}} = 0.75$ ) this correlation was controlled with the variations of the poly(MAE-SO<sub>3</sub>) hydrogel. From these plots very similar slopes as 0.17 for the compression tests and 0.11 for the tensile tests ( $R^2_{\text{comp}} = 0.98$ ;  $R^2_{\text{stretch}} = 0.91$ ) were obtained. This difference between tensile and compression tests could be due to the test setup. While the sample was compressed between the rheometer plates, some hydrogels showed slight moisture leakage, since poroelasticity in some hydrogels is significant, and volume changes can occur at long times. However when the sample is slowly pulled apart between the rheometer plates, the three-dimensional meshes of the hydrogel are enlarged. The now larger pores require water, but the ambient air cannot provide enough moisture to smoothen out the hydrogel, causing drying and a more brittle hydrogel, resulting in an earlier break of the stretched hydrogels than the compressed ones.

## 5. Conclusions

The mechanical performance of any biomedical device is of high interest, particularly synthetic hydrogels with possible applications as substitute for cartilage, intervertebral disc or as a stent coating. The

rheological properties of MBAA hydrogels can be controlled by variation of the monomer or crosslinker concentration, as well as monomer structure. The reduction of the monomer concentration for poly(MAE-SO<sub>3</sub>) from 3 mol/L to 1 mol/L leads to a sevenfold increase of the linear viscoelastic range from  $35 \pm 3\%$  to  $267 \pm 26\%$  and of the maximal compression from  $28.4 \pm 4.8\%$  to  $71.1 \pm 14.2\%$ . The mechanical properties can be fine-tuned by changing the crosslinker concentration. In this example we changed the MBAA amount from 3 mol% to 1 mol% and could measure an expansion of the linear viscoelastic range from  $17 \pm 6\%$  to  $36 \pm 9\%$ . In addition, we were able to investigate the mechanical properties of a wide variety of hydrogels that we had previously examined with respect to their antimicrobial properties and biocompatibility [34,52]. Depending on the application, the appropriate monomer can be selected.

Poly(VB-TMA) could be an interesting material regarding the high compressibility to be compacted and non-invasively inserted into the human body. This hydrogel can expand inside the human body beyond its initial extent, due to their fast shape recovery and additional swelling behavior. The performed tests showed that all of these factors can manipulate the rheological behavior and gelation time of the hydrogels. Another interesting point from our investigations is the correlation of the gelation speed to the stability of the monomer radical. The more labile monomer radicals enhanced faster polymerization whereas more stable radicals had an inhibiting effect. Furthermore, a correlation between the charge of the polymer backbone and the mechanical stability  $G'$  could be observed, since our negatively charged hydrogels, like poly(AE-SO<sub>3</sub>) and poly(MAE-SO<sub>3</sub>) tended to show higher  $G'$  values than the positively charged ones like poly(MAE-TMA), poly(AE-TMA), poly(VB-TMA) and the imidazolium-based hydrogels.

The documentation of these properties provides a good foundation for the investigation of these hydrogels for medical applications. We were able to identify some relationships between structure and property that open up further application possibilities for these materials. However, many biomedical applications will require further investigations, such as long-term stability or degradability of the polymers used for the coatings or scaffolds [53,54].

## CRedit authorship contribution statement

**A. Jastram:** Investigation, Formal analysis, Writing - original draft. **J. Claus:** Investigation, Writing - original draft. **P.A. Janmey:** Methodology, Supervision, Writing - review & editing. **U. Kragl:** Conceptualization, Project administration, Writing - review & editing.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgements

Funding by the Federal Ministry of Education and Research within RESPONSE “Partnership for Innovation in Implant Technology” (FKZ 03ZZ0910B) and the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG; grant KR 2491/12-2) as well as the HERMES research funding of the University of Rostock and the US NSF-16 DMR-1720530 is gratefully acknowledged. We also thank Emile Kraus for technical support.

## References

- Calvert, P., Hydrogels for soft machines, *Adv. Mater.* 21 (2009) 743–756, <https://doi.org/10.1002/adma.200800534>.
- Claus, J., F.O. Sommer, U. Kragl, Ionic liquids in biotechnology and beyond, *Solid State Ionics* 314 (2018) 119–128, <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2017.11.012>.
- K.Y. Lee, D.J. Mooney, Hydrogels for tissue engineering, *Chem. Rev.* 101 (2001) 1869–1879, <https://doi.org/10.1021/cr000108x>.
- F. Ullah, M.B.H. Othman, F. Javed, Z. Ahmad, H.M. Akil, Classification, processing and application of hydrogels: a review, *Mater. Sci. Eng. C* 57 (2015) 414–433, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.07.053>.
- S.J. Buwalda, K.W.M. Boere, P.J. Dijkstra, J. Feijen, T. Vermonden, W.E. Hennink, Hydrogels in a historical perspective: from simple networks to smart materials, *J. Contr. Release* 190 (2014) 254–273, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.052>.
- O. Wichterle, D. Lim, Hydrogels for biological use, *Nature* 185 (1960) 117.
- Y.C. Lai, A novel crosslinker for UV copolymerization of N-vinyl pyrrolidone and methacrylates to give hydrogels, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 35 (1997) 1039–1046, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0518\(19970430\)35:6<1039::AID-POLA7>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0518(19970430)35:6<1039::AID-POLA7>3.0.CO;2-#).
- M. Fred Hoover, Cationic quaternary polyelectrolytes A literature review, *J. Macromol. Sci. Part A - Chem.* 4 (1970) 1327–1418, <https://doi.org/10.1080/00222337008081733>.
- M. Hirao, K. Ito, H. Ohno, Preparation and polymerization of new organic molten salts; N-alkylimidazolium salt derivatives, *Electrochim. Acta* 45 (2000) 1291–1294, [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(99\)00334-5](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(99)00334-5).
- A.A.B. de Queiroz, P. Debieux, J. Amaro, M. Ferretti, M. Cohen, Hydrogel implant is as effective as osteochondral autologous transplantation for treating focal cartilage knee injury in 24 months, *Knee Surgery, Sport, Traumatol. Arthrosc.* 26 (2018) 1–8, <https://doi.org/10.1007/s00167-018-4834-5>.
- J. Colter, B. Wirotko, B. Coats, Finite element design optimization of a hyaluronic acid-based hydrogel drug delivery device for improved retention, *Ann. Biomed. Eng.* 46 (2018) 211–221, <https://doi.org/10.1007/s10439-017-1962-x>.
- S.W. Kim, Y.H. Bae, T. Okano, Hydrogels: swelling, drug loading, and release, *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.* 9 (1992) 283–290, <https://doi.org/10.1023/A:1015887213431>.
- N. Kamaly, B. Yameen, J. Wu, O.C. Farokhzad, Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: mechanisms of controlling drug release, *Chem. Rev.* 116 (2016) 2602–2663, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00346>.
- S. Giray, T. Bal, A.M. Kartal, S. Kizile, C. Erker, Controlled drug delivery through a novel PEG hydrogel encapsulated silica aerogel system, *J. Biomed. Mater. Res.* 100 A (2012) 1307–1315, <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34056>.
- C. Kleber, K. Lienkamp, J. Rühle, M. Asplund, Electrochemically controlled drug release from a conducting polymer hydrogel (PDMAAP/PEDOT) for local therapy and bioelectronics, *Adv. Healthc. Mater.* 8 (2019) 1–11, <https://doi.org/10.1002/adhm.201801488>.
- J. Claus, T. Eickner, N. Grabow, U. Kragl, S. Oschatz, Ion Exchange Controlled Drug Release from Polymerized Ionic Liquids, *Macromol. Biosci* 20 (2020) 1–9, <https://doi.org/10.1002/mabi.202000152>, 2000152.
- H. Sun, H. Yang, W. Huang, S. Zhang, Immobilization of laccase in a sponge-like hydrogel for enhanced durability in enzymatic degradation of dye pollutants, *J. Colloid Interface Sci.* 450 (2015) 353–360, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.03.037>.
- J. Großeheilmann, J. Bandomir, U. Kragl, Preparation of poly(ionic liquid)s-supported recyclable organocatalysts for the asymmetric nitroaldol (henry) reaction, *Chem. Eur. J.* 21 (2015) 18957–18960, <https://doi.org/10.1002/chem.201504290>.
- A. Grollmisch, U. Kragl, J. Großeheilmann, Enzyme immobilization in polymerized ionic liquids-based hydrogels for active and reusable biocatalysts, *SynOpen* 2 (2018) 192–199, <https://doi.org/10.1055/s-0037-1610144>.
- G. Behl, J. Iqbal, N.J. O'Reilly, P. McLoughlin, L. Fitzhenry, Synthesis and characterization of poly(2-hydroxyethylmethacrylate) contact lenses containing chitosan nanoparticles as an ocular delivery system for dexamethasone sodium phosphate, *Pharm. Res. (N. Y.)* 33 (2016) 1638–1648, <https://doi.org/10.1007/s11095-016-1903-7>.
- E. Caló, V.V. Khutoryanskiy, Biomedical applications of hydrogels: a review of patents and commercial products, *Eur. Polym. J.* 65 (2015) 252–267, <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024>.
- R.A. Mazzoli, W.R. Raymond, D.J. Ainsbinder, E.A. Hansen, Use of self-expanding, hydrophilic osmotic expanders (hydrogel) in the reconstruction of congenital clinical anophthalmos, *Curr. Opin. Ophthalmol.* 15 (2004) 426–431, <https://doi.org/10.1097/OI.icu.0000138618.61059.4c>.
- A. Strohbach, R. Busch, Polymers for cardiovascular stent coatings, *Int. J. Polym. Sci.* 2015 (2015) 1–11, <https://doi.org/10.1155/2015/782653>.
- C. Kleber, M. Bruns, K. Lienkamp, J. Rühle, M. Asplund, An interpenetrating, microstructurable and covalently attached conducting polymer hydrogel for neural interfaces, *Acta Biomater.* 58 (2017) 365–375, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.05.056>.
- S.L. Tomić, M.M. Mičić, S.N. Dobić, J.M. Filipović, E.H. Suljovrujić, Smart poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) hydrogels for biomedical application, *Radiat. Phys. Chem.* 79 (2010) 643–649, <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2009.11.015>.
- M. Risbud, A. Hardikar, R. Bhone, Growth modulation of fibroblasts by chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogel: implications for wound management? *J. Biosci.* 25 (2000) 25–30, <https://doi.org/10.1007/bf02985178>.
- C.C. Benjamin, R.J. Craven, W.C. Crone, R.S. Lakes, Viscoelastic characterization of pH-sensitive 2-hydroxyethyl methacrylate (2-dimethylamino) ethyl methacrylate HEMA-DMAEMA hydrogels, *Polym. Test.* 72 (2018) 372–376, <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.10.045>.
- J. Bandomir, A. Schulz, S. Taguchi, L. Schmitt, H. Ohno, K. Sternberg, K.-P. Schmitz, U. Kragl, Synthesis and characterization of polymerized ionic liquids: mechanical and thermal properties of a novel type of hydrogels, *Macromol. Chem. Phys.* 215 (2014) 716–724, <https://doi.org/10.1002/macp.201400009>.
- J.A. Killion, L.M. Geever, D.M. Devine, J.E. Kennedy, C.L. Higginbotham, Mechanical properties and thermal behaviour of PEGDMA hydrogels for potential bone regeneration application, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 4 (2011) 1219–1227, <https://doi.org/10.1016/j.jmbmb.2011.04.004>.
- R. Marcilla, J. Alberto Blazquez, J. Rodriguez, J.A. Pomposo, D. Mecerreyes, Tuning the solubility of polymerized ionic liquids by simple anion-exchange reactions, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 42 (2004) 208–212, <https://doi.org/10.1002/pola.11015>.
- B. Hu, T. Wu, K. Ding, X. Zhou, T. Jiang, B. Han, Seeding growth of Pd/Au bimetallic nanoparticles on highly cross-linked polymer microspheres with ionic liquid and solvent-free hydrogenation, *J. Phys. Chem. C* 114 (2010) 3396–3400, <https://doi.org/10.1021/jp910285s>.
- M.D. Green, D. Salas-De La Cruz, Y. Ye, J.M. Layman, Y.A. Elabd, K.I. Winey, T. E. Long, Alkyl-substituted N-vinylimidazolium polymerized ionic liquids: thermal properties and ionic conductivities, *Macromol. Chem. Phys.* 212 (2011) 2522–2528, <https://doi.org/10.1002/macp.201100389>.
- J. Pinault, J. Vignolle, Y. Gnanou, D. Taton, Poly(N-heterocyclic-carbene)s and their CO 2 adducts as recyclable polymer-supported organocatalysts for benzoin condensation and transesterification reactions, *Macromolecules* 44 (2011) 1900–1908, <https://doi.org/10.1021/ma1024285>.
- 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* 15 (2020), e0231421, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231421>.
- H.M. Wyss, Rheology of soft materials, *Fluids, Colloids Soft Mater. An Intro. to Soft Matter Phys.* (2018) 149–164, <https://doi.org/10.1002/9781119220510.ch9>.
- M.H. Tunick, Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture, *J. Dairy Sci.* 83 (2010) 1892–1898, [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(10\)75062-4](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(10)75062-4).
- W.Y. Chiu, G.M. Carratt, D.S. Soong, A computer model for the gel effect in free-radical polymerization, *Macromolecules* 16 (1983) 348–357, <https://doi.org/10.1021/ma00237a002>.
- N. Sahiner, M. Singh, D. De Kee, V.T. John, G.L. McPherson, Rheological characterization of a charged cationic hydrogel network across the gelation boundary, *Polymer* 47 (2006) 1124–1131, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.10.129>.
- D. Calvet, J.Y. Wong, S. Giasson, Rheological monitoring of polyacrylamide gelation: importance of cross-link density and temperature, *Macromolecules* 37 (2004) 7762–7771, <https://doi.org/10.1021/ma049072r>.
- Y. Huang, P.G. Lawrence, Y. Lapitsky, Self-assembly of stiff, adhesive and self-healing gels from common polyelectrolytes, *Langmuir* 30 (2014) 7771–7777, <https://doi.org/10.1021/la404606y>.
- V. Breedveld, A.P. Nowak, J. Sato, T.J. Deming, D.J. Pine, Rheology of block copolymer solutions: hydrogels with tunable properties, *Macromolecules* 37 (2004) 3943–3953, <https://doi.org/10.1021/ma049885f>.
- Y.F. Tang, Y.M. Du, X.W. Hu, X.W. Shi, J.F. Kennedy, Rheological characterisation of a novel thermosensitive chitosan/poly(vinyl alcohol) blend hydrogel, *Carbohydr. Polym.* 67 (2007) 491–499, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.06.015>.
- Q. Wang, J.L. Mynar, M. Yoshida, E. Lee, M. Lee, K. Okuro, K. Kinbara, T. Aida, High-water-content mouldable hydrogels by mixing clay and a dendritic molecular binder, *Nature* 463 (2010) 339–343, <https://doi.org/10.1038/nature08693>.
- Y. Marcus, Thermodynamics of solvation of ions, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 89* (1993) 713–718, <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- S. Kubota, S. Ozaki, J. Onishi, K. Kano, O. Shirai, Selectivity on ion transport across bilayer lipid membranes in the presence of Gramicidin A, *Anal. Sci.* 25 (2009) 189–194, <https://doi.org/10.2116/analsci.25.189>.

- [46] T. John, A. Rajpurkar, G. Smith, M. Fairfax, J. Triest, Antibiotic pretreatment of hydrogel ureteral stent, *J. Endourol.* 21 (2007) 1211–1215, <https://doi.org/10.1089/end.2007.9904>.
- [47] C.S.A. Musgrave, F. Fang, Contact lens materials: a materials science perspective, *Materials* 12 (2019) 1–36, <https://doi.org/10.3390/ma12020261>.
- [48] J. Vernengo, G.W. Fussell, N.G. Smith, A.M. Lowman, Synthesis and characterization of injectable bioadhesive hydrogels for nucleus pulposus replacement and repair of the damaged intervertebral disc, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 93 (2010) 309–317, <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31547>.
- [49] T. Fukushima, A. Kosaka, Y. Yamamoto, T. Aimiya, S. Notazawa, T. Takigawa, T. Inabe, T. Aida, Dramatic effect of dispersed carbon nanotubes on the mechanical and electroconductive properties of polymers derived from ionic liquids, *Small* 2 (2006) 554–560, <https://doi.org/10.1002/sml.200500404>.
- [50] H.P. Cong, P. Wang, S.H. Yu, Highly elastic and superstretchable graphene oxide/polyacrylamide hydrogels, *Small* 10 (2014) 448–453, <https://doi.org/10.1002/sml.201301591>.
- [51] J. Zhao, K. Mayumi, C. Creton, T. Narita, Rheological properties of tough hydrogels based on an associating polymer with permanent and transient crosslinks: effects of crosslinking density, *J. Rheol.* 61 (2017) 1371–1383, <https://doi.org/10.1122/1.4997589>.
- [52] J. Claus, A. Jastram, E. Piktel, R. Bucki, P.A. Janmey, U. Kragl, Polymerized ionic liquids-based hydrogels with intrinsic antibacterial activity: Modern weapons against antibiotic-resistant infections, *J. Appl. Polym. Sci.* (e50222) (2020), <https://doi.org/10.1002/app.50222>.
- [53] A. San Juan, M. Bala, H. Hlawaty, P. Portes, R. Vranckx, L.J. Feldman, D. Letourneur, Development of a functionalized polymer for stent coating in the arterial delivery of small interfering RNA, *Biomacromolecules* 10 (2009) 3074–3080, <https://doi.org/10.1021/bm900740g>.
- [54] L.W. Norton, E. Tegnell, S.S. Toporek, W.M. Reichert, In vitro characterization of vascular endothelial growth factor and dexamethasone releasing hydrogels for implantable probe coatings, *Biomaterials* 26 (2005) 3285–3297, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.07.069>.



## A.2 Publikation II

Full Paper. *J. Appl. Polym. Sci.* **2020**, 50222, 1-13.

**Polymerized ionic liquids-based hydrogels with intrinsic antibacterial activity:**

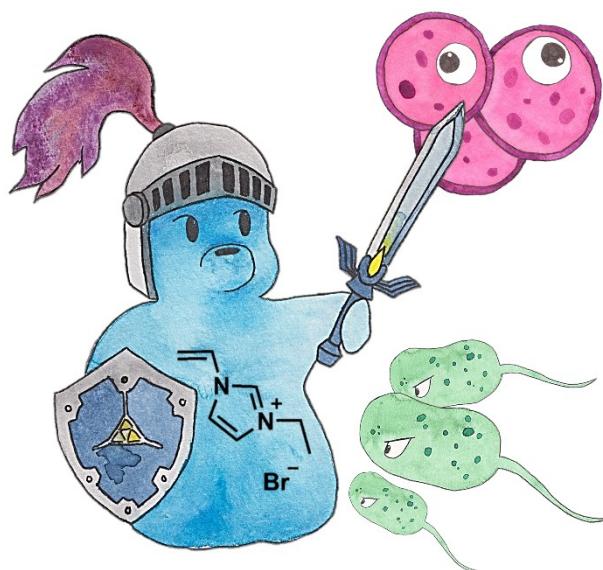
**Modern weapons against antibiotic-resistant infections.**

J. Claus, A. Jastram, E. Piktel, R. Bucki, P.A. 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 11 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 11 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% eradication of selected microorganisms - even at the smallest amount 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 limited bactericidal activity <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, for example, stent coatings.



## ARTICLE

# Polymerized ionic liquids-based hydrogels with intrinsic antibacterial activity: Modern weapons against antibiotic-resistant infections

Johanna Claus<sup>1,2</sup>  | Ann Jastram<sup>2</sup>  | Ewelina Piktel<sup>3</sup>  | Robert Bucki<sup>3,4</sup>  | Paul A. Janmey<sup>4</sup> | Udo Kragl<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup>Department Life, Light & Matter, Faculty for Interdisciplinary Research, University of Rostock, Rostock, Germany

<sup>2</sup>Institute of Chemistry, Industrial Chemistry, University of Rostock, Rostock, Germany

<sup>3</sup>Department of Medical Microbiology and Nanobiomedical Engineering, Medical University of Bialystok, Bialystok, Poland

<sup>4</sup>Institute for Medicine and Engineering, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, USA

## Correspondence

Udo Kragl, Department Life, Light & Matter, Faculty for Interdisciplinary Research, University of Rostock, Albert-Einstein-Straße 25, 18059 Rostock, Germany.  
Email: udo.kragl@uni-rostock.de

## Funding information

Bundesministerium für Bildung und Forschung, Grant/Award Number: FKZ 03ZZ0910B; Deutsche Forschungsgemeinschaft, Grant/Award Number: KR 2491/12-2

[Correction added on 2 Feb 2021, after first online publication: The copyright line was changed.]

## Abstract

In this study, the inherent antibacterial activity of 11 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 11 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% eradication of selected microorganisms - even at the smallest amount 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 limited bactericidal activity <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, for example, stent coatings.

## 1 | INTRODUCTION

Bacteria are one of the oldest forms of life on our planet and can be found almost everywhere, even under inhospitable conditions like extreme pH values or temperatures. For the human health they are both a curse and a blessing while playing an important role in a number of vital processes in the human body. By now, bacteria have also been established in a number of industrial

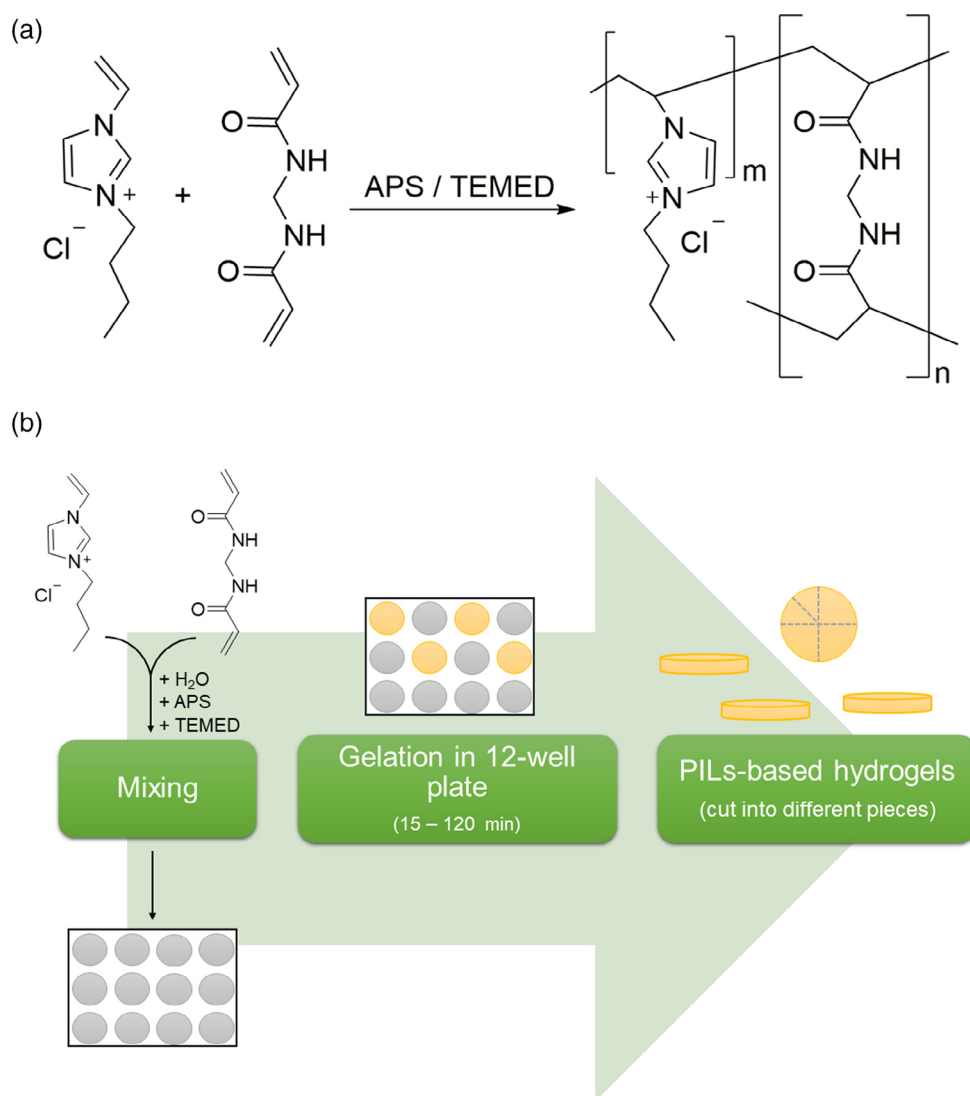
processes.<sup>1</sup> Nevertheless, bacteria that are able to cause infections, can have severe negative consequences in the fields of public health, medical devices and food safety.<sup>2</sup> In the food industry, for example, toxicogenic strains cost millions of dollars annually.<sup>3</sup> More important is the constantly rising number of infectious diseases caused by pathogenic microorganisms despite the conspicuous progress in the standards of health care and medical technology.<sup>4,5</sup> Microbial infections have become once more a

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

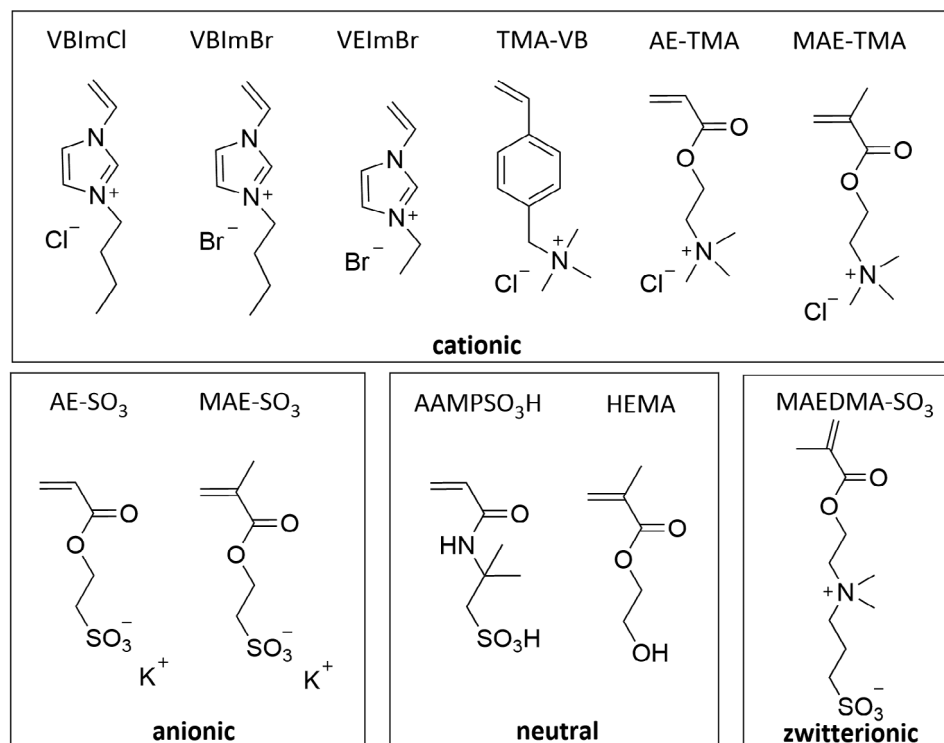
© 2020 The Authors. *Journal of Applied Polymer Science* published by Wiley Periodicals LLC.

public health concern during the last decades.<sup>6</sup> One of the major reasons is the widespread and rising number of antimicrobial resistances.<sup>7</sup> Several microorganisms have already developed resistance to all known antimicrobial agents resulting in an increased number of infections for which we have no therapeutic options.<sup>8</sup> Among others, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) are typical examples of important bacterial strains causing infections.<sup>9</sup> *Staphylococcus aureus* names a gram-positive coccus consisting of yellow-pigmented spherical cells, preferably arranged in grape-like clusters, but more rarely also occurring individually or paired. *Staphylococcus aureus* is facultative anaerobic, non-motile, does not breed spores and can be found nearly everywhere in nature including on the human skin and in upper airways of the human respiratory system.<sup>10,11</sup> Healthy subjects can be colonized by these bacteria without consequences, but having a weakened immune system combined with optimal growing

conditions can lead to life treating infections including pneumonia, osteomyelitis, meningitis and arthritis.<sup>10</sup> Unfortunately, some *S. aureus* strains show resistance to common antibiotics such as penicillins and cephalosporins. Additionally, some strains are resistant to vancomycin (VISA/VRSA).<sup>12</sup> Resistance to methicillin (MRSA) indicates insensitivity to  $\beta$ -lactam antibiotics, except for ceftaroline.<sup>13</sup> Very often MRSA strains are also resistant to other antibiotic groups such as macrolides.<sup>14</sup> *Pseudomonas aeruginosa* represents a gram-negative opportunistic bacterium. This species is rod-shaped, asporogenous, monoflagellated and an obligate respire needing oxygen for an optimal metabolism, though an anaerobic respiration is also possible.<sup>15</sup> The hospital strains of *P. aeruginosa* have recently shown an increasing resistance to antibiotics. Since *P. aeruginosa* is a widespread soil and water germ, it also occurs in all other humid environments like sinks, showers, medical devices and medicines making it one of the most frequent hospital



**FIGURE 1** (a) Synthesis of poly(VBImCl) via radical polymerization with MBA as a crosslinker. (b) Schematic illustration of the synthesis of poly(VBImCl) [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

**FIGURE 2** Structures of tested monomers

germs. Unfortunately, most hospital strains show resistance to  $\beta$ -lactams, fluoroquinolones and aminoglycosides.<sup>16</sup> *Pseudomonas aeruginosa* causes a wide variety of infections including lung, urinary tract, skin, eyes and ears.<sup>10,17</sup> Facing the problem of drug-resistance, there is a need to design and synthesize novel materials showing antibacterial activity, especially against resistant bacterial strains.<sup>10</sup> This resulted in a large number of new materials over the last years that can be divided into different groups based on the mechanism of their antibacterial effect. Either the substances can be used as a supporting material keeping organic or inorganic substances with antibacterial activity, or their surfaces can be chemically modified to immobilize antibacterial substances. In this context, the functionalized materials inspired by mussel adhesiveness should be mentioned. Generally, this recent approach results in a universal coating procedure for several materials like metals, polymers or ceramics that can be used for several applications.<sup>18–20</sup> In addition, a few substances, such as polymers, show an inherent antibacterial effect, gaining a lot of interest and making them the focus of current research. Having inherent antibacterial effects without the need of any additives results in advantages like longer activity and a minimized risk of toxicity to human cells due to lack of low molecular weight biocides.<sup>21</sup> Polymerized ionic liquids (PILs) are a relatively new and very promising class of functional polymers formed from linked ionic liquids (ILs). Just like ILs, PILs gained special interest based on their effect against gram-positive and gram-negative

bacteria as well as fungi and algae.<sup>6,22,23</sup> Especially, imidazolium, pyridinium and quaternary ammonium-based ILs achieved excellent results.<sup>24,25</sup> Furthermore, ILs can also be used for the synthesis of physically or chemically crosslinked polymer networks like hydrogels. These gels are able to absorb more than 90% of water without dissolving or even losing their three-dimensional shape.<sup>26</sup> Combined with their designable mechanical properties and their often good biocompatibility, they were already used for the immobilization of enzymes<sup>27–31</sup> as well as a multitude of other medical applications like drug delivery systems, materials for contact lenses or in tissue engineering.<sup>32–34</sup> Thus, hydrogels provide a suitable approach to develop inherent antimicrobial, especially inherent antibacterial materials.<sup>35,36</sup> The smart combination of the advantages of ILs and hydrogels makes PILs-based hydrogels very attractive for a number of new applications in different fields. Our research group has been dealing with the synthesis and application of these kinds of materials for quite a long time. In our previous work, we reported about mechanical and thermal properties of imidazolium-based PIL-hydrogels, which were also used for the immobilization of enzymes and organocatalysts.<sup>28,37–39</sup> Most recently, the swelling behavior and the rheological properties of different PILs-based hydrogels as well as their biocompatibility have also been investigated. We found that all of these PILs-based hydrogels possessed a good or even a very good compatibility with mouse fibroblasts.<sup>40</sup> In order to complete the overall

picture of these promising materials, we tested the different PILs-based hydrogels as well as their corresponding monomers (Figure 2) with regard to their inherent antibacterial activities against MRSA Xen 30 and *P. aeruginosa* Xen 5. For the first time, an extensive test series of 11 different PILs-based hydrogels having oppositely charged backbones was performed. This broad screening facilitates the identification of correlations between structure and observed effect. Furthermore, possible trends between the different hydrogel groups should be identified.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Chemicals

*N,N'*-methylenebis(acrylamide) (MBAA) (99%; Sigma Aldrich), *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TEMED) ( $\geq 99.5\%$ ; Sigma Aldrich), ammonium persulfate (APS) (98%; Acros Organics), 3-sulfopropylmethacrylate potassium (MAE-SO<sub>3</sub>) (98%; Sigma Aldrich), 3-sulfopropylacrylate potassium (AE-SO<sub>3</sub>) (Sigma Aldrich), (vinylbenzyl) trimethylammonium chloride (TMA-VB) (99%; ACROS Organics), [2-(acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (AE-TMA) (80 wt% in H<sub>2</sub>O; Aldrich), [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (MAE-TMA) (75 wt% in H<sub>2</sub>O; Aldrich), 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) (97%; Alfa Aesar), [2-(methacryloyloxy)ethyl]dimethyl-(3-sulfopropyl) ammoniumhydroxide (MAEDMA-SO<sub>3</sub>) (95%; Sigma Aldrich), 2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid (AAMP<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) (99%; Sigma-Aldrich), 1-vinylimidazole ( $\geq 99\%$ ; Alfa Aesar), bromoethane (98%; Alfa Aesar), 1-chlorobutane ( $\geq 99\%$ ; Acros Organics), 1-bromobutane (99%; Sigma Aldrich), phosphate buffered saline (PBS) (1X solution, pH 7.4; Corning) were used as received. Double distilled water was used throughout this study.

### 2.2 | Bacterial growth

*Staphylococcus aureus* Xen 30 (MRSA Xen 30) strains and *Pseudomonas aeruginosa* Xen 5 (*P. aeruginosa* Xen 5) strains were cultivated on LB media. Medium for MRSA Xen 30 was prepared by dissolving 20 g LB-Miller Broth (10 g/L NaCl; Fisher) and 15 g Agar (BD Difco™ Dehydrated Culture Media: Granulated Agar; Fisher) in 1 L double distilled water. For *P. aeruginosa* Xen 5, a Cetrimide Agar (Fisher) was used to ensure preferential growing conditions. Media were sterilized for 1 h by autoclaving and agar plates were casted subsequently. Then a pure culture of the

respective bacteria was inoculated on the agar plate and incubated overnight at 37°C.

### 2.3 | Synthesis of polymerizable monomers

1-vinyl-3-ethyl-imidazoliumbromide (VEImBr), 1-vinyl-3-butyl-imidazoliumchloride (VBImCl) and 1-vinyl-3-butyl-imidazoliumbromide (VBImBr) were prepared according to the published procedures.<sup>41–44</sup>

VEImBr: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane [TMS]): 9.64 (s, 1H, N=CH–N), 8.24 (s, 1H, N–CH=CH–N), 7.98 (s, 1H, N–CH=CH–N), 7.32 (dd,  $J = 15.77$  Hz,  $J = 8.82$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 5.99 (dd,  $J = 15.73$  Hz,  $J = 2.37$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 5.41 (dd,  $J = 8.78$  Hz,  $J = 2.29$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 4.24 (q,  $J = 7.41$  Hz, 2H, ethyl- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.45 (t,  $J = 14.64$  Hz, 3H, ethyl- $\beta$ -CH<sub>3</sub>).

VBImCl: <sup>1</sup>H NMR (250 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane [TMS]): 9.84 (s, 1H, N=CH–N), 8.27 (s, 1H, N–CH=CH–N), 7.98 (s, 1H, N–CH=CH–N), 7.34 (dd,  $J = 15.75$  Hz,  $J = 8.80$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 6.02 (dd,  $J = 15.63$  Hz,  $J = 2.37$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 5.41 (dd,  $J = 8.78$  Hz,  $J = 2.29$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 4.23 (t,  $J = 7.18$  Hz, 2H, butyl- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.81 (q, 2H, butyl- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 1.28 (sxt, 2H, butyl- $\gamma$ -CH<sub>2</sub>), 0.89 (t, 3H, butyl- $\delta$ -CH<sub>3</sub>).

VBImBr: <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane [TMS]): 9.64 (s, 1H, N=CH–N), 8.24 (s, 1H, N–CH=CH–N), 7.98 (s, 1H, N–CH=CH–N), 7.32 (dd,  $J = 15.58$  Hz,  $J = 8.78$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 5.99 (dd,  $J = 15.71$  Hz,  $J = 2.39$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 5.42 (dd,  $J = 8.76$  Hz,  $J = 2.29$  Hz, 1H, N–CH=CH<sub>2</sub>), 4.23 (t,  $J = 7.27$  Hz, 2H, butyl- $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 1.82 (q, 2H, butyl- $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 1.28 (sxt, 2H, butyl- $\gamma$ -CH<sub>2</sub>), 0.88 (t, 3H, butyl- $\delta$ -CH<sub>3</sub>).

### 2.4 | General procedure for hydrogel syntheses

All hydrogels were synthesized in a standardized process by radical polymerization (Figure 1(a)) at room temperature (20 ± 2°C). This has already been described in prior works of our group.<sup>37,40</sup> The monomer and the according amount of crosslinker (MBAA, 2 mol%) were dissolved in deionized water to adjust the total monomer concentration to the required value (2 mol/L). Afterwards, the according amount of APS-solution was added (0.1 mol% of total monomer amount). TEMED (1.9 mol% of total monomer amount) was added immediately before the

reaction solution was mixed and added into cylindrically shaped molds (22.4 mm diameter).

## 2.5 | Bacterial killing assay using different polymerizable monomers

For testing the polymerizable monomers, a 50% (w/w) stock solution of monomer 1–4, 7, 8, 10 and 11 (Table 1) dissolved in PBS1X was prepared. Monomers 5, 6 and 9 were used as provided by the respective supplier (Table 1). All samples were sterilized under UV for 30 min. Tests were performed using 96-well plates and a total sample volume of 100  $\mu$ l consisting of 50  $\mu$ l bacteria stock solution (ca.  $2 \times 10^5$  CFU/ml, OD<sub>600</sub> 0.3–0.8),  $x$   $\mu$ l monomer solution ( $x = 50 \mu\text{l}/20 \mu\text{l}/5 \mu\text{l}/1 \mu\text{l}$ ) and  $50 \mu\text{l}-x \mu\text{l}$  PBS1X. After an incubation for 1 h at 37°C, a progressive dilution from  $10^5$  CFU/ml to  $10^2$  CFU/ml was prepared. For the first dilution, 10  $\mu$ l sample solution were mixed with 90  $\mu$ l PBS1X. For the subsequent dilutions, 10  $\mu$ l of the solution of a higher concentration were added to 90  $\mu$ l PBS1X. Finally, two spots ( $V = 10 \mu\text{l}$ ) of each dilution were plated on LB agar. The plates were left to dry upright and then placed upside down in the incubator for overnight grow at 37°C. To determine the colony forming units (CFU/ml) the number of all bacteria colonies of each spot was counted, averaged for each dilution and multiplied by the respective dilution factor. The percentage of the colony forming units was determined by dividing the obtained value by the reference value of a blank measurement and then multiplied by 100. Subtracting this value from 100, resulted in the

percentage of killed bacteria per mL sample solution. The described experiment was performed three times for each monomer and the respective volumes. Additionally, the killing assay was performed over 1 week to determine the duration of the antibacterial effect. The tests were performed by incubating 50  $\mu$ l of monomer and  $10^5$  CFU/ml of bacteria at the start of the experiment. The bacteria were maintained in PBS1X supplemented with 20% LB. Samples were taken at 1, 3, 5, 8, 24, 48, 72 h as well as 168 h (1 week) and treated according to the procedure described above.

## 2.6 | Killing assay using different hydrogels

All hydrogels were synthesized according to the procedure mentioned before. After polymerization, the gels were cut into wedge-shaped pieces of 100, 50 and 25  $\mu$ l and washed in 4 ml PBS1X overnight to remove the unpolymerized monomer. When the PBS1X was removed, the gels were dried for approximately 4 h at room temperature and sterilized for 30 min under UV light. Tests were performed using 48-well plates and a total sample volume of 1000  $\mu$ l consisting of 500  $\mu$ l bacteria stock solution (ca.  $2 \times 10^5$  CFU/ml, OD<sub>600</sub> 0.3–0.8),  $x$   $\mu$ l polymerized hydrogel ( $x = 100 \mu\text{l}/50 \mu\text{l}/25 \mu\text{l}$ ) and  $500 \mu\text{l}-x \mu\text{l}$  PBS1X. After an incubation for 1 h at 37°C, a sample of 100  $\mu$ l was taken. Again, starting from this sample, a progressive dilution from  $10^5$  CFU/ml to  $10^2$  CFU/ml was made by pipetting the 10  $\mu$ l sample solution and adding 90  $\mu$ l PBS1X as already described in the

**TABLE 1** Stock solutions of the tested monomers

No.	Monomer	Physical state	Concentration of stock solution	Concentration of added monomer in			
				50 $\mu$ l	20 $\mu$ l	5 $\mu$ l	1 $\mu$ l
1	VBImCl	Solid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
2	VBImBr	Solid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
3	VEImBr	Solid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
4	TMA-VB	Solid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
5	AE-TMA	Liquid <sup>a</sup>	80% (w/w) in H <sub>2</sub> O <sup>b</sup>	400 mg/ml	160 mg/ml	40 mg/ml	8 mg/ml
6	MAE-TMA	Liquid <sup>a</sup>	75% (w/w) in H <sub>2</sub> O <sup>b</sup>	375 mg/ml	150 mg/ml	37.5 mg/ml	7.5 mg/ml
7	MAE-SO <sub>3</sub>	Solid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
8	AE-SO <sub>3</sub>	Solid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
9	AAMPSO <sub>3</sub> H	Liquid <sup>a</sup>	50% (w/w) in H <sub>2</sub> O <sup>b</sup>	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
10	HEMA	Liquid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml
11	MAEDMA-SO <sub>3</sub>	Solid	50% (w/w) in PBS1X	250 mg/ml	100 mg/ml	25 mg/ml	5 mg/ml

<sup>a</sup>Delivered as solution by the supplier.

<sup>b</sup>As delivered by the supplier.

previous section. The described experiment was performed in triplicate for each kind of hydrogel and respective hydrogel volumes. For determining the duration of the antibacterial effect, the killing assay was performed over 1 week by incubating 100  $\mu\text{l}$  of hydrogel and  $10^5$  CFU/ml of bacteria at the start of the experiment. The bacteria were maintained in PBS1X supplemented with 20% LB. Samples were taken at 1, 3, 5, 8, 24, 48, 72 h as well as 168 h (1 week) and treated according to the procedure described above.

### 3 | RESULTS AND DISCUSSION

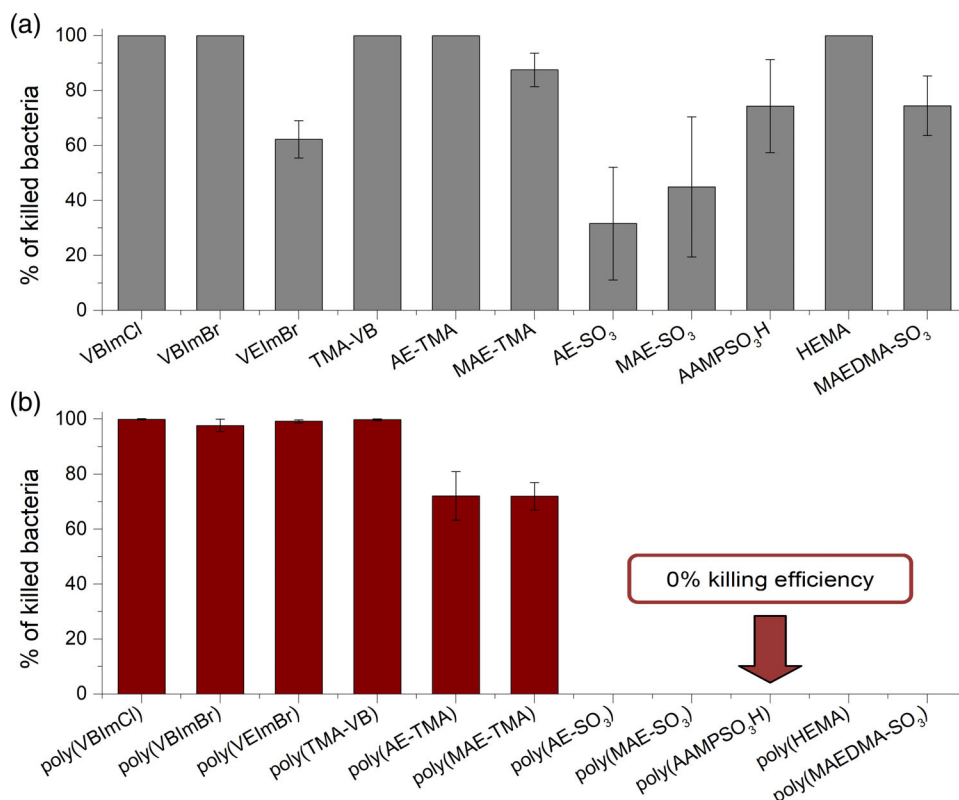
#### 3.1 | Antibacterial effect against *P. aeruginosa* Xen 5

The monomers that were tested in this study are summarized in Figure 2. They can be divided into cationic, anionic, neutral and zwitterionic species according to their structure. Using the highest concentration of 50  $\mu\text{l}$  monomer solution mixed with 50  $\mu\text{l}$  bacteria stock solution, all substances showed an antibacterial activity against *P. aeruginosa* Xen 5 and killed at least 30% of those gram-negative bacteria (Figure 3(a)). As expected, the dilution of the test solutions with PBS is associated with a reduced killing efficiency of  $\geq 38\%$  in case of HEMA, so that bacterial growth increases comparatively.

In two cases, the effect even disappears almost completely at a maximum dilution: the AE-TMA allows bacterial growth of approximately 84% and AE-SO<sub>3</sub> of 94% (Table 2).

It has already been described in the literature that cationic substances have a stronger effect on microorganisms as they favor the interaction with the negatively charged bacterial cell membrane compared to anionic or neutral substances.<sup>6</sup> This trend is also reflected in the results. Using the highest amount of 50  $\mu\text{l}$ , four of the six cationic monomers showed a 100% killing efficiency: VBIImCl, VBIImBr, TMA-VB and AE-TMA. In contrast to AE-TMA, VBIImCl and TMA-VB also showed a very strong effect at 20  $\mu\text{l}$ , which also decreased at lower monomer contents. After adding 1  $\mu\text{l}$  monomer solution both killed  $\geq 60\%$  of the bacterial cells. VBIImBr consistently showed the best effect against *P. aeruginosa* Xen 5. Even at the two highest dilution levels, VBIImBr was able to eliminate  $99.1 \pm 0.6\%$  (5  $\mu\text{l}$ ) and  $68.4 \pm 9.9\%$  (1  $\mu\text{l}$ ) of the bacteria (Figure 4).

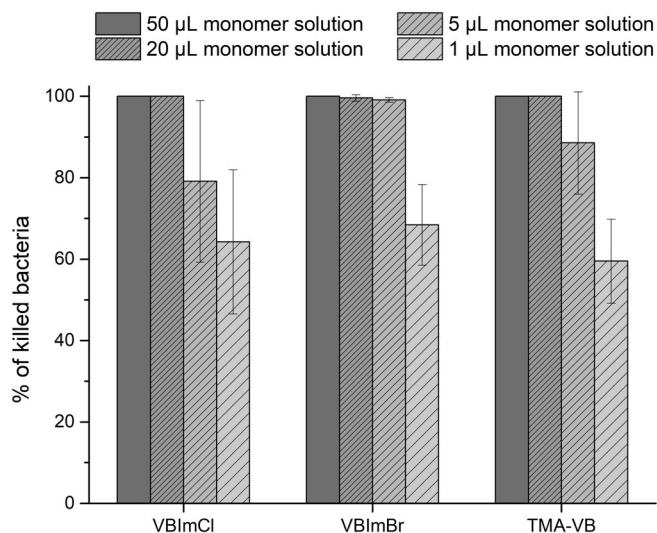
The explanation for this marked antibacterial activity is given in the mechanism of action. Conventional antibiotics exert their antibacterial effect in different ways, for example by blocking DNA replication and RNA synthesis, disturbance of the synthesis of essential metabolites or inhibiting bacterial protein synthesis.<sup>45,46</sup> Instead, the studied monomers probably interact with certain components of the cell membrane. This has been shown for a



**FIGURE 3** Killing efficiency against *P. aeruginosa* Xen 5 of (a) monomers. Cond.: 50  $\mu\text{l}$  monomer solution (concentrations in Table 1), 50  $\mu\text{l}$  bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C,  $n = 3$ . (b) hydrogels. Cond.: 100  $\mu\text{l}$  hydrogel ( $c = 2$  mol/L), 400  $\mu\text{l}$  PBS1X, 500  $\mu\text{l}$  bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C,  $n = 3$  [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

**TABLE 2** Antibacterial effect at highest dilution of AE-TMA and AESO<sub>3</sub> against *P. aeruginosa* Xen 5 ( $n = 3$ )

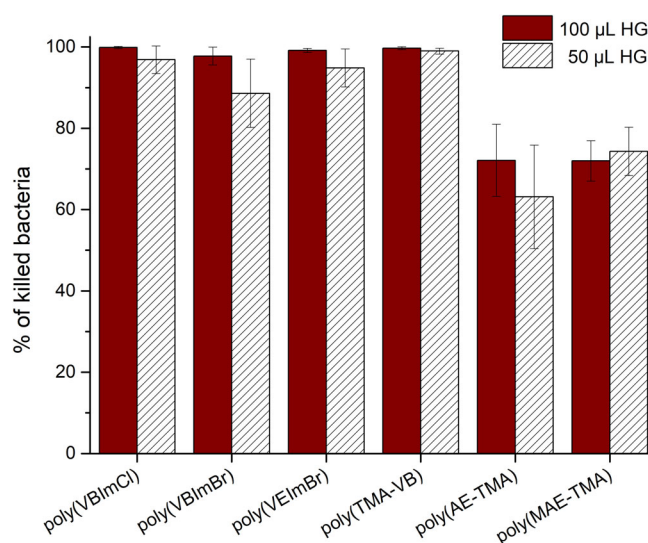
Monomer	Killed bacteria	
	50 $\mu$ l monomer solution	1 $\mu$ l monomer solution
AE-TMA	100.0% $\pm$ 0.0%	15.7% $\pm$ 9.0%
AE-SO <sub>3</sub>	31.6% $\pm$ 20.6%	6.0% $\pm$ 7.0%

**FIGURE 4** Antibacterial effect of different diluted monomer solutions against *P. aeruginosa* Xen 5. Cond.: X  $\mu$ l monomer solution (concentrations in Table 1), 50  $\mu$ l–X  $\mu$ l PBS 1X, 50  $\mu$ l bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C,  $n = 3$ 

number of non-polymeric and polymeric bactericides with cationic components, but also with neutral ones.<sup>47–50</sup> These substances can lead to death without even penetrating the bacterium. Superficially described, first of all, the formation of pores is caused by the incorporation of the positive charged units of the compounds in the bacterial membrane. The more components are laid in, the more permeable the membrane becomes. Finally, the cell leaks out and the associated cell death occurs. This process takes place very quickly and is based on physicochemical alteration of the bacterial membrane, which makes the development of bacterial resistance very difficult.<sup>51,52</sup> For a more detailed explanation of the mechanism of action, the proceeding itself as well as individual substance groups (cationic/anionic) have to be examined more closely. Cationic substances are assumed to come into contact with the negatively charged phosphate and carboxylate groups of the cell wall via electrostatic interactions. This is followed by the described storage of the hydrophobic parts of the compounds, resulting in cell death. So, the antibacterial effect of the

cationic species increased with the intensity of the interactions.<sup>53</sup> Based on this knowledge, an attractive interaction between the negatively charged cell membrane of the bacteria and the anionic compound seems rather unlikely. However, the results show a bactericidal effect that is possibly caused by positive counterions. In general, these ions have a certain influence on the bactericidal activity - also in cationic substances, where the influence of the negative counterions is overcompensated by the positively charged framework of the substances. Nevertheless, in anionic compounds the positive counterions are the central point of interaction resulting in antibacterial activity, which is, however, smaller than that of the cationic substances. These results are in strong contrast to the antibacterial effects of the resulting hydrogels, which are referred to by using the prefix “poly” and summarized in Figure 3(b). It is noticeable that only hydrogels based on cationic monomers kill the gram-negative bacteria cells, for example poly(TMA-VB) and imidazolium-based hydrogels with outstanding killing efficiencies of at least 97.7%. Poly(AE-TMA) and poly(MAE-TMA) also had a good effect, killing approximately 72% of bacteria. Also, the reduction of gel volumes by half resulted in >60% of bacteria being killed in these cases (Figure 5).

Although the mechanism of the inherent antibacterial activity of hydrogels is not yet fully understood, it has been hypothesized that it is similar to the mechanism by which these synthetic cationic molecules function. In general, the attraction of the negatively charged parts of the bacterial plasma membrane (inner phospholipid

**FIGURE 5** Antibacterial effect of different hydrogel amounts against *P. aeruginosa* Xen 5. Cond.: X  $\mu$ l hydrogel ( $c = 2$  mol/L), 500  $\mu$ l–X  $\mu$ l PBS1X, 500  $\mu$ l bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C,  $n = 3$  [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

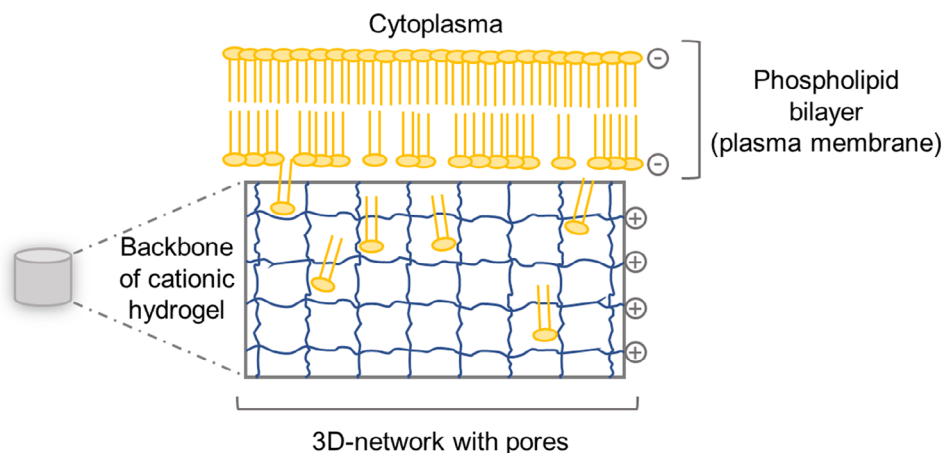
membrane) by the cationic nanoporous hydrogels is based on electrostatic interactions. As a consequence, some parts of the inner bacterial bilayer might be pulled into the hydrogel pores as shown schematically in Figure 6 in a highly simplified form. In this process, some of the inner anionic lipid molecules also move to the outside for further interaction. This results in cell wall disruption, membrane lysis and subsequent cell death.<sup>5,50,54</sup> Unfortunately, in these tests neither anionic nor neutral or zwitterionic monomer-based gels showed an inherent antibacterial effect on *P. aeruginosa* Xen 5. This could be explained by the structural differences of the cell envelope between gram-negative bacteria like *P. aeruginosa* Xen 5 and gram-positive bacteria, including the lack of teichoic acid in gram-negative bacteria as a part of the peptidoglycan layer. Teichoic acids are placed on the plasma membrane of gram-positive bacteria, penetrate the peptidoglycan layer and protrude into the extracellular space to interact with other substances, facilitating the penetration of external substances. In case of gram-negative bacteria, the peptidoglycan layer is covered by an additional phospholipid bilayer (outer membrane) and not connected with the plasma membrane. This outer membrane is a natural barrier that makes it difficult for substances to enter the cells. It possesses negatively charged lipopolysaccharides, which have a positive influence on the interaction with cationic substances. However, the additional (outer) membrane, combined with the reduced mobility of the cationic sections in the three-dimensional cross-linked hydrogels, hinders the efficient destruction of the inner cell membrane of gram-negative bacteria when testing the polymerized substances.<sup>55–57</sup> For an effective interaction resulting in cell death, the anion is also crucial.<sup>58</sup> Potassium ( $K^+$ ) acts as counterion for the two tested anionic representatives poly(MAE-SO<sub>3</sub>) and poly(AE-SO<sub>3</sub>). Previous studies have shown that polyanionic membranes containing  $K^+$  as a counterion showed no antibacterial activity.<sup>59</sup> In addition

to the influence of the already described cationic component of the hydrogel and the permeability of the microbial membrane, the antibacterial activity also depends on the porosity of the hydrogel and the amphiphilicity of the polymer.<sup>5</sup> It appears that an interaction of all these components had a negative effect on the antibacterial activity.

### 3.2 | Antibacterial effects against MRSA Xen 30

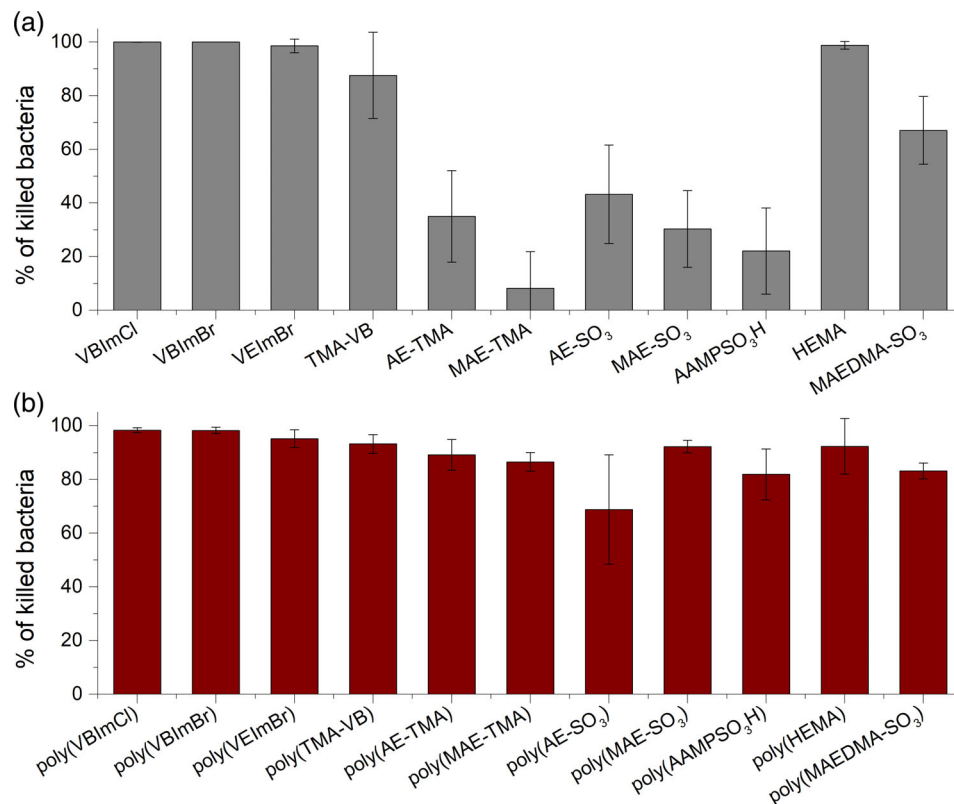
Compared to the effects of the tested components on *P. aeruginosa* Xen 5, the response was very different for some monomers when using MRSA Xen30. It is difficult to see a trend between the different groups when looking at the results of the experiment with the highest amount of monomer of 50  $\mu$ l (Figure 7(a)). MAEDMA-SO<sub>3</sub>, a zwitterionic monomer, killed approx. 67% of the bacterial cells. In comparison, the representatives of the anionic group showed a smaller impact with  $43.2 \pm 18.3\%$  efficiency for AE-SO<sub>3</sub> and  $30.4 \pm 14.3\%$  for MAE-SO<sub>3</sub>. In the group of cationic and neutral monomers there are great differences regarding their influence on MRSA Xen 30. The imidazolium-based monomers again achieved very good results by killing  $98.5 \pm 2.5\%$  (in the case of VEImBr) to 100% (for VBIImBr) of the bacteria. HEMA also eliminated approx. 99% of bacteria after the prescribed incubation period.

At lower monomer contents of 5 and 1  $\mu$ l, the percentage of bacteria killed by the imidazolium-based VEImBr decreased from barely 99% to just under 87% and approx. 38% respectively. VBIImCl and VBIImBr were able to maintain their pronounced effect even at the highest dilution level (1  $\mu$ l monomer solution) and eliminate at least 85% of the bacteria cells (Figure 8). AE-TMA and MAE-TMA are also cationic in nature, but have only low or negligible activity in the highest concentration.



**FIGURE 6** Schematic diagram showing the interactions between negatively charged parts of the bacterial plasma membrane of gram-positive and gram-negative bacteria and hydrogels having a cationic framework [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

**FIGURE 7** Killing efficiency against MRSA Xen 30 of (a) monomers. *Cond.*: 50  $\mu$ l monomer solution (concentrations in Table 1), 50  $\mu$ l bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C,  $n = 3$ . (b) hydrogels. *Cond.*: 100  $\mu$ l hydrogel ( $c = 2$  mol/L), 400  $\mu$ l PBS1X, 500  $\mu$ l bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C,  $n = 3$  [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

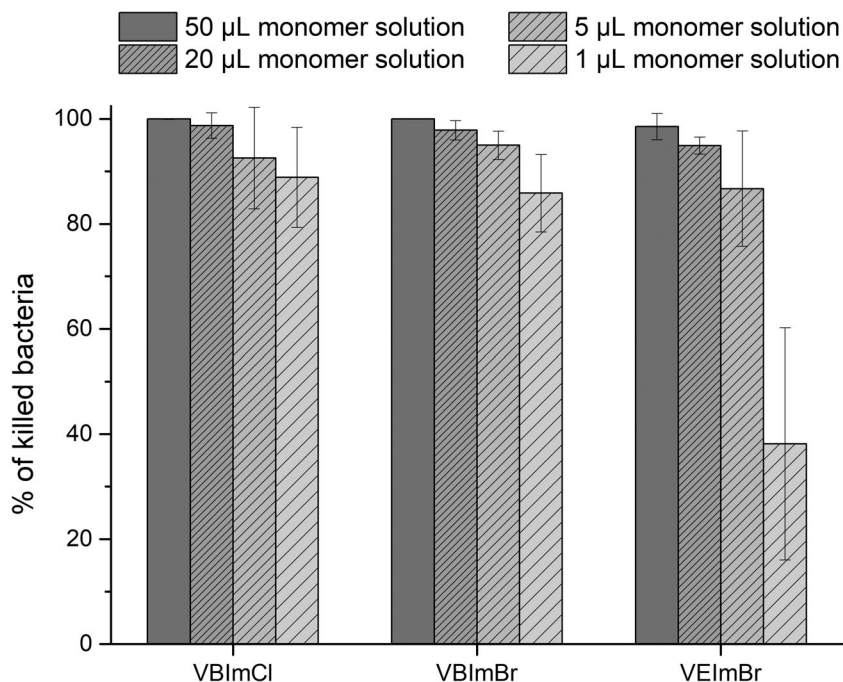


The results contrast strongly with these generally good results of monomers from the same group. AAMPSO<sub>3</sub>H, also a formal neutral monomer, had a low effect of <25% killed bacteria cells using the highest concentration of 50  $\mu$ l.

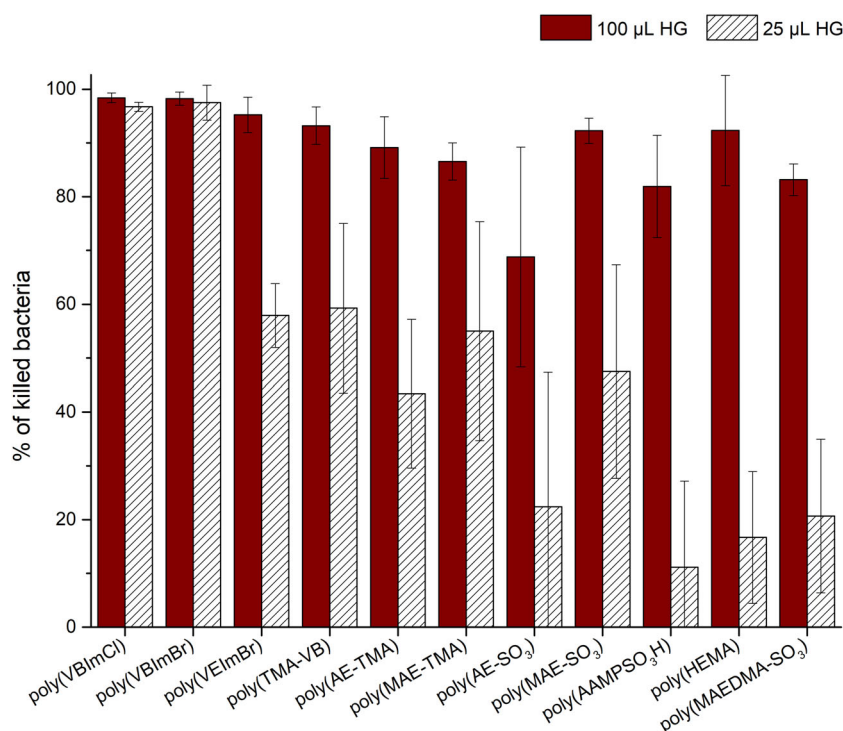
As can be seen in Figure 7(b), the polymerization of monomers into hydrogels was in most cases accompanied by an increase in antibacterial activity. Since the absorption of large water amounts is a main characteristic of hydrogels and their application as draw agents for osmotic processes has already been reported,<sup>60–62</sup> this phenomenon might be explained by the osmotic pressure gradient between the hydrogel and the bacterial cell. Generally, hydrogels can be classified as strongly swelling and slightly swelling with regard to their swelling degree. According to previous results, all PILs-based hydrogels proved to be swelling agents in distilled water at 37°C. In case of poly(MAE-TMA) and poly(TMA-VB) very strong swelling could be observed resulting in degrees of 13.7 and 20.8, respectively. In contrast to that, poly(HEMA) achieved rather poor swelling degrees of 0.3.<sup>40</sup> This is also reflected in the almost constant antibacterial activity of the monomeric and polymeric form. Consequently, it seems that the ability to absorb water is enhancing the antibacterial effect by an additional cell dehydration. Unlike the small monomers, the polymerized species are much bigger. They are not able to enter the bacterial membrane and probably stick onto the bacterial surface,

forming a hydrogel-bacterium-interface that facilitates the diffusion of water out of the bacterium into the hydrogel. As mentioned, this process is driven by the different osmotic states between the bacterial cell and the hydrogel. The latter was swollen in PBS and dried for 4 h before the experiments, resulting in a reduced water and an increased ion content that is probably reinforcing this effect.

The tested hydrogels achieved a killing efficiency of at least 68%. Again, the best results were achieved by 100  $\mu$ l of the imidazolium-based hydrogels. Even in the polymerized form, these tested substances showed an excellent antibacterial activity of at least 95%. The vinylbutylimidazolium-based species were able to maintain this high elimination rate even at a hydrogel volume of 25  $\mu$ l (Figure 9). In the case of poly(VEImBr), the activity decreased to barely 58%. When considering the imidazolium-based representatives, the results of the monomer tests showed that VBIImCl and VBIImBr performed better than VEImBr. While this effect only became apparent with low hydrogel volumes when PILs-based hydrogels were used, the trend in monomers could already be seen at the lowest dilution level. Thus, the influence of the chain length in this case seems to be stronger than that of the counterion. With regard to the antibacterial mechanism of these substances, this fully coincides with the reported effects. Since a C4-chain is more hydrophobic than the C2-chain of VEImBr, the



**FIGURE 8** Antibacterial effect of different diluted imidazolium-based monomer solutions against MRSA Xen 30. Cond.: X μl monomer solution (concentrations in Table 1), 50 μl-X μl PBS 1X, 50 μl bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C, n = 3



**FIGURE 9** Antibacterial effect of different hydrogel amounts against MRSA Xen 30. Cond.: Different hydrogel volume (c = 2 mol/L), 400 μl PBS1X, 500 μl bacteria stock solution, 1 h incubation at 37°C, n = 3 [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

former can penetrate more strongly into the phospholipid bilayer to perforate the membrane more and promote cell death. The results are also in line with previous investigations performed using ILs of this type.<sup>8</sup> In general, it should be emphasized that the other hydrogels, which are based on cationic monomers, produced good results with a reduced hydrogel volume of 25 μl. Poly(AE-TMA) also killed nearly half (43.4%) of the bacteria cells. Only

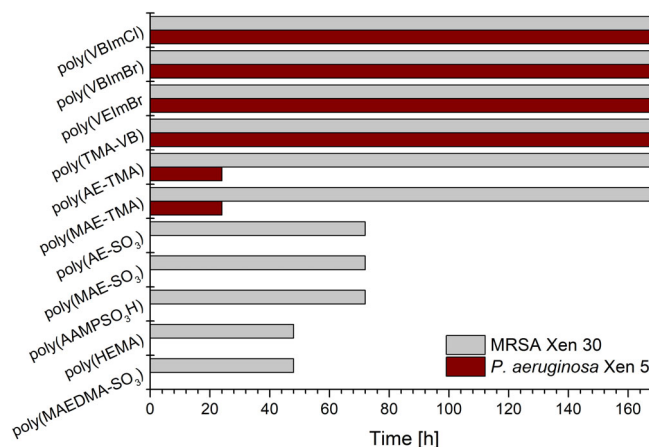
poly(MAE-TMA) and poly(TMA-VB) had killing efficiencies of <50%. Compared to the results with gram-negative *P. aeruginosa* Xen 5, it is noticeable that the hydrogels from the anionic, neutral and zwitterionic group also achieved very good results at higher volumes when using gram-positive MRSA Xen 30. The reason for this very different influence on MRSA Xen 30 and *P. aeruginosa* Xen 5 might probably be the differences in the cell envelope

again. Gram-positive bacteria contain the anionic teichoic acid which is embedded in the peptidoglycan layer. It is attached to the phospholipid bilayer (inner membrane) and is able to introduce an additional negative charge resulting in a stronger interaction between the cations (or counter-cations) and the membrane. In this way, the influence of the anion on the killing efficiency becomes marginal.<sup>58</sup> Therefore, gram-positive bacteria generally show a higher susceptibility towards bactericidal substances compared to gram-negative ones.<sup>63–65</sup> Unfortunately, this marked antibacterial effect decreased strongly at lower volumes or disappeared completely. For example, poly(AE-SO<sub>3</sub>) has very little antibacterial effect (22.4% killed bacteria cells). The methylated analogue also lost nearly 45% of its original killing efficiency. A drastic reduction of the effect can also be observed with poly(AAMP<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) and poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>). Here the effect is just ≤20% when using 25 μl hydrogel.

### 3.3 | Time span of the antibacterial activity

The fields of application of hydrogels with inherent antibacterial properties seem to be broadly diversified. However, for an adequate application it is important to know the length of time of action. In this work the time span of the inherent antibacterial effect was tested concerning two different aspects. First, the influence of the storage time has been tested with 14 days old hydrogels. In these measurements neither a significant increase nor a significant decrease of antimicrobial activity could be detected. Generally, the imidazolium-based hydrogels as well as poly(TMA-VB) were able to maintain their very high killing efficiencies for both types of bacteria. The other hydrogels also exhibited approximately the same efficiencies compared to the results of the freshly synthesized representatives. Therefore, the storage in an airtight container for 2 weeks has no influence on the antibacterial activity of the gels.

Furthermore, the antibacterial effect was monitored over a period of 1 week by determining the killing efficiency after 1, 3, 5, 8, 24, 48, 72 h and 168 h (1 week) of incubation at 37°C. It was observed that all substances with a 100% killing efficiency were able to maintain this effect even after 1 week. In the case of incomplete killing, the big majority of the hydrogels retained an efficiency of ≥50% for at least 72 h. Only poly(AE-TMA) and poly(MAE-TMA) showed shorter durations of action of at least 24 h when working with gram-negative *P. aeruginosa* Xen 5. Unfortunately, the effect vanished



**FIGURE 10** Time span of the antibacterial effect (≥50% killing efficiency) of the tested hydrogels against MRSA Xen 30 (dark red) and *P. aeruginosa* Xen 5 (gray). Cond.: 100 μl hydrogel volume (c = 2 mol/L), 400 μl PBS1X, 500 μl bacteria stock solution, 168 h (1 week) incubation at 37°C, n = 3 [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

after 48 h. In contrast to that, the imidazolium-based hydrogels as well as poly(TMA-VB) retained their killing efficiencies of 100% for at least 1 week. In case of MRSA Xen 30, all hydrogels having positively charged backbones retained their effect over the period of investigation. Poly(AE-SO<sub>3</sub>) and poly(MAE-SO<sub>3</sub>), both hydrogels having a negatively charged backbone, as well as poly(AAMP<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) showed an efficiency of >50% for at least 72 h. After 1 week, their efficiency dropped under 50%. The lowest activities after 3 days were seen in poly(HEMA) and poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) killing 45.6% and 31.1% of the gram-positive bacteria, respectively. After 1 week of incubation, poly(HEMA) was still able to kill 11.9% of the bacteria but poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) lost its antibacterial properties (Figure 10).

A similar trend could be observed for the time span experiments of the monomers. As expected, storage under airtight and cool conditions was no problem for the monomers. The time killing assay showed that for both bacteria species, the imidazolium-based monomers VBImCl and VBImBr as well as TMA-VB and HEMA were able to maintain their high killing activities of at least 87% over the whole testing period of 1 week. VEImBr also retained its antibacterial effect for at least that time. Testing the influence on gram-negative *P. aeruginosa* Xen 5 showed that the good killing efficiencies of AAMP<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H (74.4%) and MAEDMA-SO<sub>3</sub> (74.5%) did not decrease to <50% before 48 h. In case of MRSA Xen 30, MAEDMA-SO<sub>3</sub> showed the same development. In contrast to that AAMP<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H showed an initial activity of <50% anyway.

## 4 | SUMMARY AND CONCLUSION

For the first time, a broad screening of 11 different PILs-based hydrogels and their corresponding monomers with regard to their inherent antibacterial effects against *P. aeruginosa* Xen 5 and MRSA Xen 30 was performed ( $n = 3$ ) to examine structural trends. The tested substances can be divided into four different groups based on their structural differences: six cationic, two anionic, two neutral and one zwitterionic representative. The monomers also serve as starting materials for the production of hydrogels. Using a crosslinker, they are linked by radical polymerization to form three-dimensional networks. After gelation and washing, the gels were tested without adding any antibiotics. The killing efficiency of the resulting hydrogels was of particular interest due to the variety of possible applications of hydrogels in the medical field, for example, as implants, drug delivery systems, contact lens material, bone substitutes and stent coatings.<sup>26,66,67</sup> The results showed that all hydrogels with a cationic framework have a good to very good inherent antibacterial effect (>70%) against both, gram-negative and gram-positive bacteria. Outstanding results were achieved by using imidazolium-based hydrogels having a killing efficiency of at least 95%. It was possible to demonstrate and confirm the excellent antibacterial effect of ILs and PILs in the form of PILs-based hydrogels as well. Especially, poly(VBImCl) and poly(VBImBr) showed very high killing effects even at the lowest hydrogel content of 25  $\mu\text{l}$ . In the case of gram-positive MRSA Xen 30, there was also a strong effect ( $\geq 68.8\%$  killed bacterial cells) observed for the anionic, neutral and zwitterionic species. In contrast, these polymerized species did not show any effect on the bacterial growth of *P. aeruginosa* Xen 5 due to the differences in the cell envelope structure between gram-positive and gram-negative bacteria. Furthermore, it could be shown that storing the hydrogels in an airtight container for 14 days does not have a significant effect on the antibacterial effect. Therefore, freshly synthesized hydrogels as well as stored gels can be used. Incubation tests also showed that the inherent antibacterial activity of monomers and hydrogels lasts for several days. When testing hydrogels and MRSA Xen 30, a decrease <50% killing efficiency could be observed not earlier than after 72 h. In the case of gram-negative *P. aeruginosa* Xen 5, four of the six effective hydrogels maintained their 100% activity over the test period of 1 week.

For the investigations in this study, different volumes of wedge-shaped gels were used. Since a dependence on the killing efficiency on the surface is very likely, further experiments with varying surface-to-volume ratios are planned. Additionally, the toxicity aspect needs to be further investigated. One of our previous works has already

shown good to very good cell compatibility in direct contact with mouse fibroblasts. The best result was achieved by poly(VEImBr) that shows a relative cell viability of 98.4%. With a reduction of cell vitality by not more than 20%, poly(MAE-TMA), poly(AE-SO<sub>3</sub>), poly(MAE-SO<sub>3</sub>), poly(MAEDMA-SO<sub>3</sub>) and poly(HEMA) possess just a low cytotoxicity. These results are in the same range of hydrogels based on hyaluronic acid or alginate that are commonly used in the medical field.<sup>40</sup> Nevertheless, additional biocompatibility tests with macrophages and a haemolysis test could be implemented in the future.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge the financial support by the Deutsche Forschungsgemeinschaft and the University of Rostock within the funding programme Open Access Publishing. Funding by the Federal Ministry of Education and Research within RESPONSE “Partnership for Innovation in Implant Technology” (FKZ 03ZZ0910B) and the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG; grant KR 2491/12-2) as well as the HERMES research funding of the University of Rostock is gratefully acknowledged. We also thank Katrin Feest for proof reading and Fitzroy Byfield for the technical support.

## ORCID

Johanna Claus  <https://orcid.org/0000-0003-2557-4425>

Ann Jastram  <https://orcid.org/0000-0001-8441-7070>

Ewelina Piktel  <https://orcid.org/0000-0002-4531-7277>

Robert Bucki  <https://orcid.org/0000-0001-7664-9226>

Udo Kragl  <https://orcid.org/0000-0002-2507-7472>

## REFERENCES

- [1] S. Wenda, S. Illner, A. Mell, U. Kragl, *Green Chem.* **2011**, *13*, 3007.
- [2] Y. Dong, P. Wang, T. Wei, T. Zhou, M. Huangfu, Z. Wu, *Adv. Mater. Interfaces* **2017**, *4*, 1700953.
- [3] M. F. Bavaro, *Curr. Gastroenterol. Rep.* **2012**, *14*, 317.
- [4] P. Chairatana, T. Zheng, E. M. Nolan, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 4458.
- [5] V. W. L. Ng, J. M. W. Chan, H. Sardon, R. J. Ono, J. M. García, Y. Y. Yang, J. L. Hedrick, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2014**, *78*, 46.
- [6] A. Muñoz-Bonilla, M. Fernández-García, *Eur. Polym. J.* **2018**, *105*, 135.
- [7] M. T. Madigan, K. S. Bender, D. H. Buckley, W. M. Sattley, D. A. Stahl, *Brock biology of microorganisms*, Pearson, New York, NY **2017**.
- [8] Z. Zheng, Q. Xu, J. Guo, J. Qin, H. Mao, B. Wang, F. Yan, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 12684.
- [9] A. R. Siddiqui, J. M. Bernstein, *Clin. Dermatol.* **2010**, *28*, 519.
- [10] M. T. Madigan, T. D. Brock Eds., *Brock biology of microorganisms*, Pearson/Benjamin Cummings, Boston, MA **2012**.
- [11] Y. Le Loir, F. Baron, M. Gautier, *Genet. Mol. Res.* **2003**, *2*, 7.
- [12] H. F. Chambers, F. R. Deleo, *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, *7*, 629.
- [13] F. D. Lowy, *J. Clin. Investig.* **2003**, *111*, 1265.

- [14] K. Trzcinski, B. S. Cooper, W. Hryniewicz, C. G. Dowson, *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, *45*, 763.
- [15] M. Singh, N. A. Bhawsar, *Int. J. Adv. Res.* **2014**, *2*, 778.
- [16] K. Poole, *Front. Microbiol.* **2011**, *2*, 65.
- [17] G. P. Bodey, R. Bolivar, V. Fainstein, L. Jadeja, *Rev. Infect. Dis.* **1983**, *5*, 279.
- [18] M. Liu, G. Zeng, K. Wang, Q. Wan, L. Tao, X. Zhang, Y. Wei, *Nanoscale* **2016**, *8*, 16819.
- [19] G. Zeng, L. Huang, Q. Huang, M. Liu, D. Xu, H. Huang, Z. Yang, F. Deng, X. Zhang, Y. Wei, *Appl. Surf. Sci.* **2018**, *459*, 588.
- [20] Q. Huang, J. Chen, M. Liu, H. Huang, X. Zhang, Y. Wei, *Chem. Eng. J.* **2020**, *387*, 124019.
- [21] A. Muñoz-Bonilla, M. Fernández-García, *Prog. Polym. Sci.* **2012**, *37*, 281.
- [22] J. N. Pendleton, B. F. Gilmore, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2015**, *46*, 131.
- [23] A. Kausar, *Polym.-Plast. Technol. Eng.* **2017**, *56*, 1823.
- [24] M. Messali, M. R. Aouad, A. A.-S. Ali, N. Rezki, T. Ben Hadda, B. Hammouti, *Med. Chem. Res.* **2015**, *24*, 1387.
- [25] A. Jain, L. S. Duvvuri, S. Farah, N. Beyth, A. J. Domb, W. Khan, *Adv. Healthc. Mater.* **2014**, *3*, 1969.
- [26] J. Claus, F. O. Sommer, U. Kragl, *Solid State Ionics* **2018**, *314*, 119.
- [27] K. Nakashima, N. Kamiya, D. Koda, T. Maruyama, M. Goto, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2353.
- [28] A. Grollmisch, U. Kragl, J. Großeheilmann, *SynOpen* **2018**, *02*, 192.
- [29] M. S.-P. López, D. Mecerreyes, E. López-Cabarcos, B. López-Ruiz, *Biosens. Bioelectron.* **2006**, *21*, 2320.
- [30] M. Moniruzzaman, K. Ino, N. Kamiya, M. Goto, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7707.
- [31] H. Sun, H. Yang, W. Huang, S. Zhang, *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *450*, 353.
- [32] G. Behl, J. Iqbal, N. J. O'Reilly, P. McLoughlin, L. Fitzhenry, *Pharm. Res.* **2016**, *33*, 1638.
- [33] N. Kamaly, B. Yameen, J. Wu, O. C. Farokhzad, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 2602.
- [34] A. A. B. de Queiroz, P. Debieux, J. Amaro, M. Ferretti, M. Cohen, *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* **2018**, *26*, 2934.
- [35] J. Guo, Q. Xu, Z. Zheng, S. Zhou, H. Mao, B. Wang, F. Yan, *ACS Macro Lett.* **2015**, *4*, 1094.
- [36] A. S. Veiga, J. P. Schneider, *Biopolymers* **2013**, *100*, 637.
- [37] J. Bandomir, A. Schulz, S. Taguchi, L. Schmitt, H. Ohno, K. Sternberg, K.-P. Schmitz, U. Kragl, *Macromol. Chem. Phys.* **2014**, *215*, 716.
- [38] J. Bandomir, S. Kaule, K.-P. Schmitz, K. Sternberg, S. Petersen, U. Kragl, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 11604.
- [39] J. Großeheilmann, J. Bandomir, U. Kragl, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 18957.
- [40] J. Claus, A. Brietzke, C. Lehnert, S. Oschatz, N. Grabow, U. Kragl, *PLoS One* **2020**, *15*, e0231421.
- [41] M. D. Green, D. La Salas-de Cruz, Y. Ye, J. M. Layman, Y. A. Elabd, K. I. Winey, T. E. Long, *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, *212*, 2522.
- [42] B. Hu, T. Wu, K. Ding, X. Zhou, T. Jiang, B. Han, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 3396.
- [43] J. Pinaud, J. Vignolle, Y. Gnanou, D. Taton, *Macromolecules* **2011**, *44*, 1900.
- [44] R. Marcilla, J. Alberto Blazquez, J. Rodriguez, J. A. Pomposo, D. Mecerreyes, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2004**, *42*, 208.
- [45] H. Herwald, *Infektionskrankheiten: Geschichte, Medizin, Wissenschaft, Wirtschaft, Politik und ihre Wechselwirkungen*, Springer, Berlin **2019**.
- [46] S. Suerbaum, G. D. Burchard, S. H. E. Kaufmann, T. F. Schulz Eds., *Medizinische Mikrobiologie und Infektologie*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg **2016**.
- [47] A. P. Fraise, A. D. Russell, G. A. J. Ayliffe, J.-Y. Maillard, P. A. Lambert, W. B. Hugo Eds., *Russell, Hugo & Ayliffe's principles and practice of disinfection, preservation and sterilization*, Blackwell Pub, Malden, MA **2004**.
- [48] C. E. Codling, J.-Y. Maillard, A. D. Russell, *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, *51*, 1153.
- [49] Y. Guan, L. Qian, H. Xiao, *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 2244.
- [50] A. A. Yaroslavov, N. S. Melik-Nubarov, F. M. Menger, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 702.
- [51] N. M. Milović, J. Wang, K. Lewis, A. M. Klibanov, *Biotechnol. Bioeng.* **2005**, *90*, 715.
- [52] X. Xue, X. Chen, X. Mao, Z. Hou, Y. Zhou, H. Bai, J. Meng, F. Da, G. Sang, Y. Wang, X. Luo, *AAPS J.* **2013**, *15*, 132.
- [53] K. E. S. Locock, T. D. Michl, N. Stevens, J. D. Hayball, K. Vasilev, A. Postma, H. J. Griesser, L. Meagher, M. Haeussler, *ACS Macro Lett.* **2014**, *3*, 319.
- [54] L. Timofeeva, N. Kleshcheva, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *89*, 475.
- [55] O. Fritsche, *Mikrobiologie*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg **2016**.
- [56] K. Anselme, P. Davidson, A. M. Popa, M. Giazzon, M. Liley, L. Ploux, *Acta Biomater.* **2010**, *6*, 3824.
- [57] S. P. Uday, D. Thiyagarajan, S. Goswami, M. D. Adhikari, G. Das, A. Ramesh, *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 5818.
- [58] M. Isik, J. P. K. Tan, R. J. Ono, A. Sanchez-Sanchez, D. Mecerreyes, Y. Y. Yang, J. L. Hedrick, H. Sardon, *Macromol. Biosci.* **2016**, *16*, 1360.
- [59] J. Guo, Q. Xu, R. Shi, Z. Zheng, H. Mao, F. Yan, *Langmuir* **2017**, *33*, 4346.
- [60] D. Li, X. Zhang, J. Yao, G. P. Simon, H. Wang, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 1710.
- [61] D. Li, X. Zhang, G. P. Simon, H. Wang, *Water Res.* **2013**, *47*, 209.
- [62] T. Shay, M. D. Dickey, O. D. Velev, *Lab Chip* **2017**, *17*, 710.
- [63] H. Nikaido, *Science* **1994**, *264*, 382.
- [64] G. McDonnell, A. D. Russell, *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, *12*, 147.
- [65] L. M. Thoma, B. R. Boles, K. Kuroda, *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 2933.
- [66] C. E. Mendez-Probst, A. Fernandez, J. D. Denstedt, *Curr. Urol. Rep.* **2010**, *11*, 67.
- [67] K. Yang, Q. Han, B. Chen, Y. Zheng, K. Zhang, Q. Li, J. Wang, *Int. J. Nanomedicine* **2018**, *13*, 2217.

**How to cite this article:** Claus J, Jastram A, Piktel E, Bucki R, Janmey PA, Kragl U. Polymerized ionic liquids-based hydrogels with intrinsic antibacterial activity: Modern weapons against antibiotic-resistant infections. *J Appl Polym Sci.* 2021;138:e50222. <https://doi.org/10.1002/app.50222>

### A.3 Publikation III

Full Paper. *SynOpen* **2018**, *2*, 192-199.

#### Enzyme Immobilization in Polymerized Ionic Liquids-based Hydrogels for Active and Reusable Biocatalysts.

A. Grollmisch, U. Kragl, J. Großeheilmann

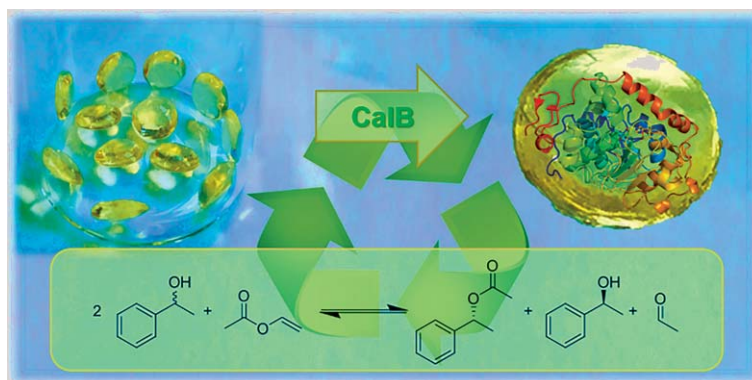
Eingereicht: 22. April 2018, Angenommen: 23. April 2018

DOI: 10.1055/s-0037-1610144

**Abstract:** Enzyme immobilization in polymerized ionic liquids (pILs) promises to be a versatile tool for simple recovery and reuse of catalysts. In this study, a raw extract of CalB was encapsulated in poly(VEImBr) and assessed with respect to solvent, temperature, amount of enzyme, leaching behavior, and reusability on the example of the kinetic resolution of *rac*-1-phenylethanol with vinyl acetate. This immobilization method increased the enzyme activity of the CalB raw extract in comparison to the non-immobilized enzyme. The desired product was synthesized with high enantiomeric excess (*ee*) and no leaching of active enzyme was observed in the experiments. The immobilization method was compared to Novozyme 435 and Lipozyme RM IM, as commercially available immobilisates. Nonpolar solvents, including *n*-heptane and *n*-dodecane, proved to be the best reaction solvents, showing nearly full conversion and high catalytic activities. The encapsulated lipase was easily recovered from the reaction mixture and reused for ten cycles.



# Enzyme Immobilization in Polymerized Ionic Liquids-based Hydrogels for Active and Reusable Biocatalysts

A. Grollmisch<sup>a</sup>U. Kragl<sup>a</sup>J. GroBeheilmann<sup>a,b,c</sup><sup>a</sup> Department of Chemistry, University of Rostock, Albert-Einstein-Str. 3a, D-18059 Rostock, Germany<sup>b</sup> Institute for Chemical and Thermal Process Engineering, TU Braunschweig, Langer Kamp 7, D-38106 Braunschweig, Germany<sup>c</sup> Center of Pharmaceutical Engineering (PVZ), TU Braunschweig, Franz-Liszt-StraBe 35a, D-38106 Braunschweig, Germany  
j.grosseheilmann@tu-braunschweig.de

Received: 22.04.2018

Accepted after revision: 23.04.2018

Published online: 08.06.2018

DOI: 10.1055/s-0037-1610144; Art ID: so-2018-d0265-op

License terms:

**Abstract** Enzyme immobilization in polymerized ionic liquids (PILs) promises to be a versatile tool for simple recovery and reuse of catalysts. In this study, a raw extract of CalB was encapsulated in poly(VElm-Br) and assessed with respect to solvent, temperature, amount of enzyme, leaching behavior, and reusability on the example of the kinetic resolution of *rac*-1-phenylethanol with vinyl acetate. This immobilization method increased the enzyme activity of the CalB raw extract in comparison to the non-immobilized enzyme. The desired product was synthesized with high enantiomeric excess (*ee*) and no leaching of active enzyme was observed in the experiments. The immobilization method was compared to Novozyme 435 and Lipozyme RM IM, as commercially available immobilisates. Nonpolar solvents, including *n*-heptane and *n*-dodecane, proved to be the best reaction solvents, showing nearly full conversion and high catalytic activities. The encapsulated lipase was easily recovered from the reaction mixture and reused for ten cycles.

**Key words** immobilization, enzyme, lipase, ionic liquid, recycling

The majority of biocatalytic industrial processes operate with heterogeneous catalysts, using immobilized enzymes that are easily removed from the process stream.<sup>1</sup> Immobilization is regarded as the key enabling technology for enhancing handling and stability of the enzymes. Other advantages include an easier reactor operation, simple product separation, application in continuous processes, and a wider reactor choice. In terms of 'green' and 'sustainable' chemistry, complete recovery of the enzyme and a pure product uncontaminated with protein reduce possible allergenicity.<sup>2–4</sup> These reasons account for the increasing importance of immobilization, for which several methods are already known, including immobilizing biocatalysts on solid supports or in synthetic or natural polymers by covalent

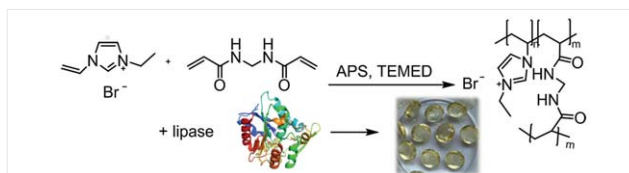
attachment, adsorption, and physical entrapment.<sup>5,6</sup> One carrier-free immobilization technique involves crosslinking of enzymes, which, with the help of their superficial amino groups, are connected to each other by a bifunctional reagent, commonly glutaraldehyde.<sup>6</sup> Generally, two procedures for this process are known. First, to form insoluble crosslinked enzyme crystals (CLECs), the enzyme must crystallize from an aqueous buffer before the crosslinker is added.<sup>4</sup> The second method is much easier because it replaces crystallization with precipitation. Salts (e.g., ammonium sulfate) or water-miscible organic solvents are added to an aqueous enzyme solution. After the crosslinker is added, the crosslinked enzyme aggregates (CLEAs) precipitate. Thereafter, no purification is necessary, and the enzyme can be employed immediately.<sup>7</sup> However, immobilization via crosslinking has several drawbacks, including low activity, poor reproducibility, and low mechanical stability,<sup>8</sup> the latter of which can be improved by entrapping enzymes into a solid support. Apart from the traditional carriers, which include polysaccharides, synthetic resins, and zeolites, polymer networks are also used to entrap biocatalysts.<sup>3,9</sup> However, entrapping enzymes into a solid support often results in decreased activity and increased leaching behavior due to the structure of the supporting polymers.<sup>3,6</sup> To overcome this disadvantage, novel immobilization methods and novel polymeric materials have been investigated and reported in the literature.<sup>10</sup> In particular, incorporating enzymes into polymer frameworks based on ionic liquids (ILs) has sparked significant interest. Polymerized ILs, also called 'polyionic liquids', are a sub-class of polyelectrolytes that have attracted increasing interest.<sup>11</sup> PILs are usually prepared by polymerizing IL monomers; as a result, they combine the advantages of ILs (e.g., ionic conductivity, thermal, and chemical stability, tunable solution properties) and the properties of polymers, and polymerized ILs have potential applications in catalysis, energy, the environment,

and materials science.<sup>12</sup> For example, Goto et al. encapsulated horseradish peroxidase in PIL microparticles (pIL-MP), which were prepared by polymerizing an IL-monomer in a concentrated water-in-oil emulsion.<sup>13</sup> The enzyme encapsulated in pIL-MP was chemically modified with comb shaped polyethylene glycol-grafted (PEG) molecules and showed more than twice the activity of the enzyme encapsulated in a polyacrylamide microparticle. In addition, they showed enzyme solubility without loss of catalytic activity by forming aqueous microemulsion droplets in a hydrophobic IL.<sup>14</sup> Three years later, the same research group reported the encapsulation of *Candida rugosa* lipase in surfactant aggregates formed in a PILs-monomer ([VEIm][Tf<sub>2</sub>N]).<sup>15</sup> The encapsulated lipase remained active and exhibited excellent stability after five reaction cycles for the lipase-catalyzed hydrolysis of *p*-nitrophenyl butyrate. In 2006, poly(VEImBr) was used to immobilize glucose oxidase, which resulted in microparticles that were used as biosensors to quantify glucose in human serum samples.<sup>16</sup> In electrochemical applications, Zhang et al. synthesized a PILs-functionalized graphene nanocomposite to immobilize glucose oxidase.<sup>17</sup>

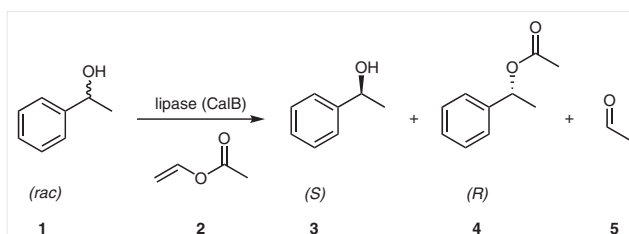
The present study investigates the use of PILs-based hydrogels to support immobilizing lipases. Our group has recently reported successfully entrapping quinine-based organocatalysts in PILs-based hydrogels.<sup>18</sup> Controlling the water content in the hydrogels significantly reduced catalyst leaching (<0.01%). Previous research has described in detail the synthesis of these very interesting materials, and they have been characterized as being extremely flexible and stable against various organic solvents.<sup>19</sup>

PILs-based hydrogels provide a good environment for lipases due to their high chemical stability and adjustable water content for folding the protein, which is responsible for its activity and selectivity. The applied lipases, the monomer vinyl-imidazolium-based IL (1-vinyl-3-ethylimidazolium bromide; VEImBr), crosslinker *N,N'*-methylenebisacrylamide, initiator ammonium peroxydisulfate (APS), and *N,N,N,N*-tetramethylethylenediamine (TEMED) yielded the enzyme-encapsulated PILs-network using a radical polymerization (Scheme 1). Gelation time and gel consistency depend on which lipase is used and how much of it is incorporated. Generally, the gelation process was complete and transparent gels formed after 10 to 120 min. Unless otherwise noted, the hydrogels were air-dried for one day. The encapsulated enzyme provided a robust biocatalyst due to the great advantages of the PILs-based framework, including its enhanced mechanical stability, processability, flexibility, and durability.

A simple kinetic resolution reaction of *rac*-1-phenylethanol **1** by transesterification with vinyl acetate **2** was used as a test system (Scheme 2). This is catalyzed by lipases that preferentially transesterify (*R*)-1-phenylethanol, yielding the desired (*R*)-product according to Kazlauskas' rule.<sup>20</sup> The (*S*)-enantiomer remains unchanged.



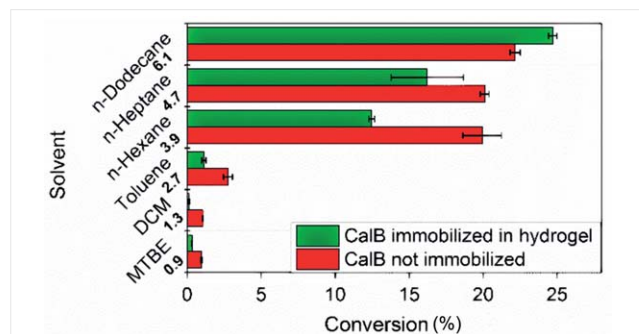
**Scheme 1** Preparing encapsulated lipase in PIL-based hydrogels; radical polymerization of an imidazolium-based IL bearing a vinyl group, [VEIm][Br] – 1-vinyl-3-ethylimidazolium bromide, and cross-linker *N,N'*-methylenebisacrylamide (BisA). APS – Ammonium peroxydisulfate, TEMED – *N,N,N,N*-tetramethylethane-1,2-diamine.



**Scheme 2** Lipase-catalyzed kinetic resolution of 1-phenylethanol by transesterification

The first screening tests used Lipase B from *Candida antarctica*. This enzyme has been proven to be a robust protein that is stable over a wide temperature range up to 50–60 °C.<sup>21</sup> Initially, various common solvents were tested under the same reaction conditions for both the hydrogel-immobilized lipase and the non-immobilized lipase. In contrast, the use of pure hydrogel without encapsulated enzyme showed no catalytic influence on the reaction. Figure 1 shows the conversions for the test system after 5 h of reaction time. For both the immobilized and non-immobilized lipase, the best results were achieved in less polar solvents, including hexane, heptane or dodecane. Generally, the non-immobilized enzyme achieved higher conversions of up to 22%, except in dodecane. Conversion was increased by 2.5% by applying hydrogel-immobilized enzyme. More polar solvents, including methyl *tert*-butyl ether (MTBE) and dichloromethane, showed rather poor results: approximately 1% for the non-immobilized enzyme and <1% for the hydrogel-immobilized enzyme. This differed from results in the literature, which show that CalB achieved good conversions using MTBE as a reaction solvent.<sup>22</sup> However, even a prolonged reaction time of 49 h did not enhance the conversion of the non-immobilized CalB in MTBE beyond 2%. In addition, the present study investigated a possible relationship between the water activity in each reaction solution and the determined conversion but found no correlation (see the Supporting Information S1). Nevertheless, there was a clear correlation between the log of their octanol-water partition coefficient (logP) and the conversion. Increasing the hydrophobicity of the solvent increased the conver-

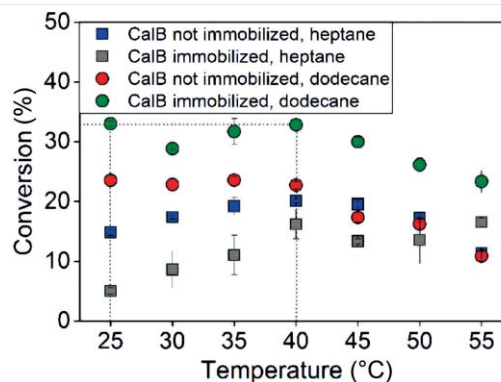
sion from 0.3% for MTBE ( $\log P = 0.94$ ) to 24.6% for dodecane ( $\log P = 6.1$ ). Therefore, in the present study, we subsequently used heptane and dodecane exclusively.



**Figure 1** Results of solvent screening for the test reaction with CalB immobilized in hydrogel (green bar) and non-immobilized (red bar). The number in bold font is the predicted  $\log K_{ow}$ . Conditions: 20 mL solvent, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 200  $\mu$ L CalB either non-immobilized or immobilized in hydrogel, 40 °C, 5 h, measured twice.

For both immobilized and non-immobilized enzymes, we performed a temperature screening at temperatures from 25 °C to 55 °C in both dodecane and heptane (Figure 2). A typical temperature curve showed an apparent maximum of 40 °C for both the immobilized and non-immobilized CalB. Generally, the conversion decreased at higher temperatures due to the inactivation of the enzyme during the chosen reaction time. The results of the reactions in dodecane showed that hydrogel-immobilized CalB generally achieved higher conversions than non-immobilized CalB. This can be explained by the positive interactions between the hydrogel and the enzyme, especially the imidazolium cation and the active site of the lipase. The literature describes similar negative or positive effects on CalB activity caused by imidazolium cations.<sup>23,24</sup> Yingling et al. noted that the cation probably affected the conformation and dynamics of the CalB, influencing the size of the catalytic cavity. They further emphasized that they found no correlation between the reaction rate and the length of the cation chain or other properties of the cation.<sup>23</sup>

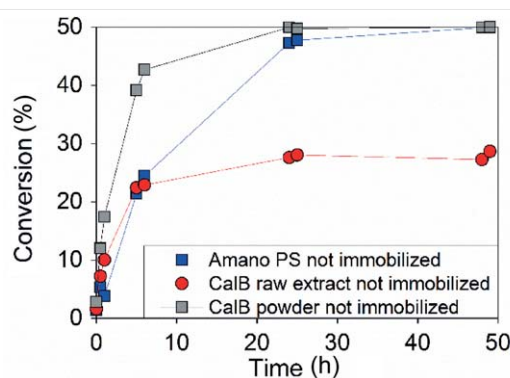
The screening results show two temperature maxima, 25 °C and 40 °C for the hydrogel-immobilized CalB in dodecane. The non-immobilized enzyme achieved the best results between 25 °C and 40 °C for dodecane and between 35 °C and 45 °C for heptane. In all cases, conversions decreased at higher temperatures. Further experiments were performed in dodecane by varying the amount of enzyme at 40 °C. No significant increase of conversion was observed with enzyme amounts of 200  $\mu$ L and 400  $\mu$ L (see the Supporting Information S2). The best reaction conditions for further experiments were identified as 200  $\mu$ L of enzyme, dodecane as reaction solvent, and 40 °C as the reaction temperature. Despite incomplete conversion, a reaction



**Figure 2** Results of temperature screening in dodecane (circle) and in heptane (square) for immobilized and non-immobilized enzyme. Conditions: 20 mL solvent, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 200  $\mu$ L CalB, 5 h, measured twice.

time of 5 h was defined for the subsequent screening experiments, which were conducted to identify the most important differences between various lipases (immobilized or non-immobilized).

Furthermore, to classify the results for the non-immobilized enzymes, the reaction was also performed using Amano PS, CalB raw extract, and lyophilized CalB (referred to as CalB powder) (Figure 3). The enzymes achieved maximum conversions of 50% after 24 h for CalB powder and 48 h for Amano PS. CalB raw extract (non-immobilized) achieved a conversion of only 29% in the same time periods. The CalB raw extract established no equilibrium, probably due to the inactivation of the enzyme. This was confirmed by a renewed increase in conversion after fresh enzyme was added (see the Supporting Information S3). In addition, a high water content, 35.7%, was measured for CalB raw extract. In the presence of water, acetaldehyde is generated as a by-product (Scheme 3), which often leads to enzyme deactivation over time due to Schiff base formation with lysine resi-



**Figure 3** Comparison of various lipases applied for kinetic racemic resolution. Conditions: 20 mL dodecane, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 26.4 mg Amano PS / 200  $\mu$ L CalB raw extract / 75.4 mg CalB powder non-immobilized, 40 °C, 49 h, measured once.

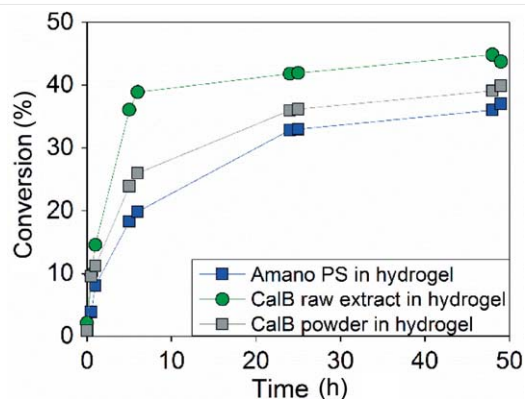
dues.<sup>25</sup> Nevertheless, CalB was not excluded, because deactivation due to acetaldehyde can be prevented by immobilizing the enzyme.<sup>26</sup>

Interestingly, each of the three enzymes showed a different behavior after immobilization in hydrogel (Figure 4). Initially, the conversions of CalB powder and CalB raw extract showed equal increases, whereas the conversion of Amano PS increased more slowly. Using this immobilization technique, CalB raw extract achieved the best result of 44% conversion, followed by CalB powder with 40% conversion and Amano PS with 37%. Conversion with the hydrogel-immobilized CalB raw extract was 15% higher than that of the non-immobilized form, probably due to the previously mentioned positive effect of imidazolium cation on CalB activity. The CalB powder suffered inactivation by the immobilization procedure and, therefore, the conversion percentage was lower than that for the non-immobilized enzyme. Amano PS also exhibited decreased activity after immobilization.

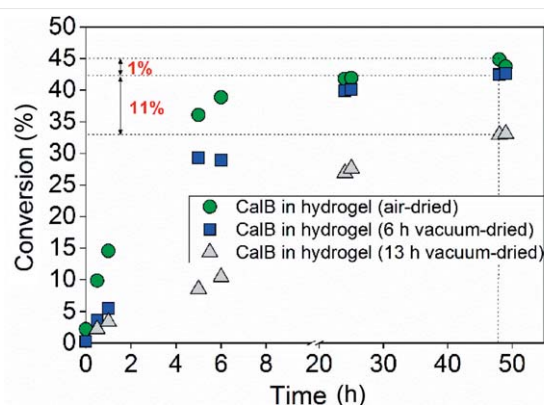
Unfortunately, none of the three hydrogel-immobilized lipases achieved the maximum conversion of 50%. Kazlauskas et al. reported that, even under anhydrous reaction conditions, the hydrolysis of the vinyl acetate was three times faster than the desired acetylation of 1-phenylethanol.<sup>27</sup> Using hydrogels as an immobilization matrix, the amount of water increased in the reaction system. Consequently, the amount of vinyl acetate available for the transesterification decreased rapidly.

To improve the conversion, the hydrogels were dried under vacuum ( $10^{-3}$  mbar) for either 6 or 13 h, rather than being air dried for one day. As shown in the Supporting Information S4, the water content in the hydrogel decreased from 18.6% to 5.1% after 6 h drying time and from 16.6% to 2.0% after 13 h drying time. As Figure 5 shows, using vacuum-dried hydrogels caused a loss of enzyme activity. The conversion decreased from 44% for air-dried hydrogels to 43% after 6 h of drying and to 33% after 13 h drying. Generally, the water in hydrogels is categorized as either free or bound.<sup>28</sup> Lower amounts of free water might affect the enzyme folding, resulting in reduced conversion. In addition, diffusion is limited by the pore size of the hydrogel and the reduced solvent content, leading to lower reaction rates. Future work will concentrate on small hydrogel particles in a fixed-bed reactor or as a thin film in a continuously operated plug-flow reactor. Doing this can engineer the reaction to overcome mass-transport limitations. This will allow use of different concentration-time and concentration-place behaviors of the batch-reactor, continuously operated plug-flow reactor, or stirred-tank reactor.

Apart from the influence of water, acetic acid can be produced in both side reactions (Scheme 3). The resulting acidification of the system may result in pH values beyond the preferred optimum or may even damage the enzyme. In general, the hydrogel itself can buffer the system at a pH of about 7.0 based on its composition. However, to exclude

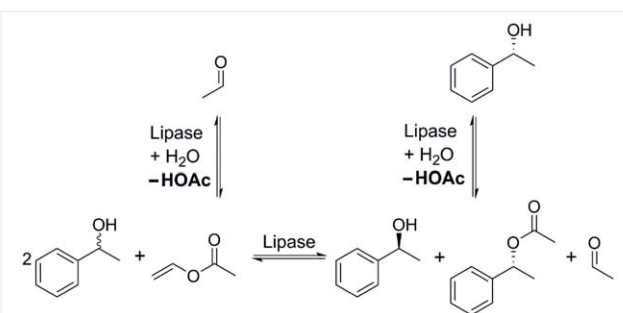


**Figure 4** Comparison of various hydrogel-immobilized lipases applied for kinetic racemic resolution. Conditions: 20 mL dodecane, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 26.4 mg Amano PS / 200  $\mu$ L CalB raw extract / 75.4 mg CalB powder immobilized in hydrogel, 40 °C, 49 h, measured once.



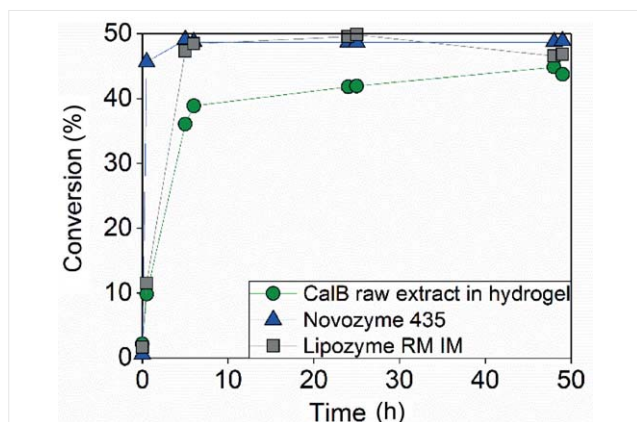
**Figure 5** Influence of various drying methods on the conversion. Conditions: 20 mL dodecane, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 200  $\mu$ L CalB raw extract immobilized in hydrogel, 40 °C, 49 h, measured once.

this possibility, additional phosphate buffer was embedded during the synthesis procedure. As the Supporting Information S5 shows, the results were very similar, and no further improvement was obtained.



**Scheme 3** Undesired side reactions of kinetic racemic resolution

The hydrogel-immobilization method presented was compared to Novozyme 435 and Lipozyme RM IM as commercially available immobilisates (Figure 6). Both showed higher activities compared to the immobilized enzyme in the hydrogel. Conversion rates of 49% for Novozyme 435 and 47% for Lipozyme RM IM were achieved after 5 h reaction time. In the same period, the hydrogel-immobilized CalB achieved only 36% conversion. A possible reason for the longer reaction time is the limitation on diffusion imposed by the polymeric structure, which is quite different from the other immobilized forms. Novozyme 435 is the lipase B from *Candida Antarctica* that has been immobilized by adsorption on a microporous resin<sup>29</sup> and Lipozyme RM IM, a lipase from *Rhizomucor miehei*, is adsorbed onto an anion exchange resin.<sup>29</sup> In both cases, lipases were immobilized by adsorption on a resin surface, whereas CalB raw extract is embedded in the polymeric hydrogel framework. These primary experiments show that the immobilization matrix and the procedure itself influences the performance of the reaction. Diffusion and mass-transport behavior are under investigation in our laboratories. In addition, adsorption of the desired product inside the polymer structure cannot be excluded at this time. The dependency of the crosslinker to IL ratio on the transport behavior is also being investigated.

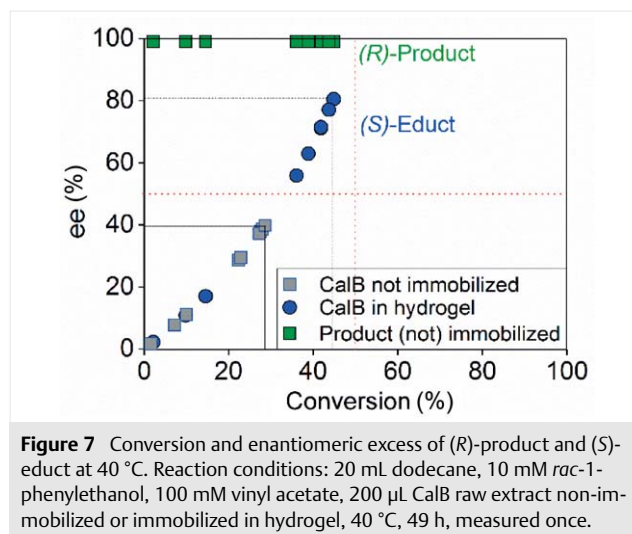


**Figure 6** Comparison to commonly used immobilization methods. Reaction conditions: 20 mL dodecane, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 200  $\mu$ L CalB immobilized in hydrogel or 0.4 g Novozyme 435 or 0.4 g Lipozyme RM IM, 40  $^{\circ}$ C, 49 h, measured once.

One great disadvantage of immobilization by adsorption is the high amount of enzyme leaching; whereas an economically viable process requires complete recovery of the enzyme. For this reason, we examined the leaching behavior of hydrogels containing enzyme amounts of between 200  $\mu$ L and 400  $\mu$ L at 25  $^{\circ}$ C and 40  $^{\circ}$ C. Fortunately, no enzyme leaching was found (see experimental section) and even higher amounts of CalB raw extract can be immobilized in hydrogel without enzyme leaching. Another benefit, observed during the immobilization process, was that

the hydrogels became more stable and less adhesive when higher amounts of CalB raw extract were embedded, although this did not influence the velocity of the reaction. Furthermore, leaching was analyzed using gel electrophoresis, and no enzyme leaching was detected for either swollen or shrunken hydrogels.

The lipase B from *Candida antarctica* has proven to be non-specific towards triglycerides but very enantio- and stereospecific. In the reaction performed, the CalB preferentially catalyzed the transformation of (*R*)-1-phenylethanol. Therefore, the (*R*)-enantiomer of the product should be achieved with a high enantiomeric excess (*ee*) and a maximum conversion of 50%. Over time, the (*S*)-enantiomer of the educt should accumulate in the reaction mixture. Figure 7 shows the results for conversion and *ee* at 40  $^{\circ}$ C (the conversion and *ee* at 25  $^{\circ}$ C are shown in the Supporting Information S6).

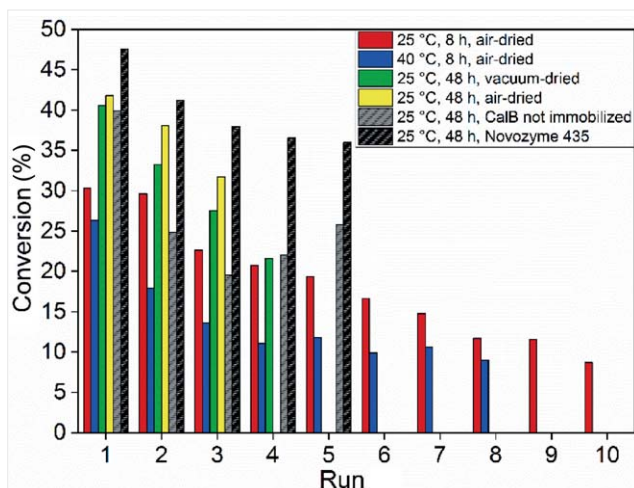


**Figure 7** Conversion and enantiomeric excess of (*R*)-product and (*S*)-educt at 40  $^{\circ}$ C. Reaction conditions: 20 mL dodecane, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 200  $\mu$ L CalB raw extract non-immobilized or immobilized in hydrogel, 40  $^{\circ}$ C, 49 h, measured once.

As expected, the (*R*)-product was steadily formed with an *ee* of >99%. This means that only the (*R*)-1-phenylethanol was converted by the CalB. This was confirmed by the accumulation of the (*S*)-educt in the reaction mixture, which also resulted in its increased *ee*. This trend was observed with both the non-immobilized and the hydrogel-immobilized CalB raw extract. In the case of the non-immobilized CalB, the (*S*)-1-phenylethanol developed an *ee* of 39.8% in the reaction mixture after 49 h at 40  $^{\circ}$ C. Using the hydrogel-immobilized enzyme, the conversion was 15% higher and included higher enrichment of the (*S*)-educt (80.5% *ee*).

One of the key criteria of commercial immobilized enzymes is reusability for a large number of reaction cycles combined with nearly no loss of activity. The recycling potential of hydrogel-immobilized CalB raw extract was tested over 8 h at 40  $^{\circ}$ C (Figure 8, blue bar). After the first run, conversion decreased from 26% to 18%. After six cycles, the conversion remained constant at 10%. In comparison, when the procedure was repeated at 25  $^{\circ}$ C (Figure 8, red bar), the

conversion was generally higher, decreasing by only 0.6% after the first run. Typically, the highest loss of activity should be seen between the first and second runs due to the leaching of unfixed enzyme. In this case, after the second run, the conversion decreased to 22.6% and after the tenth run to 8.7%. Furthermore, recycling experiments were performed over a reaction time of 48 h at 25 °C using various dried hydrogels.



**Figure 8** Results for recycling experiments for air-dried and vacuum-dried hydrogels over a period of 8 h and 48 h. As a reference, non-immobilized CalB and Novozyme 435 were used. Reaction conditions: 20 mL dodecane, 10 mM *rac*-1-phenylethanol, 100 mM vinyl acetate, 200  $\mu$ L CalB raw extract immobilized in hydrogel (air-dried/vacuum-dried), 8 h / 48 h, measured once.

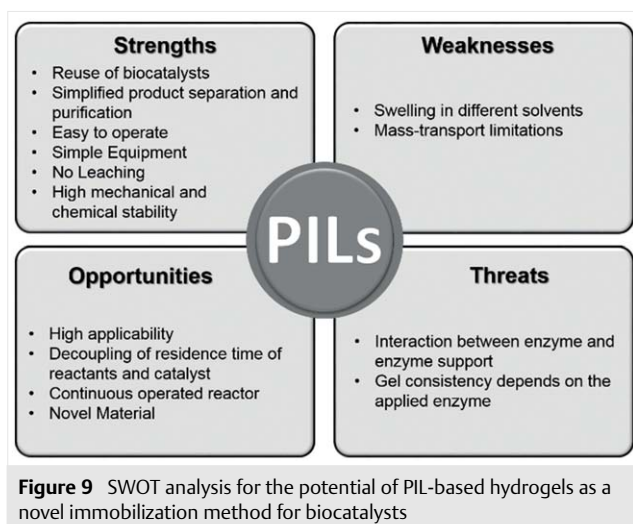
The results were compared using non-immobilized CalB and commercially available Novozyme 435, which is composed of CalB immobilized on a microporous acrylic resin and is a biocatalyst much used in industry. The application of vacuum-dried hydrogels led to higher losses of activity of 6% from cycle to cycle. The best results were achieved with air-dried hydrogels at 25 °C with conversions of 42% after the first cycle and 32% after the third cycle. The activity of non-immobilized CalB decreased significantly from 40% after the first cycle to 25% after the second. In addition, the hydrogels (immobilized CalB) showed better performance than the non-immobilized CalB. In comparison, Novozyme 435 showed good performance, having conversions of 48% after the first cycle and 36% after the fifth. However, it also experienced a significant decrease in conversion from batch to batch. In spite of the relatively good performance and the many advantages that Novozyme 435 offers, there are two general concerns related to this enzyme. Firstly, the high cost, which can be attributed at least partly to the immobilization-support material, and secondly, the high amount of enzyme leaching. Novozyme 435 has been shown to suffer from physical desorption or leaching of CalB during various reactions.<sup>30</sup> The presence of water enhances leaching from the surface of Novozyme 435.<sup>31</sup> In some applications, in-

cluding for medical materials or pharmaceuticals, protein contamination of products is unacceptable. Although the hydrogels studied are not as good as the Novozyme 435, they offer several advantages under various conditions. The present study presents another mode of attachment of the enzyme that prevented the catalyst from leaching. No leaching of enzymes was found in organic or aqueous solvents. This new immobilization matrix could be very interesting in unconventional media including supercritical CO<sub>2</sub> or ILs, in which Novozyme 435 has sometimes shown lower activity. For example, Hobbs et al. found that CalB CLEA had higher activity than Novozyme 435 in the kinetic resolution of 1-phenylethanol by acylation with vinyl acetate in supercritical CO<sub>2</sub>.<sup>32</sup> In addition, decreased activity has been found in Novozyme 435 in the kinetic resolution of 1-phenyl ethanol and 1-phenylethylamine in various ILs.<sup>33</sup> Furthermore, the choice of enzyme immobilisates is strongly dependent on the reactor configuration used (e.g., stirred tank, fixed bed, fluidized bed) and the mode of downstream processing. Using simple methodology, hydrogels can be prepared in various shapes, including small particles, that have different surface-area-to-volume ratios for fixed-bed reactors, or thin films for continuously operated plug-flow reactors. This method combines immobilization and purification, and the enzyme does not need to be highly purified.

This study found that immobilization of CalB in poly(VEImBr) is possible and achieves good results in nonpolar solvents. To enable assessment of the potential of PIL-based hydrogels for catalyst immobilization and identification of areas that need further research, Figure 9 presents a SWOT analysis. The greatest strengths of this method are the simplified downstream processing and the complete lack of catalyst leaching during the reaction time. This will lead to increased productivity; whereas decoupling the residence time of biocatalyst and reactants will at the same time reduce the product-specific catalyst consumption.

However, the largest threat is the novelty of this method. Possible interactions between enzymes and enzyme support differ with the enzyme applied and the reaction used and must be investigated for each reaction. In the example presented herein, the immobilization matrix led to positive interactions between the enzyme and enzyme support and the immobilized enzyme showed higher activity than the non-immobilized enzyme.

Although the present study did not achieve a maximum conversion of 50%, this was not due to the immobilization matrix. The study used a highly water-dependent enzymatic reaction. Undesirable side reactions were observed in the presence of water. Future work will investigate the influence of water content and water activity. Apart from that, hydrogel-immobilized CalB could also be applied in a less water-sensitive reaction, or this immobilization technique could be applied to other enzymes for a wider range of applications.



Future work will concentrate on diffusion behavior, mass-transport limitations, and the influence of varying the crosslinker-to-IL ratio. In addition, this technique offers many advantages for practical applications, including easy removal of the catalyst, and novel reactor concepts due to its enhanced mechanical and chemical stability.

In summary, the present study demonstrates the combination of enzymes with PIL-based hydrogels as an immobilization technique for easy reusability and separation of enzymes. This immobilization method increases the enzyme activity of CalB raw extract in comparison to the non-immobilized enzyme. The desired product is synthesized with a high enantiomeric excess and the enzyme is easily reused for several steps due to the high mechanical and chemical stability of the PILs.

All chemicals and solvents were purchased from Sigma–Aldrich, Alfa Aesar, Carl Roth GmbH & Co KG., and TCI and used as received. Lipase B from *Candida antarctica* was obtained as a purified raw extract from C. Lecta (Germany). Lipase B *Candida antarctica* recombinant from *Aspergillus oryzae* and Amano Lipase PS from *Burkholderia cepacia* were obtained from Sigma–Aldrich.

#### Enzyme Encapsulation in PIL-Based Hydrogels

1-Vinyl-3-ethylimidazolium bromide (VEImBr) was synthesized according to the reported procedure.<sup>34</sup> The IL monomer (VEImBr, 0.3 g) was dissolved in deionized water (432  $\mu$ L) and Rotiphorese Gel B (232  $\mu$ L, *N,N'*-methylenebisacrylamide) was added. In the case of enzyme embedding, the required amount of water was reduced by the added enzyme volume. When a solid enzyme was used, no correction was made. The enzyme solution was added to the IL monomer solution. Polymerization was initiated with fresh ammonium persulfate (30  $\mu$ L, 10%, w/w) and TEMED (6  $\mu$ L), and the resulting solution was thoroughly mixed for 10 s. The gelation process was complete, forming transparent gels after 10 to 120 min. The hydrogels were air-dried for one day, unless otherwise noted. To achieve equal activities, the following enzyme amounts were used: 200  $\mu$ L of CalB raw extract, 75.39

mg of CalB powder, and 26.34 mg of Amano PS. However, due to the relatively high masses for the CalB powder, the calculated enzyme amount was split and immobilized into two hydrogel charges.

#### Enzyme Assay: Lipases

Hydrolysis of *p*-nitrophenyl esters to *p*-nitrophenol was used. The reaction was carried out using 10 mM of *p*-nitrophenyl acetate in DMSO and 100 mM of phosphate buffer at pH 7.5. The various enzyme dilutions were prepared in buffer in the following way: Lipase B from *Candida antarctica* = 1:100, Lipase B *Candida antarctica* recombinant from *Aspergillus oryzae* = 2 mg/mL or Amano Lipase PS from *Burkholderia cepacia* = 1 mg/mL. The yellow phenolate ion that formed was photometrically measured three times over a period of 60 s at 401 nm and 30 °C.

Immobilized enzymes were handled differently. A defined amount of the immobilized enzyme (10 mg of Novozyme 435 or 20 mg of Lipozyme RM IM) was stirred in a 50 mL batch reactor using cuvette concentrations. Samples of 1000  $\mu$ L were taken at defined intervals, filtered, and the extinctions determined.

#### Kinetic Resolution of (*R,S*)-1-Phenylethanol with Vinyl Acetate

For each reaction, *rac*-1-phenylethanol (24.2  $\mu$ L, 10 mM), vinyl acetate (185.2  $\mu$ L, 100 mM) and CalB (non-immobilized or immobilized in hydrogel) were added to solvent (20 mL) in a glass vial. The reaction mixture was shaken at a fixed temperature in a Thermomixer at 500 rpm. Samples of 400  $\mu$ L were taken at intervals and analyzed by gas chromatography.

#### Gas Chromatography Conditions

The analytical investigations were performed by gas chromatography using a cyclodextrin column CP-ChiraSil-Dex CB (25 m  $\times$  0.25 mm 0.25  $\mu$ m). Both temperature and solvent screening tests were analyzed under isothermic conditions of 120 °C for 10 min. Experiments performed in dodecane were treated differently: the initial temperature was 60 °C, which was followed by a heating rate of 25 °C $\cdot$ min<sup>-1</sup> to 135 °C and 2 °C $\cdot$ min<sup>-1</sup> to 160 °C. The final temperature was held for 1 min. Conversions and enantiomeric excesses were calculated by integrating the respective peak areas.

#### Determination of Enzyme Leaching

The leaching behavior was investigated first by determining the conversion and then by gel electrophoresis. Reactions were performed in dodecane at 25 °C, 40 °C, and 55 °C over a period of 5 h. Samples of 700  $\mu$ L were taken at 0 min, 15 min, 30 min, 1 h, 3 h and 5 h. After centrifuging, 300  $\mu$ L was taken from the supernatant and analyzed by GC; whereas the remaining volume was mixed at 40 °C for 2 more hours, after which samples were taken and analyzed. If there was any enzyme in the mixture, an increase in conversion should be seen after 2 more hours. Gel electrophoresis (SDS-PAGE) as a reliable method for protein detection was chosen to confirm the previous results. Two different approaches were adopted. In both cases 200  $\mu$ L of CalB raw extract immobilized in hydrogel was applied. Firstly, the kinetic resolution was performed as usual at 40 °C, using dodecane as a solvent. Samples of 400  $\mu$ L were taken at 1 h, 3 h, and 5 h without centrifuging. For gel electrophoresis, the dodecane was evaporated and the residue was redissolved in phosphate buffer (200  $\mu$ L, pH 7.5, 100 mM). Secondly, the hydrogel was shaken in phosphate buffer (20 mL, pH 7.5, 100 mM) for 1 h at 25 °C. After 0 min, 10 min, 30 min, and 60 min, samples of 400  $\mu$ L were taken without subsequent centrifugation. In addition, an enzyme dilution was prepared (CalB raw extract/water = 1:2).

### Determination of Water Activity

The water activity measurements were carried out according to the reported procedure.<sup>35</sup> 15 mL of each sample (enzyme solutions, reaction solutions and organic solvents) was prepared and determined. The humidity sensor was a Greisinger TFS 0100E, connected to a Greisinger GMH 3330 hygrometer. Water activity is simply calculated as the ratio of measured vapor pressure to the saturation value of pure water at the same temperature.

### Funding Information

This work was financially supported by the DFG (grant KR 2491/12-1) and the Federal Ministry of Education and Research (BMBF, 'Ionische Flüssigkeiten in der Enzymkatalyse', grant 031A123). In addition, this work has been carried out within the framework of the SMART BIOTECS alliance between Technische Universität Braunschweig and the Leibniz Universität Hannover. This initiative is supported by the Ministry of Economy and Culture (MWK) of Lower Saxony, Germany.

### Supporting Information

Supporting information for this article is available online at <https://doi.org/10.1055/s-0037-1610144>.

### References

- (1) (a) Eş, I.; Vieira, J. D. G.; Amaral, A. C. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2015**, *99*, 2065. (b) DiCosimo, R.; McAuliffe, J.; Poulou, A. J.; Bohlmann, G. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6437. (c) Liese, A.; Hilterhaus, L. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6236. (d) Messing, R. *Immobilized Enzymes for Industrial Reactors*; Elsevier: Amsterdam, **2012**.
- (2) (a) Bornscheuer, U. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3336. (b) Schmid, A.; Dordick, J. S.; Hauer, B.; Kiener, A.; Wubbolts, M.; Witholt, B. *Nature* **2001**, *409*, 258. (c) Anastas, P.; Eghbali, N. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301. (d) Anastas, P. T.; Kirchhoff, M. M. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 686.
- (3) Sheldon, R. A. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 1289.
- (4) Sheldon, R. A. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1437.
- (5) (a) Datta, S.; Christena, L. R.; Rajaram, Y. R. S. *3 Biotech* **2013**, *3*, 1–9. (b) Garcia Galan, C.; Berenguer Murcia, Á.; Fernandez Lafuente, R.; Rodrigues, R. C. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2885. (c) Mateo, C.; Palomo, J. M.; Fernandez-Lorente, G.; Guisan, J. M.; Fernandez-Lafuente, R. *Enzyme Microb. Technol.* **2007**, *40*, 1451.
- (6) Sheldon, R. A.; van Pelt, S. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6223.
- (7) Kartal, F.; Janssen, M. H. A.; Hollmann, F.; Sheldon, R. A.; Kilinc, A. J. *Mol. Catal. B: Enzym.* **2011**, *71*, 85.
- (8) Sheldon, R. A.; Schoevaart, R.; van Langen, L. M. *Biocatal. Biotransform.* **2005**, *23*, 141.
- (9) (a) Nemzer, L. R.; Schwartz, A.; Epstein, A. J. *Macromolecules* **2010**, *43*, 4324. (b) Gonzalez-Saiz, J. M.; Pizarro, C. *Eur. Polym. J.* **2001**, *37*, 435.
- (10) (a) Ahuja, T.; Mir, I. A.; Kumar, D. *Biomaterials* **2007**, *28*, 791. (b) Ghosh, S.; Chaganti, S. R.; Prakasham, R. S. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2012**, *74*, 132. (c) Taqieddin, E.; Amiji, M. *Biomaterials* **2004**, *25*, 1937.
- (11) (a) Yuan, J.; Mecerreyes, D.; Antonietti, M. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 1009. (b) Yuan, J.; Antonietti, M. *Polymer* **2011**, *52*, 1469. (c) Yoshizawa, M.; Ogihara, W.; Ohno, H. *Polym. Adv. Technol.* **2002**, *13*, 589. (d) Claus, J.; Sommer, F. O.; Kragl, U. *Solid State Ionics* **2018**, *314*, 119.
- (12) (a) Green, O.; Grubjesic, S.; Lee, S.; Firestone, M. A. *Polym. Rev.* **2009**, *49*, 339. (b) Lu, J.; Yan, F.; Texter, J. *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 431. (c) Mecerreyes, D. *Prog. Polym. Sci.* **2011**, *36*, 1629.
- (13) Nakashima, K.; Kamiya, N.; Koda, D.; Maruyama, T.; Goto, M. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2353.
- (14) (a) Moniruzzaman, M.; Kamiya, N.; Goto, M. *Langmuir* **2008**, *25*, 977. (b) Moniruzzaman, M.; Kamiya, N.; Nakashima, K.; Goto, M. *ChemPhysChem* **2008**, *9*, 689. (c) Moniruzzaman, M.; Kamiya, N.; Nakashima, K.; Goto, M. *Green Chem.* **2008**, *10*, 497.
- (15) Moniruzzaman, M.; Ino, K.; Kamiya, N.; Goto, M. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7707.
- (16) López, M. S.-P.; Mecerreyes, D.; Lopez-Cabarcos, E.; López-Ruiz, B. *Biosens. Bioelectron.* **2006**, *21*, 2320.
- (17) Zhang, Q.; Wu, S.; Zhang, L.; Lu, J.; Verpoot, F.; Liu, Y.; Xing, Z.; Li, J.; Song, X.-M. *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26*, 2632.
- (18) Großeheilmann, J.; Bandomir, J.; Kragl, U. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 18957.
- (19) Bandomir, J.; Schulz, A.; Taguchi, S.; Schmitt, L.; Ohno, H.; Sternberg, K.; Schmitz, K. P.; Kragl, U. *Macromol. Chem. Phys.* **2014**, *215*, 716.
- (20) Kazlauskas, R. J.; Weissfloch, A. N. E.; Rappaport, A. T.; Cuccia, L. A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2656.
- (21) Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry* 1992.
- (22) Schöfer, S. H.; Kaftzik, N.; Wasserscheid, P.; Kragl, U. *Chem. Commun.* **2001**, 425.
- (23) Kim, H. S.; Eom, D.; Koo, Y.-M.; Yingling, Y. G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 22062.
- (24) (a) Kim, K.-W.; Song, B.; Choi, M.-Y.; Kim, M.-J. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1507. (b) Lau, R. M.; Sorgedraeger, M. J.; Carrea, G.; van Rantwijk, F.; Secundo, F.; Sheldon, R. A. *Green Chem.* **2004**, *6*, 483. (c) Lozano, P.; de Diego, T.; Carrie, D.; Vaultier, M.; Iborra, J. L. *Biotechnol. Lett.* **2001**, *23*, 1529. (d) Madeira Lau, R.; van Rantwijk, F.; Seddon, K. R.; Sheldon, R. A. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 4189.
- (25) Franken, B.; Eggert, T.; Jaeger, K. E.; Pohl, M. *BMC Biochem.* **2011**, *12*, 10.
- (26) Gandhi, N. N.; Patil, N. S.; Sawant, S. B.; Joshi, J. B.; Wangikar, P. P.; Mukesh, D. *Catal. Rev.* **2000**, *42*, 439.
- (27) Weber, H. K.; Weber, H.; Kazlauskas, R. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 2635.
- (28) Hoffman, A. S. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2012**, *64*, 18.
- (29) Hernández-Martín, E.; Otero, C. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 277.
- (30) Chen, B.; Hu, J.; Miller, E. M.; Xie, W.; Cai, M.; Gross, R. A. *Bio-macromolecules* **2008**, *9*, 463.
- (31) Sheldon, R. A. *Biochem. Soc. Trans.* **2007**, *35*, 1583.
- (32) Hobbs, H. R.; Kondor, B.; Stephenson, P.; Sheldon, R. A.; Thomas, N. R.; Poliakov, M. *Green Chem.* **2006**, *8*, 816.
- (33) Toral, A. R.; Antonia, P.; Hernández, F. J.; Janssen, M. H. A.; Schoevaart, R.; van Rantwijk, F.; Sheldon, R. A. *Enzyme Microb. Technol.* **2007**, *40*, 1095.
- (34) Marcilla, R.; Alberto Blazquez, J.; Rodriguez, J.; Pomposo, J. A.; Mecerreyes, D. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 208.
- (35) Cassells, J. M.; Halling, P. J. *Enzyme Microb. Technol.* **1988**, *10*, 486.



## A.4 Publikation IV

Full Paper. *Polymers* **2021**, *13*, 1834.

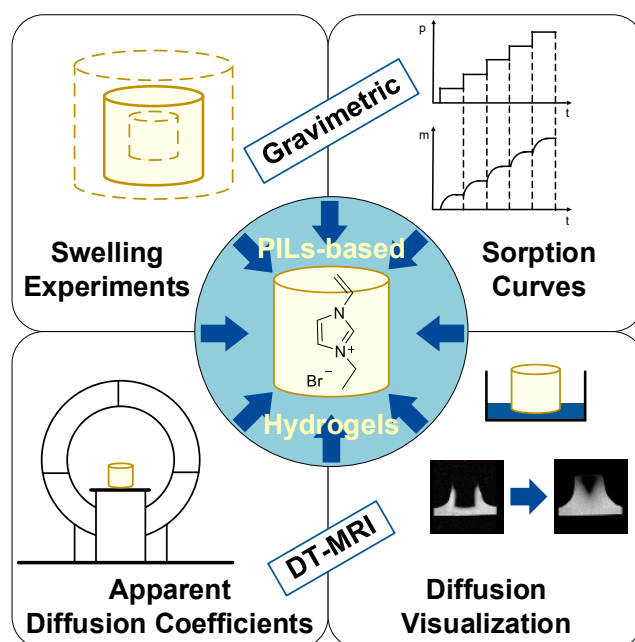
### Swelling and Diffusion in Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels.

A. Jastram, T. Lindner, C. Lübbert, G. Sadowski, U. Kragl

Eingereicht: 13. Mai 2021, Angenommen: 26. Mai 2021






DOI: 10.3390/polym13111834

**Abstract:** Hydrogels are one of the emerging classes of materials in current research. Besides their numerous applications in the medical sector as a drug delivery system or in tissue replacement, they are also suitable as irrigation components or as immobilization matrices in catalysis. In each of these cases, the knowledge of the swelling properties and the diffusion mechanisms occurring in the gels are mandatory for the optimal use. This study focused on hydrogels synthesized by radical polymerization of imidazolium-based ionic liquids. Both swelling and diffusion behavior of these hydrogels were investigated by gravimetric swelling as well as sorption experiments implemented in water, ethanol, n-heptane and tetrahydrofuran. In water and ethanol strong swelling was observed while the transport mechanism deviated from Fickian-type behavior. By varying the counterion and the chain length of the cation, their influences on the processes were observed. The calculation of the diffusion coefficients delivered values in the range of  $10^{-10}$  to  $10^{-12}$   $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ . The gravimetric results were supported by apparent diffusion coefficients measured through diffusion-weighted magnetic resonance imaging. A visualization of the water diffusion front within the hydrogel should help to further elucidate the diffusion processes in the imidazolium-based hydrogels.



## Article

# Swelling and Diffusion in Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels

Ann Jastram <sup>1</sup> , Tobias Lindner <sup>2</sup> , Christian Luebbert <sup>3</sup> , Gabriele Sadowski <sup>4</sup>  and Udo Kragl <sup>1,5,\*</sup> 

<sup>1</sup> Institute of Chemistry, Industrial Chemistry, University of Rostock, Albert-Einstein-Str. 3a, 18059 Rostock, Germany; ann.jastram@uni-rostock.de

<sup>2</sup> Core Facility Multimodal Small Animal Imaging, Rostock University Medical Center, Schillingallee 69a, 18057 Rostock, Germany; tobias.lindner@med.uni-rostock.de

<sup>3</sup> Amofor GmbH, Otto-Hahn-Str. 15, 44227 Dortmund, Germany; luebbert@amofor.de

<sup>4</sup> Laboratory of Thermodynamics, Department of Biochemical and Chemical Engineering, TU Dortmund University, Emil-Figge-Str. 70, 44227 Dortmund, Germany; gabriele.sadowski@tu-dortmund.de

<sup>5</sup> Department Life, Light & Matter, Faculty for Interdisciplinary Research, University of Rostock, Albert-Einstein-Str. 25, 18059 Rostock, Germany

\* Correspondence: udo.kragl@uni-rostock.de; Tel.: +49-381-498-6450

**Abstract:** Hydrogels are one of the emerging classes of materials in current research. Besides their numerous applications in the medical sector as a drug delivery system or in tissue replacement, they are also suitable as irrigation components or as immobilization matrices in catalysis. For optimal application of these compounds, knowledge of the swelling properties and the diffusion mechanisms occurring in the gels is mandatory. This study is focused on hydrogels synthesized by radical polymerization of imidazolium-based ionic liquids. Both the swelling and diffusion behavior of these hydrogels were investigated via gravimetric swelling as well as sorption experiments implemented in water, ethanol, *n*-heptane, and tetrahydrofuran. In water and ethanol, strong swelling was observed while the transport mechanism deviated from Fickian-type behavior. By varying the counterion and the chain length of the cation, their influences on the processes were observed. The calculation of the diffusion coefficients delivered values in the range of  $10^{-10}$  to  $10^{-12}$   $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ . The gravimetric results were supported by apparent diffusion coefficients measured through diffusion-weighted magnetic resonance imaging. A visualization of the water diffusion front within the hydrogel should help to further elucidate the diffusion processes in the imidazolium-based hydrogels.

**Keywords:** polymerized ionic liquids; hydrogels; swelling; diffusion; sorption experiments; magnetic resonance imaging



**Citation:** Jastram, A.; Lindner, T.; Luebbert, C.; Sadowski, G.; Kragl, U. Swelling and Diffusion in Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels. *Polymers* **2021**, *13*, 1834. <https://doi.org/10.3390/polym13111834>

Academic Editor: Ciprian Iacob

Received: 13 May 2021

Accepted: 26 May 2021

Published: 1 June 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Hydrogels are formed by the linkage of hydrophilic monomers resulting in three-dimensional networks having a number of favorable properties. Mainly depending on the type of monomer and to a lesser extent on the crosslinking degree, these gels may absorb, store, and release up to 90% *w/w* of water combined with a strong swelling and de-swelling [1,2]. However, due to entanglements and chemical bonds within the chain, no dissolution of the polymer chains is observed in an aqueous environment, so the swelling gels maintain their 3D shape despite the increase in volume [3,4]. Adaptable properties like surface hardness, temperature resistance, flexibility, or stiffness combined with inherent ones like biocompatibility, biodegradability, and the lack of toxicity make them interesting materials that gives them significant potential in many different fields. The most popular ones are the medical and pharmaceutical sectors exploring and applying hydrogels as materials for contact lenses [5], implants [6], stent coatings [1], drug delivery systems [7–9], and in tissue engineering [10,11]. Moreover, these polymers also have a great potential as immobilization matrices to improve catalyst recovery, which is particularly

recognized in homogeneous processes. In 2015, we reported a successful encapsulation of a quinine-based organocatalyst into imidazolium-based polymerized ionic liquids (pILs). Its utilization for the asymmetric nitroaldol (Henry) reaction showed a reduced reaction rate compared to the homogeneously soluble one [12]. We also showed the encapsulation of lipase B from *Candida antarctica* in these hydrogels, resulting in a reduced reaction rate compared to commercially available lipases immobilized on carriers [13]. In both cases, the structure of the matrix has to be considered due to its impact on the diffusion behavior. Generally, the diffusion of molecules in hydrogels is hindered. It depends on the crosslinker density, the hydrodynamic radius of the diffusing species inside the network, as well as the interactions between the diffusing species and the polymer network. Especially considering the complexity of the hydrogel network as a disordered arrangement of polymer chains having multifunctional junctions, loops, physical entanglements, and unreacted end groups is critical. The interaction of all these parameters is mandatory to understand the diffusion behavior [14–17]. Thus, knowledge about solute diffusion within the hydrogels is necessary for practical applications in the medical, pharmaceutical, biological, or environmental sectors as well as for the targeted production of substances for specific applications. In the last decades, many different methods for diffusion investigation in polymer networks have been developed. Some of the methods are mainly informative at a macroscopic level as they refer to measurements outside the gel not relating to the properties of the solvent inside the network or the mechanisms of the diffusion-controlling processes. Release experiments are one of the most utilized methods belonging to this group [18,19]. Other techniques try to examine the processes inside the network, e.g., confocal 1D-Raman spectroscopy [20]. Furthermore, pulsed-field gradient magnetic resonance techniques with strong field gradients are often reported as an efficient tool to investigate processes in gels [21]. A representative of this group is the nuclear magnetic resonance imaging (MRI) that is usually found in medicine and biology for cross-sectional or 3D images of living organisms and solid materials. For hydrogels, it has been used to provide information about possible abnormal diffusion processes [22], control drug release [23], or to check hydrogel fixation for tissue engineering [24]. In this study, we used MRI images to examine the nature of the observed diffusion processes on a spatially resolved level for hydrogels based on polymerized ionic liquids. Moreover, the diffusion coefficients and the diffusion types were determined by the recording of sorption curves as well as measuring the mass uptake of the hydrogels after soaking them in a solvent for a certain time interval. Therefore, we used three methods with different focal points on an internal and external level. The obtained information should help to further elucidate and better understand the diffusion processes in the imidazolium-based hydrogels.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Chemicals

Rotiphorese Gel B (MBAA) (2% *w/w* *N,N'*-methylenebis(acrylamide), Carl Roth, Karlsruhe, Germany), *N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (TEMED) ( $\geq 99.5\%$ ; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), ammonium persulfate (APS) (98%; Acros Organics, Fair Lawn, NJ, USA), 1-vinylimidazole ( $\geq 99\%$ ; Alfa Aesar, Haverhill, MA, USA), bromoethane (98%; Alfa Aesar), 1-chlorobutane ( $\geq 99\%$ ; Acros Organics), 1 bromobutane (99%; Sigma Aldrich), ethanol (EtOH) ( $\geq 99.8\%$ ), *n*-heptane (*n*-Hep) ( $\geq 99.5\%$ ), and tetrahydrofuran (THF) ( $\geq 99.8\%$ ) were used in this study. Additionally, ultrapure water was used throughout the study.

### 2.2. Synthesis of Polymerizable Monomers

For this study, 1-vinyl-3-ethyl-imidazolium bromide (VEImBr), 1-vinyl-3-butyl-imidazolium chloride (VBIImCl), and 1-vinyl-3-butyl-imidazolium bromide (VBIImBr) were prepared according to published procedures [25–28]. The recorded NMR spectra can be found in the supplementary materials (Figures S1–S3).

VEImBr:  $^1\text{H}$  NMR [300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane (TMS)]: 9.64 (s, 1H, N=CH-N), 8.24 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.98 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.32 (dd,  $J = 15.77$  Hz,  $J = 8.82$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 5.99 (dd,  $J = 15.73$  Hz,  $J = 2.37$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 5.41 (dd,  $J = 8.78$  Hz,  $J = 2.29$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 4.24 (q,  $J = 7.41$  Hz, 2H, ethyl- $\alpha$ -CH $_2$ ), 1.45 (t,  $J = 14.64$  Hz, 3H, ethyl- $\beta$ -CH $_3$ ).

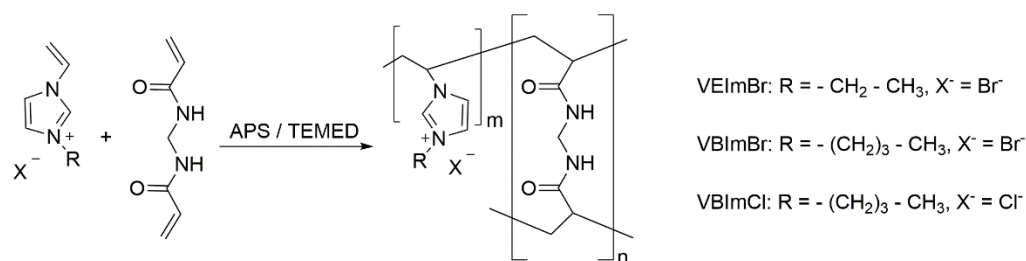
VBImCl:  $^1\text{H}$  NMR [300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane (TMS)]: 9.93 (s, 1H, N=CH-N), 8.31 (s, 1H, N-CH=CH-N), 8.01 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.37 (dd,  $J = 15.75$  Hz,  $J = 8.80$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 6.04 (dd,  $J = 15.63$  Hz,  $J = 2.37$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 5.40 (dd,  $J = 8.78$  Hz,  $J = 2.29$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 4.23 (t,  $J = 7.18$  Hz, 2H, butyl- $\alpha$ -CH $_2$ ), 1.82 (q, 2H, butyl- $\beta$ -CH $_2$ ), 1.28 (sxt, 2H, butyl- $\gamma$ -CH $_2$ ), 0.90 (t, 3H, butyl- $\delta$ -CH $_3$ ).

VBImBr:  $^1\text{H}$  NMR [300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ /ppm relative to tetramethylsilane (TMS)]: 9.64 (s, 1H, N=CH-N), 8.24 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.98 (s, 1H, N-CH=CH-N), 7.32 (dd,  $J = 15.58$  Hz,  $J = 8.78$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 5.99 (dd,  $J = 15.71$  Hz,  $J = 2.39$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 5.42 (dd,  $J = 8.76$  Hz,  $J = 2.29$  Hz, 1H, N-CH=CH $_2$ ), 4.22 (t,  $J = 7.27$  Hz, 2H, butyl- $\alpha$ -CH $_2$ ), 1.81 (q, 2H, butyl- $\beta$ -CH $_2$ ), 1.28 (sxt, 2H, butyl- $\gamma$ -CH $_2$ ), 0.91 (t, 3H, butyl- $\delta$ -CH $_3$ ).

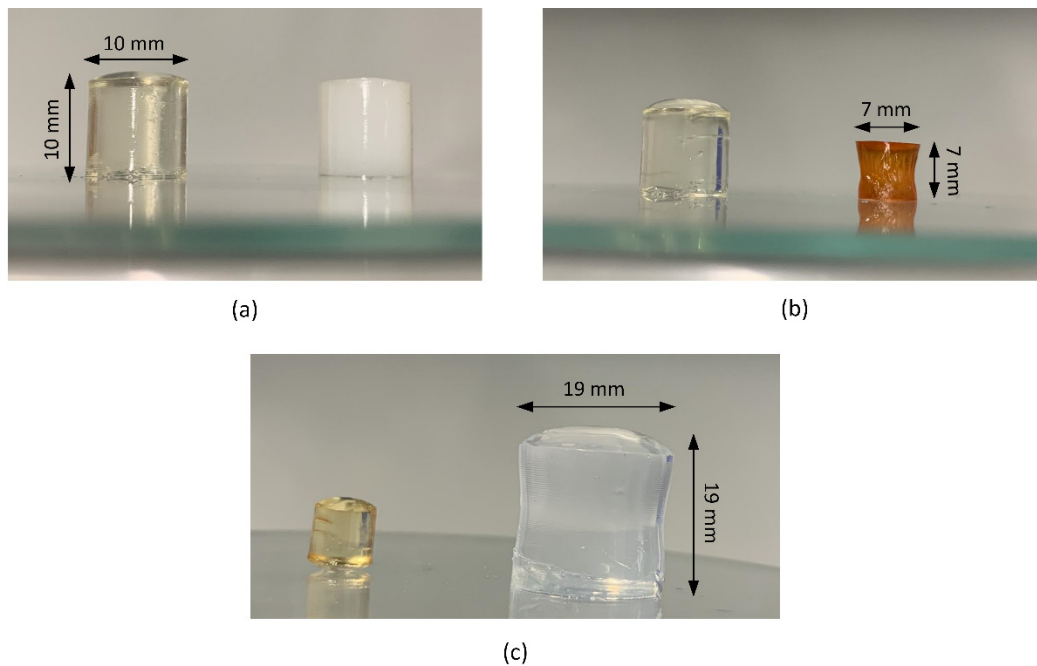
### 2.3. General Procedure for Hydrogel Synthesis

For the gravimetric swelling and the MRI experiments, the vinylimidazolium-based hydrogels were synthesized in a standardized procedure at room temperature ( $22 \pm 2$  °C) as reported earlier [29]. To modulate a crosslinker content of 2 mol%, the respective amount of IL monomer (0.300 g VEImBr, 0.341 g VBImBr, 0.276 g VBImCl) was dissolved in 432  $\mu\text{L}$  of ultrapure water and 232  $\mu\text{L}$  of crosslinker solution (MBAA, 2%  $w/w$ ) was added. Radical polymerization (Scheme 1) was initiated by adding 30  $\mu\text{L}$  of ammonium persulfate solution (APS, 10%  $w/w$ ) and 6  $\mu\text{L}$  of TEMED immediately before mixing the solution thoroughly for 10 s. It was then allowed to gel for 30–50 min into cylindrical shaped molds (10 mm diameter, 10 mm height). After removal of the gels, they were stored in a compartment dryer at 60 °C for 5 d with subsequent drying in a desiccator until weight constancy was established. For illustrative purposes, cylindrical hydrogel samples with different MBAA contents and at different drying as well as swelling levels are visualized in Figure 1.

For the gravimetric sorption experiments, four times of the described preparation quantity was used and allowed to gel for 20 min in a square mold (40 mm  $\times$  40 mm). After removal and cutting of the gel layers into cuboidal pieces, the gels were first dried for 5 d at 60 °C in a compartment dryer followed by 16 h in a high vacuum. The synthesis of hydrogels having crosslinker contents of 3 mol% and 5 mol% was realized by varying the volumes of water and MBAA solution (Table 1). After drying, all samples were stored under an argon atmosphere. Within this work, all hydrogels are named with the prefix “poly”.



**Scheme 1.** Synthesis of pILs-based hydrogels via radical polymerization with MBAA as a crosslinker.



**Figure 1.** Cylindrical hydrogels (a) with different MBAA contents (left: 2 mol%; right: 5 mol%), (b) at different drying stages (left: without drying; right: after 5 d at 60 °C; 2 mol% MBAA) and (c) after swelling in water (left: unswollen; right: swollen for 24 h at 30 °C).

**Table 1.** Hydrogel composition with different crosslinker contents.

Component	Crosslinker Content		
	2 mol%	3 mol%	5 mol%
IL monomer	0.300 g VEImBr/0.341 g VBImBr/0.276 g VBImCl		
Ultrapure water	432 µL	312 µL	65 µL
MBAA solution (2% w/w)	232 µL	352 µL	599 µL
APS solution (10% w/w)		30 µL	
TEMED		6 µL	

#### 2.4. Gravimetric Swelling Experiments

The solvent uptake was measured gravimetrically by weighing the mass of the (swollen) gels as a function of time. When reaching the equilibrium state, the mass remained constant, and the measurement was finished. The sample sizes varied between 6.31 mm to 6.76 mm in diameter and 6.51 mm to 7.50 mm in height. After determining the dry mass of the samples, the gels were placed in a strainer that was doused in a crystallization dish containing 900 mL of the water, EtOH, THF or n-Hep and allowed to soak at  $30 \pm 1$  °C. The strainers were taken out at monitored time intervals. Both the strainers and the gels were carefully dabbed with a lint-free paper towel to eliminate surface-bound solvent. It was then weighed and returned to the solution again. These dynamic swelling studies were performed in triplicate to investigate the swelling behavior and the mechanism of solvent diffusion in the hydrogel.

#### 2.5. Calculations from Gravimetric Swelling Experiments

The experimental equilibrium swelling ( $S_{eq, exp}$ ) of the hydrogels was calculated from the data by the following term

$$S_{eq, exp} = \frac{M_{\infty} - M_0}{M_0} \quad (1)$$

with  $M_\infty$  being the mass of the absorbed water in the equilibrium state and  $M_0$  being the initial dry mass at the time  $t = 0$ .

For a quantitative representation of the absorbed water amount, the equilibrium water content (EWC) was calculated using the following

$$\text{EWC} = \frac{M_\infty - M_0}{M_\infty} \quad (2)$$

Additionally, the kinetics of polymer swelling were investigated in more detail. The process can be described using the following second-order relation

$$\frac{t}{S} = A + B \cdot t \quad (3)$$

where  $B = 1/Seq$  corresponds with the reciprocal of the equilibrium swelling,  $A = 1/k_s \cdot Seq^2$  includes the inverse of the initial swelling rate  $(dS/dt)_0$  and the swelling rate constant  $k_s$ . The theoretical values of the equilibrium swelling, the initial swelling rates, and the swelling rate constants were calculated from the slope and the y-intercepts of the linear regression of the experimental data [30].

The type of diffusion was determined by the following expression

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad (4)$$

where  $M_t$  is the mass of the absorbed water at the time  $t$ ,  $k$  is a characteristic constant of the system, and the exponent  $n$  characterizes the mode of the solute transport. By plotting  $\ln(M_t/M_\infty)$  as a function of  $\ln(t)$ ,  $n$  results from the slope and  $k$  from the axis intercept [31,32]. The diffusion coefficient can be deduced from the dynamic part of the swelling behavior. For this purpose, the approximation of Fick's equation for the diffusion of the swelling agent was used

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \cdot \left( \frac{D \cdot t}{\pi \cdot l^2} \right)^{0.5} \quad (5)$$

where  $D$  is the diffusion coefficient and  $l$  the diameter of the hydrogel cylinder.  $D$  is calculated using the help of the following term

$$D = \left( a \cdot \frac{(\pi \cdot l^2)^{0.5}}{4} \right)^2 \quad (6)$$

including  $a$  as the linear area of the slope taken from the plot of  $M_t/M_\infty$  against the square root of the time [31,33].

## 2.6. Diffusion Coefficients from Interval Sorption Experiments

A flow-through setup with continuous data recording was used to perform these experiments. The setup has already been described in 2005 by Krüger and Sadowski [34]. Its centerpiece is a magnetic suspension balance that allows for investigating sorption in samples weighing up to 30 g. Placing the balance outside the measuring cell ensures long-term stability as well as a high accuracy, resulting in a reproducibility of  $\pm 0.3$  mg. The dimensions of the completely dried hydrogel cuboids were noted before they were put inside a glass bucket connected to the balance. After assembling the apparatus, the measurement cell was evacuated using a turbomolecular vacuum pump (pressure  $< 10^{-5}$  mbar). After reaching a constant mass, the inlet valve was opened and the solvent vapor was led from the vaporizer into the cell with a constant flow resulting in predefined solvent partial pressures of 25%, 50%, and 75%. Each measurement started with a pressure jump

from 0 mbar up to a pressure that matched 25% relative humidity (RH). The solvent vapor pressure was controlled by the valve at the outlet of the cell and measured by means of a capacitive pressure sensor. Just when the sample mass became constant again, the humidity in the cell was set to the next solvent partial pressure. The temperature control of the housing was realized by an air thermostat, solvent evaporation was performed in a double-walled glass vessel heated by means of a liquid thermostat. The temperatures were checked by PT100 sensors with a correctness of  $\pm 0.05$  K. All measurements were performed at  $30 \pm 1$  °C.

$D$  was obtained from the data by using Fick's second law of diffusion. Under the assumption of a constant  $D$ , Crank solved the law for a free-standing film experiencing an abrupt increase in external concentration on both sides [35].

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2\pi^2} \exp\left\{-\frac{D(2n+1)^2\pi^2 t}{d^2}\right\} \quad (7)$$

If the samples are subjected to higher surface concentrations on only one side, the film thickness  $d$  that is measured at the beginning of this sorption interval must be squared in the equation.  $D$  is assumed as the mean diffusion coefficient, which was adjusted to the respective sorption curve [34].

### 2.7. Diffusion Weighted Magnetic Resonance Imaging (DW-MRI)

All hydrogels were conscientiously dried as described above. The DW-MRI measurements were carried out at  $21.5 \pm 2$  °C with the help of a BioSpec 70/30 from Bruker (Karlsruhe, Deutschland) having a field strength of 7 T. The cylindrical samples were placed in an 8 mL glass vial, each filled with water, EtOH, THF, or n-Hep, and allowed to soak. After swelling was completed (usually after 24 h), the samples were placed in a transmit/receive volume coil with an inner diameter of 72 mm. Apparent diffusion coefficients (ADC) were gained from DW-MRI performed by using the following parameters: resolution  $200 \times 200$   $\mu\text{m}$ , image size 295 pixels  $\times$  90 pixels, slice thickness 1 mm, scan time 39 min, echo time (TE) 25.5 ms, and repetition time (TR) 5000 ms as well as for  $b$ -values of 0  $\text{s}/\text{mm}^2$ , 1000  $\text{s}/\text{mm}^2$ , and 2460  $\text{s}/\text{mm}^2$  and three orthogonal diffusion directions. ADC calculation was based on the equation below.

$$\frac{S}{S_0} = e^{-\gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3}) D} = e^{-bD} \quad (8)$$

It was done for each voxel by the ISA Tool (Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Germany) by fitting a curve of the signal intensity (with and without diffusion weighting) plotted over the  $b$ -value.

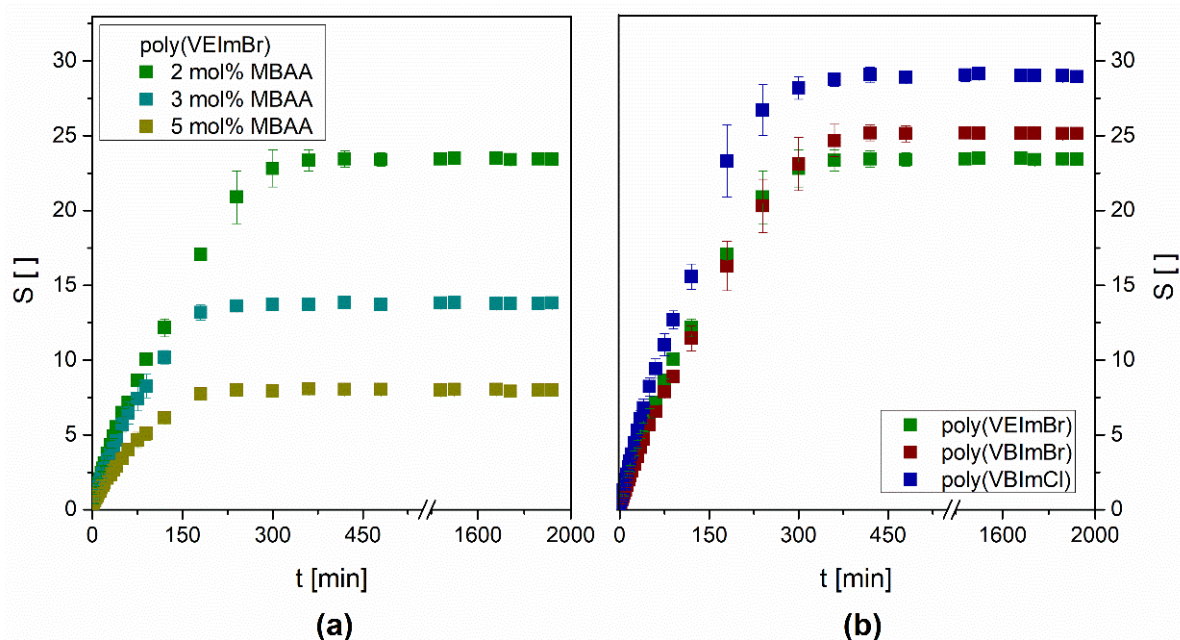
In addition, the diffusion front of water was visualized by placing the dried hydrogel cylinder in a water-filled crystallizing dish with a diameter of approximately 40 mm. The process was monitored for 23 h at the parameters mentioned above, except for TE = 35.0 ms and TR = 2500.0 ms. Among others, George and Whittaker described similar procedures in 2010 [32].

## 3. Results

### 3.1. Gravimetric Swelling Experiments

A main characteristic of hydrogels is the ability to absorb large amounts of water with an increase in mass and volume without losing their shape. In principle, the swelling of polymer hydrogels consists of two separate transport steps. Initially, the respective solvent convects through the pores of the gel. Subsequently, the liquid diffuses between the struts of the polymer network causing a conformational change and an expansion of the polymer chains [36]. Besides the solvent motion and its interaction with the polymeric network, there are several parameters affecting the hydrogel swelling like the thermodynamic compatibility, the polymer relaxation time, the nature of the monomer, the crosslinker chain

lengths, or the degree of crosslinking. Figure 2a shows the results of the water swelling tests at  $30 \pm 1$  °C for poly(VEImBr) synthesized with different crosslinker concentrations of 2 mol%, 3 mol%, and 5 mol% MBAA. Independent of the crosslinker content, the mass of the hydrogels initially increased continuously over time until plateau formation occurred due to the setting of the swelling equilibrium. However, as the degree of crosslinking increased, the time required to reach swelling equilibrium decreased. Poly(VEImBr) crosslinked with 5 mol% MBAA was already in the equilibrium state after 240 min (4 h). Compared to that, 2 mol% crosslinked gels reached equilibrium state three hours later after 420 min. Nonetheless, the slopes of the graphs show that the hydrogels having a higher crosslinker level did not swell faster than lower crosslinked ones. The graph of poly(VEImBr) with 2 mol% MBAA rises significantly steeper than that of poly(VEImBr) with 5 mol% MBAA due to a higher initial swelling rate (Table 2). The reason for this was the setback of the swelling ratio plateau due to a lesser water adsorption by the stronger crosslinked hydrogel. This occurred because the interstices for liquid intercalation were gradually decreased the more tightly meshed the linkage was. The equilibrium swelling decreased by approximately 66% from  $23.44 \pm 0.39$  to  $8.00 \pm 0.19$  when the crosslinker amount was advanced from 2 mol% to 5 mol%.



**Figure 2.** Water swelling kinetics (a) of poly(VEImBr) with different MBAA amounts ( $30 \pm 1$  °C;  $n = 3$ ) and (b) of different monomers ( $30 \pm 1$  °C;  $n = 3$ ; MBAA: 2 mol%).

The impact of the monomer was investigated by the usage of hydrogels based on two further monomers having longer chains and/or different counterions compared to VEImBr (Figure 2b). VBImBr contains a butyl group instead of an ethyl group while holding the same counterion. The prolonged alkyl side chain resulted in a slight increase of the swelling ratio by approximately 7% up to  $25.16 \pm 0.41$  for poly(VBImBr). This observation seemed contradictory since the C4 chain is more hydrophobic than the C2 chain, resulting in a lower affinity to water. On the other hand, hydrogels with a butyl side chain have larger interstitial spaces for the incorporation of water. Obviously, this fact outweighs the impact of the increased hydrophobicity. In contrast to that, the variation of the counterion seemed to have a higher influence on the swelling. The swelling ratio of poly(VBImCl) rose to  $29.02 \pm 0.39$  which was 16.5% higher than the swelling ratio of poly(VBImBr) and 23.8% higher compared to poly(VEImBr). A possible reason might be the stronger hydration of the smaller chloride anion (181 pm) compared to the bigger bromide anion (196 pm) [37]. Nevertheless, all hydrogels reached the equilibrium swelling plateau after

420 min. Additionally, the equilibrium water content (EWC) was calculated to represent the water that was absorbed by the equilibrium-swelled hydrogels in a quantitative manner (Table 3).

**Table 2.** Swelling kinetics studies of different hydrogels.

Hydrogel MBAA Amount	Solvent	Experimental Equilibrium Swelling Seq, exp ( )	Theoretical Equilibrium Swelling Seq, theo ( )	Initial Swelling Rate (min <sup>-1</sup> )	Swelling Rate Constant ks (min <sup>-1</sup> )
Poly(VEImBr) 2 mol%	Water	23.44 ± 0.39	25.13	0.227	3.60 × 10 <sup>-4</sup>
	EtOH	7.45 ± 1.02	8.14	0.010	1.58 × 10 <sup>-4</sup>
	THF	-0.02 a	-0.02	n.d. *	n.d. *
	n-Hep	0.01 b	0.01	n.d. *	n.d. *
Poly(VEImBr) 3 mol%	Water	13.80 ± 0.25	14.39	0.227	1.10 × 10 <sup>-3</sup>
Poly(VEImBr) 5 mol%	Water	8.00 ± 0.19	8.25	0.165	2.42 × 10 <sup>-3</sup>
	EtOH	2.56 ± 0.12	2.79	0.005	5.81 × 10 <sup>-4</sup>
	THF	-0.02 a	-0.02	n.d. *	n.d. *
	n-Hep	0.01 b	0.01	n.d. *	n.d. *
Poly(VBImBr) 2 mol%	Water	25.16 ± 0.41	27.70	0.178	2.32 × 10 <sup>-4</sup>
	EtOH	10.61 ± 0.62	11.67	0.021	1.53 × 10 <sup>-4</sup>
	THF	-0.01 a	-0.01	n.d. *	n.d. *
Poly(VBImCl) 2 mol%	Water	29.02 ± 0.39	31.15	0.277	2.86 × 10 <sup>-4</sup>
	EtOH	13.51 ± 0.40	14.62	0.039	1.80 × 10 <sup>-4</sup>
	THF	-0.01 a	-0.01	n.d. *	n.d. *

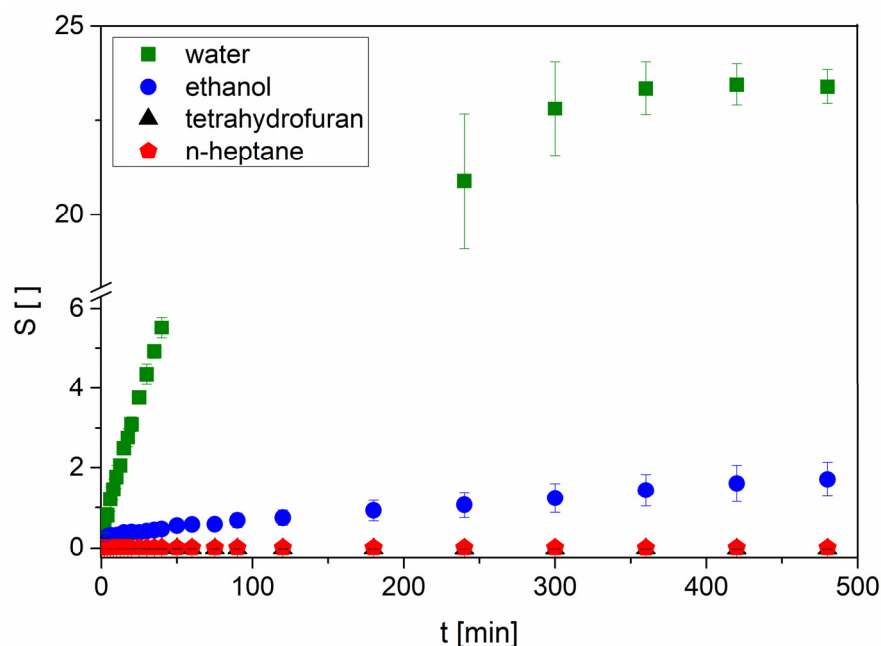
\* n.d.—not determined due to the lack of swelling; <sup>a</sup> the error was <0.005; <sup>b</sup> the measured values were in the order of magnitude of the error due to insignificant changes in weight.

**Table 3.** Equilibrium water contents of pILs-based hydrogels.

Hydrogel	MBAA Amount	Equilibrium Termination	Equilibrium Water Contents (EWC)
Poly(VEImBr)	2%	420 min	0.959 ± 0.001
	3%	360 min	0.932 ± 0.001
	5%	240 min	0.889 ± 0.003
Poly(VBImBr)	2%	420 min	0.962 ± 0.001
Poly(VBImCl)	2%	420 min	0.967 ± 0.001

In medical applications, hydrogels are usually used in aqueous environments of different pH values containing a number of ions. For catalytical approaches, the behavior in other solvents is also very interesting. Therefore, we tested the swelling of poly(VEImBr) in EtOH, THF, and n-Hep as solvents with different polarities. Among these solvents, the strongest swelling of the gel was observed in EtOH with an equilibrium swelling of  $7.35 \pm 1.11$  after 96 h (Figure 3). Apart from the lower swelling that was just one-third of the swelling in water, the process in EtOH was almost fourteen times slower due to the structure differences between both solvents. On the one hand, water is much smaller than EtOH so, it is easier for the molecule to enter the gel. On the other hand, there is a slight decrease in hydrophilicity. In previous works of Arndt et al., it has been shown that the swelling is decreasing due to a longer carbon chain of the respective solvent [38].

In n-Hep, the mass and volume of the gel cylinders remained fairly constant, whereas in THF a slight mass decrease was observed till an equilibrium plateau was reached. Apart from this, the gels in THF became very hard and incompressible over the measurement period. It is proposed that neither n-Hep nor THF diffuse into the gel. We suppose that the THF extracted the remaining unattached water and other components like unpolymerized monomer out of the hydrogel, leading to an additional decrease in mass compared to the dry initial state. In the case of n-Hep, the water most likely stayed in the gel because of the solvent polarity and the extremely low solubility of n-Hep in water. These general trends were also observed for poly(VBImBr) as well as poly(VBImCl) and poly(VEImBr) with an increased MBAA amount of 5 mol%.



**Figure 3.** Swelling kinetics of poly(VEImBr) in different solvents ( $30 \pm 1$  °C;  $n = 3$ ; MBAA: 2 mol%).

The swelling kinetics studies of the experimental data showed a good agreement of the theoretical calculated equilibrium swelling with the experimental ones (Table 2). Even in the case of *n*-Hep and THF, where no swelling was observed, the values are parallel to each other. The calculation of the initial swelling rates shows no difference between 2 mol% and 3 mol% crosslinked poly(VEImBr) with  $0.227(0) \text{ min}^{-1}$  and  $0.227(4) \text{ min}^{-1}$ , respectively. A light descent to  $0.165 \text{ min}^{-1}$  was observed when using 5 mol% MBAA for gel synthesis. In the case of poly(VBImBr), the initial swelling rate of  $0.178 \text{ min}^{-1}$  was smaller than the one of 2 mol% crosslinked poly(VEImBr), although the equilibrium swelling was higher. It is supposed that the longer and slightly hydrophobic side chain was responsible for the reduced swelling rate. All experiments in EtOH ended in a reduced initial swelling rate compared to water. Nevertheless, the difference between water and EtOH decreased due to the longer side chain. Furthermore, the swelling rate constant ( $k_s$ ) was calculated, which likely depended on two factors. It seems that  $k_s$  increased with a lower initial swelling rate combined with a reduced equilibrium swelling level. Among the experiments in water, 5 mol% crosslinked poly(VEImBr) showed the biggest value of  $2.42 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ . So, this hydrogel reached its equilibrium state much faster, probably due to its slightly reduced initial swelling rate and the significantly lower equilibrium swelling level. In contrast to that,  $k_s$  for 2 mol% poly(VEImBr) and poly(VBImCl) were reduced by the power of ten.

### 3.2. Diffusion Coefficients from Gravimetric Swelling Experiments

The diffusional exponent ( $n$ ), which is the slope of the plot  $\ln(M_t/M_\infty)$  as a function of  $\ln(t)$ , is used to characterize the solute transport mechanism in hydrogels because the absorption process does not correspond to the classical theory of diffusion. In cylindrical hydrogels, values of  $0.50 < n < 1$  correspond to non-Fickian or anomalous diffusion. If the transport mechanism is relaxation-controlled, a Case-II-diffusion and  $n = 1$  can be observed. Fickian-type transport occurs when the polymer chain relaxation rate is greater than the water penetration rate in the gel. In most cases,  $n = 0.45\text{--}0.50$  implies an impeccable Fickian-type process, but some articles also report  $n < 0.50$  [31,39]. In the case of pure Fickian-type diffusion, the transport process is determined exclusively by diffusive currents, and it is independent of other physical effects such as swelling of the gel matrix. However, these gels showed strong swelling in polar protic solvents like water. In this case, diffusion is superimposed on time-dependent swelling and deviations from Fickian diffusion behavior occur [32,40]. This is also reflected in the diffusional exponents for the

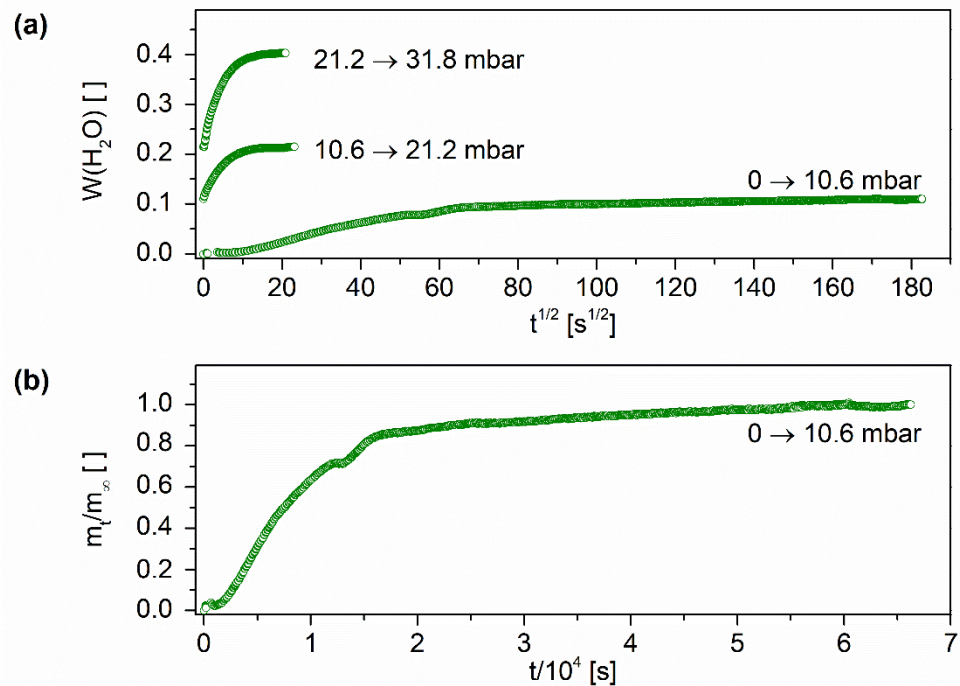
water diffusion in the cylindrical pILs-based hydrogels. The values varied between 0.668 for 5 mol% crosslinked poly(VEImBr) and 0.837 for poly(VBImBr), indicating non-Fickian behavior (Table 4). The calculated diffusion coefficients ( $D$ ) of water are in the range of  $10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  and correspond to the values reported by Bajpai et al. for the diffusion of water in poly(acrylamide-co-sodium acrylate) hydrogels [31]. In a number of cases, the coefficients for cylindrical gels are usually in the range of  $10^{-11}$  to  $10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  [31,41,42]. The higher diffusion coefficients indicate a faster solvent transport into the polymer network. They were caused by the osmotic pressure of the gel, which must be overcome permanently by the solvent during the swelling procedure. Consequently, the osmotic pressure is also responsible for the deviation of the transport mechanism from the Fickian behavior [43]. In this method, there was nearly no difference observed concerning the coefficients calculated for 2 mol% poly(VEImBr) and poly(VBImBr). A moderate increase concerning the coefficient was observed for poly(VBImCl) with  $7.65 \pm 0.92 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  compared to 2 mol% crosslinked poly(VBImBr) with  $6.67 \pm 1.15 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . A possible explanation for the higher coefficient could be that the more water is stored between the network struts, the more freely the water molecules can move inside the gel network. Thus, the measured values can change in the direction of the self-diffusion coefficient of water, which is  $2.59 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  at  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  [44]. On the contrary, increasing the crosslinker content in poly(VEImBr) had no significant influence. This can possibly be explained by the fact that the tighter linkage resulted in a mesh size that was still large enough for the entry of the respective solvent molecules [31]. The only slightly minimized initial swelling rate also supports this thesis. For EtOH, the determined  $n$  values were comparatively lower, but they also indicate non-Fickian diffusion. Only 2 mol% crosslinked poly(VEImBr) with  $n = 0.398$  implies a transport mechanism according to Fick. Compared to the values in water, the diffusion coefficients in EtOH are reduced by the power of ten. Since the self-diffusion coefficient of EtOH ( $1.08 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) is also nearly reduced by the power of ten compared to the coefficient of water, the calculated values reflect the ratio of the two pure solvents [45]. Since no mass increase was observed in *n*-Hep and in THF, diffusion coefficients could not be determined using this method.

**Table 4.** Diffusional exponent  $n$  and diffusion coefficient  $D$  determined by gravimetric swelling studies at  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Solvent	Diffusion Parameter	Poly(VEImBr) 2 mol%	Poly(VEImBr) 5 mol%	Poly(VBImBr) 2 mol%	Poly(VBImCl) 2 mol%
Water	$n$	0.800	0.668	0.837	0.830
	$D \times 10^{10} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}$	$6.70 \pm 0.85$	$6.95 \pm 0.40$	$6.67 \pm 1.15$	$7.65 \pm 0.92$
EtOH	$N$	0.398	0.572	0.609	0.634
	$D \times 10^{10} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1}\text{)}$	$0.37 \pm 0.11$	$0.62 \pm 0.23$	$0.61 \pm 0.23$	$1.07 \pm 0.09$

### 3.3. Sorption Curves

Sorption curves usually characterize the sorption behavior of the sample at different partial pressures of the respective solvent. In the conducted experiments, we set 25%, 50%, and 75% of the total solvent partial pressure. In the case of water, the partial pressure corresponds to the relative humidity. Figure 4a shows the recorded sorption curves of water in a poly(VEImBr) film (2 mol% MBAA) at  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  and 10.6 mbar (25% RH), 21.6 mbar (50% RH), as well as 31.8 mbar (75% RH).



**Figure 4.** Interval sorption curves of poly(VEImBr) and water (a) for different pressure steps up to  $31.8 \pm 0.2$  mbar; (b) plotted as the relative mass increase over time for the first pressure step up to 10.6 mbar ( $30 \pm 1$  °C; MBAA: 2 mol%).

For graphical representation,  $W$  was plotted as the mass of absorbed water relative to the mass of the dry polymer sample versus the square root of the time. The new step always started with the equilibrium mass of the previous stage at the time  $t = 0$  s. In the first sorption interval from 0 to 10.6 mbar, the recorded curve exhibits a slight sigmoidal shape, which indicates non-Fickian behavior. For the following pressure steps at 50% RH and 75% RH, a rather Fickian-type shape was obtained. Characteristically, Fickian-type curves show initial linear increasing that flattens out and finally settles at an equilibrium value. When plotting the pressure jump intercepts versus time  $t$ , a nearly linear growth of the sample mass was observed over the measurement period (Figure 4b). This pattern is characteristic of Case-II-diffusion, which often occurs with larger concentration jumps ( $\Delta W > 0.1$  g/g) and is associated with relatively steep concentration fronts within the sample. Characteristic of these sharp fronts is a large difference between the diffusion coefficients in the swollen and unswollen regions of the gel [34]. A visualization of the diffusion front could provide additional information concerning the concentration profiles into the gel. Generally, a deviation from Fickian-type behavior is observed for measurements outside the glass transition temperature. Especially for experiments below this temperature, a deviant behavior is observed. Another explanation is the strong swelling of the hydrogels. Within swelling, solvents like water penetrate into the polymer network, forcing the polymer molecules to rearrange themselves. Depending on the structure and condition of the polymer, the reorientation runs at different speeds and a tension between the polymer chains occurs. As a result, there is an increased pressure on the water molecules, which limits the uptake of new solvent molecules into the polymer matrix. The time-dependent swelling finally leads to a relaxation of the chains combined with a reduction in pressure, whereby new molecules can be taken up. Furthermore, so-called transverse forces are formed between the solvent-poor and the solvent-rich regions of the sample. All in all, both phenomena, viscoelastic volume swelling and swelling transverse forces, usually occur together and are difficult to separate from each other [46]. Similar sorption curves were obtained for the 5 mol% crosslinked poly(VEImBr) as well as for poly(VBImCl) and poly(VBImBr) with water. Logically, all curves showed the steepest increase during the last sorption step up to 31.8 mbar because of the highest solvent content in the surrounding

atmosphere. In all gels, the mass of the absorbed water was nearly doubled from step to step. Concerning the equilibrium swelling at the different solvent pressures, poly(VEImBr) achieved 0.111 at 25% RH, 0.215 at 50% RH, and 0.403 at 75% RH. So it swelled almost twice as much as poly(VBImBr) with 0.057 at 25% RH, 0.122 at 50%, RH and 0.257 at 75% RH. Similar to the previous experiments, poly(VBImCl) showed the strongest swelling with 0.103 at 25% RH, 0.218 at 50% RH, and 0.482 at 75% RH. The sorption measurements also showed a difference between the poly(VEImBr) hydrogels having varied MBAA contents. In the 5 mol% hydrogel the uptake was reduced by 11%. As expected, the sorption curves of the experiments with EtOH also showed a deviation from Fickian-type diffusion behavior. Furthermore, the gels absorbed less EtOH while having significantly longer swelling times to reach sorption equilibrium compared to the experiments with water. A mass loss was detected for *n*-Hep and THF. In *n*-Hep, the sample mass fluctuated and finally decreased minimally by 1.7 mg within the measurement period of 24 h. This phenomenon may be explained by the buoyancy within the measuring tube caused by the upward flowing solvent vapor. The hydrogel sample was placed in a glass basket connected to the balance by a spring. Thus, the bottom of the glass vessel was fully exposed to the solvent vapor flowing from the bottom to the top. In contrast to that, the mass decreased stepwise when measuring with THF. This observation supports our thesis that THF probably draws the unbound water out of the hydrogel, resulting in weight reduction.

#### 3.4. Water Diffusion Coefficients from Gravimetric Sorption Experiments

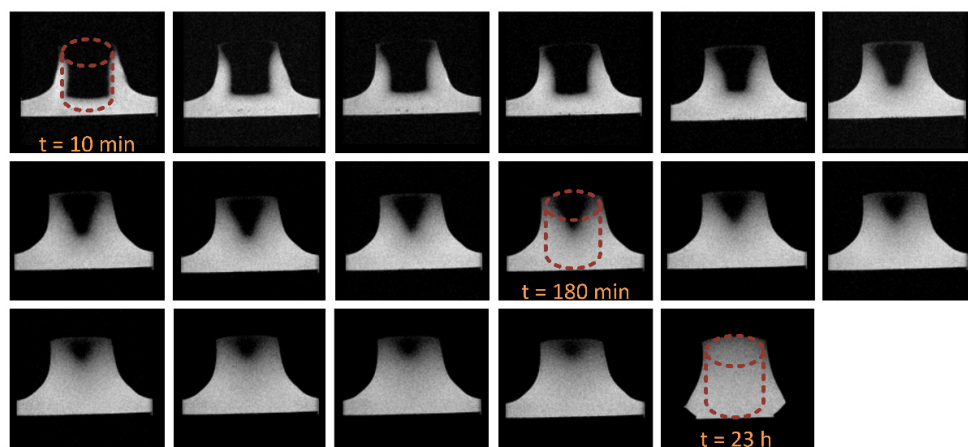
Sorption measurements were performed to determine the Fick's diffusion coefficient of water and other solvents into the sample. The coefficient describes how fast the solvent molecules move in the solvent gradient of the mixture and depends on the relative humidity of the solvent. Since the relative humidity is influencing the solvent concentration in equilibrium, the calculated diffusion coefficient becomes dependent on the solvent concentration and thus overrides Fick's definition as a proportionality constant. Consequently, relative statements about the diffusion rate as a function of relative humidity are obtained from the calculated coefficients. As expected, *D* varied depending on the surrounding water partial pressure RH in the apparatus and was lowest at 25% RH (Table 5). It is noticeable that the diffusion of the molecules was most pronounced at a relative humidity of 50% and decreased again at 75% RH. Apparently, the driving force was no longer as high at 75% RH due to lower concentration gradients. Strictly speaking, differences in the chemical potentials were the cause of this observation. However, the Fick's model used here is a concentration-based system, which does not take into account the influence of the potential differences. At the last sorption interval there was already a certain number of water molecules in the gel, leading to a reduction of the diffusion compared to the condition at 50% RH. Likely, this was a hydrogel-specific property caused by the lattice structure. Linear polymers are able to unwind their chains and therefore do not exhibit these effects. In contrast to that, the space is limited in the networks of the hydrogels. So, there is just a defined number of molecules that are allowed to penetrate the structure. However, at 25% RH there was still a strong concentration gradient, but the absorption capacity of the water molecules was limited by the gel swelling.

**Table 5.** Water diffusion coefficients in the hydrogels for different relative humidities at 30 °C.

Hydrogel	MBAA Amount	Diffusion Coefficient $D \times 10^{10}$ (m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ) at Different Water RH		
		25%	50%	75%
Poly(VEImBr)	2 mol%	0.130	0.560	0.553
	5 mol%	0.110	0.322	0.262
Poly(VBImBr)	2 mol%	0.113	0.236	0.195
Poly(VBImCl)	2 mol%	0.035	0.144	0.097

### 3.5. DW-MRI Measurements

DW-MRI as an imaging technique has developed into a decisive method in medical diagnostics over the last 30 years. It enables the measurement and visualization of solvent diffusion, typically water, that is caused by Brownian motion. This type of molecular movement is called self-diffusion and does not require concentration gradients because it relies solely on the thermal energy of the solvent molecules. However, DW-MRI does not measure free diffusion because molecular motion is restricted by structural obstacles in the corresponding tissues [47,48]. Compared to gravimetric studies where the molecular diffusion is measured by means of macroscopic changes, MRI allows a deeper insight into the diffusion procedure providing direct information about the water distribution within the polymer [32]. The visualization of the water diffusion front in 2 mol% crosslinked poly(VEImBr) is shown in Figure 5. For better clarity, the outline of the cylindrical specimen has been added to the graph in the form of red dashed lines. During the measurement, the hydrogel cylinder stood in a layer of water and after 10 min the penetration of water could already be observed in the lower area of the gel as well as on the lateral outer surfaces. Over time more water diffused into the sample, causing the gel to swell from the bottom and laterally upward. The diffusion front could be observed very well during the whole process, which indicated strong concentration differences in the hydrogel regions. This supports the thesis of Case-II-diffusion from the sorption measurements above. After 23 h the measurement was stopped because the entire gel body was penetrated with water. In contrast to the swelling measurements where complete swelling was finished after 420 min, here the hydrogel required much longer because of the experimental setup. In this case, the gel was placed in a thin layer of water instead of being completely enclosed.



**Figure 5.** T2-weighted visualization of the water diffusion front in poly(VEImBr) ( $21.5 \pm 2$  °C; TR: 2500.0; TE: 35.0; MBAA: 2 mol%).

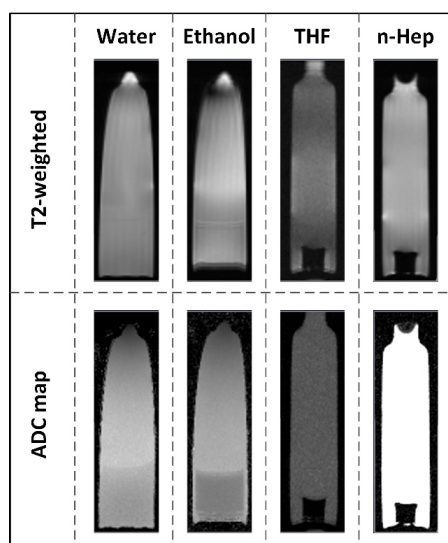
Due to the limited molecular movement in tissues, the diffusion coefficient measured via DW-MRI is called the apparent diffusion coefficient (ADC) and is dependent on the direction and length of the diffusion. However, if the size of the tested structure is known, the measurement time can be adjusted and the dependence on the diffusion length can be neglected. All measured ADCs are summarized as the results of method 3 in Table 6. Although the measurements were implemented at lower temperatures compared to the gravimetric methods, the determined coefficients are bigger than the ones measured by the gravimetric studies. In water, a slightly decreased ADC was observed at higher degrees of swelling. Among the tested monomers, poly(VEImBr) showed the lowest level at equilibrium swelling, but achieved the highest ADC of  $16.58 \pm 0.59 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  in the MRI experiments. The ADC of poly(VBImBr) was  $16.30 \pm 0.47 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  while the strongest swelling poly(VBImCl) hydrogel achieved  $15.80 \pm 0.55 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Nevertheless, as expected the ADCs of the hydrogels were smaller than the measured value of  $19.64 \pm 0.59 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  for the self-diffusion of pure water. A lower coef-

efficient of  $15.90 \pm 0.53 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  was also detected for poly(VEImBr) with 5 mol% MBAA. Presumably an increased crosslinker concentration resulted in a stronger inhibition of the molecular diffusion due to the additional linkages. Compared to water, the diffusion of ethanol in the 2 mol% crosslinked hydrogels was again slower. The coefficients of ethanol varied between  $6.51 \pm 0.23 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  in the case of poly(VEImBr) and  $6.65 \pm 0.47 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  for poly(VBImBr). The large ADC of  $7.08 \pm 0.62 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  for the 5 mol% poly(VEImBr) appears contradictory, but this and the relatively high deviation can be explained by the tearing of the sample during the swelling process. Moreover, the ADCs for the experiments with 2 mol% crosslinked poly(VEImBr) in *n*-Hep or THF should be determined as well. The MRI scans support the assumption that in both cases nearly no solvent diffused into the hydrogels. In these samples, only very small ADCs with large error margins were obtained, such as  $7.15 \pm 15.20 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  for THF. This coefficient may correspond to the background noise, which showed a value of  $9.01 \pm 17.27 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . The same was observed with *n*-Hep, where the measured coefficient of  $7.98 \pm 17.80 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  was in the same scale of the background noise ( $6.50 \pm 14.97 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ). In these cases, the signal was too weak to determine a reliable ADC. This is supported by the acquired MRI images, which are shown in Figure 6. In the case of water and ethanol, the gel sample and the pure solvent have nearly the same coloration. Accordingly, diffusion of the solvent into the hydrogel had occurred. In THF and *n*-Hep, the non-swollen hydrogel is shown in black and stands out clearly from the light gray color of the pure solvent. The measured self-diffusion coefficients of *n*-Hep and THF were much higher with  $2.85 \pm 0.17 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  and  $2.50 \pm 0.27 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , respectively.

**Table 6.** Summary of all diffusion coefficients measured using different methods.

Solvent	Method *	(Apparent) Diffusion Coefficient $D/ADC \times 10^{10} \text{ (m}^2 \text{ s}^{-1})$ For			
		Poly(VEImBr) 2 mol%	Poly(VEImBr) 5 mol%	Poly(VBImBr) 2 mol%	Poly(VBImCl) 2 mol%
H <sub>2</sub> O	1	$6.70 \pm 0.85$	$6.95 \pm 0.40$	$6.67 \pm 1.15$	$7.65 \pm 0.92$
	2	0.553	0.262	0.195	0.097
	3	$16.58 \pm 0.59$	$15.90 \pm 0.53$	$16.30 \pm 0.47$	$15.80 \pm 0.55$
EtOH	1	$0.37 \pm 0.11$	$0.62 \pm 0.23$	$0.61 \pm 0.23$	$1.07 \pm 0.09$
	2	0.035	0.025	0.136	0.708
	3	$6.51 \pm 0.23$	$7.08 \pm 0.62$	$6.65 \pm 0.47$	$6.63 \pm 0.25$

\* 1—gravimetric swelling experiments ( $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ); 2—sorption experiments ( $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $p(\text{water}) = 31.8$  (75% RH)); 3—DW-MRI measurements ( $21.5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ).



**Figure 6.** T2-weighted visualization and ADC map of the solvent diffusion in poly(VEImBr) ( $21.5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ; TR: 2500.0; TE: 35.0; MBAA: 2 mol%).

#### 4. Discussion

From the gravimetric swelling experiments, it is evident that the tested pILs-based hydrogels have a high affinity to polar protic solvents. In general, the strongest mass increase was observed in the experiments with water. For instance, 2 mol% crosslinked poly(VEImBr) showed a three times higher equilibrium swelling level in water ( $23.44 \pm 0.39$ ) compared to EtOH ( $7.45 \pm 1.02$ ). The following order was achieved for the different monomers with regard to their equilibrium swelling in water and EtOH: poly(VEImBr) < poly(VBImBr) < poly(VBImCl). Increasing the crosslinker content of poly(VEImBr) from 2 mol% to 5 mol% resulted in a reduced mass increase of  $8.00 \pm 0.19$ . In *n*-Hep and THF, the mass remained unchanged or even decreased slightly. The investigation of the diffusion mode in the hydrogels showed a deviation from Fickian-type diffusion both in the gravimetric swelling experiments and in the case of the sorption curves from the measurements with the magnetic suspension balance. The exact classification of the diffusion type in hydrogels often proves to be very difficult as soon as the diffusion deviates from Fickian-type behavior [40]. In this study, the calculations of the *n*-values from the data of the swelling tests indicated an abnormal diffusion while the shape of the sorption curves argued for a Case-II-diffusion. We tried to support the results with a visualization of the diffusion front via DW-MRI and found sharp concentration fronts that also point in favor of Case-II-diffusion. The diffusion coefficients were determined by three different methods and the results for water and EtOH are summarized in Table 6. Since no mass increase was recorded for the samples in *n*-Hep or THF using the gravimetric methods, diffusion coefficients could not be calculated. In general, it is assumed that these solvents either do not diffuse or diffuse minimally into the gel samples. In THF, a mass loss was observed, which indicates that the solvent draws the unbound water out of the gel. This is an interesting approach for the application of a co-drying agent. For water, nearly all coefficients are in the range of  $10^{-10}$  to  $10^{-11} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . The biggest values were obtained from the DW-MRI measurements. This trend was also observed with EtOH, with coefficients about one power of ten smaller than using water. It noteworthy that depending on the measurement method the values of the same sample may vary. An important point is the accuracy of the measurement method and which parameters are used to determine the diffusion coefficient. Gravimetric swelling measurements are one of the most common methods to investigate diffusion processes. Unfortunately, it also seems to be the most error-prone of all the methods tested here due to the experimental setup and implementation. DW-MRI offers the possibility to follow the diffusion processes in the hydrogel itself and to determine the coefficients directly in the gel, whereas the sorption measurements use macroscopic changes to evaluate the microscopic processes. However, in the case of the magnetic suspension balance, it runs in an experimental setup that makes external influences almost negligible and thus minimizes errors. All in all, these results provide interesting information about diffusion in pILs-based hydrogels. Possible effects of significantly longer alkyl chains as well as the change of other structural components are also interesting topics for future work. Thus, the processes occurring in polyelectrolyte-based hydrogels will be investigated in subsequent work.

**Supplementary Materials:** The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/polym13111834/s1>, Figure S1:  $^1\text{H-NMR}$  of VEImBr [300 MHz]; Figure S2:  $^1\text{H-NMR}$  of VBImCl [300 MHz]; Figure S3:  $^1\text{H-NMR}$  of VBImBr [300 MHz].

**Author Contributions:** Conceptualization, A.J. and U.K.; methodology, A.J., T.L., C.L. and G.S.; validation, A.J. and U.K.; investigation, A.J., T.L., C.L., G.S. and U.K.; resources, T.L., G.S. and U.K.; writing—original draft preparation, A.J.; writing—review and editing, C.L., G.S. and U.K.; visualization, A.J. and T.L.; supervision, C.L., G.S. and U.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG; grant KR 2491/12-2). Europäische Fonds für Regionale Entwicklung (EFRE) is gratefully acknowledged for the funding of the high-performance milling and drilling machine EMCOMAT FB-450 L (grant number GHS-16-0007) and the magnetic resonance imaging system BioSpec 70/30 (grant number UHROM

16). Furthermore, we acknowledge financial support from the Universität Rostock within the funding program Open Access Publishing.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available upon reasonable request from the corresponding author.

**Acknowledgments:** The authors acknowledge Dominik Borrmann for his assistance with sorption measurements, Sandra Diederich, Celina Lehnert, and Adrian Prudlik for their experimental support, and Peter Kumm for his technical support. We also thank Dirk Michalik and Ralf Ludwig for the helpful discussions and new approaches.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Claus, J.; Sommer, F.O.; Kragl, U. Ionic Liquids in Biotechnology and Beyond. *Solid State Ion.* **2018**, *314*, 119–128. [[CrossRef](#)]
2. Gupta, P.; Vermani, K.; Garg, S. Hydrogels: From Controlled Release to pH-Responsive Drug Delivery. *Drug Discov. Today* **2002**, *7*, 569–579. [[CrossRef](#)]
3. Lin, C.-C.; Anseth, K.S. PEG Hydrogels for the Controlled Release of Biomolecules in Regenerative Medicine. *Pharm. Res.* **2009**, *26*, 631–643. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Lin, C.-C.; Metters, A.T. Hydrogels in Controlled Release Formulations: Network Design and Mathematical Modeling. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2006**, *58*, 1379–1408. [[CrossRef](#)]
5. Behl, G.; Iqbal, J.; O'Reilly, N.; McLoughlin, P.; Fitzhenry, L. Synthesis and Characterization of Poly(2-hydroxyethylmethacrylate) Contact Lenses Containing Chitosan Nanoparticles as an Ocular Delivery System for Dexamethasone Sodium Phosphate. *Pharm. Res.* **2016**, *33*, 1638–1648. [[CrossRef](#)]
6. De Queiroz, A.A.B.; Debieux, P.; Amaro, J.; Ferretti, M.; Cohen, M. Hydrogel Implant is as Effective as Osteochondral Autologous Transplantation for Treating Focal Cartilage Knee Injury in 24 Months. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* **2018**, *26*, 2934–2941. [[CrossRef](#)]
7. Claus, J.; Eickner, T.; Grabow, N.; Kragl, U.; Oschatz, S. Ion Exchange Controlled Drug Release from Polymerized Ionic Liquids. *Macromol. Biosci.* **2020**, *20*. [[CrossRef](#)]
8. Colter, J.; Wirostko, B.; Coats, B. Finite Element Design Optimization of a Hyaluronic Acid-Based Hydrogel Drug Delivery Device for Improved Retention. *Ann. Biomed. Eng.* **2018**, *46*, 211–221. [[CrossRef](#)]
9. Kamaly, N.; Yameen, B.; Wu, J.; Farokhzad, O.C. Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 2602–2663. [[CrossRef](#)]
10. Mehrali, M.; Thakur, A.; Pennisi, C.P.; Talebian, S.; Arpanaei, A.; Nikkhah, M.; Dolatshahi-Pirouz, A. Nanoreinforced Hydrogels for Tissue Engineering: Biomaterials that are Compatible with Load-Bearing and Electroactive Tissues. *Adv. Mater.* **2017**, *29*. [[CrossRef](#)]
11. Kumar, A.; Han, S.S. PVA-Based Hydrogels for Tissue Engineering: A Review. *Int. J. Polym. Mater.* **2016**, *66*, 159–182. [[CrossRef](#)]
12. Großeheilmann, 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. [[CrossRef](#)]
13. Grollmisch, A.; Kragl, U.; Großeheilmann, J. Enzyme Immobilization in Polymerized Ionic Liquids-based Hydrogels for Active and Reusable Biocatalysts. *SynOpen* **2018**, *2*, 0192–0199. [[CrossRef](#)]
14. Kosto, K.B.; Deen, W.M. Hindered Convection of Macromolecules in Hydrogels. *Biophys. J.* **2005**, *88*, 277–286. [[CrossRef](#)]
15. 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. [[CrossRef](#)]
16. Peppas, N. Hydrogels in Pharmaceutical Formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2000**, *50*, 27–46. [[CrossRef](#)]
17. Peppas, A.N.; Keys, K.B.; Torres-Lugo, M.; Lowman, A.M. Poly(ethylene glycol)-Containing Hydrogels in Drug Delivery. *J. Control. Release* **1999**, *62*, 81–87. [[CrossRef](#)]
18. Snorraddóttir, B.S.; Jónsdóttir, F.; Sigurdsson, S.T.; Thorsteinsson, F.; Másson, M. Numerical Modelling and Experimental Investigation of Drug Release from Layered Silicone Matrix Systems. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2013**, *49*, 671–678. [[CrossRef](#)]
19. Seidlitz, A.; Nagel, S.; Semmling, B.; Grabow, N.; Martin, H.; Senz, V.; Harder, C.; Sternberg, K.; Schmitz, K.-P.; Kroemer, H.K.; et al. Examination of Drug Release and Distribution from Drug-Eluting Stents with a Vessel-Simulating Flow-Through Cell. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2011**, *78*, 36–48. [[CrossRef](#)]
20. Beumers, P.; Masuch, K.; Pauls, C.; Bardow, A. Diffusionskoeffizienten in Hydrogelen Mittels 1D-Ramanspektroskopie. *Chem. Ing. Tech.* **2012**, *84*, 1289–1290. [[CrossRef](#)]
21. París, R.; Barrales-Rienda, J.M.; Quijada-Garrido, I. Dynamic Swelling of Hydrogels Based on Random Terpolymers of N-isopropylacrylamide, Methacrylic Acid and Poly(ethylene glycol) Macromonomer. *Polymer* **2009**, *50*, 2065–2074. [[CrossRef](#)]

22. Knörger, M.; Arndt, K.-F.; Richter, S.; Kuckling, D.; Schneider, H. Investigation of Swelling and Diffusion in Polymers by <sup>1</sup>H NMR Imaging: LCP Networks and Hydrogels. *J. Mol. Struct.* **2000**, *554*, 69–79. [[CrossRef](#)]
23. Recillas, M.; Silva, L.L.; Peniche, C.; Goycoolea, F.M.; Rinaudo, M.; Argüelles-Monal, W.M. Thermoresponsive Behavior of Chitosan-g-N-Isopropylacrylamide Copolymer Solutions. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 1633–1641. [[CrossRef](#)]
24. Kulinowski, P.; Dorożyński, P.; Jachowicz, R.; Węglarz, W.P. An Integrated System for Dissolution Studies and Magnetic Resonance Imaging of Controlled Release, Polymer-Based Dosage Forms—A Tool for Quantitative Assessment of Hydrogel Formation Processes. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2008**, *48*, 685–693. [[CrossRef](#)]
25. Pinaud, J.; Vignolle, J.; Gnanou, Y.; Taton, D. Poly(N-heterocyclic-carbene)s and Their CO<sub>2</sub>Adducts as Recyclable Polymer-Supported Organocatalysts for Benzoin Condensation and Transesterification Reactions. *Macromolecules* **2011**, *44*, 1900–1908. [[CrossRef](#)]
26. Marcilla, R.; Blazquez, J.A.; Rodriguez, J.; Pomposo, J.A.; Mecerreyes, D. Tuning the Solubility of Polymerized Ionic Liquids by Simple Anion-Exchange Reactions. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2003**, *42*, 208–212. [[CrossRef](#)]
27. Hu, B.; Wu, T.; Ding, K.; Zhou, X.; Jiang, T.; Han, B. Seeding Growth of Pd/Au Bimetallic Nanoparticles on Highly Cross-Linked Polymer Microspheres with Ionic Liquid and Solvent-Free Hydrogenation. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 3396–3400. [[CrossRef](#)]
28. Green, M.D.; La Cruz, D.S.-D.; Ye, Y.; Layman, J.M.; Elabd, Y.A.; Winey, K.I.; Long, T.E. Alkyl-Substituted N-Vinylimidazolium Polymerized Ionic Liquids: Thermal Properties and Ionic Conductivities. *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, *212*, 2522–2528. [[CrossRef](#)]
29. 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. [[CrossRef](#)]
30. Karadağ, E.; Üzümlü, Ö.B.; Saraydin, D. Water Uptake in Chemically Crosslinked Poly(acrylamide-co-crotonic acid) Hydrogels. *Mater. Des.* **2005**, *26*, 265–270. [[CrossRef](#)]
31. Bajpai, S.; Johnson, S. Superabsorbent Hydrogels for Removal of Divalent Toxic Ions. Part I: Synthesis and Swelling Characterization. *React. Funct. Polym.* **2005**, *62*, 271–283. [[CrossRef](#)]
32. George, K.A.; Wentrup-Byrne, E.; Hill, D.J.T.; Whittaker, A.K. Investigation into the Diffusion of Water into HEMA-co-MOEP Hydrogels. *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1194–1199. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Ende, M.T.; Peppas, N.A. Transport of Ionizable Drugs and Proteins in Crosslinked Poly(acrylic acid) and Poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels. *Polymer Characterization. J. Appl. Polym. Sci.* **1996**, *59*, 673–685. [[CrossRef](#)]
34. Krüger, K.-M.; Sadowski, G. Fickian and Non-Fickian Sorption Kinetics of Toluene in Glassy Polystyrene. *Macromolecules* **2005**, *38*, 8408–8417. [[CrossRef](#)]
35. Coulson, C.A.; Crank, J. The Mathematics of Diffusion. *Math. Gaz.* **1958**, *42*, 165. [[CrossRef](#)]
36. Goycoolea, F.M.; Fernández-Valle, M.E.; Aranaz, I.; Heras, A. pH- and Temperature-Sensitive Chitosan Hydrogels: Swelling and MRI Studies. *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, *212*, 887–895. [[CrossRef](#)]
37. Marcus, Y. Thermodynamics of Solvation of Ions. Part 5.—Gibbs Free Energy of Hydration at 298.15 K. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1991**, *87*, 2995–2999. [[CrossRef](#)]
38. Arndt, M.C.; Sadowski, G. Modeling Poly(N-isopropylacrylamide) Hydrogels in Water/Alcohol Mixtures with PC-SAFT. *Macromolecules* **2012**, *45*, 6686–6696. [[CrossRef](#)]
39. Ganji, F.; Vasheghani-Farahani, S.; Vasheghani-Farahani, E. Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review. *Iran. Polym. J.* **2010**, *19*, 375–398.
40. Sanopoulou, M.; Petropoulos, J.H. Systematic Analysis and Model Interpretation of Micromolecular Non-Fickian Sorption Kinetics in Polymer Films. *Macromolecules* **2001**, *34*, 1400–1410. [[CrossRef](#)]
41. Hill, D.J.; Whittaker, A.K. Zainuddin Water Diffusion into Radiation Crosslinked PVA–PVP Network Hydrogels. *Radiat. Phys. Chem.* **2011**, *80*, 213–218. [[CrossRef](#)]
42. Karadağ, E.; Saraydin, D. Swelling Studies of Super Water Retainer Acrylamide/Crotonic Acid Hydrogels Crosslinked by Trimethylolpropane Triacrylate and 1,4-Butanediol Dimethacrylate. *Polym. Bull.* **2002**, *48*, 299–307. [[CrossRef](#)]
43. Zhao, Z.; Li, Z.; Xia, Q.; Bajalis, E.; Xi, H.; Lin, Y. Swelling/Deswelling Kinetics of PNIPAAm Hydrogels Synthesized by Microwave Irradiation. *Chem. Eng. J.* **2008**, *142*, 263–270. [[CrossRef](#)]
44. Holz, M.; Heil, S.R.; Sacco, A. Temperature-Dependent Self-Diffusion Coefficients of Water and Six Selected Molecular Liquids for Calibration in Accurate <sup>1</sup>H NMR PFG Measurements. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 4740–4742. [[CrossRef](#)]
45. Hurle, R.L.; Easteal, A.J.; Woolf, L.A. Self-Diffusion in Monohydric Alcohols under Pressure. Methanol, Methan(2H)ol and Ethanol. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1 Phys. Chem. Condens. Phases* **1985**, *81*, 769–779. [[CrossRef](#)]
46. Crank, J. A Theoretical Investigation of the Influence of Molecular Relaxation and Internal Stress on Diffusion in Polymers. *J. Polym. Sci.* **1953**, *11*, 151–168. [[CrossRef](#)]
47. Sari, D.P.; Kristanto, S.A.; Wahyudi, R.E.; Dwihapsari, Y. Brain Tumor Consistency Assessment using Digital Penetrometer and Diffusion Weighted MRI. In Proceedings of the 3rd International Conference on Instrumentation, Communications, Information Technology and Biomedical Engineering (ICICI-BME), Bandung, Indonesia, 7–8 November 2013; IEEE Computer Society: Bandung, Indonesia, 2013; pp. 302–306.
48. Thoeny, H.C.; De Keyser, F. Extracranial Applications of Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging. *Eur. Radiol.* **2007**, *17*, 1385–1393. [[CrossRef](#)]

## B Anhang: Lebenslauf mit Publikationsliste

### B.1 Lebenslauf

#### Berufserfahrung

- 10/2017 – 07/2021 **Wissenschaftliche Mitarbeiterin**, Universität Rostock
- 02/2019 – 05/2019 **Auslandsaufenthalt**, University of Pennsylvania, USA,  
Prof. Dr. Paul Janmey
- Mechanische und rheologische Untersuchung von Hydrogelen
  - Rheologische Betrachtung der Gelbildung
  - Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften von Hydrogelen
- 09/2015 – 12/2016 **Studentische Hilfskraft**, Universität Rostock, Prof. Dr. Udo Kragl
- Aufbau und Inbetriebnahme eines modularen Mikroreaktors
  - Charakterisierung heterogener Katalysatoren
  - Synthese ionischer Flüssigkeiten

#### Akademische Laufbahn

- 10/2017 – 07/2021 **Promotion**, Universität Rostock, Prof. Dr. Udo Kragl
- Schwerpunkte: Polymerchemie, Mikroreaktionstechnik, Technische Chemie
  - Synthese von ionischen Flüssigkeiten und Hydrogelen
  - Untersuchung mechanischer, rheologischer sowie antibakterieller Eigenschaften
  - Betrachtung der Transport- und Diffusionsmechanismen in Hydrogelen
  - Anwendung der Hydrogele zur Immobilisierung von Biokatalysatoren
- 10/2015 – 09/2017 **Studium**, Universität Rostock, Rostock
- Abschluss: Master of Science in Chemie, „sehr gut“ (Note 1,4)
  - Titel der Masterarbeit: „Development of Innovative Immobilization Methods in Biocatalysis“
- 10/2012 – 09/2015 **Studium**, Universität Rostock, Rostock
- Abschluss: Bachelor of Science in Chemie, „gut“ (Note 2,4)
  - Titel der Bachelorarbeit: „Sprüherstarrung von Biokatalysatoren“
- 10/2009 – 09/2012 **Studium**, Universität Rostock, Rostock
- Studiengang: Humanmedizin

#### Schulbildung

- 08/2005 – 07/2009 **Goethe-Gymnasium**, Ludwigslust
- Abschluss: Allgemeine Hochschulreife, „sehr gut“ (1,4)

## Publikationen, Konferenzteilnahmen und Poster

ORCID: 0000-0001-8441-7070

### Publikationen

- (4) **A. Jastram**, T. Lindner, C. Lübbert, G. Sadowski, U. Kragl  
Swelling and Diffusion in Polymerized Ionic Liquids-Based Hydrogels.  
*Polymers* **2021**, *13*, 1834.  
DOI: 10.3390/polym13111834
- (3) **A. Jastram**, J. Claus, P.A. Janmey, U. Kragl  
Rheological properties of hydrogels based on ionic liquids.  
*Polymer Testing* **2020**, *106943*, 1-8.  
DOI: 10.1016/j.polymertesting.2020.106943
- (2) J. Claus, **A. Jastram**, E. Piktel, R. Bucki, P.A. Janmey, U. Kragl  
Polymerized ionic liquids-based hydrogels with intrinsic antibacterial activity: Modern weapons against antibiotic-resistant infections.  
*Journal of Applied Polymer Science* **2020**, *50222*, 1-13.  
DOI: 10.1002/app.50222
- (1) **A. Grollmisch**, U. Kragl, J. Großeheilmann  
Enzyme Immobilization in Polymerized Ionic Liquids-based Hydrogels for Active and Reusable Biocatalysts.  
*SynOpen* **2018**, *2*, 0192-0199.  
DOI: 10.1055/s-0037-1610144

### Konferenzteilnahmen und Vorträge

- (2) DECHEMA Virtual Talks: *neue Materialien für die Biomedizintechnik*  
Vortrag: Hydrogele auf Basis von polymerisierten ionischen Flüssigkeiten - Biokompatibel und antibakteriell  
Deutschland, 26.11.& 03.12.2020
- (1) 5th International Conference on Ionic Liquid-Based Materials (ILMAT V)  
Paris, Frankreich, 04.11.- 08.11.2019

Poster

- (2) **Jastram, A.**; Claus, J.; Bucki, R. Janmey, P.A.; Kragl, U.  
Antimicrobial Activity of PILs-based Hydrogels and Their Corresponding Monomers  
(5th International Conference on Ionic Liquid-Based Materials (ILMAT V)  
Paris, Frankreich) (*Posterpreis*)
- (1) Claus, J.; **Jastram, A.**; Janmey, P.A.; Kragl, U.  
Rheological properties of first-generation hydrogels based on ionic liquids  
(5th International Conference on Ionic Liquid-Based Materials (ILMAT V)  
Paris, Frankreich)