

Institut für Chemie – Supramolekulare Chemie

Polymerunterstützte Calciumphosphat- mineralisation

Zur Erlangung des akademischen Grades

„doctor rerum naturalium“

(Dr. rer. nat.)

in der wissenschaftlichen Disziplin Polymerchemie

eingereicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Potsdam



von

Tobias Mai

geb. 02.02.1985 in Brandenburg an der Havel

Berlin, September 2015

Online veröffentlicht auf dem
Publikationsserver der Universität Potsdam:
URN urn:nbn:de:kobv:517-opus4-89056
<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-89056>

1. Gutachter: Prof. Dr. Andreas Taubert
2. Gutachter: Prof. Dr. Helmut Schlaad
3. Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Meier

„Staunen ist der erste Schritt zu einer Erkenntnis.“

Louis Pasteur (1822 - 1895), französischer Chemiker und Mikrobiologe

Inhaltsverzeichnis

I. Abkürzungen.....	11
1 Einleitung.....	17
2 Zielstellung.....	22
3 Hintergrund.....	23
3.1 Der Zahn.....	23
3.2 Keimbildung und Kristallwachstum.....	29
3.3 Atom-transfer radical polymerisation (ATRP).....	36
4 Publikationen.....	44
4.1 Hybride organische/anorganische Oberflächen.....	44
4.2 Blockcopolymerer auf Basis von PEO und SPM für die Calciumphosphatmineralisation und Biofilmmhemmung.....	44
4.3 Kationische, ampholytische und betainische PEO-Blockcopolymerer zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation.....	44
4.4 Anionische Polymerbürsten zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation.....	45
4.5 BioMat 2015.....	45
4.6 Bio-inspired Materials 2014.....	45
4.7 Frühjahrsymposium JCF Jena.....	45
4.8 Polydays 2014.....	45
5 Ergebnisse.....	46
5.1 Polymere.....	49
5.1.1 Anionische Polymere.....	55
5.1.2 Kationische Polymere.....	56
5.1.3 Ampholytische Polymere.....	58
5.1.4 Betainische Polymere.....	59
5.2 Polymere in Lösung zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation	59

5.3 Polymer induzierte Calciumphosphatauflösung.....	69
5.4 Adhäsion von Streptococcus gordonii auf Zahnschmelz.....	76
5.5 Polymerbürsten.....	79
5.5.1 Herstellung der Polymerbürsten.....	79
5.5.2 Polymerbürsten zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation	86
5.5.3 Zellverträglichkeit.....	92
6 Diskussion.....	94
7 Zusammenfassung.....	111
8 Ausblick.....	112
9 Methoden.....	114
10 Experimenteller Teil.....	122
10.1 Chemikalien und Materialien.....	122
10.2 Monomer 2-(N-3-Cyanopropyl-N,N- dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (CPDMAEMA/Cl).....	124
10.3 Makroinitiatoren.....	124
10.3.1 MI1.....	124
10.3.2 MI2.....	125
10.3.3 MI3, MI4 und MI5.....	125
10.4 Synthese der Polymere.....	126
10.4.1 Ani1 – PSPM.....	127
10.4.2 Ani2 – MPEO5000-b-PSPM.....	127
10.4.3 Ani3 – PSPM-b-PEO4600-b-PSPM.....	127
10.4.4 Ani4 – PSPM-b-PEO100k-b-PSPM.....	128
10.4.5 C1 – PTMAEMA.....	128
10.4.6 C2 – MPEO5000-b-PTMAEMA.....	129
10.4.7 C3 – PTMAEMA-b-PEO4600-b-PTMAEMA.....	129
10.4.8 C4 – PTMAEMA-b-PEO100k-b-PTMAEMA.....	129

10.4.9 C1CN – PCPDMAEMA.....	130
10.4.10 C2CN – MPEO5000-b-CPDMAEMA.....	130
10.4.11 C3CN – PCPDMAEMA-b-PEO4600-b-PCPDMAEMA.....	130
10.4.12 C4CN – PCPDMAEMA-b-PEO100k-b-PCPDMAEMA.....	131
10.4.13 A1 – P(SPM-co-TMAEMA).....	131
10.4.14 A2 – MPEO5000-b-P(SPM-co-TMAEMA).....	131
10.4.15 A3 – P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO4600-b-P(SPM-co-TMAEMA).....	132
10.4.16 A4 – P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO100k-b-P(SPM-co-TMAEMA).....	132
10.4.17 A1CN – P(CPDMAEMA-co-SPM).....	132
10.4.18 A2CN – MPEO5000-b-P(CPDMAEMA-co-SPM).....	133
10.4.19 A3CN – P(CPDMAEMA-co-SPM)-b-PEO4600-b-P(CPDMAEMA-co-SPM).....	133
10.4.20 A4CN – P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO100k-b-P(SPM-co-TMAEMA).....	134
10.4.21 Bet1 – PMEDSAH.....	134
10.4.22 Bet2 – MPEO5000-b-PMEDSAH.....	134
10.4.23 Bet3 – PMEDSAH-b-PEO4600-b-PMEDSAH.....	135
10.4.24 Bet4 – PMEDSAH-b-PEO100k-b-PMEDSAH.....	135
10.5 Bürsten.....	135
10.5.1 Prec1.....	136
10.5.2 Prec2.....	136
10.5.3 Prec3.....	136
10.5.4 Ini1, Ini2 und Ini3.....	137
10.5.5 Brush1, Brush2 und Brush3.....	137
10.5.6 Mineralisierung der Bürsten.....	138
10.6 Zusammenfassung ausgewählter Analytikdaten.....	138
11 Anhang.....	147
12 Quellen.....	173

II. Danksagung.....	189
III. Eigenständigkeitserklärung.....	191

I. Abkürzungen

2SBF	doppelt konzentrierte künstliche Körperflüssigkeit, der Phosphatteil wird als 2SBF-Phosphat und der Calciumteil als 2SBF-Ca abgekürzt
A1	Poly((Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-co-(2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)), P(SPM-co-TMAEMA)
A1 ^{CN}	Poly((2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)-co-(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)), P(CPDMAEMA-co-SPM)
A2	Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly((Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-co-(2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)), MPEO5000-b-P(SPM-co-TMAEMA)
A2 ^{CN}	Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly((2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)-co-(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)), MPEO5000-b-P(CPDMAEMA-co-SPM)
A3	Poly((Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-co-(2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat))-block-poly(ethylenoxid)-block-poly((Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-co-(2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)), P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO4600-b-P(SPM-co-TMAEMA)

I. Abkürzungen

A3 ^{CN}	Poly((2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)-co-(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat))-block-poly(ethylenoxid)-block-poly((2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)-co-(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)), P(CPDMAEMA-co-SPM)-b-PEO4600-b-P(CPDMAEMA-co-SPM)
A4	Poly((Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-co-(2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat))-block-poly(ethylenoxid)-block-poly((Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-co-(2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)), P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO100k-b-P(SPM-co-TMAEMA)
A4 ^{CN}	Poly((2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)-co-(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat))-block-poly(ethylenoxid)-block-poly((2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat)-co-(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)), P(CPDMAEMA-co-SPM)-b-PEO100k-b-P(CPDMAEMA-co-SPM)
AFM	Rasterkraftmikroskopie
Ani1	Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), PSPM
Ani2	Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), MPEO5000-b-PSPM
Ani3	Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), PSPM-b-PEO4600-b-PSPM
Ani4	Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), PSPM-b-PEO100k-b-PSPM

B1	Poly(2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethyl ammonium)ethylmethacrylat), PMEDSAH
B2	Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly(2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethyl ammonium)ethylmethacrylat), MPEO5000-b-PMEDSAH
B3	Poly(2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethyl ammonium)ethylmethacrylat)-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethyl ammonium)ethylmethacrylat), PMEDSAH-b-PEO4600-b-PMEDSAH
B4	Poly(2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethyl ammonium)ethylmethacrylat)-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethyl ammonium)ethylmethacrylat), PMEDSAH-b-PEO100k-b-PMEDSAH
C1	Poly(2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat), PTMAEMA
C1 ^{CN}	Poly(2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat), PCPDMAEMA
C2	Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly(2-(Trimethylammoniumchlorid), MPEO5000-b-PTMAEMA
C2 ^{CN}	Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly(2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat, MPEO5000-b-CPDMAEMA
C3	Poly(2-(Trimethylammoniumchlorid)-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(2-(Trimethylammoniumchlorid), PTMAEMA-b-PEO4600-b-PTMAEMA

I. Abkürzungen

C3 ^{CN}	Poly(2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat, PCPDMAEMA-b-PEO4600-b-PCPDMAEMA
C4	Poly(2-(Trimethylammoniumchlorid)-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(2-(Trimethylammoniumchlorid), PTMAEMA-b-PEO100k-b-PTMAEMA
C4 ^{CN}	Poly(2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylate-block-poly(ethylenoxid)-block-poly(2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat, PCPDMAEMA-b-PEO100k-b-PCPDMAEMA
CFU	englisch: colony forming unit, koloniebildende Einheiten
CHAP	Carbonat-substituiertes Hydroxylapatit
CPDMAEMA	2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat
CuCl	Kupfer(I)chlorid
DCM	Dichlormethan
DMAEMA	(2-Dimethylaminoethyl)methacrylat
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's Medium
EA	Elementaranalyse
EDTA/Na ₂	Dinatrium-ethylendiamin-tetraacetat
HAP	Hydroxylapatit (Apatit – (CaOH))
IRRAS	Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie
MEDSAH	[2-(Methacryloyloxy)ethyl]-dimethyl-(3-sulfopropyl)-ammoniumhydroxid bzw. 2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethylammonium)ethylmethacrylat (SMAEMA)
MPEO5000	Poly(ethylenoxid)monomethylether mit M _n =5000 g/mol

MSE	englisch: Mean Squared Error, mittlere Quadratische Abweichung
MTBE	Methyl-tertiär-butylether
NMP	N-methyl-2-pyrrolidon
PEO	Poly(ethylenoxid)
PEO100k	Poly(ethylenoxid) mit $M_n = 100000$ g/mol
PEO4600	Poly(ethylenoxid) mit $M_n = 4600$ g/mol
PTFE	Polytetrafluorethylen
SEM	englisch: scanning electron microscope, Rasterelektronenmikroskop
SPM	Kalium-3-sulfopropylmethacrylat
TMAEMA	2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat
TMEDA	Tetramethylethyldiamin
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
TSA	Trypton-Soja-Agar
XPS	englisch: X-ray photoelectron spectroscopy, Röntgenphotoelektronenspektroskopie
XRD	englisch: X-ray diffraction, Röntgenbeugung

1 Einleitung

In Deutschland ist die voraussichtliche Lebenserwartung zum Zeitpunkt der Geburt zwischen 1871 und 2010 von 37 Jahren auf über 80 Jahre angestiegen und hat sich damit bereits mehr als verdoppelt^[1] (Abbildung 1). Dieser Trend ist weltweit beobachtbar. Im Zuge dieser prinzipiell positiven Entwicklung treten nun jedoch vermehrt Krankheiten auf, die früher selten bis gar nicht beobachtet wurden. Dazu gehören, neben anderen, Osteoporose, Chondrokalzinose, Nierensteine und Arteriosklerose, aber auch die zivilisationsverursachte Bildung von Zahnstein und Karies. Alle diese Krankheiten verbindet, dass an ihnen in irgendeiner Form ein calciumphosphathaltiges Mineral beteiligt ist. So findet bei der Osteoporose ein Abbau des Hydroxylapatits (HAP) statt, was zu einer verminderten Stabilität der Knochenstruktur und einer Deformation des Skeletts führt^[2]. Dieser Effekt wird noch weiter dadurch beschleunigt, dass mit zunehmenden Alter der Carbonatanteil im Knochenmaterial ansteigt^[3-9], was ebenfalls für das Zahnmaterial^[10] beobachtet werden kann.

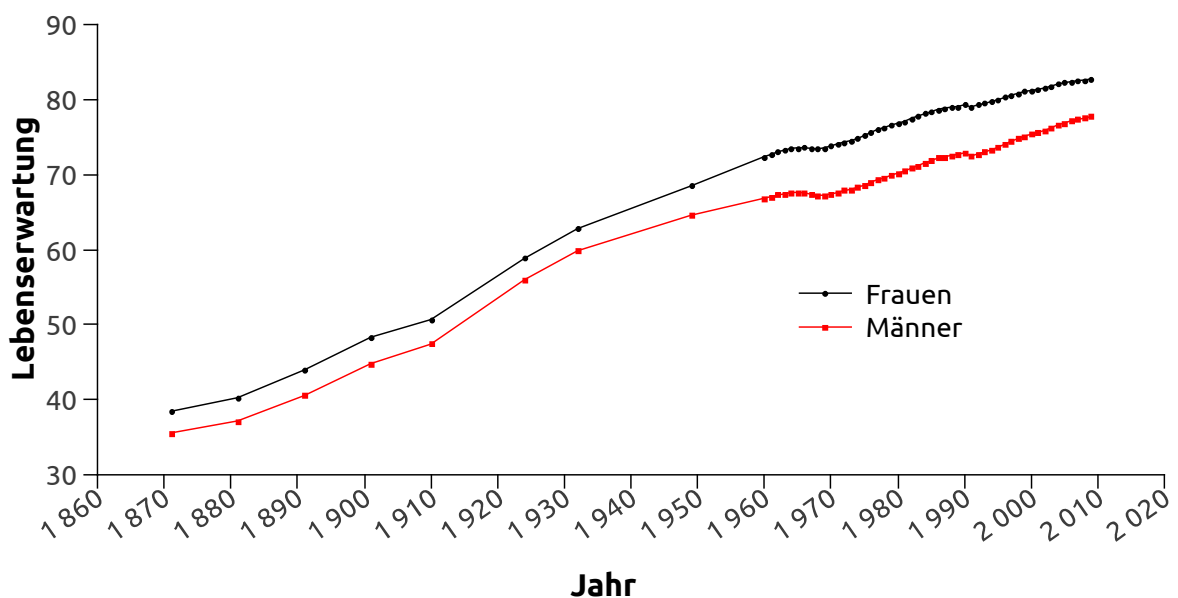


Abbildung 1: Durchschnittliche weitere Lebenserwartung in Deutschland ab 1871-81 bis 2010-12^[11], aufgetrennt nach Geschlecht. Daten des Statistischen Bundesamts^[1]

1 Einleitung

Handelt es sich bei der Osteoporose eher um ein Calciumphosphatdefizit, kommt es bei Chondrokalzinose, auch Pseudogicht genannt, Nierensteinen, Arteriosklerose und Zahnstein zu der Bildung von Calciumphosphaten an Orten, an denen sie nicht auftreten sollte. So wird bei der Chondrokalzinose Calciumpyrophosphat-Dihydrat im Knorpel der Gelenke abgelagert und führt zu gichtartigen Beschwerden. Bei Nierensteinen handelt es sich um sehr schmerzhafte Calciumoxalatablagerungen, an deren Bildung amorphes Calciumphosphat (ACP) beteiligt ist^[12,13]. Ähnlich verhält es sich mit Arteriosklerose und Zahnstein, bei Ersterem wird ein Komposit aus Calciumphosphaten und Fetten im Gefäßsystem abgelagert, was zu vermindertem oder totalem Stopp des Blutflusses führt. Je nach Ort dieser Verstopfung resultiert dies z.B. in Schlaganfällen oder Herzinfarkten. Bei Zahnstein sind die unmittelbaren Auswirkungen sicher am geringsten, jedoch wird auch hier ein Calciumphosphatmineral, das außerdem Magnesium und Sulfat enthält, auf der Oberfläche der Zähne abgelagert. Hierdurch wird die Rückbildung des Zahnfleisches und die Bildung von Karies begünstigt und es kann mittelfristig der Verlust des Zahnes drohen.

Bei Karies handelt es sich um eine lokale Erosion des harten anorganischen Zahnmaterials, wie Zahnschmelz, Dentin und Zahnzement. Ausgelöst wird sie durch saure Metabolite, vor allem durch Milchsäure (als Abbauprodukt von Kohlenhydraten), von auf der Zahnoberfläche lebenden Bakterien. Zusätzlich fördern auch die Ernährungsgewohnheiten des einzelnen, wie die Aufnahme von säurehaltigen Lebensmitteln oder Süßigkeiten, eine Zahnerosion oder Karies bzw. leiten diese ein^[14]. Aber auch die Qualität der Mundhygiene oder eine genetische Prädisposition haben hier einen starken Einfluss. Obwohl all dies weitestgehend bekannt sein sollte, sind laut einem Bericht der World Health Organization (WHO) aus dem Jahr 2003^[15] etwa 80% der Weltbevölkerung von Karies betroffen. Ein weiterer Bericht der World Dental Federation (FDI) aus dem Jahr 2014^[16] macht deutlich, dass man dieses Bild bereits weltweit für die Altersgruppe der 6–19-jährigen vorfindet. Im Zeitraum von 1982 bis 2007 waren von dieser Gruppe weltweit 70% von Karies betroffen. Trauriger Spitzenreiter ist hier mit 100% Argentinien.

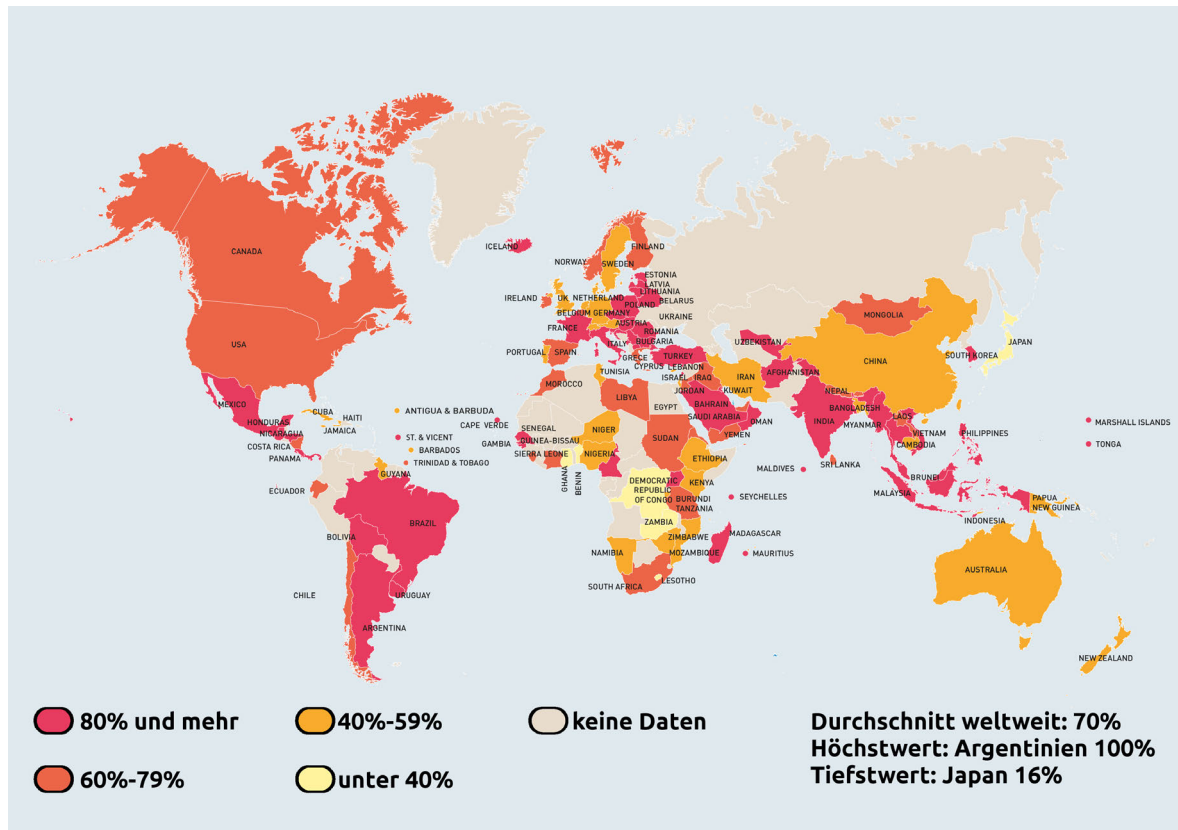


Abbildung 2: Anteil der 9–16-jährigen mit Kariesschäden im Zeitraum von 1982-2007. Reprinted and adapted with permission from FDI World Dental Federation. Oral Health Worldwide – A report by FDI World Dental Federation. Geneva: FDI, 2014.

Ziel muss es daher sein, Karies und Zahnerosion weitestgehend zu vermeiden und Schäden aus frühen Stadien rückgängig zu machen. Eine stark eingeschränkte Aufnahme von Zucker wie ihn die WHO als Ziel^[15] ausgibt ist zweifellos eine Möglichkeit Karies vorzubeugen. Die Erfahrung lehrt jedoch, dass ein annähernder Verzicht auf Zucker unrealistisch ist. Dennoch lassen sich vier vorbeugende Maßnahmen formulieren: 1. Anpassung der Nahrungsgewohnheiten (weniger Zucker- und säurehaltige Lebensmittel, was zu geringerem chemischem Stress führt)^[17–20]; 2.

1 Einleitung

Bekämpfung von Karies auslösenden Organismen bzw. Einschränkung ihrer Adhäsionsfähigkeit auf der Zahnoberfläche^[21–27]; 3. Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Zahnoberfläche gegenüber Demineralisation^[17,28–34] und 4. der regelmäßige Einsatz von remineralisierenden Agenzien um kleinere Schäden am Zahnmaterial zu beseitigen^[21,22,35,36].

Zahlreiche Produkte hierzu befinden sich bereits auf dem Markt und zweifellos wären Produkte, welche die Punkte 2., 3. und 4. vereinigen, äußerst praktisch. In der Praxis enthalten einige Zahnpasten nanokristalines HAP, das den Aufbau neuen Zahnmaterials fördern soll. Hier konnte gezeigt werden, dass eine Remineralisation eingeleitet^[36], jedoch so keine erhöhte Stabilität erreicht werden^[37] kann. Viele Zahnpasten enthalten daher Fluorid, was zur Bildung von Fluorapatit auf der Zahnoberfläche führen soll. Müller et al.^[38] konnten demonstrieren, dass die erreichten Schichten nur wenige Nanometer dick sind und bei niedrigen pH-Werten sogar eher CaF_2 -ähnliche Präzipitate gebildet werden. Unter erosiven Bedingungen lösen sie sich zudem leicht auf und bieten daher keinen ausreichenden Schutz^[39–41]. Weiterhin befinden sich Zahnpasten auf dem Markt, die Fluorid besonders bioverfügbar machen und so die Demineralisation des Zahns hemmen sollen. Hier konnte belegt werden, dass die Zahnpasten zwar die Erosion nicht erhöhen, sich aber auch kein signifikanter Vorteil gegenüber herkömmlichen fluoridhaltigen Zahnpasten ergibt^[36,37]. Als Alternative wird bspw. die Verwendung von zinnhaltigen Produkten diskutiert, unter sauren Bedingungen bilden sich durch ihren Einsatz stabilere zinnhaltige Niederschläge^[30,41,42]. Bereits angewandt werden Produkte die Zink-Carbonat-Hydroxylapatit enthalten^[36,37,43–46]. Diese haben durch die Bildung von Zinkphosphaten wie Scholzit ($\text{CaZn}_2(\text{PO}_4)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) im Vergleich zu fluoridhaltigen Erzeugnissen verbesserte Remineralisationseigenschaften.

Ein weiterer Ansatz ist die Verwendung von Polymeren. Diese haften gegebenenfalls auf der Zahnoberfläche^[17,47–49] und stellen so eine Barriere für freie Protonen dar. Auf ihre Tauglichkeit hin untersucht wurden bisher für Lebensmittel zugelassene Polymere wie Xanthan^[49], Casein^[17], oder Pectin^[47]. Shimotoyodome et al.^[48] verwendeten ein synthetisches Copolymer auf Basis von Methacryläure, Methacryloyloxydecylphosphat und Poly(ethyleneoxid)methacrylat. Die geladenen

Phosphat- und Carbonylgruppen sollten das Polymer verankern^[49–51], während das biopassive Poly(ethylenoxid)^[52] die Adhäsion von *Streptococcus mutans* verringern sollte. Auch wenn die Autoren eine Verringerung der bakteriellen Adhäsion feststellen konnten, befassten sie sich nicht mit der Auflösung des Zahnmaterials. Hinzu kommt, dass die meisten der oben genannten Studien^[17,47–49] sich auf anionische oder neutrale Polymere konzentrieren, kationische^[53–57], ampholytische^[58] oder betainische^[59–61] sind weit weniger erforscht. Das ist aus mehreren Gründen überraschend: I. im Körper ist Kollagen, welches positive und negative Ladungen trägt, an der Zahnbildung beteiligt^[62]; II. bekanntermaßen haben kationische und betainische Polymere bakteriozide^[63–65] und antifouling^[66–68] Eigenschaften; III. sollten kationische Gruppen in der Lage sein Phosphat anzureichern und so die Mineralisation zu fördern und IV. müsste die leicht negative Oberflächenladung ($-0,02 \text{ C/m}^2$)^[69] des HAP eine gute Haftung von Kationen gewährleisten.

2 Zielstellung

Ziel der Arbeit ist es den Einfluss wasserlöslicher geladener Blockcopolymerer auf die Calciumphosphatmineralisation zu untersuchen. Als Basis soll die Polymerarchitektur meiner vorangegangenen Diplomarbeit^[70] dienen. Einem biopassiven PEO-Block^[52] sollen sich geladene Blöcke auf Basis von Methacrylaten anschließen.

Da Kollagene bei der Bildung von Zahn- und Knochenmaterial beteiligt sind, werden in Anlehnung daran positiv, negativ und gemischt geladene Blöcke hergestellt. Über diese Ladungen können die Polymere mit Calcium (Ca^{2+}), Phosphat (PO_4^{3-}) oder aber Pränukleationclustern wechselwirken. Auch die Wechselwirkung der Polymere mit Zahnoberflächen ist zu untersuchen, da gegebenenfalls eine bakterielle Adhäsion vermieden werden kann, wenn ein schützender Polymerfilm gebildet wird. Ferner ist zu klären, ob ein Einfluss der Kettenlänge des PEOs auf die Biofilmbildung und die Mineralisation besteht.

3 Hintergrund

3.1 Der Zahn

In diesem Abschnitt soll auf die Entstehung und Eigenschaften des menschlichen Zahns eingegangen werden. An dieser Stelle sei auf bereits existierende Quellen zu diesem Thema hingewiesen, die zur Vertiefung dienen können^[71-73]. Zähne werden durch eine Vielzahl sehr komplexer Vorgänge gebildet, in die verschiedene Zellen involviert sind. In Abbildung 3 wird der Aufbau eines Zahns dargestellt. Im folgenden werden die einzelnen Teile näher diskutiert.

Der Zahn befindet sich in einer Mulde im Kiefer und wird durch die Wurzelhaut, die Zahnzement und Kiefer verbindet, in letzterem verankert^[71-73]. Bei der Wurzelhaut handelt es sich um ein Bindegewebe, das geflechtartig angeordnete Kollagenfasern, die als Sharpey-Fasern bezeichnet werden, umfasst. Diese überbrücken eine über 0,1 mm große Lücke und enden im Zahnzement und Kieferknochen. Auch wenn eine solche Lücke widersprüchlich erscheint, ist sie nötig um dem Zahn den nötigen Freiraum zu geben, der für alltägliche mechanische Beanspruchungen benötigt wird. Bei einer Bewegung des Zahns werden die auftretenden Kräfte durch die Fasern auf den Kiefer übertragen, wobei sich das Typ I Kollagen aus seiner gewellten Struktur streckt. Es gibt Fasern, die aus Richtung der Zahnkrone schräg nach unten in Richtung des Kiefers führen (in Abbildung 3 auf der rechten Seite des Zahns entspricht dies einer Faser von links oben nach rechts unten), diese verhindern ein Herausziehen des Zahns. Fasern die horizontal angeordnet sind, sollen den Zahn an Ort und Stelle fixieren. Dazu gibt es Fasern, die auftretenden Druck in Zugkräfte am Kiefer umwandeln; diese verlaufen von der Wurzel aus gesehen schräg nach oben (Abbildung 3 rechte Seite des Zahns).

3 Hintergrund

Der Zahnzement ist eine dem Kieferknochen sehr ähnliche Substanz, die auf der Oberfläche des Dentins der Wurzel aufliegt. Der Zement besteht zu etwa 65% aus HAP, 23% aus organischem Material und 12% aus Wasser und wird über die Lebensdauer des Zahns fortwährend durch Zementoblasten und Fibroblasten aufgebaut. Im Verlauf dieses Prozesses bilden die Zellen zum einen Kollagen und mineralisieren dieses mit HAP, zum anderen sorgen sie auch für eine Verknüpfung zu den Kollagenfasern der Wurzelhaut. Je nach Position auf der Zahnwurzel kann der Zahnzement in vier Typen unterteilt werden:

- Azellulärer afibrillärer Zement am Schmelzrand der Zahnkrone
- Azellulärer Fremdfaserzement am oberen und mittleren Drittel der Zahnwurzel
- Zellulärer Eigenfaserzement an der Zahnwurzel
- Zellulärer Gemischtfaserzement am unteren Wurzeldrittel

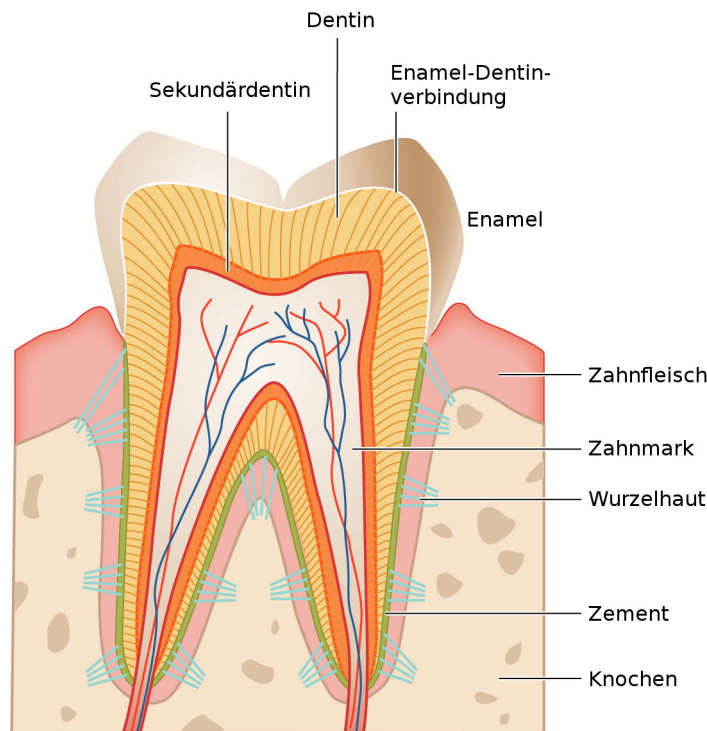


Abbildung 3: Schematischer Aufbau eines menschlichen Zahns. Reprinted and translated from Brian R. Lawn, James J.-W. Lee, and Herzl Chai, Teeth: Among Nature's Most Durable Biocomposites, *Annual Review of Materials Research*, 2010, Vol. 40: 55-75 (doi:10.1146/annurev-matsci-070909-104537). The Original Figure could be found in Peter W. Lucas, *Dental Functional Morphology: How Teeth Work*, 2004, Cambridge University Press (ISBN-13: 978-0521562362)

Im Inneren des Zahns befindet sich lebendes Gewebe, das auch als Wurzel-Dentin-Komplex bezeichnet wird (gelegentlich auch -System, -Einheit oder -Organ). Die Entwicklung der Wurzel beginnt erst nachdem die Entwicklung des Zahnschmelzes abgeschlossen ist. Der Komplex setzt sich aus Dentin und Zahnmark zusammen. Im Zahnmark, welches sich in einem Hohlraum des Dentins befindet, verlaufen Nerven und Blutgefäße die den Zahn versorgen. Im Verlauf des Lebens wird der Anteil des Zahnmarks stetig kleiner, da es an seinen Rändern durch Odontoblasten in Dentin umgewandelt wird. Dieses nach der Zahnbildung aufgebaute Dentin wird als Sekundärdentin bezeichnet.

3 Hintergrund

Wie auch beim Zahnmark handelt es sich beim Dentin ebenfalls um lebendes Gewebe, das als knochenähnlich beschrieben werden kann. Mit einem Mineralgehalt von 70% enthält es jedoch etwas mehr Hydroxylapatit als Knochen. Die HAP Kristalle können eine Größe von 100 nm erreichen, sind in der Regel jedoch $20 \text{ nm} \times 20 \text{ nm} \times 3,5 \text{ nm}$ ($L \times B \times T$) groß^[73]. Über feine Kanäle, die von der Wurzel ausgehen, wird das Dentin mit Nährstoffen versorgt. Nach einem Angriff durch Karies oder einer anderen Beschädigung kann Dentin durch vorhandene Odontoblasten wieder aufgebaut werden. Unterstützt wird dieser Prozess z.B. durch ein Spülen des Wurzelgewebes mit Calciumhydroxidlösung^[74]. Möglich ist dies durch die Fähigkeit der Odontoblasten, ihren zytoplasmatischen Fortsatz ständig zu verlängern. Als Folge entstehen die Dentinkanälchen, in welchen die Fortsätze eingebettet sind. Bei der Synthese des Dentins bilden die Odontoblasten zunächst eine organische Matrix, die sich größtenteils aus Kollagen Typ I sowie kleineren Mengen Kollagen Typ V und Typ VI zusammensetzt^[72]. Daneben sind auch Dentinphosphoproteine (DPP), Dentinsialoproteine (DSP) und Dentinmatrixprotein 1 (Dmp 1) enthalten^[72]. DPP besteht hauptsächlich aus Asp-Ser-Ser Wiederholeinheiten mit phosphorylierten Serinen, die Calcium sehr gut komplexieren^[75], daher leitet DPP die Bildung der HAP-Kristalle ein^[72,76]. Ebenso so wie der Zahnzement, kann auch Dentin verschiedene Gruppen unterteilt werden^[72]:

- Manteldentin, erstes $\sim 20 \mu\text{m}$ dickes Produkt der jungen Odontoblasten an der Mantel-Dentin-Grenze zu finden; enthält keine Dentinkanälchen
- Zirkumpulpaes Dentin reicht vom Manteldentin bis hin zu der Odontoblastenschicht und stellt damit den größten Dentinanteil dar. Nach Goldberg und Lasfargues^[77] wird es weiter unterteilt in:
 - Peritubuläres zirkumpulpaes Dentin wird simultan durch Bildung des organischen Prädentins und dessen Mineralisation aufgebaut
 - Intertubuläres zirkumpulpaes Dentin wird erst später bei ausreichender Ausdehnung des peritubulären zirkumpulpaes Dentin mineralisiert

Der Aufbau des zirkumpulpaes Dentins erfolgt rhythmisch, was zu den $4 \mu\text{m}$ dicken und $20 \mu\text{m}$ voneinander entfernten Ebner-Linien führt^[72].

Die im zirkumpulpalen Dentin enthaltenen Dentinkanälchen stellen ein ausgedehntes (~30% des Dentinvolumens) und verzweigtes System dar. Sie verzweigen sich von der Wurzel in Richtung Schmelz und beinhalten den Dentinliquor, Odontoblastenfortsätze und Nervenendigungen. Liegen diese Kanälchen infolge von Karies oder Parodontitis frei, kann es zu einem erhöhten Temperaturempfinden kommen^[74]. Der natürliche Alterungsprozess des Zahns wird durch eine Querschnittverringerng dieser Kanälchen durch Abscheidung von peritubulärem zirkumpulpaem Dentin deutlich.

Der Zahnschmelz, auch Enamel genannt, ist die äußerste und sichtbare Schicht des Zahns. Bedingt durch die alltäglichen hohen Belastungen hat sich hier die härteste Substanz im menschlichen Körper entwickelt. Sie weist mit etwa 95% auch den höchsten HAP Gewichtsanteil auf – der Volumenanteil beträgt 86%^[72]. Die Ausbildung des Zahnschmelzes ist der Entwicklung der Wurzel zeitlich vorgelagert. Durch die Dentin-Enamel-Verbindung werden beide Teile des Zahns mit einander verknüpft. Sie besteht aus einer einzigartigen von Odontoblasten und Ameloblasten aufgebauten Polymermatrix, die beide Materialien mit einander „verklebt“^[78]. Aus mikroskopischer Sicht beinhaltet der Zahnschmelz 0,2-1 µm große hexagonale HAP Kristalle, die einen Durchmesser von 40 nm haben^[73]. Diese Kristalle sind in Stäbchen zu sogenannten Schmelzprismen zusammengefasst. Die Prismen erreichen einen Durchmesser von 4 – 5 µm und verlaufen vom Dentin s-förmig bis zur Außenseite des Zahnschmelzes. Im Zentrum der Prismen sind die HAP Kristalle sehr dicht und parallel angeordnet, an der Peripherie aber ändern sie abrupt ihre Orientierung, wodurch auch die Dichte abnimmt^[73,79]. Ursächlich hierfür ist die Art und Weise mit der die Prismen durch die Ameloblasten gebildet werden. Nach dem Abscheiden einer ersten ungeordneten HAP-Schicht auf der Enamel-Dentin-Verbindung bilden diese Zellen Tomes-Fortsätze aus (Abbildung 3). Ab diesem Zeitpunkt werden die ausgeschiedenen HAP-Kristalle mit deren c-Achse orthogonal zur Oberfläche der Fortsätze ausgerichtet^[73]. Durch die konkave Form der Fortsätze werden die Kristalle daher zum Rand hin Rand verkippt. Die Ameloblasten wandern bei diesem Prozess s-förmig unter Ausbildung runder, hufeisen- oder schlüssellochförmiger Prismen nach außen. Die Form kann innerhalb eines Prismas

3 Hintergrund

variieren^[71,73]. Es wird angenommen, dass die geschwungene Form ein späteres verrutschen der Prismen untereinander verhindern soll. Der Aufbau des Schmelzes erfolgt zudem nicht kontinuierlich sondern rhythmisch, was zu den Retzius-Streifen führt, die in konzentrischen Kreisen in einem Abstand von 4 – 100 µm die Wachstumsperioden des Schmelzes sichtbar werden lassen^[71,80]. Nach erfolgter Schmelzbildung wandeln sich die Zellen in Epithelzellen um und werden abgestoßen. Ein neuerlicher Aufbau des Schmelzes ist daher nicht möglich.

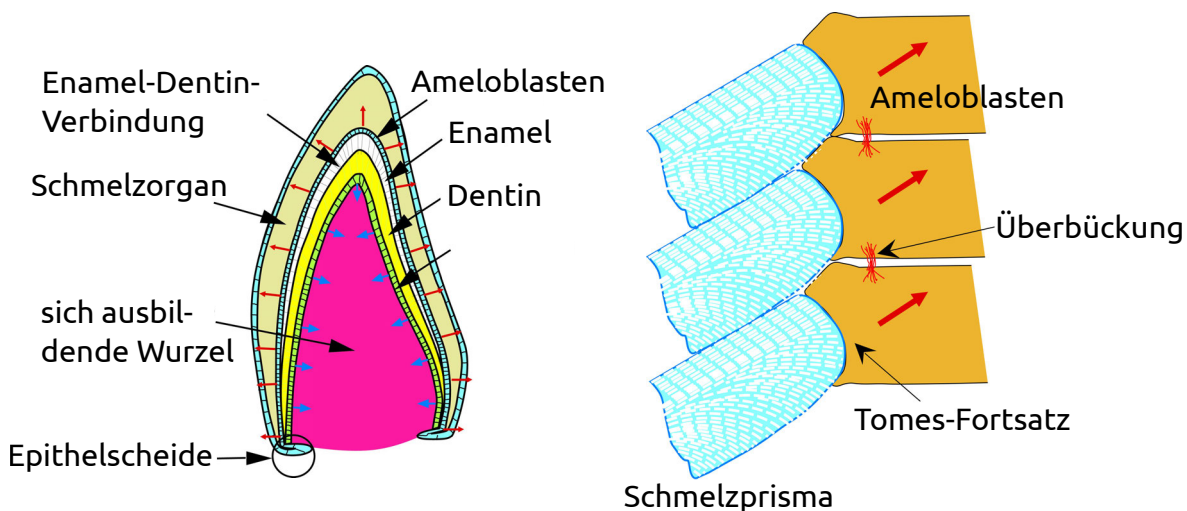


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Entwicklung eines Zahns. Dentin wird von außen nach innen in Richtung der Pulpa durch Odontoblasten gebildet. Ameloblasten bilden ausgehend von der Dentin Oberfläche den Zahnschmelz. Reprinted and translated from Karl-Johan Soderholm (2012). Fracture of Dental Materials, Applied Fracture Mechanics, Dr. Alexander Belov (Ed.), ISBN: 978-953-51-0897-9, InTech, DOI: 10.5772/48354. Available from :<http://www.intechopen.com/books/applied-fracture-mechanics/fracture-of-dental-materials>^[79].

Der eben beschriebene Aufbau ist auch für die Farbgebung der Zähne verantwortlich. Sie wird jedoch nicht direkt durch den außen liegenden Zahnschmelz verursacht^[73]. Die dichte parallele Packung der HAP-Kristalle in den Prismen ist lichtdurchlässig, so dass Licht erst an der Oberfläche des Dentins teilweise absorbiert und reflektiert wird. In poröser werdendem Zahnschmelz, beispielsweise in Folge von Beschädigung oder aus genetischer Prädisposition, kann es zu vermehrten Streuprozessen kommen, die den Schmelz weiß erscheinen lassen. Dies ist ebenfalls der Grund dafür, dass die poröseren Milchzähne in der Regel weißer erscheinen als die bleibenden Zähne^[73].

3.2 Keimbildung und Kristallwachstum

Bei Phasenumwandlungen handelt es sich um Prozesse, bei denen eine Phase aus einer anderen hervorgeht. Diese begegnen uns bewusst oder unbewusst im Alltag. Dabei gehören entstehende Gasblasen in einem Erfrischungsgetränk ebenso dazu wie das erneute Kristallisieren einer bei sommerlichen Temperaturen geschmolzenen Tafel Schokolade im Kühlschrank. Den ersten Schritt in diesem Prozess stellt dabei die Keimbildung dar, deren Verständnis nötig ist, um die Mineralisation von Calciumphosphat nachvollziehen zu können. Im folgenden Abschnitt werden die Keimbildung und das Keimwachstum kurz erläutert.

Kristallisation kann aus der Gasphase, Schmelze oder Lösung heraus ablaufen und zu der Bildung einer kristallinen Phase führen. Das Entstehen einer amorphen Phase hingegen wird als Fällung bezeichnet. Beide Prozesse können nacheinander ablaufen, sodass erst ein amorphes Material gebildet wird, bevor eine Transformation in das kristalline abläuft^[81].

Klassisches Modell

Eine vorhandene Phase, gasförmig, geschmolzen oder gelöst, ist auf mikroskopischer Ebene nie homogen. Die vorhandenen Atome/Moleküle/Ionen bewegen sich und können zufällig kleine Cluster bilden, die sich meist schnell wieder auflösen. Ein entstandener Cluster stellt eine neue Grenzfläche dar, die zu einer Änderung der Gibbs-Energie führt. Volmer und Weber^[82,83] sowie Becker und Döring^[84] befassten sich als erste mit dieser Art des Modells, das klassische Modell genannt wird und auf die Arbeiten von Gibbs^[85] zur Beschreibung des Gleichgewichtszustandes heterogener Systeme aufbaut. Die Änderung der Gibbs-Energie folgt als Summe aus der Änderung der Volumenenergie ΔG_V , die negativ ist und der Änderung der positiven Grenzflächenenergie ΔG_O . Für einen sphärischen Cluster kann dies durch Gleichung 1 dargestellt werden. Die Gibbs-Energie ist somit Abhängig vom Radius r des Clusters, der Grenzflächenspannung γ und der Änderung der Volumenenergie $|\Delta G_V|$ des Clusters.

$$\Delta G = -\frac{4}{3}\pi r^3 |\Delta G_V| + 4\pi r^2 \cdot \gamma \quad (1)$$

Abbildung 5 (Seite 31) stellt den Zusammenhang aus Gleichung 1 dar. Der Grenzflächenterm ist bei kleinen Radien der Cluster dominant (oft werden die kleinen Cluster als Embryonen bezeichnet) und repräsentiert das unvorteilhafte Ausbilden einer neuen Grenzfläche. Daher sind diese Embryonen meist thermodynamisch instabil und lösen sich wieder auf. Bei größer werdenden Radien gewinnt der Volumenterm jedoch an Gewicht, da das Knüpfen von Bindungen und die Volumenverringerng zu einem Energiegewinn führen. Erreicht ein Cluster einen Radius r_* (kritischer Radius – Gleichung 2) wird der Volumenterm dominant und der Cluster stabil. Ab diesem Punkt wird durch das Wachstum mehr Volumenenergie frei als Grenzflächenenergie für die Oberflächenvergrößerung nötig ist, das Wachstum ist nun vorteilhafter als das erneute Auflösen.

$$r_* = \frac{2\gamma}{|\Delta G_V|} \quad (2)$$

Im Verlauf des Wachstums der Keime durchläuft ΔG ein Maximum ΔG^* (Gleichung 3), das als Energiebarriere aufgefasst werden kann, die vom System überwunden werden muss, um einen neuen Keim des Radius r_* zu generieren.

$$\Delta G_* = 4\pi\gamma r_*^2 = \frac{16\pi\gamma^3}{3|\Delta G_V|} \quad (3)$$

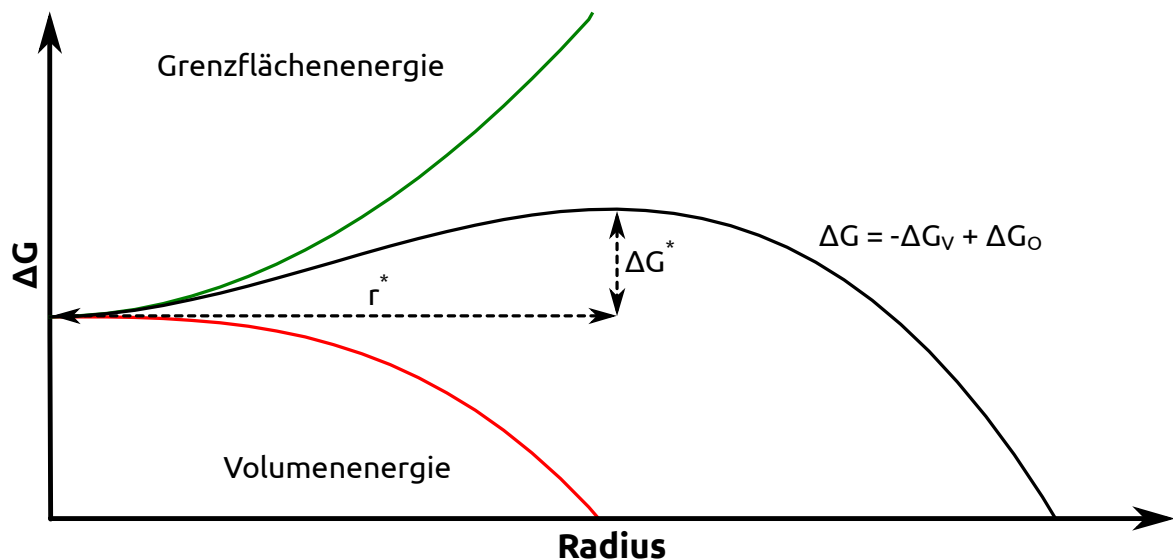


Abbildung 5: Schematische Darstellung der freien Gibbs-Energie ΔG in Abhängigkeit vom Keimradius r . ΔG ergibt sich aus der Summe von Grenzflächen- (ΔG_O) und Volumenenergien (ΔG_V), $\Delta G = -\Delta G_V + \Delta G_O$. Dem Maximum kann die maximale freie Enthalpie ΔG^* und der kritische Radius r_* des Keims entnommen werden.

Wird nun das Volumen der Ausgangsphase über einen bestimmten Zeitraum betrachtet, so ist es statistisch möglich, dass mehrere solcher Keime entstehen. Berücksichtigt man nun die Wahrscheinlichkeit mit der sich ein weiteres Teilchen an einen vorhandenen Cluster anlagert, lässt sich eine Gleichung für die Keimbildungsrate ableiten (Gleichung 4). Hierbei steht n_0 für die Dichte der Atome, Ionen oder Moleküle zur Berücksichtigung des Volumenbezugs und f_{dyn} für die Anlagerungskinetik, in die Ratengleichungen für das Anlagern und Verlassen eines Teilchens an oder aus einem Cluster eingehen.

$$J = n_0 \cdot f_{dyn} e^{\frac{-\Delta G^\ddagger}{k_b T}} \quad (4)$$

Posnercluster und Hydroxylapatit

Ein prominenter Vertreter der stabilen Cluster ist der im Zuge der Bildung von Hydroxylapatit (HAP) auftretende Posnercluster. Eben diese sowie die Entstehung von HAP werden im folgenden Teil näher beschrieben. Es ist bekannt, dass die Bildung von Calciumphosphat mit dem auftreten von amorphem Calciumphosphat (ACP) einhergeht. ACP tritt dabei zumeist in Form von sphärischen Partikeln auf, die einen Durchmesser von bis zu $1 \mu\text{m}$ ^[86] erreichen und röntgenamorph sind. Trotz der fehlenden Fernordnung legen Berechnungen der radialen Verteilungsfunktion statt eines ein zufälliges Netzwerks eher eine Mikrokristallinität von etwa $0,8 \text{ nm}$ nahe^[87]. Posner und Betts^[88] fanden bei Vergleichen dieser Dimension mit $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ Clustern in HAP eine gute Übereinstimmung und nahmen diese daher ebenso als zugrunde liegende Bausteine für ACP an. Diese Cluster werden heute Posnercluster (Abbildung 6) genannt. Kanzaki et al.^[89,90] konnten deren Struktur durch ab initio Berechnungen hin zu $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3$ verfeinern und vermuten $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ als Grundbaustein. Diese Cluster lagern sich schließlich in zufälliger Art zu den ACP Partikeln zusammen, in dem sie in ihren Zwischenräumen Wasser einlagern, sodass ein Wassergehalt von etwa 20% erreicht wird. Der Gruppe um Putnis^[91] gelang es, die Clusterbildung und deren Aggregation zu ACP mithilfe eines Rasterkraftmikroskops (AFM) sichtbar zu machen. Sie verwendeten hierfür eine Calcitplatte, die mit einer Phosphatlösung überströmt wurde, als flüssig-fest Grenzfläche. Christoffersen et al.^[92-94] war es zu dem möglich zwei ACP Phasen zu identifizieren, die ACP1 und ACP2 genannt werden. Sie unterscheiden sich in ihrem Calcium zu Phosphor Verhältnis (Ca/P). So ähnelt ACP1 mit $\text{Ca/P}=1,5$ eher apatitischen Strukturen und ACP2 mit $\text{Ca/P}=1,35 - 1,38$ eher einer octacalciumphosphatartigen Struktur. Des Weiteren weist ACP2 eher eine flockenartige Morphologie auf, während ACP1 zu sphärischen Morphologien führt. Unter welchen Bedingungen und warum ACP2 anstelle von ACP1 gebildet wird, konnte bisher noch nicht geklärt werden.

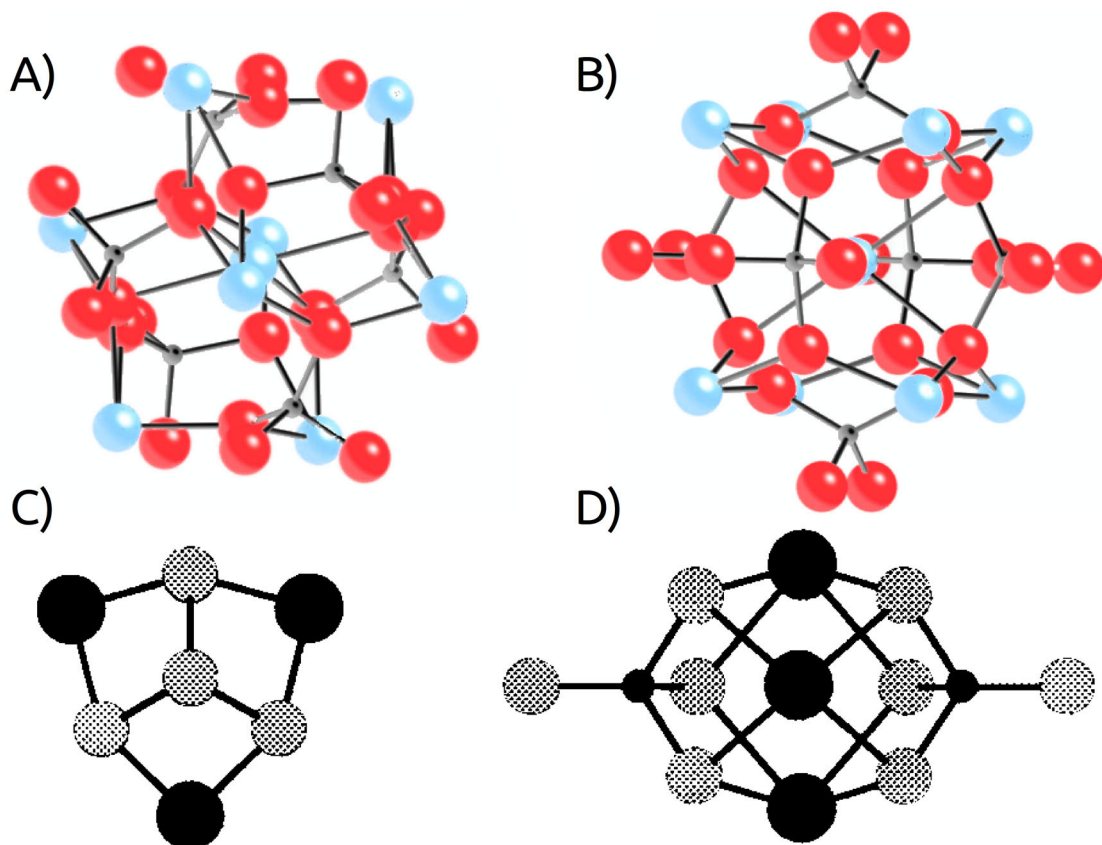


Abbildung 6: Oben Darstellung eines Posner Clusters der Zusammensetzung $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ (blau $\hat{=}$ Calcium; grau $\hat{=}$ Phosphor; rot $\hat{=}$ Sauerstoff) A) Draufsicht, B) Seitenansicht. Unten Darstellung eines $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ Grundbaustein nach Kanzaki (groß schwarz $\hat{=}$ Calcium; klein schwarz $\hat{=}$ Phosphor; schraffiert $\hat{=}$ Sauerstoff) C) Draufsicht, D) Seitenansicht. A) and B) were adapted from Reference ^[91] (doi: 10.1039/c2ce25669j) with permission of The Royal Society of Chemistry. C) and D) were reprinted from Reference ^[90] (doi: 10.1021/jp991948m). Copyright © 1999 American Chemical Society.

Ganz gleich ob eine ACP1- oder ACP2-Phase vorliegt, in wässrigen Systemen wandelt sich ACP, über einen Auflösungs-Rekristallisationsprozess, autokatalytisch in das thermodynamisch stabile HAP um. Zur Beschreibung dieses Vorgangs reicht die thermodynamische Betrachtungsweise nicht mehr aus. Vergleicht man mit natürlichen Mineralisationsprozessen, verlaufen diese auf einem kinetischen Weg. Dieser erfolgt schrittweise und umfasst unterschiedlich zusammengesetzte amorphe und kristalline Zwischenzustände^[95,96]. Die kinetische Route hängt dabei von der

3 Hintergrund

Umwandlung der Phasen, dem Wachstum und der Aktivierungsenergie ab. Letztere ist jedoch meist geringer als für den thermodynamischen Fall^[95,96]. In Abbildung 7 werden die beide Routen der Kristallisation eines Feststoffes, am Beispiel von Calciumphosphat, dargestellt. Je nach pH-Wert der ausgehenden Phase kann sich ACP erst zu Dicalciumphosphat Dihydrat (DCPD), Dicalciumphosphat Anhydrat (DCPA) oder Octacalciumphosphat (OCP) umwandeln, bevor diese Phasen sich ihrerseits in HAP transformieren. Beim Vorhandensein von Makromolekülen wird zudem die Anwesenheit eines polymer-induced liquid-precursor (PILP)^[13,97-99] diskutiert. Das Makromolekül bildet eine Phase aus, die ACP vorgelagert ist und als eher flüssig angenommen wird. Einige Calciumphosphate mit der dazu gehörigen Summenformel sowie dem pH-Wert, bei welchem die Bildung stattfindet, sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal kann auch schon das Verhältnis von Calcium zu Phosphor (Ca/P) in den Mineralen sein.

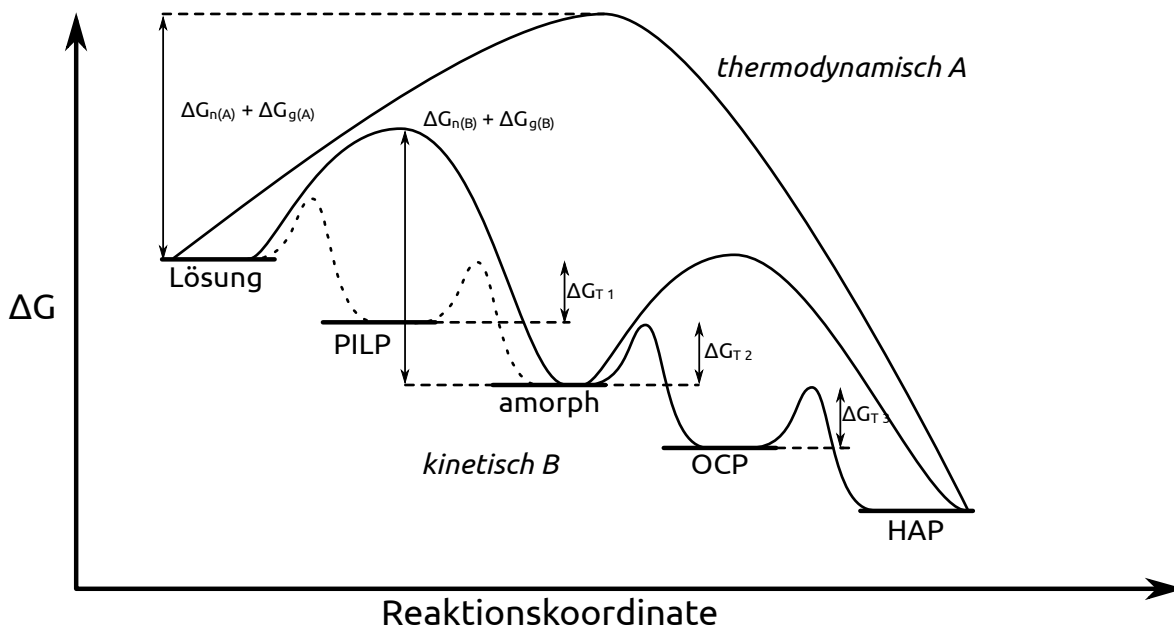


Abbildung 7: Schematische Darstellung thermodynamischer (A) und kinetischer (B) Kristallisationswege eines Systems in Abhängigkeit von der Keimbildung (n), dem Keimwachstum (g) und der Phasenumwandlungen (T) am Beispiel von Calciumphosphat. Aus der Lösung kann sich die amorphe Phase oder, bei Anwesenheit von Polymeren, erst ein PILP und daraus die amorphe Phase bilden. Je nach Bedingungen erfolgt nun eine Umwandlung in HAP oder zunächst ein Zwischenschritt in OCP. Die eingeschlagene Route hängt von der Höhe der

Energiebarriere ab. Redrawn and adapted from Cölfen, H. and Mann, S. (2003), Higher-Order Organization by Mesoscale Self-Assembly and Transformation of Hybrid Nanostructures . Angew. Chem. Int. Ed., 42: 2350–2365. doi: 10.1002/anie.200200562 – with permission. Copyright © 2003 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Tabelle 1: Verschiedene Calciumphosphate^[100–103]

Name	Kürzel	Vorläufer für	pH zur Bildung	Summenformel	Ca/P
amorphes Calciumphosphat	ACP	alle weiteren	0 – 14	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n \text{H}_2\text{O}$	1,5
Dicalciumphosphat Dihydrat (Brushit)	DCPD	HAP, Monetit	4 – 5	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	1
Dicalciumphosphat Anhydrat (Monetit)	DCPA	Brushit, Apatite	4 – 5	CaHPO_4	1
α -Tricalciumphosphat (Whitlockit)	α -TCP		basisch	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
β -Tricalciumphosphat	β -TCP		basisch	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
β -Tricalciumphosphat, magnesium-substituiert (Whitlockit)	β -TCMP		basisch	$\text{Ca}_3(\text{Mg})(\text{PO}_4)_6$	$\leq 1,5$
Octacalciumphosphat	OCP	HAP	$\sim 5 - 6$	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	1,33
Hydroxylapatit	HAP		basisch	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	1,67
Chlorapatit	ClAP		basisch	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$	1,67
Fluorapatit	FAP		basisch	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$	1,67
Calciumpyrophosphat Dihydrat	CPPD		physiologisch	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	1,0
A-Typ carbonatsubstituiertes Hydroxylapatit	A-CHAP		basisch	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}(\text{CO}_3)_x$	1,67

3 Hintergrund

Name	Kürzel	Vorläufer für	pH zur Bildung	Summenformel	Ca/P
B-Typ carbonat-substituiertes Hydroxylapatit (Dahllite)	B-CHAP		basisch	$\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-2x}(\text{CO}_3)_{2x}(\text{OH})_2$	>1,67
AB-Typ carbonat-substituiertes Hydroxylapatit	AB-CHAP		basisch	$\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-2x}(\text{CO}_3)_{2x}(\text{OH})_{2-2y}(\text{CO}_3)_y$	>1,67

3.3 Atom-transfer radical polymerisation (ATRP)

Als besonders robuste Verfahren zur Herstellung von Polymeren haben sich die radikalischen Polymerisationen etabliert, da sie verhältnismäßig einfach durchzuführen und unempfindlich gegenüber kleineren Verunreinigungen sind. Die Atom Transfer Radical Polymerisation ist eine der Techniken, die in der Polymerchemie zur Verfügung stehen um komplexere Strukturen wie etwa Blockco-, Kamm- oder Sternpolymere hergestellt werden können. Dieses Kapitel soll kurz einige Grundlagen dieser Technik erläutern.

Die *atom transfer radical polymerization* (ATRP) ist eine besondere Form der lebenden frei radikalischen Polymerisation. Der Begriff der lebenden Polymerisation wurde 1956 von Michael Szwarc^[104,105] eingeführt. Die International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) definiert^[106] eine lebende Polymerisation als eine Kettenwachstumsreaktion, bei der Kettentransfer- und Terminierungsreaktionen nicht auftreten. Dadurch bleibt das Polymer über einen sehr langen Zeitraum aktiv und kann, sobald ein geeignetes Monomer zur Verfügung steht, weiter wachsen^[107,108]. Der zu Grunde liegende Mechanismus spielt hier keine Rolle, so dass neben der ATRP beispielsweise auch noch der *reversible addition-fragmentation chain-transfer* (RAFT), die anionische- und kationische Polymerisation sowie die *nitroxide-mediated radical polymerisation* (NMP) dazu gezählt werden.

Die Gruppe um E. Rizzardo^[109] beschrieb 1998 als erste den RAFT. Seither wurde er stetig weiter entwickelt und kann auf eine Vielzahl von Monomeren angewendet werden. Typischerweise werden Dithiocarbonylverbindungen wie etwa Dithioester, Dithiocarbamate, Xanthate oder Trithiocarbonate als Initiatoren eingesetzt^[110].

Die NMP basiert auf dem Einsatz von Nitroxiden, die mit einer aktiven Polymerkette reagieren und eine ruhende Spezies bilden. Bereits 1979 beschrieben D. Solomon und E. Rizzardo^[111] eine NMP die zu Oligomeren von Methylmethacrylat führte. 1985 meldeten sie gemeinsam mit P. Cacioli ein Patent hierzu an^[112].

Das besondere an der ATRP im Vergleich zu NMP und RAFT ist, dass sie Übergangsmetall-katalysiert verläuft. Das Übergangsmetall muss dabei jedoch einen Einelektronen-Übergang, wie etwa Cu(0)/Cu(I)/Cu(II) oder Fe(II)/Fe(III) besitzen. Mechanistisch basiert die ATRP auf der 1945 von Kharasch^[113] entdeckten atom transfer radical addition (ATRA). Bei dieser werden Alkene an eine Kohlenstoff-Halogenbindung Übergangsmetall-katalysiert addiert. Der Mechanismus der ATRA wird in Abbildung 8 dargestellt. Alkylhalogenid und Olefin werden, um Polymerisationen zu unterdrücken, etwa 1:1 eingesetzt und das eingesetzte Kupfer kann durch Reduktionsmittel wie AIBN regeneriert werden.

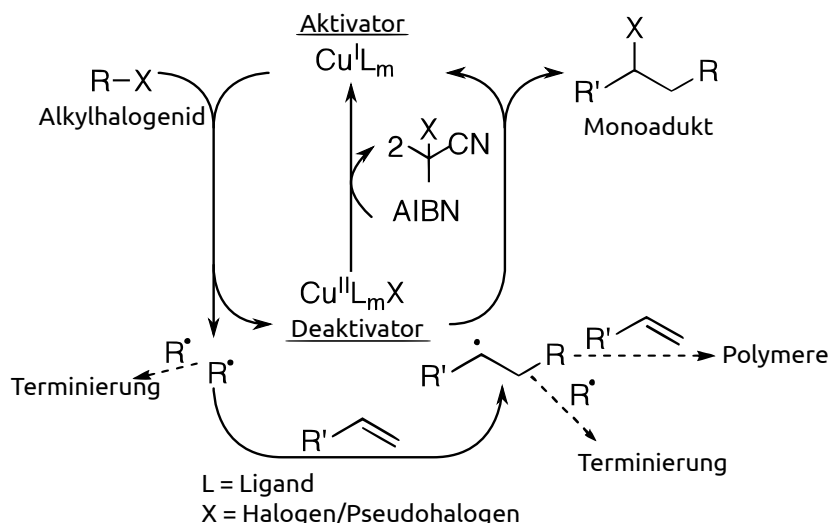


Abbildung 8: Mechanistischer Verlauf einer Kupfer-katalysierten ATRA bei der AIBN als Reduktionsmittel fungiert um die aktive Cu(I)-Spezies zu regenerieren. Reproduced from W. T. Eckenhoff and T. Pintauer, *Dalton Trans.*, 2011, **40**, 4909-4917 (doi: 10.1039/C1DT10189G) with permission of the Royal Society of Chemistry.

Die Kinetik einer ATRP ist komplex und von dem verwendeten Initiator, Monomer, Liganden und Übergangsmetall abhängig. Abbildung 9 stellt den Mechanismus der ATRP dar, aber bereits aus Abbildung 8 wird ersichtlich wie sie verläuft, wenn von einem unbegrenzten Reservoir Olefin ausgegangen wird. In einem reversiblen Redoxprozess werden aus den Alkylhalogeniden konzertiert die Radikale als aktive Spezies generiert (inner-sphere electron transfer – ISET). Bei der homolytischen Abspaltung des Halogens $X\cdot$ von $R-X$ wird $[Cu^I L_n]$ zu Cu(II) oxidiert und die deaktivierend wirkende Spezies $[X-Cu^{II} L_n]$ gebildet. Prinzipiell können dabei auch outer-sphere electron transfer-Prozesse (OSET)^[114–117] ablaufen, wodurch ionische Spezies und Cu(0) entstehen, in den meisten Fällen sind diese jedoch vernachlässigbar. Unterstützt wird dies im Fall von Kupfer dadurch, dass die Disproportionierung von Cu(I) zu Cu(II) und Cu(0) langsamer verläuft als eine Aktivierung der Alkylhalogenide durch Cu(I)^[117–119]. Dadurch wird die Cu(II)-Konzentration erhöht und das Syn-/Disproportionierungsgleichgewicht durch die Synproportionierung dominiert. Die Radikalspezies $R\cdot$ kann nun mit vorhandenem

Monomer M zu $RM\cdot$ und anschließend mit $[X-Cu^{II}L_n]$ zur deaktivierten Spezies $RM-X$ reagieren. Die deaktivierten Spezies werden dabei als schlafend bezeichnet. Durch Reaktion mit weiterem Monomer M wird die aktive Polymerspezies $P_n\cdot$ gebildet. Der Kettenwachstumsschritt stellt gleichzeitig den Gleichgewichtszustand einer ATRP dar. In diesem ist die Deaktivierung von $P_n\cdot$ wahrscheinlicher als die Aktivierung von P_n-X . Durch diesen Umstand wird die Konzentration von aktiven Radikalen $P_n\cdot$ in der Lösung im Vergleich zu der Konzentration der Ketten P_n-X gering gehalten und Abbruchreaktionen unterdrückt.

Initiierung:

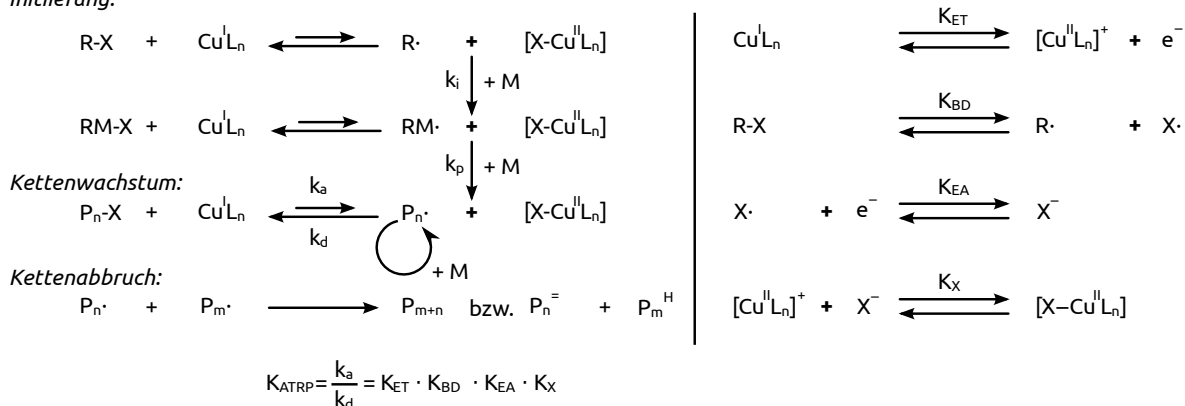


Abbildung 9: Mechanismus einer Kupfer-katalysierten ATRP bestehend aus Initiierung, Kettenwachstum und Kettenabbruch. Mit (k_a) der Geschwindigkeitskonstante der Aktivierung, (k_d) der Geschwindigkeitskonstante der Deaktivierung, (k_p) der Geschwindigkeitskonstante der Propagationsschritte und (k_i) der Geschwindigkeitskonstante der Initiation. Rechts die Reaktionsgleichgewichte zur Bildung der Radikal- und Kupfer(II)-Spezies mit den Gleichgewichtskonstanten des Elektronentransfers vom Metallkomplex (K_{ET}), der Bindungsdissoziation des Alkylhalogenids (K_{BD}), der Elektronenaffinität des Halogens (K_{EA}) und der heterolytischen Halogen-Metallkomplex-Spaltung (K_X) – die die Halogenaffinität des Metallkomplexes repräsentiert.

3 Hintergrund

Das Geschwindigkeitsgesetz der ATRP kann somit durch Gleichung 5 beschrieben werden^[120]. Es ergibt sich daraus, dass die Polymerisationsgeschwindigkeit im Bezug auf Initiator- [R-X] und Monomerkonzentration [M] und dem Verhältnis von [Cu^IL_n] zu [X-Cu^{II}L_n] erster Ordnung ist.

$$R_p = k_p \cdot K_{ATRP} [R-X] [M] \frac{[Cu^I L_n]}{[X-Cu^{II} L_n]} \quad (5)$$

Im Verlauf der Polymerisation laufen Abbruchreaktionen ab. Bei jeder dieser Reaktionen werden nicht nur zwei Polymerketten P_n· und P_m· „verbraucht“, es findet auch eine Anreicherung des deaktivierenden [X-Cu^{II}L_n] Metallkomplexes statt, da durch die Terminierung zwei Äquivalente des selbigen gebildet werden. Dies kann gerade zu Beginn einer Polymerisation stattfinden, wenn die Konzentration des [X-Cu^{II}L_n] zu gering ist, um eine ausreichende Deaktivierung zu gewährleisten. Die Zugabe von Cu(II)-Salzen kann diese anfängliche Terminierung unterdrücken^[116,121]. Die Abhängigkeit des Polydispersitätsindex (PDI) wird in Gleichung 6 beschrieben^[120].

$$PDI = \frac{M_w}{M_n} = 1 + \left(\frac{k_p [R-X]}{k_{j_d} [X-Cu^{II} L_n]} \right) \cdot \left(\frac{2}{p} + 1 \right) \quad (6)$$

Hierin ist der PDI von der Konzentration des Initiators [R-X]₀, der deaktivierenden Spezies [X-Cu^{II}L_n], der Propagationsgeschwindigkeit und dem Umsatz p des Monomers abhängig. Eine Zugabe von Cu(II) senkt somit den PDI, führt jedoch auch zu einer geringeren Polymerisationsgeschwindigkeit (siehe Gleichung 5). Durch Zugabe von Cu(0) wird dagegen die Polymerisationsgeschwindigkeit erhöht, jedoch der PDI vergrößert.

Initiatoren und Liganden

Die Initiatoren sollen die Radikale $R\cdot$ für die Polymerisation generieren. Entscheidend ist dabei, dass die Initiierung quantitativ und schnell erfolgt. Im Verlauf der Initiierung muss zudem die Kohlenstoff-Halogen Bindung homolytisch gespalten werden. Allgemein kann jede Kohlenstoff-Halogen-Bindung genutzt werden um eine ATRP zu starten. Es ist allerdings festzuhalten, dass die Geschwindigkeit mit der die Bindung gespalten wird, mit der Stärke der C–X-Bindung korreliert. So sind mit Brom funktionalisierte Initiatoren aktiver als solche, die mit Chlor funktionalisiert sind^[122]. Bei der Verwendung von Iod wäre entsprechend eine weitere Steigerung der Aktivität zu erwarten, hier dominiert jedoch die heterolytische Spaltung der Bindung. Ein weiterer Aspekt ist die Stabilisierung des gebildeten Radikals. Hier gilt, je besser dieses stabilisiert werden kann, desto größer ist die Geschwindigkeitskonstante der Aktivierung (k_a)^[122]. Abbildung 10 gibt einen Überblick über die Geschwindigkeitskonstanten einiger gängiger Initiatoren.

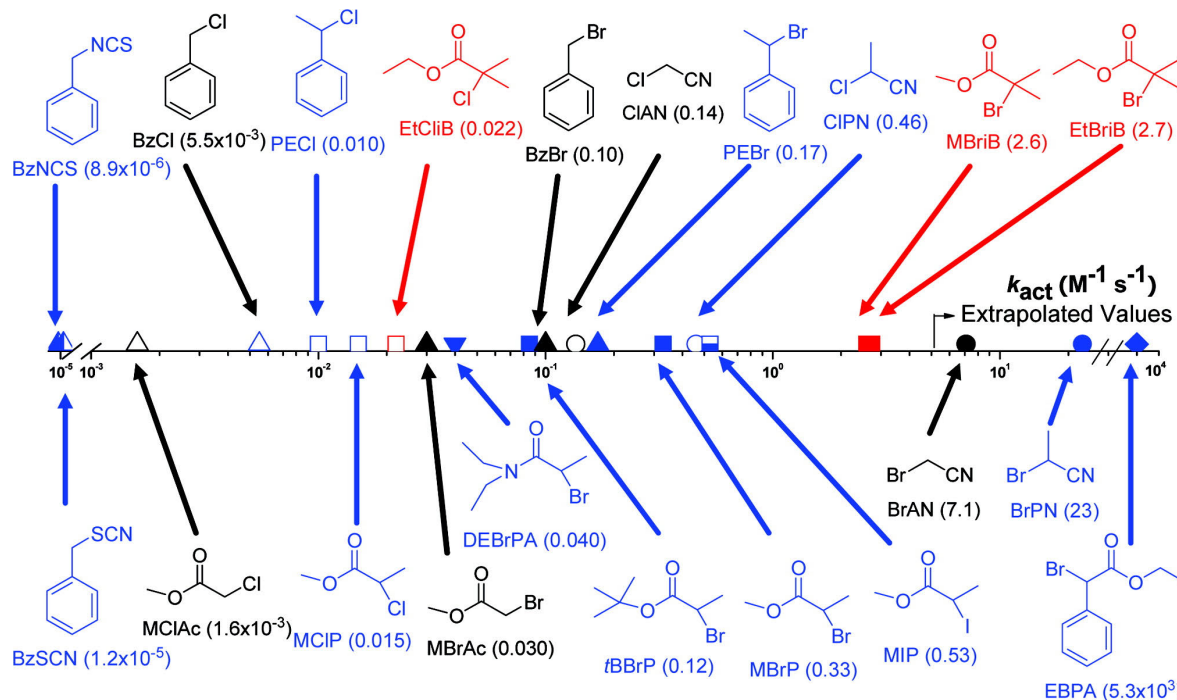


Abbildung 10: Reaktivitäten verschiedener ATRP-Starter in Anwesenheit von CuCl oder CuBr bei 35°C in Acetonitril. Reprinted with permission from *Macromolecules*, **2007**, 40 (6), pp 1858–1863. Copyright 2015 American Chemical Society.

3 Hintergrund

Die eingesetzten Liganden erfüllen zwei Aufgaben in der ATRP. Erstens sollen sie die Löslichkeit der Kupfersalze, meist CuBr oder CuCl, sicherstellen und zweitens das Redoxpotential des Kupfers in Bezug auf den Halogenaustausch einstellen. Je höher die Zähnnigkeit des Liganden desto größer wird (k_a). Häufig werden Bipyridine oder Pentamethyldiethylentriamin als Liganden eingesetzt, aber auch Tetramethylethyldiamin (TMEDA) wird verwendet. Abbildung 11 stellt einige gängige Liganden und ihre Reaktivitäten dar.

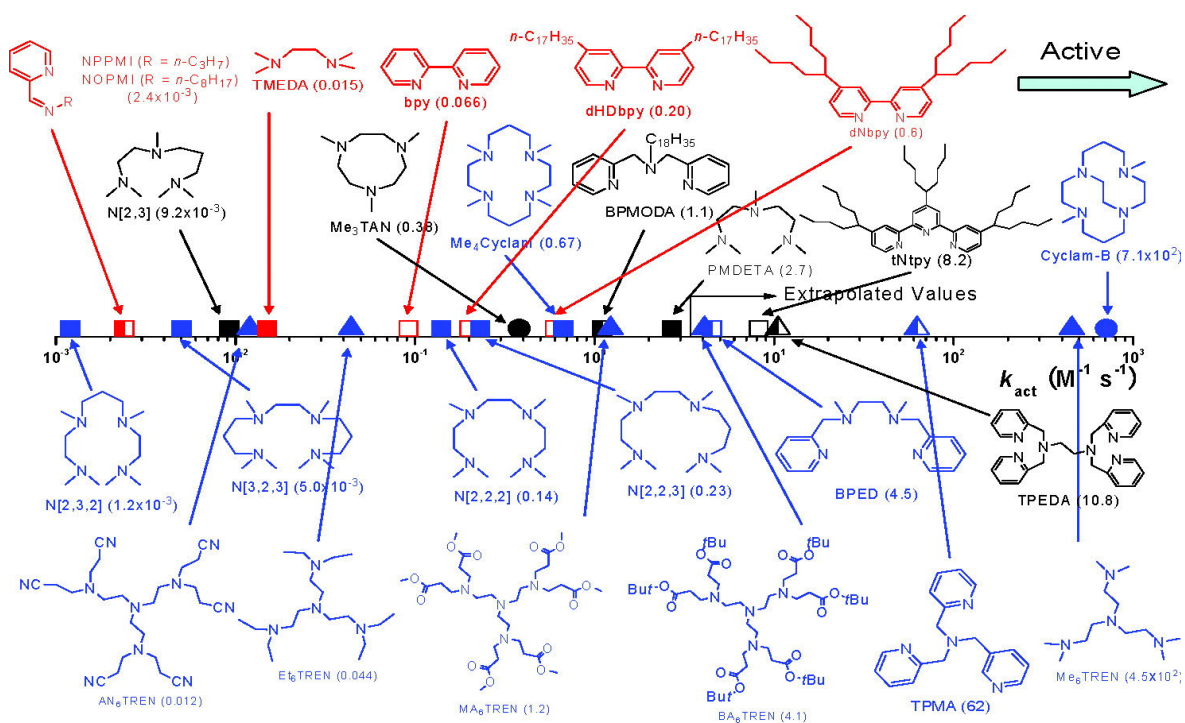


Abbildung 11: Reaktivitäten verschiedener Liganden mit Ethyl-2-bromoisobutyrat in Anwesenheit von CuBr oder CuCl bei 35°C in Acetonitril. Reprinted with permission from *Macromolecules*, **2006**, *39* (15), pp 4953–4959. Copyright 2015 American Chemical Society.

Bei Verwendung von polaren protischen Lösungsmitteln können Halogenide durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert werden. Da das Lösungsmittel im Vergleich zum Komplex im starken Überschuss vorliegt, kann das Halogen aus $[X-Cu^{II}L_n]$ herausgelöst werden^[121,123]. Eine Deaktivierung der aktiven Polymerketten $P_n\cdot$ zu P_n-X kann daher nicht mehr erfolgen. Dies hat in Übereinstimmung mit Gleichung 5 und 6 eine Beschleunigung der Polymerisationsgeschwindigkeit und einen höheren PDI zur Folge. Besonders dramatisch ist dieser Effekt bei Verwendung von Wasser. Ein Zusatz des entsprechenden Halogensalzes zur Reaktion steuert dem entgegen, so dass auch in polaren protischen Medien schmale Molmassenverteilungen erreicht werden können^[119,121].

4 Publikationen

Hybride organische/anorganische Oberflächen

T. Mai, K. Bleek and A. Taubert (2013) Organic/Inorganic Hybrid Surfaces, in Biomaterials Surface Science (eds A. Taubert, J. F. Mano and J. C. Rodríguez-Cabello), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

doi: 10.1002/9783527649600.ch11

Blockcopolymerere auf Basis von PEO und SPM für die Calciumphosphatmineralisation und Biofilmbremmung

T. Mai, E. Rakhmatullina, K. Bleek, S. Boye, J. Yuan, A. Völkel, M. Gräwert, Z. Cheaib, S. Eick, C. Günter, A. Lederer, A. Lussi, and A. Taubert, “Poly(ethylene oxide)- b -poly(3-sulfopropyl methacrylate) Block Copolymers for Calcium Phosphate Mineralization and Biofilm Inhibition,” *Biomacromolecules*, vol. 15, no. i, pp. 3901–3914, Sep. **2014**.

doi: 10.1021/bm500888q

Kationische, ampholytische und betainische PEO-Blockcopolymerere zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation

T. Mai, S. Boye, Jiayin Yuan, A. Völkel, M. Gräwert., C. Günter., A. Lederer, A. Taubert, “Poly(ethylene oxide)-based block copolymers with very high molecular weights for biomimetic calcium phosphate mineralization” *RSC Adv.*, 2015, 5, 103494-103505

doi: 10.1039/C5RA20035K

Anionische Polymerbürsten zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation

T. Mai, A. Puciul-Malinowska, K. Wolski, S. Zapotoczny, A. Taubert, “Anionic Polymer brushes on silicon for calcium phosphate mineralisation”

in Bearbeitung

BioMat 2015

T. Mai, Bioactive materials: *Poly(ethylene oxide-b-poly(3-sulfopropyl methacrylate) block copolymers for calcium phosphate mineralization and biofilm inhibition*, Weimar 21. April 2015, Vortrag

Bio-inspired Materials 2014

T. Mai, *Poly(ethylene oxide)-Poly(3-sulfopropyl methacrylate) Block Copolymers for Calcium Phosphate Mineralization and Biofilm Inhibition*, Potsdam, 18.-21. März 2014, Poster, Poster 65

Frühjahrsymposium JCF Jena

T. Mai, *Poly(ethylene oxide)-poly(3-sulfopropyl methacrylate) block copolymers for calcium phosphate mineralization and biofilm inhibition*, Jena 29. März 2014, Poster, Postersession 2, P-192

Polydays 2014

T. Mai, *Poly(ethylene oxide)-poly(3-sulfopropyl methacrylate) block copolymers for calcium phosphate mineralization and biofilm inhibition*, Berlin 30. September bis 2. Oktober, Poster

5 Ergebnisse

Die Polymere Ani1 (Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), PSPM), Ani2 (Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), MPEO5000-b-PSPM) und Ani3 (Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-block-Poly(ethylenoxid)-block-poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), PSPM-b-PEO4600-b-PSPM) sowie die Makroinitiatoren MI1 und MI2 wurden im Verlauf meiner Diplomarbeit^[70] synthetisiert. Die Charakterisierung beschränkte sich auf Trübungsmessungen, ¹H NMR und IR-Spektroskopie. Alle weiteren Daten mit Bezug auf diese Polymere sind im Rahmen der Dissertation gesammelt worden.

Als Polyethylenblöcke werden drei verschiedene Polyethylen (PEO) genutzt: für die Diblockcopolymere ein PEO Monomethylether mit der Molmasse $M_n = 5000$ g/mol, PDI=1,05 (MPEO5000) und für die Triblockcopolymere zwei PEOs mit den Molmassen $M_n = 4670$ g/mol, PDI=1,13 (PEO4600) und $M_n = 117200$ g/mol (PEO100k), PDI=2,1. Aus diesen werden mit 2-Brom-2-methylpropionylbromid bzw. Bromacetylbromid die in Abbildung 12 dargestellten Makroinitiatoren MI1 – 5 hergestellt. Die Synthese der Starter ist unter 11.3 beschrieben.

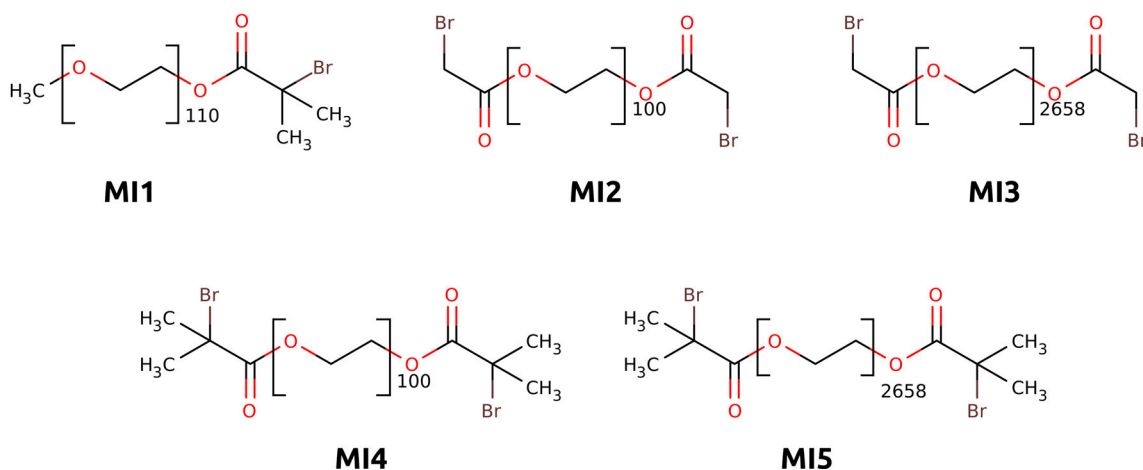


Abbildung 12: Makroinitiatoren, die für die ATRP verwendet worden sind^[124].

Als Monomere werden in dieser Arbeit Methacrylate verwendet, da diese und die entsprechenden Vorläufer kommerziell erhältlich sind. Um Ladungseinflüsse der Blockcopolymere auf die Calciumphosphatmineralisation zu untersuchen werden kationische, anionische und betainische Monomere genutzt. Zusätzlich erfolgt die Herstellung ampholytischer Blockcopolymere, die Kationen und Anionen in einem Verhältnis von 1:1 enthalten. Die späteren Blockcopolymere, die positive Ladungen beinhalten, sind von besonderem Interesse, da von quarternären Ammoniumverbindungen bekannt ist, dass sie bakteriozid^[125,126] wirken. Als Gegenionen der Kationen werden Chloridionen verwendet, da sie in hoher Konzentration im menschlichen Speichel vorkommen^[127]. Als anionisches Monomer wird Kalium-3-sulfopropylmethacrylat (SPM) eingesetzt, als kationische Monomere werden 2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (CPDMAEMA/Cl) und (Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (TMAEMA) verwendet. Für die Erzeugung der ampholytischen Copolymere werden die beiden Ammonium-Monomere TMAEMA und CPDMAEMA jeweils 1:1 mit SPM gemischt. Als betainisches Monomer wird auf das 2-(N-3-Sulfopropyl-N,N-dimethylammonium)ethylmethacrylat (MEDSAH) zurückgegriffen. Zur einfacheren Unterscheidung der resultierenden Polymere werden sie wie folgt abgekürzt: Kationen werden zu „C“, Ampholyte zu „A“, Betaine zu „B“ und Anionen zu „Ani“ verkürzt, jeweils gefolgt von einer Nummer. Polymere ohne einen PEO-Block wird die Ziffer „1“ nachgestellt, Diblockcopolymeren, die aus MI1 resultieren, die „2“. Den Triblockcopolymeren die aus den PEO4600-Startern MI2 und MI4 synthetisiert werden, sind mit der Nummer „3“ gekennzeichnet. Liegen die PEO100k-Starter MI3 und MI5 zugrunde wird für die Triblockcopolymere eine „4“ zugeteilt. Ein hochgestelltes „CN“ am Ende markiert Polymere, in denen das CPDMAEMA-Monomer enthalten ist und bezeichnet die Cyanopropyl-Gruppe des Monomers.

5 Ergebnisse

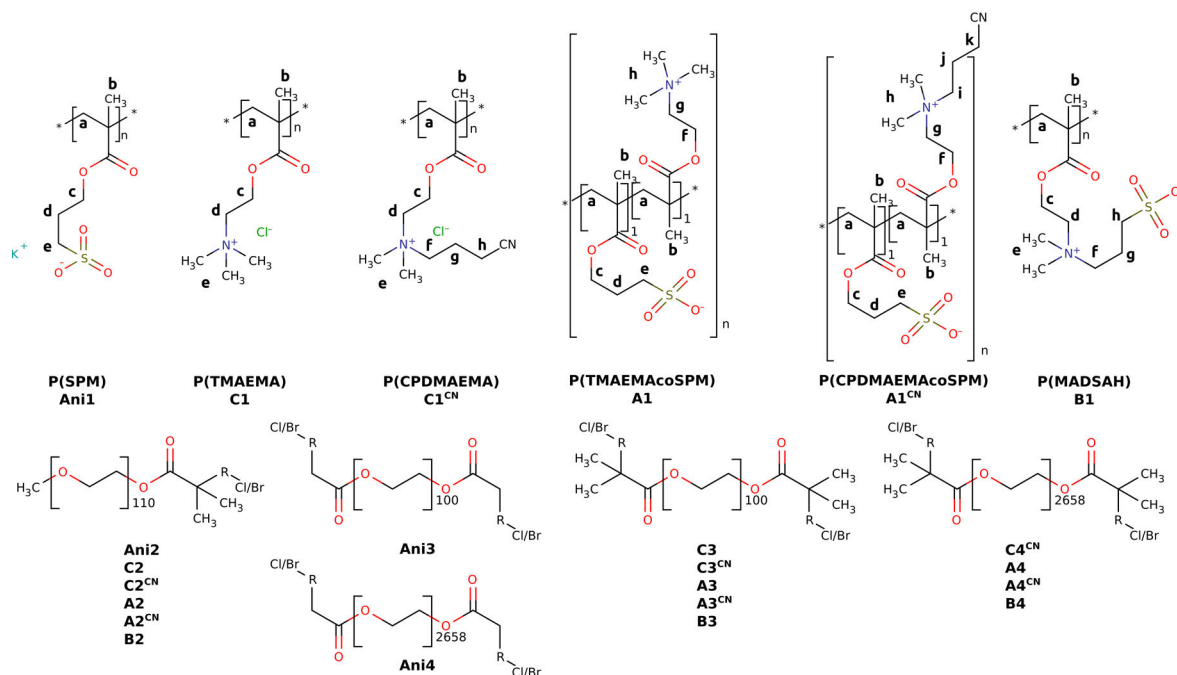


Abbildung 13: Strukturen der Polymere. Die Buchstaben a – k an den Homopolymeren dienen der Auswertung der ¹H NMR-Spektren (siehe Anhang A 4-9, ab Seite 152)^[124].

Das kationische 2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (CPDMAEMA/Cl) ist kommerziell nicht erhältlich und muss daher synthetisiert werden. Eine Vorschrift, die zu guten Ausbeuten führt, ist unter 11.2 (Seite 126) beschrieben. CPDMAEMA/Cl wurde durch ¹H NMR-Spektroskopie, Fourier-Transformation-Infrarotspektroskopie (FTIR) und Massenspektrometrie charakterisiert (siehe A1-3, ab Seite 149). Das Monomer ist dunkel, kühl und unter Schutzgasatmosphäre zu lagern, da es an der Luft sehr leicht polymerisiert. Diese Eigenschaft ist bei dem Vorläufer CPDMAEMA/Br, der Bromid statt Chlorid enthält, weniger ausgeprägt. Zur Stabilisierung ließe sich dem CPDMAEMA/Cl 4-Methoxyphenol (MEHQ) zusetzen.

5.1 Polymere

Die Blockcopolymere (Abbildung 13) wurden mittels *Atom Transfer Radical Polymerization* (ATRP) synthetisiert. Die detaillierten Synthesevorschriften können Kapitel 11.4 (Seite 128) entnommen werden. Die mittleren Molekulargewichte, Zahlen- und Gewichtsmittel (M_n und M_w), sowie der Polydispersitätsindex (PDI) der Polymere wurden durch ^1H NMR-Spektroskopie, Gel-Permeations-Chromatographie (GPC), Asymmetrischer Feld-Fluss-Feld Fraktionierung (AF4) und Gel-Permeations-Chromatographie mit online Lichtstredetektion (GPC-MALLS) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Zur weiteren Charakterisierung des Homopolymers Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat) (Ani1, PSPM) sind statische Lichtstreuung (SLS) und analytische Ultrazentrifugation (AUZ) zum Einsatz gekommen. Durch SLS wurde ein M_w von $1,82 \cdot 10^6$ g/mol und durch AUZ ein M_w von $1,90 \cdot 10^6$ g/mol ermittelt. Übereinstimmend mit der Literatur^[128,129] liefert ^1H NMR-Spektroskopie höhere Molmassen verglichen mit der AF4. Des Weiteren wurde die ^1H NMR-Spektroskopie genutzt, um in den ampholytischen Polymeren das 1:1 Verhältnis der kationischen Monomere, TMAEMA und CPDMAEMA/Cl, zum anionischen SPM zu überprüfen sowie die PEO-Blöcke in den Blockcopolymeren nachzuweisen. Abbildung 14 zeigt exemplarisch die Spektren der jeweiligen Diblockcopolymere (C2, C2^{CN}, A2, A2^{CN}, B2 und Ani2). Die Spektren der übrigen Polymere sind in A 4-9 (ab Seite 152) dargestellt. Die Resultate der Elementaranalysen sowie der Anteil an Kupfer und Kalium können Tabelle 3 entnommen werden.

Die in Tabelle 2 präsentierten Daten zeigen große Unterschiede zwischen Kationen, Ampholyten, Betainen und Anionen. Diese sollen im Folgenden, beginnend mit den Kationen, detaillierter diskutiert werden.

5 Ergebnisse

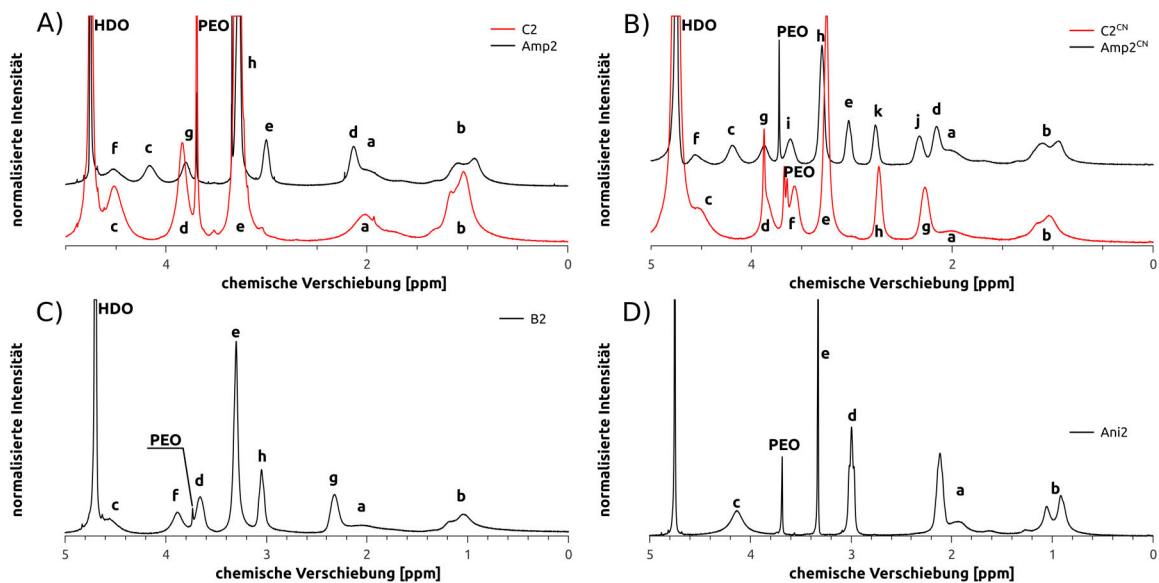


Abbildung 14: ^1H NMR-Spektren der Diblockcopolymeren. A) C2 und A2, B) C2^{CN} und A2^{CN} C) B2 und D) Ani2. Für die Ampholyten A2 und A2^{CN} können die zusätzlichen Signale, verglichen mit den Kationen C2 und C2^{CN}, auf das SPM Monomer zurückgeführt werden. Zum Vergleich kann hier auch das in D) dargestellte Ani2 dienen.

Tabelle 2: Zusammenfassung der bestimmten Molmassen sowie Nomenklatur der verwendeten Polymere. Bei den mit * gekennzeichneten Polymeren wurde GPC stat GPC-MALLS genutzt. P_n^M stellt die Kettenlänge der ionischen Blöcke dar und wurde für die anionischen Polymere Ani1, Ani2, Ani3 und Ani4 aus den AF4 Daten berechnet. Für die übrigen Polymere erfolgte die Berechnung aus den ^1H NMR-Spektren. Bei den Triblockcopolymeren ist die durchschnittliche Kettenlänge eines der Blöcke angeben. Ani4 weist in der AF4 zwei Peaks auf, die separat analysiert wurden. Die Kettenlängen der PEO-Blöcke P_n^P wurden aus GPC Messungen, aufgenommen in NMP, berechnet. Die Abkürzungen der Polymere ergeben sich wie folgt: Kationen werden mit „C“, Ampholyten mit „A“, Betaine mit „B“ und Anionen mit „Ani“ beschriftet, jeweils gefolgt von einer Nummer, die auf die Struktur des Polymers hinweist. So erhalten Polymere ohne PEO-Block die „1“, Diblockcopolymere die Ziffer „2“, Triblockcopolymere die PEO4600 enthalten die „3“ und Triblockcopolymere die PEO100k beinhalten die „4“. Ein hochgestelltes „CN“ am Ende markiert Polymere, in denen CPDMAEMA als Monomer enthalten ist.

Polymer	Abkürzung	GPC		^1H NMR	AF4			P_n^M	P_n^P
		M_n [kg/mol]	PDI	M_n [kg/mol]	dn/dc [mL/g]	M_n [kg/mol]	PDI		
MI1		5000	1,05						110
MI2		4670	1,13						100
MI3		117200	2,1						2658
MI4		4670	1,13						100
MI5		117200	2,1						2658
P(SPM)	Ani1*	1902	1,24		0,1183	1320	1,12	5359	
MPEO5000-b-P(SPM)	Ani2*	2090	1,52		0,1091	1895	1,11	7673	110
P(SPM)-b-PEO4600-b-P(SPM)	Ani3*	3341	1,33		0,1091	3255	1,01	6598	100
P(SPM)-b-PEO100k-b-P(SPM)	Ani4*	700/ 4793	2,41		0,1215	112/ 4580	1,81/ 1,51	9059	2658

5 Ergebnisse

Polymer	Abkürzung	GPC		¹ H NMR	AF4			P _n ^M	P _n ^P
		M _n [kg/mol]	PDI	M _n [kg/mol]	dn/dc [mL/g]	M _n [kg/mol]	PDI		
P(TMAEMA)	C1	40,7	4,15		0,143	134,5	1,67		
MPEO5000-b- P(TMAEMA)	C2	136,5	6,01	98,8	0,145	182,9	3,50	452	110
P(TMAEMA)-b- PEO4600-b- P(TMAEMA)	C3	61,7	5,56	300,0	0,132	228,7	1,75	1422	100
P(CPDMAEMA)	C1 ^{CN}	90,2	3,70		0,149				
MPEO5000-b- P(CPDMAEMA)	C2 ^{CN}	82,2	5,47	67,3	0,158	279,4	3,62	239	110
P(CPDMAEMA) -b-PEO4600-b- P(CPDMAEMA)	C3 ^{CN}	119,0	4,02	85,8	0,159	253,0	4,22	311	100
P(CPDMAEMA) -b-PEO100k-b- P(CPDMAEMA)	C4 ^{CN}	111,3	4,84	1293,2				4510	2658
P(TMAEMA-co- SPM)	A1				0,150				
MPEO5000-b- P(TMAEMA-co- SPM)	A2			764,0	0,134			2000	110
P(TMAEMA-co- SPM)-b- PEO4600-b- P(TMAEMA-co- SPM)	A3			443,3	0,137			1156	100
P(TMAEMA-co- SPM)-b- PEO100k-b- P(TMAEMA-co- SPM)	A4			2429,4	0,165			6093	2658
P(CPDMAEMA- co-SPM)	A1 ^{CN}				0,144				
P(CPDMAEMA- co-SPM)	A2 ^{CN}			179,1	0,146			403	110

Polymer	Abkürzung	GPC		¹ H NMR	AF4		P _n ^M	P _n ^P
		M _n [kg/mol]	PDI	M _n [kg/mol]	dn/dc [mL/g]	M _n [kg/mol]		
MPEO5000-b- P(CPDMAEMA- co-SPM)	A3 ^{CN}			123,6	0,146		275	100
P(CPDMAEMA- co-SPM)-b- PEO4600-b- P(CPDMAEMA- co-SPM)	A4 ^{CN}			397,2	0,152		648	2658
P(MEDSAH)	B1				0,143	1053	1,80	
MPEO5000-b- P(MADSAH)	B2			630,8	0,085	1746	1,52	2240 110
P(MADSAH)-b- PEO4600-b- P(MADSAH)	B3			555,9	0,144			1973 100
P(MADSAH)-b- PEO100k-b- P(MADSAH)	B4			11760,4	0,138	1133	1,28	41680 2658

Tabelle 3: Elementaranalyse der Polymere. Der Kupfer- und Kaliumanteil wurde aus wässrigen Lösungen mittels ICP-OES bestimmt. Den betainischen und ampholytischen Polymeren wurde zusätzlich Salzsäure zugesetzt, um deren vollständige Auflösung zu gewährleisten. Der Gewichtsanteil an Kupfer bzw. Kalium wird durch „ ω^{Cu} “ und „ ω^{K} “ angegeben. Werte unterhalb der Nachweisgrenze werden durch „*“ ersetzt. Der Wert „<0,05“ beschreibt die Bestimmungsgrenze, Werte darunter werden nicht angegeben. Die C, H, N, S Werte wurden mittels Elementaranalyse bestimmt, in Klammern befinden sich die berechneten theoretischen Werte.

5 Ergebnisse

Polymer	Cu ²⁺ [ppm]	ω^{Cu} [%]	K ⁺ [ppm]	ω^{K} [%]	C $\pm 0,3\%$ ist (theor.)	H $\pm 0,3\%$ ist (theor.)	N $\pm 0,3\%$ ist (theor.)	S $\pm 0,3\%$ ist (theor.)
Ani1	*				31,9% (34,1%)	4,9% (4,5%)		12,2% (13,0%)
Ani2	*				32,6% (34,2%)	5,0% (4,5%)		12,0% (13,0%)
Ani3	*				32,6% (34,2%)	5,0% (4,5%)		12,0% (13,0%)
Ani4	*				35,7% (34,7%)	3,6% (4,6%)		10,6% (12,7%)
C1	*		*		44,1% (50,6%)	9,6% (7,7%)	5,8% (8,1%)	
C2	1024	0,1	*		44,5% (50,6%)	8,6% (7,7%)	5,5% (8,1%)	
C3	623	0,1	*		43,8% (50,6%)	9,7% (7,7%)	5,3% (8,1%)	
C1 ^{CN}	< 0,05		629	0,1	53,1% (55,3%)	9,0% (8,1%)	10,1% (10,7%)	
C2 ^{CN}	97	0,0	28	0,0	17,4% (55,3%)	6,9% (8,1%)	16,5% (10,7%)	
C3 ^{CN}	85	0,0	24	0,0	20,4% (55,3%)	9,1% (8,1%)	15,8% (10,7%)	
C4 ^{CN}	2975	0,3	9	0,0	50,4% (55,3%)	8,1% (8,1%)	10,0% (10,7%)	
A1	*		742	0,1	39,3% (50,6%)	6,6% (7,7%)	4,0% (3,7%)	6,9% (8,5%)
A2	*		*		43,9% (50,6%)	7,8% (7,7%)	4,7% (3,7%)	9,5% (8,5%)
A3	*		15	0,0	46,5% (50,6%)	7,7% (7,7%)	3,8% (3,7%)	8,6% (8,5%)
A4	*		5868	0,6	37,4% (50,6%)	7,4% (7,7%)	6,9% (3,7%)	11,7% (8,5%)
A1 ^{CN}	7,1	0,0	10950	1,1	36,2% (52,8%)	6,9% (7,5%)	9,2% (6,5%)	11,9% (7,4%)
A2 ^{CN}	13	0,0	47198	4,7	29,4% (52,8%)	6,0% (7,5%)	9,4% (6,5%)	11,9% (7,4%)
A3 ^{CN}	< 0,05	0,0	15829	1,6	35,6% (52,8%)	7,0% (7,5%)	9,3% (6,5%)	10,7% (7,4%)

Polymer	Cu ²⁺ [ppm]	ω^{Cu} [%]	K ⁺ [ppm]	ω^{K} [%]	C $\pm 0,3\%$ ist (theor.)	H $\pm 0,3\%$ ist (theor.)	N $\pm 0,3\%$ ist (theor.)	S $\pm 0,3\%$ ist (theor.)
A4 ^{CN}	68	0,0	17696	1,8	39,0% (52,8%)	7,0% (7,5%)	7,1% (6,5%)	7,9% (7,4%)
B1	*		757	0,1	42,6% (47,3%)	10,1% (7,6%)	4,6% (5,0%)	10,0% (11,5%)
B2	*		82	0,0	42,3% (47,3%)	10,2% (7,6%)	4,6% (5,0%)	10,1% (11,5%)
B3	*		29	0,0	42,9% (47,3%)	10,1% (7,6%)	4,6% (5,0%)	10,3% (11,5%)
B4	*		105	0,0	42,1% (47,3%)	10,2% (7,6%)	4,5% (5,0%)	0,6% (11,5%)

5.1.1 Anionische Polymere

Für die anionischen Polymere wurde SPM als Monomer verwendet. Durch ¹H NMR-Spektroskopie konnte die erfolgreiche Synthese der Blockcopolymere, durch das Vorhandensein der Signale von PEO (~3,6 ppm) und SPM, belegt werden. Die Molmassen wurden mittels GPC-MALLS und AF4 bestimmt. Für das Homopolymer Ani1 (PSPM) wurden zudem AUZ ($M_w = 1,82 \cdot 10^6$ g/mol) und SLS ($M_w = 1,90 \cdot 10^6$ g/mol) Experimente durchgeführt, um die ermittelten Molmassen der verschiedenen Methoden miteinander zu vergleichen. Da sie nur geringfügig voneinander abweichen, wird für die anionischen Polymere AF4 zur Bestimmung der Kettenlänge der SPM-Blöcke genutzt (Tabelle 2).

Durch IR-Spektroskopie konnten die Signale des SPM-Blocks nachgewiesen werden. Dagegen sind die Signale des PEO-Blocks nicht erkennbar, was ein Indiz für den geringen Massenanteil des PEO im Polymer ist. Dieser Sachverhalt stimmt sowohl gut mit dem ¹H NMR als auch mit den hohen Molmassen überein.

Um dennoch eine möglichst hohe Aktivierbarkeit des Starters zu gewährleisten, ohne das Anion austauschen zu müssen (z.B. Monomethylsulfat), sind für alle folgenden Polymerisationen die Makroinitiatoren MI2 und MI3 durch MI4 und MI5 ersetzt worden. Deren zusätzliche Methylgruppen sollen zu größeren Aktivierungsgeschwindigkeitskonstanten führen. Nichts desto trotz war es nicht möglich für C4 ein Produkt zu isolieren und im Fall von C4^{CN} konnten nur geringe Ausbeuten von 9% erhalten werden. Diese beiden Polymere wurden daher keinen weiteren Untersuchungen unterzogen. Ein Grund hierfür könnte das Verhältnis von Chlorid zu Starter sein. Da dieses beim Gebrauch von MI3 oder MI5 etwa zehnmal so hoch ist, als es bei Verwendung der Starter MI2 oder MI4 der Fall ist. Aufgrund dessen wurden längere Reaktionszeiten angestrebt, die jedoch nicht zu den gewünschten Produkten führten, sondern zu elementarem Kupfer. Bei der Verwendung der Starter MI1 und MI4 traten diese Probleme nicht auf. Im Fall von C3 wurden 21% und für die restlichen Polymere mehr als 55% Ausbeute erzielt.

Durch ¹H NMR-Spektroskopie (A5 und A6, Seite 152) konnte die erfolgreiche Synthese der kationischen Polymere belegt und die Molmasse der geladenen Blöcke, durch die vorhandenen PEO-Blöcke, bestimmt werden. Mit FTIR Messungen (A11, 12, Seite 155) konnten dagegen zwar die kationischen Blöcke, nicht aber die PEO-Blöcke nachgewiesen werden. Dieser Befund ist konsistent mit den NMR-Daten, aus denen hervorgeht, dass der Anteil des PEO am Gesamtpolymer sehr klein ist. Die Bande bei der Wellenzahl 2248 cm⁻¹ ist in allen CPDMAEMA basierenden Polymeren präsent und belegt die Stabilität der CN-Gruppe.

Aus den Copolymeren konnte Kupfer nicht vollständig entfernt werden. Die höchsten Werte weisen dabei das nicht näher untersuchte C4^{CN} mit 0,3% und C2^{CN} mit 0,1% auf. Dennoch war es möglich, den Kupfergehalt bei C4^{CN} um 50% bzw. bei C2^{CN} um 75% zu senken. Ferner wurden kleine Mengen an Kalium in den auf CPDMAEMA/Cl basierenden Polymeren nachgewiesen. Diese liegen jedoch deutlich unter 0,1%. Die Polymere sind stark hygroskopisch, weshalb es bei den Elementaranalysen zu Abweichungen kommt. Zum einen erhöht sich hierdurch der gemessene Wasserstoffwert, zum anderen könnte dies zu einer unvollständigen Verbrennung geführt haben.

5.1.3 Ampholytische Polymere

Die ampholytischen Polymere wurden mit einem Monomerverhältnis von Kationen zu Anionen von 1:1 hergestellt. Durch ^1H NMR-Spektroskopie konnte dieses Verhältnis für alle gereinigten Polymere bestätigt (Anhang 7, 8 ab Seite 153) werden. Dieses Resultat stimmt gut mit Ergebnissen zur Polymerisation von Ionenpaaren von Salamone^[130] überein. Es sollte hier ein Selbstorganisationsprozess vorliegen, nach dem sich ein anionisches Monomer immerfort in der Nähe eines kationischen Monomers aufhält. Im vorliegenden Fall befindet sich ein SPM in der Nähe eines TMAEMA oder CPDMAEMA/Cl.

Außerdem konnten beide verwendeten Monomere mittels IR-Spektroskopie nachgewiesen werden (Anhang 13, 14 Seite 156). Banden bei 1037, 1041 und 1110 cm^{-1} werden dabei asymmetrischen und symmetrischen Schwingungen der SO_3 -Gruppe des SPM und Banden bei 1153 und 3046 cm^{-1} C-N-Streckschwingungen der Ammonium-Monomere TMAEMA und CPDMAEMA/Cl zugeordnet. Im Gegensatz dazu konnten in den Blockcopolymeren keine Signale detektiert werden, welche sich den PEO-Blöcken zuordnen ließen. Dies ist neuerlich ein Indiz für den geringen Massenanteil PEO im Polymer.

Aus den auf TMAEMA basierenden Ampholyten konnte das Kupfer bis unter die Nachweisgrenze entfernt werden, in den auf CPDMAEMA/Cl basierenden blieb ein geringer Anteil von max. 68 ppm zurück. Im Bezug auf die Entfernung von Kalium tritt ein ähnlicher Unterschied zu tage. Der Gehalt konnte für die TMAEMA basierten Polymere stets um über 92% auf einen Massenanteil von maximal 0,6% (A2) gesenkt werden. Der verbliebene Kaliumanteil in den auf CPDMAEMA/Cl basierten Polymeren ist höher, konnte jedoch um mindestens 78% auf 4,7% (A2^{CN}) gesenkt werden.

5.1.4 Betainische Polymere

Von allen hier untersuchten Polymeren, lassen sich die Betaine am besten reinigen, was in sehr geringen Kupfer- und Kaliumanteilen resultiert (Tabelle 3). ^1H NMR-Spektroskopie bestätigt erneut die erfolgreiche Synthese der Blockcopolymere. Darüber hinaus, können anhand der Verhältnisse der Signale des PEO- und des Betain-Blocks die Molmassen dieser Polymere bestimmt werden (Tabelle 2). Konsistent mit den zuvor diskutierten IR-Daten, zeigen die betainischen Blockcopolymere nur für das betainische Monomer charakteristische Banden, jedoch keine des PEO-Blocks.

Das Kupfer konnte aus diesen Polymeren bis unter die Nachweisgrenze entfernt werden. Auch das Kalium, das während der Aufreinigung als KCl zugesetzt wurde, konnte praktisch vollständig entfernt werden. Die Werte liegen in einem Bereich, der dem der kationischen Polymere entspricht. Bei diesen wurde jedoch kein KCl zugesetzt und das Kalium stammt vermutlich aus den verwendeten Lösungsmitteln.

5.2 Polymere in Lösung zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation

Für die biomimetische Calciumphosphatmineralisation ist es entscheidend, ob die Polymere die Keimbildung und das Keimwachstum fördern oder inhibieren. Dieser Einfluss wurde durch optisch überwachte Fällungstitrationen von Calciumphosphat in Anwesenheit der Polymere untersucht (siehe dazu Kapitel 10 - Trübungsmessungen). Der Trübungspunkt wird bei dieser Technik durch den größten Anstieg in den Trübungskurven ($[\text{Ca}]^{\text{P}}$) repräsentiert und lässt sich durch sigmoidale Boltzmannfunktionen ermitteln. Als Modellsystem zur Fällung wurde doppelt konzentrierte simulierte Körperflüssigkeit (2SBF) verwendet, die mit 0,1 M Calciumchloridlösung titriert wird. 2SBF stellt ein etabliertes System^[131–140] zur Calciumphosphatmineralisation dar, das dem menschlichen Speichel nachempfunden ist^[127]. Als Blindprobe wurde 2SBF ohne Polymerzusatz verwendet. Hier kommt es bereits bei einer Calciumkonzentration von $0,542 \pm 0,025$ mg/mL zu einer Trübung, $[\text{Ca}]^{\text{P}}$. Zur Bestimmung der $[\text{Ca}]^{\text{P}}$ der Polymere wurde mit einer

5 Ergebnisse

Ausgangspolymerkonzentration von 5 mg/mL in 2SBF gearbeitet. Methodisch bedingt fällt die Polymerkonzentration im Verlauf der Titration auf etwa 3 mg/mL, Kapitel 10. In allen Fällen kommt es bei Lösungen, die eines der hier untersuchten Polymere enthalten, zu einer verzögerten Trübung, die bei etwa 0,7 mg/mL Calcium liegt. Nur drei Polymere erreichen höhere Werte: C2^{CN} und C3^{CN} mit ca. 0,9 mg/mL und Ani4 mit etwa 1,1 mg/mL. Ein unmittelbarer Einfluss der Monomerchemie scheint daher nicht vorzuliegen. Abbildung 16 stellt exemplarisch eine Titrationskurve für Ani4 dar. Abbildung 17 und Tabelle 4 fassen die Ergebnisse aller Trübungspunkte $[Ca]^P$ der Polymere zusammen.

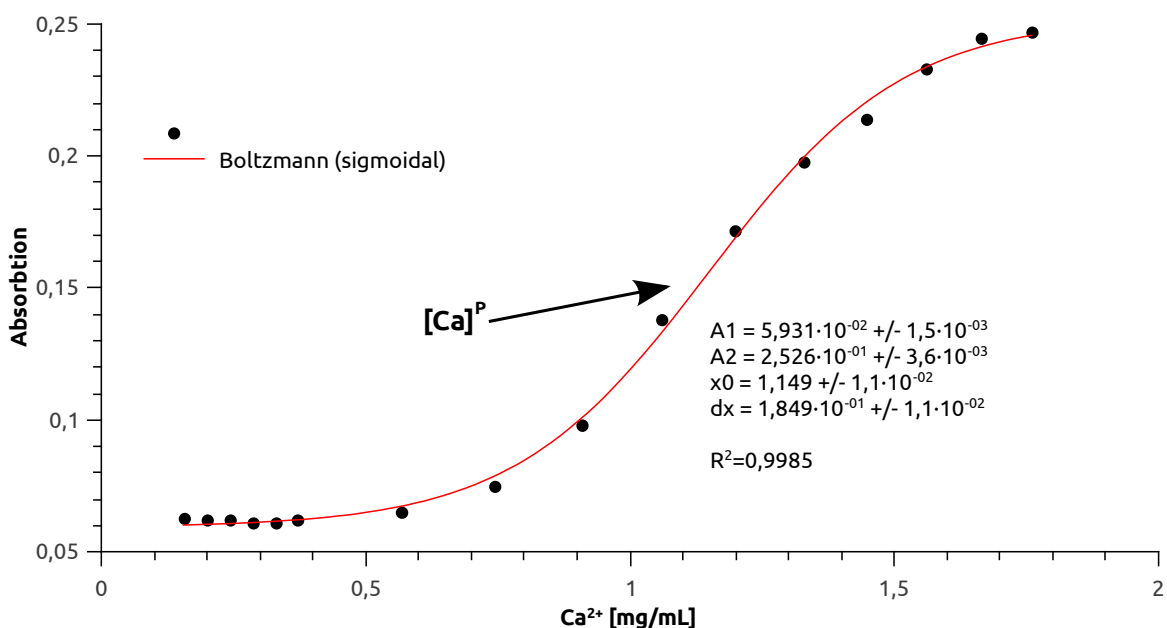


Abbildung 16: Beispiel eines Datensatzes einer Trübungtitration (Ani4). In der Mitte ist die Lage des Trübungspunktes ($[Ca]^P$) dargestellt, in Rot die angenäherte sigmoidale Boltzmannfunktion.

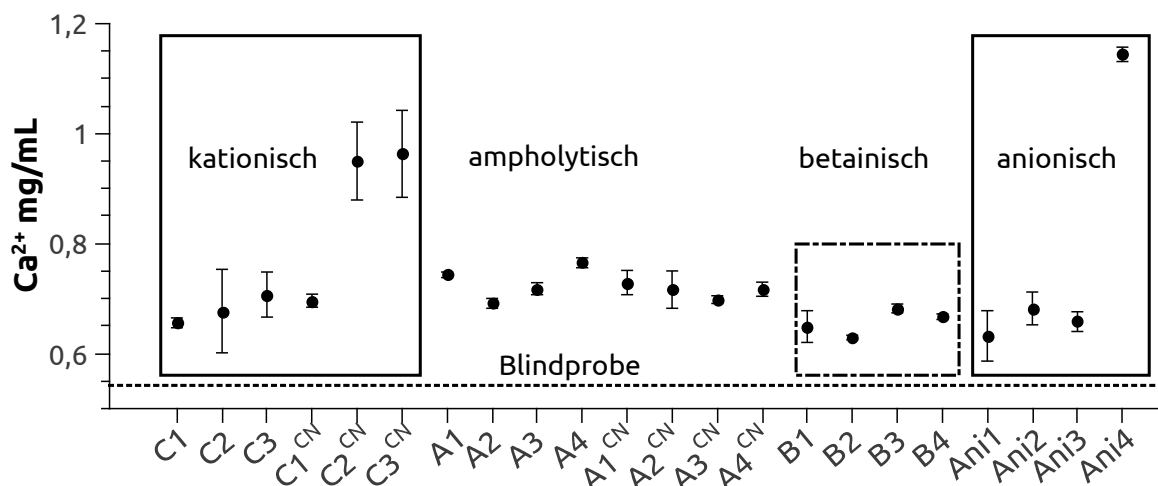


Abbildung 17: $[Ca]^P$ Werte der Trübungsmessungen aller Polymere. Die Blindprobe weist eine Calciumkonzentration von $0,542 \pm 0,025$ mg/mL auf und wird durch die gestrichelte Linie dargestellt. Die exakten Werte für jedes Polymer können Tabelle 4 entnommen werden.

Tabelle 4: Ergebnisse der Trübungsmessungen mit Standardabweichungen für alle Polymere.

Polymer	$[Ca]^P$ mg/mL	Polymer	$[Ca]^P$ mg/mL	Polymer	$[Ca]^P$ mg/mL
Blindprobe	$0,542 \pm 0,025$	C1 ^{CN}	$0,696 \pm 0,012$	A2 ^{CN}	$0,716 \pm 0,034$
Ani1	$0,632 \pm 0,046$	C2 ^{CN}	$0,950 \pm 0,071$	A3 ^{CN}	$0,698 \pm 0,007$
Ani2	$0,682 \pm 0,030$	C3 ^{CN}	$0,963 \pm 0,079$	A4 ^{CN}	$0,717 \pm 0,013$
Ani3	$0,650 \pm 0,018$	A1	$0,743 \pm 0,005$	B1	$0,649 \pm 0,029$
Ani4	$1,144 \pm 0,013$	A2	$0,691 \pm 0,009$	B2	$0,629 \pm 0,004$
C1	$0,656 \pm 0,009$	A3	$0,718 \pm 0,011$	B3	$0,682 \pm 0,008$
C2	$0,677 \pm 0,076$	A4	$0,765 \pm 0,009$	B4	$0,667 \pm 0,005$
C3	$0,707 \pm 0,041$	A1 ^{CN}	$0,729 \pm 0,022$		

Die zuvor beschriebenen Niederschläge sind potentielle Materialien um eine Reparatur von Beschädigungen an Zähnen einzuleiten. Zu diesen zählen bspw. kleinere Beschädigungen des Zahnschmelzes oder offene Zahnhälse. Zu diesem Zweck muss das gebildete Mineral in einer geeigneten Kristallphase vorliegen. Allen voran eignet sich hier HAP oder eine seiner Vorstufen, da Zähne aus kleinen HAP Kristallen bestehen, die von Kollagen zusammengehalten werden^[141–143]. Daher wurde für die Niederschläge sowohl das Calcium zu Phosphor Verhältnis Ca/P mit EDX als auch die Kristallphase mittels XRD bestimmt. Tabelle 5 sowie Abbildung 18 stellen die Ergebnisse der EDX Messungen dar und Abbildung 21 fasst die XRD-Aufnahmen zusammen.

Tabelle 5: EDX-Werte in Atom% und resultierende Ca/P Verhältnisse der aus den Mineralisationen erhaltenen Niederschläge, eine grafische Darstellung der Ca/P kann Abbildung 18 entnommen werden.

Polymer	Ca [%]	P [%]	S [%]	Na [%]	Cl [%]	O [%]	Ca/P
ohne	22,6±5,7	15,6±1,9	0,7±0,7	4,9±2,8		60,5±1,6	1,44±0,28
MPEO5000	18,2±2,8	17,7±2,4		4,2±3,7		61,2±1,1	1,03±0,20
PEO4600	19,2±0,2	13,4±0,3	2,4±0,0	0,9±0,9		61,1±0,1	1,44±0,03
PEO100k	20,0±1,1	15,5±0,9	2,0±1,2	1,1±1,9		62,4±1,3	1,29±0,08
Ani1	17,0±0,2	12,2±0,2	4,9±0,1	2,5±0,4		63,7±0,1	1,41±0,02
Ani2	17,5±0,2	12,3±0,2	4,7±0,1	1,9±0,0		63,5±0,1	1,42±0,02
Ani3	17,2±0,3	12,2±0,3	5,4±0,4	2,2±0,0		64,2±0,9	1,41±0,03
Ani4	17,7±0,2	13,0±0,3	4,1±0,2	2,0±0,4		63,3±0,3	1,36±0,03
C1	20,9±0,2	15,0±0,1	1,0±0,1	1,2±0,1		61,9±0,2	1,40±0,01
C2	21,2±0,2	14,7±0,1	1,0±0,1	1,2±0,1		61,8±0,2	1,44±0,01
C3	21,1±0,2	14,9±0,1	0,96±0,1	1,2±0,1		61,9±0,3	1,41±0,02
C1 ^{CN}	19,2±0,2	16,8±0,2	0,3±0,1	0,6±0,1	0,5±0,1	62,5±0,3	1,15±0,02
C2 ^{CN}	20,2±0,2	15,2±0,2	1,1±0,1	1,4±0,1		62,1±0,3	1,33±0,02
C3 ^{CN}	19,9±0,2	15,2±0,2	1,2±0,1	1,4±0,1		62,3±0,3	1,32±0,01
A1	18,4±0,2	13,6±0,1	3,0±0,1	2,2±0,1	0,3±0,1	62,5±0,3	1,35±0,01
A2	20,5±0,3	13,6±0,1	2,6±0,1	0,7±0,1	0,2±0,1	62,5±0,2	1,51±0,02
A3	19,6±0,3	13,4±0,1	3,4±0,1	0,3±0,1		63,9±0,2	1,47±0,02
A4	20,0±0,3	13,5±0,2	3,0±0,1	0,5±0,1		63,0±0,3	1,49±0,02

Polymer	Ca [%]	P [%]	S [%]	Na [%]	Cl [%]	O [%]	Ca/P
A1 ^{CN}	15,8±0,3	10,6±0,2	7,6±0,2	0,7±0,1		65,4±0,4	1,48±0,03
A2 ^{CN}	19,8±0,2	13,9±0,2	2,8±0,1		0,3±0,1	63,2±0,3	1,42±0,02
A3 ^{CN}	19,8±0,2	13,9±0,2	3,0±0,1			63,4±0,3	1,43±0,02
A4 ^{CN}	16,4±0,2	10,9±0,2	7,0±0,2	0,8±0,1		64,9±0,3	1,51±0,02
B1	18,5±0,2	13,0±0,1	4,2±0,1	0,4±0,1		63,9±0,3	1,42±0,01
B2	19,0±0,2	13,6±0,1	3,4±0,1	0,5±0,1		63,5±0,3	1,40±0,01
B3	18,6±0,2	13,4±0,1	3,7±0,1	0,7±0,1		63,6±0,3	1,39±0,01
B4	19,0±0,2	13,1±0,1	3,7±0,1	0,7±0,1	0,2±0,1	63,3±0,3	1,45±0,01

Das Ca/P-Verhältnis der meisten Niederschläge liegt mit Werten zwischen 1,3 und 1,5 zwischen den beiden Hydroxylapatitvorläufern Octacalciumphosphat (OCP) (Ca/P = 1,33) und amorphem Calciumphosphat (ACP) (Ca/P = 1,5). Lediglich für zwei Proben, die in Anwesenheit von MPEO5000 (Ca/P = 1,0) und C1^{CN} (Ca/P = 1,15) erhalten wurden, liegt der Quotient im Bereich zwischen OCP (Ca/P = 1,33) und Brushit (Ca/P = 1,0). Zusätzlich konnte bei Proben die in Gegenwart von C1^{CN}, A1, A2, A2^{CN} und B4 gebildet wurden ein kleinerer Anteil Chlor nachgewiesen werden, der jedoch nicht über 0,5 % liegt. Überdies konnte außer für MPEO5000 Schwefel und mit Ausnahme von A2^{CN} und A3^{CN} Natrium nachgewiesen werden.

Der detektierte Schwefel könnte zum einem aus dem 2SBF stammen und in Form von Sulfat mit in die Niederschläge eingebaut worden sein. Zum Anderen enthält bereits das für die EDX-Messungen verwendete Klebematerial Schwefel, der bei geringen Probenmengen ohne weiteres nachweisbar ist. Die Möglichkeit, dass der Schwefel auf eingebautes Polymer zurückzuführen ist erscheint unwahrscheinlich, da er auch bei Polymeren welche keinen Schwefel enthalten, in den Niederschlägen nachweisbar ist. Dennoch kann diese Möglichkeit, zumindest für die Polymere die Schwefel enthalten, nicht vollständig ausgeschlossen werden.

5 Ergebnisse

Das nachgewiesene Natrium und Chlor kann ebenfalls auf das 2SBF zurückgeführt werden, da 2SBF zu etwa 1,6% aus Natriumchlorid besteht. Die Bildung von Natriumchlorid als Nebenprodukt ist somit denkbar. Chloridionen können darüber hinaus anstelle des Hydroxids in Apatite eingebaut werden, als Folge entsteht Chlorapatit. Möglich ist ebenso der Einbau von Natrium in den Kristall oder dessen Adsorption an der negativ geladenen Oberfläche bereits gebildeter HAP-Kristalle^[69], womit der Nachweis von Natrium erklärt ist.

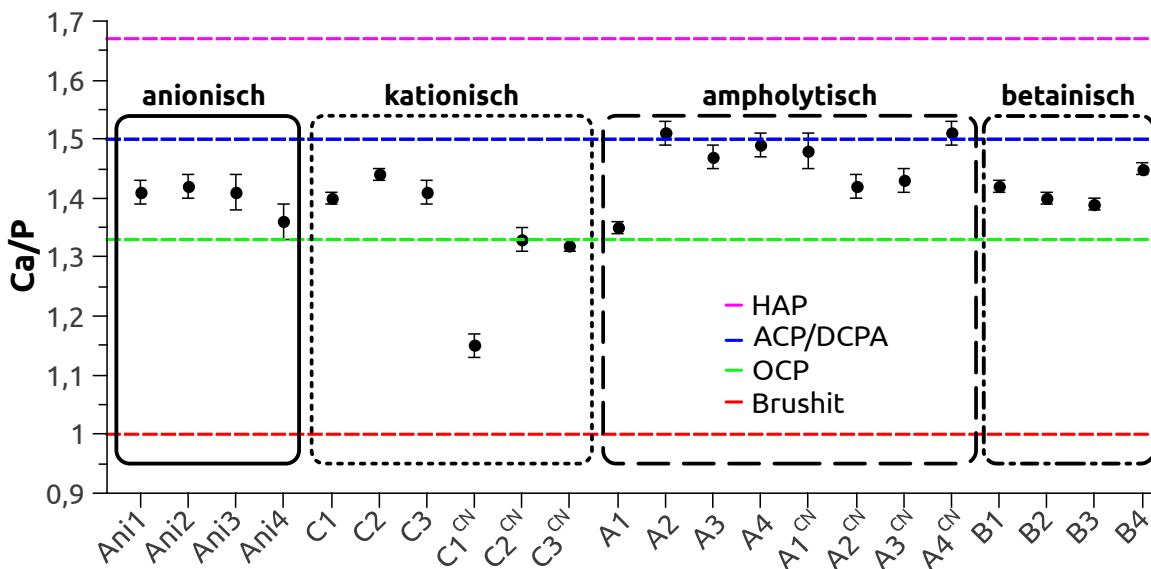


Abbildung 18: Durch EDX bestimmte Ca/P-Verhältnisse der aus den Trübungsmessungen erhaltenen Niederschläge. Die gestrichelten Linien kennzeichnen die Ca/P-Quotienten verschiedener Calciumphosphate. In Rot Brushit, in Grün Octacalciumphosphat (OCP), in Pink Hydroxylapatit (HAP), in Blau amorphes Calciumphosphat (ACP) und Dicalciumphosphat Anhydrat (DCPA).

Durch Rasterelektronenmikroskopaufnahmen (SEM-Aufnahmen) soll der Einfluss der Polymere auf die Morphologie der gebildeten Minerale untersucht werden. Die Aufnahmen werden in Abbildung 19 repräsentativ für die Blindprobe, ein PEO, ein kationisches, ampholytisches und betainisches Polymer dargestellt. Alle weiteren Abbildungen der Niederschläge sind in A16-20 (ab Seite 158) gezeigt. In Abwesenheit der Polymere werden kleine einheitliche Partikel gewonnen, die stark aggregiert sind und eine poröse Struktur ergeben (Abbildung 19A). Durch den Zusatz der Homopolymere PEO4600 und MPEO5000 werden größere Aggregate gebildet (A19 und A16). Diese Polymere scheinen daher eine weniger offene Aggregation zu fördern. In Anwesenheit von PEO100k, das eine sehr viel größere Molmasse als die anderen PEOs aufweist, treten zwar vornehmlich kleine Partikel auf, jedoch kann auch eine signifikante Anzahl größerer Kugeln beobachtet werden (A16). Die kleineren Partikel ähneln dabei der Blindprobe. Die Kugeln weisen eine breite Größenverteilung bis zu einem Durchmesser von etwa 5 μm auf (Abbildung 20). Zusammengefasst wird mit steigender Molmasse des PEO eine besser definierte Morphologie erhalten, in diesem Fall Kugeln.

Im Gegensatz zu PEO handelt es sich bei allen anderen verwendeten Polymeren um permanent geladene Copolymere oder Homopolymere. Die verschiedenen Ladungen der Polymere scheinen jedoch die Morphologie der erhaltenen Niederschläge auf unterschiedliche Weise zu beeinflussen. So erzeugen die negativ geladenen Polymere Ani1, Ani2, Ani3, und Ani4 ausschließlich kugelförmige Partikel (A 17). Die Partikel haben dabei einen Durchmesser von etwa 1 μm (Abbildung 20), wobei die engste Verteilung bei Ani2 ($701 \pm 199 \text{ nm}$) auftritt. Dies ist vermutlich auf die schmale Molmassenverteilung dieses Diblockcopolymer zurückzuführen.

Bei allen anderen Polymeren, seien sie kationisch, ampholytisch oder betainisch, treten sehr viel kleinere Partikel auf. Diese sind stark aggregiert und erschweren somit eine Bestimmung der Größenverteilung. Die Partikel sind jedoch in sich homogen und enthalten keine verschiedenen Morphologien.

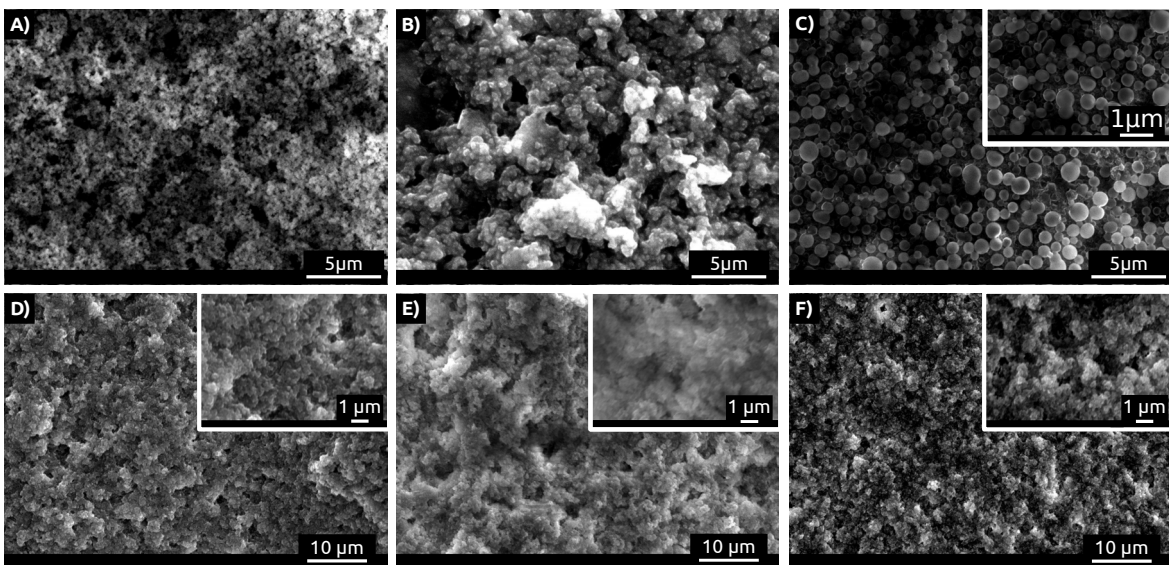


Abbildung 19: Auswahl von SEM-Aufnahmen der in Tabelle 5 mit EDX analysierten Niederschläge. Hergestellt wurden diese A) ohne Polymerzusatz (Blindprobe) oder durch die Zugabe von B) PEO4600, C) Ani1, D) A3, E) C2^{CN}, F) B4. Alle weiteren Aufnahmen können dem Anhang (A 16-20, ab Seite 158) entnommen werden.

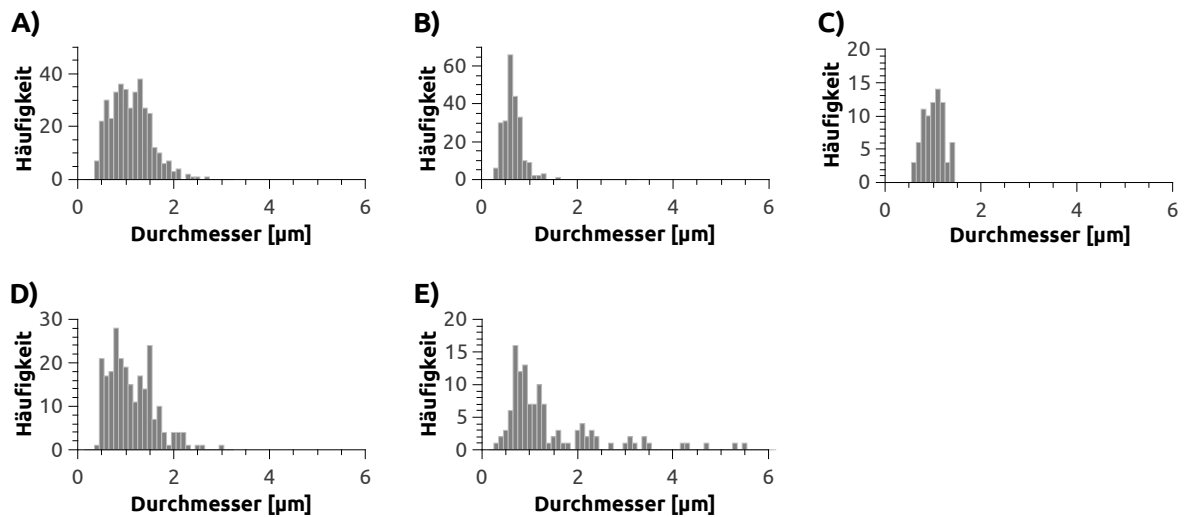


Abbildung 20: Größenverteilungen der sphärischen Partikel erhalten in Anwesenheit von A) Ani1 1154 ± 413 nm, B) Ani2 701 ± 199 nm, C) Ani3 1067 ± 209 nm, D) Ani4 1175 ± 470 nm und E) PEO100k 1454 ± 1009 nm. Auch in Anwesenheit von MPEO5000 werden sphärische Partikel erhalten, jedoch zu wenige für eine belastbare statistische Auswertung. Repräsentative SEM-Aufnahmen können A16 und A17 entnommen werden.

Die Röntgenbeugungsanalysen (X-ray diffraction, XRD) aller Proben zeigen die beste Übereinstimmung mit HAP (ICDD Nummer 03-0747, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Es wird für alle Proben eine breite Reflexion bei $30\text{-}34^\circ 2\Theta$ und eine geringe Zählrate von 100 - 300 gemessen. Beides weist auf eine geringe Kristallinität hin, dennoch lassen sich alle wichtigen Reflexe zuordnen. Dies ist trotz des kleinen Ca/P von 1,15 auch für die Proben, die in Anwesenheit von C1^{CN} gewonnen wurden, der Fall. Das fehlen weiterer Reflexe bei höheren Winkeln, ist ein Beleg dafür, dass trotz der hohen Chloridkonzentration in 2SBF, kein Chlorapatit gebildet wurde.

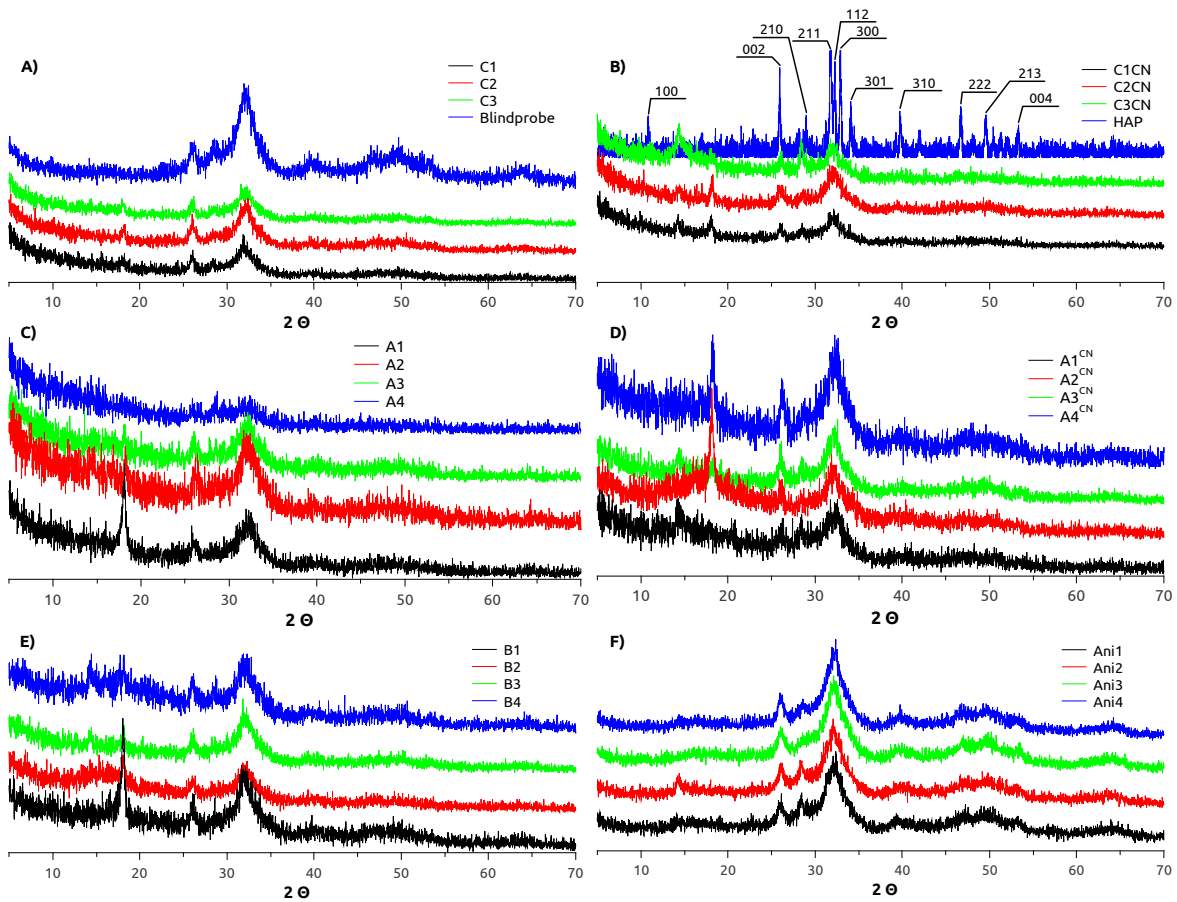


Abbildung 21: XRD Aufnahmen der Niederschläge sortiert nach Polymerarchitektur. A) kationische Polymere C1, C2, C3; B) kationische Polymere C1^{CN}, C2^{CN}, C3^{CN} und HAP Referenzspektrum der Rruff-Datenbank RRUFF ID: R050512^[144] mit den zugeordneten Millerschen Indizes; C) ampholytische Polymere A1, A2, A3, A4; D) ampholytische Polymere A1^{CN}, A2^{CN}, A3^{CN}, A4^{CN}; E) betainische Polymere B1, B2, B3, B4 und F) anionische Polymere Ani1, Ani2, Ani3, Ani4.

5.3 Polymer induzierte Calciumphosphatauflösung

Die hier verwendeten geladenen Polymere retardieren die Calciumphosphatbildung. Wird der Einsatz der Polymere in Zahnpflegeprodukten in Erwägung gezogen, muss sichergestellt werden, dass die Polymere das Zahnmaterial (Zahnschmelz und Dentin) nicht beschädigen, indem sie bspw. das enthaltene HAP herauslösen. Um dies einschätzen zu können, wird die Auflösung an synthetischem HAP als Modellsystem, bei verschiedenen Polymerkonzentrationen, untersucht. Für eine Detaillierte Beschreibung siehe Kapitel 10 – Polymer induzierte Calciumphosphatauflösung – Seite 120. Das HAP wird dazu in Wasser in Anwesenheit und Abwesenheit der Polymere suspendiert und die anschließende Calciumkonzentration mittels ICP-OES bestimmt. Abbildung 22 und Tabelle 6 fassen die Ergebnisse zusammen.

Bei Anwesenheit der ungeladenen PEOs wird etwa die gleiche Calciumkonzentration erreicht, wie in einer Vergleichsprobe ohne Polymer. Befindet sich dagegen PEO100k in der Probe, sinkt mit steigendem Polymergehalt, die Calciumkonzentration. Proben, die die Polyanionen enthalten, zeigen mit steigendem Polymergehalt zwar einen Anstieg der Calciumkonzentration, jedoch sind die Werte selbst bei der höchsten Polymerkonzentration kleiner als 0,13 mg/mL und damit nur doppelt so groß wie in Blindproben. Dies ist überraschend, da die Polykationen, -ampholyten und -betaine etwa fünfmal höhere Werte erreichen. Die betainischen Copolymere unterscheiden sich ihrerseits von den Polyampholyten und -kationen. Sie zeigen zwar eine höhere Auflösung verglichen mit einer Blindprobe, jedoch scheinen die Calciumwerte nicht mit zunehmender Polymerkonzentration anzusteigen. Dagegen ist bei den Polykationen ein klarer Anstieg der Calciumkonzentration mit wachsendem Polymergehalt zu erkennen. Die Polyampholyten können zwischen den Polykationen und -betainen eingeordnet werden. Sie zeigen einen leichten Anstieg der Calciumkonzentration mit steigender Polymerkonzentration, jedoch ist der Anstieg erheblich geringer als bei den Polykationen.

Um die auftretenden Effekte der HAP-Auflösung zwischen den Polymeren besser vergleichen zu können, kann eine relative Auflösung (κ) nach Gleichung 7 berechnet werden. Die Stoffmenge des Monomers $n(\text{Monomer})$ kann aus der Molmasse M_n der Polymere und dem Polymerisationsgrad P berechnet werden. Die Stoffmenge des gemessenen Calciums in einer Blindprobe stellt $n_0(\text{Ca}^{2+})$ dar. κ kann sowohl positive und negative Werte annehmen als auch Null sein. Ist der Wert Null, hat das Polymer keinen Einfluss auf die Auflösung des HAP. Bei einem negativen Wert wird effektiv weniger Calcium freigesetzt, verglichen mit einer Blindprobe. Im Gegenteil dazu, wird bei positive Werten Calcium aus dem HAP vermehrt herausgelöst.

$$\kappa = \frac{(n_{\text{Probe}}(\text{Ca}^{2+}) - n_0(\text{Ca}^{2+}))}{n(\text{Monomer})} \quad (7)$$

Nicht für alle hier diskutierten Polymere konnte eine zuverlässige Molmasse bestimmt werden, siehe dazu Tabelle 2. Für die Polykationen, -ampholyten und -betaine lassen sich nur die ^1H NMR-Messungen heranziehen, sofern ein PEO-Signal vorhanden ist. Gleichung 7 kann daher nicht auf C1, C1^{CN}, A1, A1^{CN} und B1 angewendet werden. Durch Ersetzen der Stoffmengen durch die entsprechenden Massenkonzentration γ und das Einsetzen des Polymerisationsgrades P , um die Monomerkonzentration zu erhalten, folgt Gleichung 8. Für die Homopolymere Ani1, C1, C1^{CN} und B1 ergibt der Quotient aus $M_n(\text{Polymer})$ und P die Molmasse des verwendeten Monomers feststellen. Für die ampholytischen Copolymere A1 und A1^{CN} lässt sich die Molmasse eines virtuellen Monomers. Dieses ergibt sich als Summe von SPM und TMAEMA bzw. SPM und CPDMAEMA abzüglich Kaliumchlorid. So wird die Berechnung von κ auch für diese Polymere ermöglicht.

$$\kappa = \frac{(\gamma_{\text{Probe}}(\text{Ca}^{2+}) - \gamma_0(\text{Ca}^{2+})) \cdot M_n(\text{Polymer})}{M(\text{Ca}) \cdot P(\text{Polymer, ionischer Block}) \cdot \gamma(\text{Polymer})} \quad (8)$$

Tabelle 6 und Abbildung 23 fassen die Werte für κ zusammen und stellen sie in Abhängigkeit von der Polymerkonzentration dar. Aus Abbildung 23 geht hervor, dass κ für Polykationen, -ampholyten und -betaine bei geringen Polymerkonzentrationen groß ist, aber mit steigendem Polymergehalt auf einen Wert von 0,1 bei 3 mg/mL Polymer abfällt. Für die Polyanionen ergibt sich ein gegenteiliges Bild, in ihrer Anwesenheit erreicht κ zwar ebenso einen Wert von 0,1 ab einem Polymergehalt von 3 mg/mL, jedoch steigt κ hier mit der Polymerkonzentration an und ist für geringe Polymergehalte sogar negativ. Dies bedeutet eine Stabilisierung der Oberfläche des Hydroxylapatits. Für die kleineren der ungeladenen Polyethylenoxide, PEO4600 und MPEO5000, scheint κ unabhängig von der Polymerkonzentration zu sein und hat stets einen Wert von etwa Null.

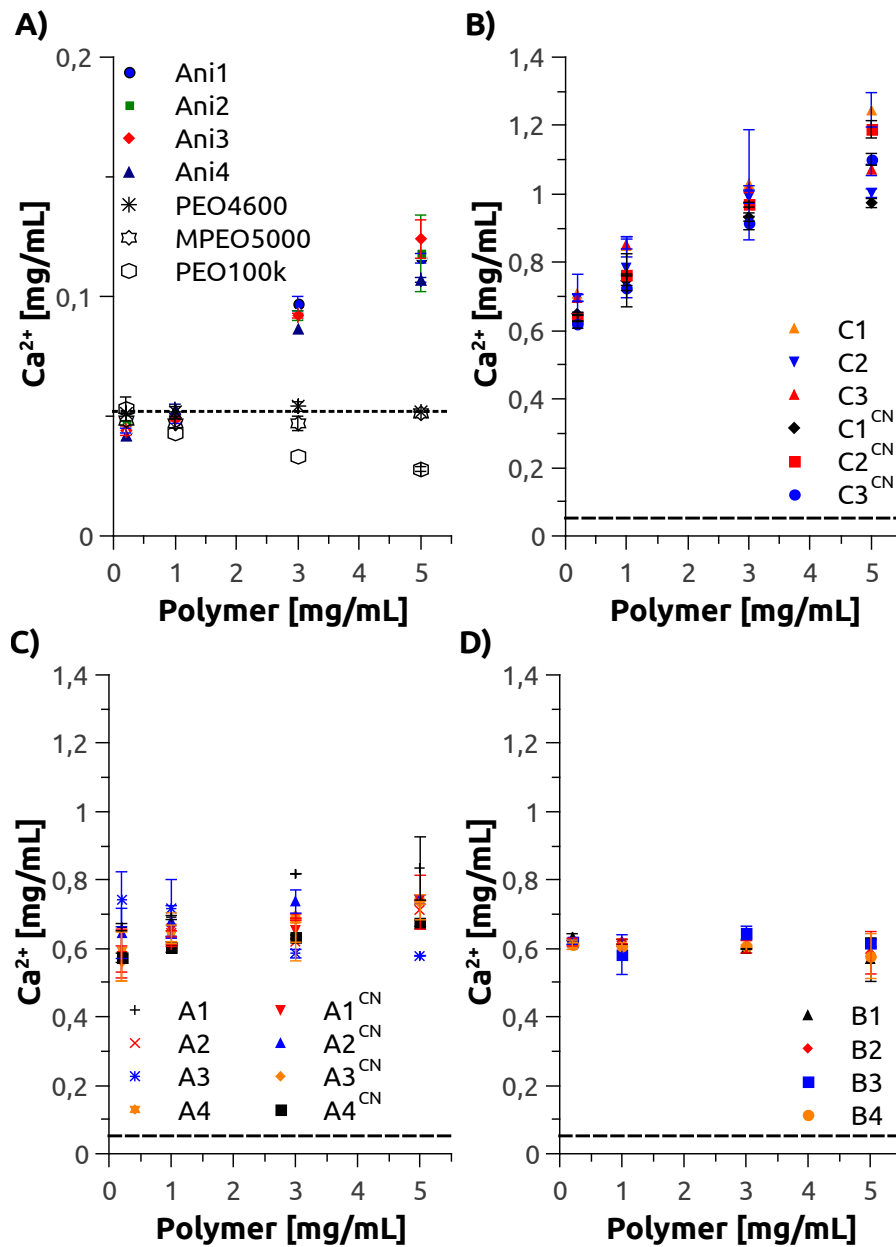


Abbildung 22: Absolute Calciumwerte der HAP-Auflösung. A) anionische Polymere sowie die PEOs; B) kationische; C) ampholytische; D) betainische Polymere. Die gestrichelte Linie bei $0,052 \pm 0,004$ stellt jeweils eine Vergleichsprobe ohne Polymerzusatz dar.

Tabelle 6: Absolute Calciumwerte der HAP-Auflösung in Anwesenheit von PEOs sowie der anionischen, kationischen, ampholytischen, betainischen Polymere und die entsprechenden κ -Werte.

Polymer	0,2 mg/mL		1,0 mg/mL		3,0 mg/mL		5,0 mg/mL	
	[Ca ²⁺]	κ	[Ca ²⁺]	κ	[Ca ²⁺]	κ	[Ca ²⁺]	κ
PEO4600	0,051 ±0,000	-0,0058	0,052 ±0,002	0,0000	0,054 ±0,002	0,0008	0,052 ±0,000	0,0000
MPEO5000	0,048 ±0,000	-0,0227	0,047 ±0,002	-0,0057	0,047 ±0,003	-0,0019	0,051 ±0,000	-0,0002
PEO100k	0,053 ±0,005	0,0055	0,043 ±0,000	-0,0099	0,033 ±0,000	-0,070	0,028 ±0,001	-0,0053
Ani1	0,044 ±0,001	-0,2458	0,048 ±0,001	-0,0246	0,097 ±0,003	0,0922	0,116 ±0,002	0,0787
Ani2	0,047 ±0,001	-0,1540	0,051 ±0,000	-0,0062	0,092 ±0,002	0,0822	0,118 ±0,016	0,0813
Ani3	0,044 ±0,002	-0,2462	0,049 ±0,001	-0,0185	0,092 ±0,001	0,0821	0,126 ±0,008	0,0886
Ani4	0,042 ±0,000	-0,3154	0,053 ±0,002	0,0063	0,087 ±0,000	0,0736	0,107 ±0,001	0,0694
C1	0,7093 ±0,0559	17,03	0,8457 ±0,0296	4,11	1,0270 ±0,0160	1,68	1,2457 ±0,0502	1,24
C2	0,6960 ±0,0099	17,56	0,7857 ±0,0896	4,00	0,9920 ±0,0192	1,71	1,0023 ±0,0127	1,04
C3	0,6960 ±0,0107	16,95	0,8537 ±0,0143	4,22	1,0163 ±0,0078	1,69	1,0700 ±0,0166	1,07
C1 ^{CN}	0,6493 ±0,0046	19,43	0,7473 ±0,0776	4,52	0,9323 ±0,0120	1,91	0,9733 ±0,0135	1,20
C2 ^{CN}	0,6370 ±0,0102	20,55	0,7630 ±0,0029	5,00	0,9683 ±0,0070	2,15	1,1890 ±0,0255	1,60
C3 ^{CN}	0,6180 ±0,0107	19,48	0,7250 ±0,0073	4,63	0,9147 ±0,0196	1,98	1,1010 ±0,0171	1,44
A1	0,6620 ±0,0106	28,88	0,6903 ±0,0058	6,04	0,8183 ±0,0005	2,42	0,8340 ±0,0926	1,48
A2	0,5767 ±0,0715	25,00	0,6440 ±0,0241	5,64	0,6203 ±0,0567	1,81	0,7107 ±0,0266	1,26
A3	0,7440 ±0,0804	33,10	0,7160 ±0,0857	6,35	0,5847 ±0,0127	1,70	0,5787 ±0,0007	1,01

5 Ergebnisse

Polymer	0,2 mg/mL		1,0 mg/mL		3,0 mg/mL		5,0 mg/mL	
	[Ca ²⁺]	κ	[Ca ²⁺]	κ	[Ca ²⁺]	κ	[Ca ²⁺]	κ
A4	0,5937± 0,0630	26,94	0,6427 ±0,0090	5,88	0,6847 ±0,0026	2,10	0,7393 ±0,0012	1,37
A1 ^{CN}	0,5777 ±0,0735	28,36	0,6593 ±0,0446	6,55	0,6523 ±0,0338	2,16	0,7430 ±0,0140	1,49
A2 ^{CN}	0,6440 ±0,0735	32,82	0,6803 ±0,0446	6,97	0,7370 ±0,0338	2,53	0,7430 ±0,0140	1,53
A3 ^{CN}	0,5607 ±0,0466	28,52	0,6087 ±0,0029	6,24	0,6947 ±0,0063	2,40	0,7353 ±0,0790	1,53
A4 ^{CN}	0,5727 ±0,0135	39,81	0,6043 ±0,0154	8,45	0,6333 ±0,0057	2,96	0,6743 ±0,0090	1,90
B1	0,6333 ±0,0101	20,26	0,6190 ±0,0071	3,95	0,5983 ±0,0012	1,27	0,5673 ±0,0637	0,72
B2	0,6187 ±0,110	19,91	0,6203 ±0,0071	3,99	0,6050 ±0,0180	1,30	0,5873 ±0,0618	0,75
B3	0,6180 ±0,0057	19,89	0,5817 ±0,0582	3,72	0,6453 ±0,0195	1,39	0,6153 ±0,0110	0,79
B4	0,6110 ±0,0135	19,68	0,6067 ±0,0009	3,90	0,6077 ±0,0029	1,30	0,5777 ±0,0656	0,74

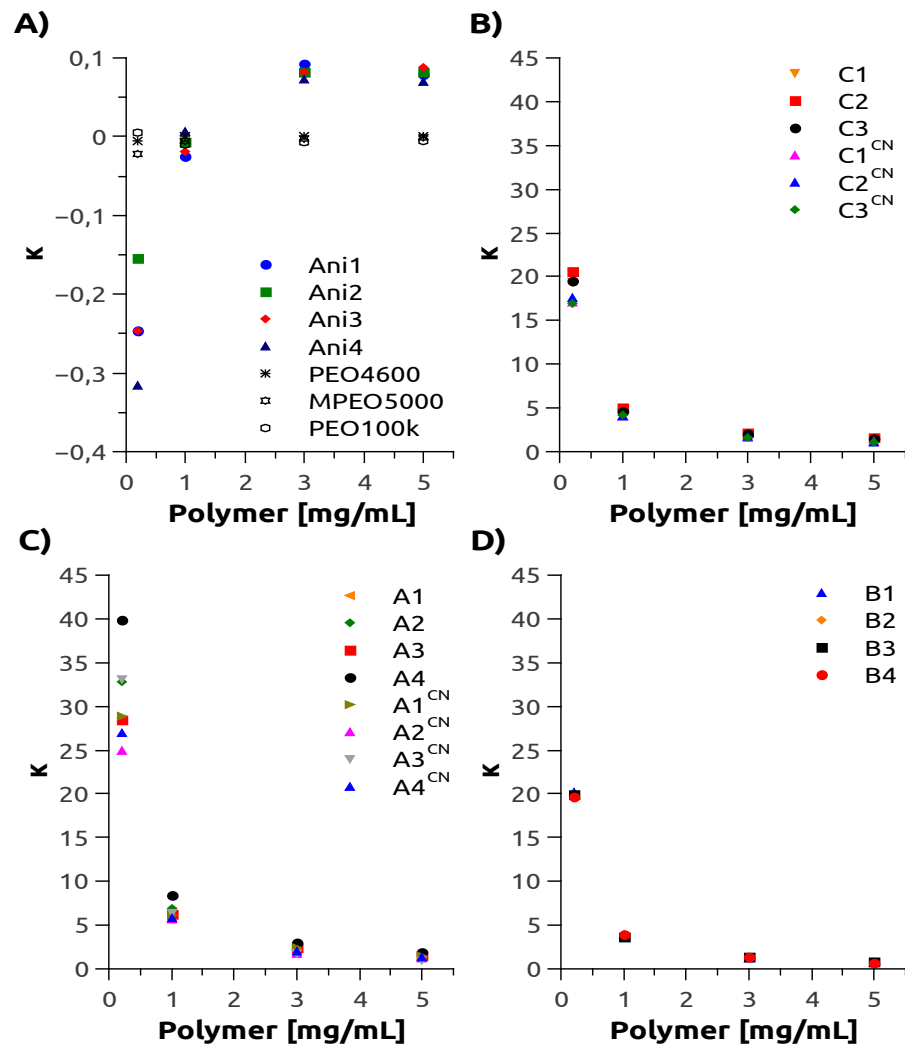


Abbildung 23: Calciumwerte der HAP-Auflösung je Monomereinheit (κ). A) Die anionischen Copolymere und neutralen PEOs. (Skalierung der y-Achse von -0,4 bis 0,1). B) kationische Copolymere, C) ampholytische Copolymere und D) betainische Copolymere.

5.4 Adhäsion von *Streptococcus gordonii* auf

Zahnschmelz

Die Biofilmbildung ist ein entscheidender Schritt in der Entstehung von Karies^[145,146], an der eine Vielzahl von Mikroorganismen beteiligt ist^[147–150]. Die Effizienz, mit der die frühen Kolonisatoren auf der Oberfläche eines Zahnes Halt finden, ist daher ein Kernfaktor bei der Bekämpfung von Karies. Um einen Einsatz als Additiv in Zahnpflegeprodukten, wie Zahnpasta oder Mundspülungen, in Betracht zu ziehen, sollte ein Additiv die Biofilmbildung einschränken. Eine Förderung dessen ist zu vermeiden. *Streptococcus gordonii* ist eines der Schlüsselbakterien bei der Besiedlung der Zahnoberfläche. Seine Fähigkeit der Adhäsion am Zahnschmelz wird daher im Folgenden genutzt, um die Tauglichkeit verschiedener Copolymere als Additiv zu untersuchen. Dazu werden 16 Gruppen á 20 Zahnschmelzproben (die Präparation ist in Kapitel 10, Seite 119 beschrieben) untereinander verglichen. Die folgenden Gruppen werden dazu für 30 min und 120 min mit *S. gordonii* inkubiert: reiner Zahnschmelz (Enamel), der als Kontrollprobe dient; Zahnschmelz beschichtet mit einem filmartigen Niederschlag der Speichelproteine (Pellicel), der als Referenz dient; Zahnschmelz beschichtet mit Ani2, Ani3 und Ani4 und Zahnschmelzproben, die mit einer Mischung aus Polymer und Speichel inkubiert wurden, zur Erzeugung eines polymermodifizierten Pellicel. Die zuletzt genannten Proben werden als Ani2/P, Ani3/P und Ani4/P bezeichnet, wobei das P für Pellicel steht. Um die Anzahl der Bakterien je Fläche vergleichen zu können, werden die Zellen von der Oberfläche entfernt und anschließend die koloniebildenden Einheiten (colony forming unit, CFU) gezählt.

In Abbildung 24 sind die CFU/mm² aller Proben nach beiden Inkubationszeiten zu entnehmen, in Tabelle A 21 (Seite 163) werden berechnete p-Werte gezeigt, die ein Maß für die Signifikanz eines Unterschieds zwischen zwei Werten darstellen. Eine signifikant höhere Adhäsion ($p < 0,05$) tritt sowohl bei den 30 min als auch den 120 min inkubierten Proben auf, die mit dem Speichel-Pellicel beschichtet sind. Einzige Ausnahme bilden reine Enamelproben nach einer Inkubationszeit von 30 min. Kein statistisch signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) ist beim Vergleich des mit

den Copolymeren Ani2, Ani3 und Ani4 beschichteten Zahnschmelz und den Enamelproben festzustellen. An den modifizierten Pellikel Ani2/P, Ani3/P und Ani4/P werden im Gegensatz zu dem normalen Pellikel bedeutend weniger CFU/mm² ($p < 0,05$) gezählt. Die bakterielle Adhäsion ergab sowohl für die modifizierten Pellikel untereinander als auch verglichen mit den polymerbeschichteten Proben keinen statistischen Unterschied ($p > 0,05$). Ein statistisch relevanter Unterschied ($p < 0,05$) der haftenden *S. gordonii*, findet sich bei beiden Inkubationszeiten zwischen dem normalen und den polymermodifizierten Pellikel. Andersherum besteht kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) beider Inkubationszeiten zwischen Enamel und den mit Ani2 oder Ani3 beschichteten Proben. Proben die dagegen mit Ani4 beschichtet worden sind, zeigen einen bedeutenden Unterschied ($p < 0,05$) bei den verschiedenen Inkubationszeiten.

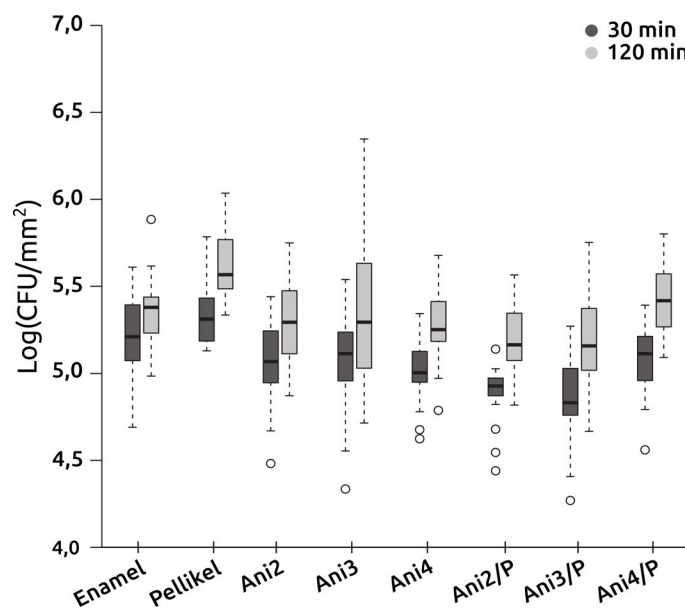


Abbildung 24: Anzahl der anhaftenden *S. gordonii* Zellen je Zahnschmelzfläche. Enamel: saubere polierte Zahnschmelzoberfläche, Pellikel: Zahnschmelz beschichtet mit in vitro Pellikel über 2h, Ani2: Zahnschmelz beschichtet mit Ani2, Ani3: Zahnschmelz beschichtet mit Ani3, Ani4: Zahnschmelz beschichtet mit Ani4, Ani2/P: Zahnschmelz inkubiert in einem 1:1 Gemisch aus Ani2-Lösung und Speichel, Ani3/P: Zahnschmelz inkubiert in einem 1:1 Gemisch aus Ani3-Lösung und Speichel, Ani4/P: Zahnschmelz inkubiert in einem 1:1 Gemisch aus Ani4-

Lösung und Speichel. Die Ergebnisse werden als Boxplot dargestellt. Die Box, die ebenfalls den Median enthält, repräsentiert den Interquartilabstand und die Antennen (Whisker) reichen von 5% Quantil bis 95% Quantil, zusätzlich wurden milde Ausreißer als Kreise dargestellt.

Aus den eben präsentierten Daten geht hervor, dass die Copolymere mit dem Pellikel wechselwirken. Dies wirkt sich schlussendlich auf die Fähigkeit der Bakterien aus, sich an den Pellikel anzuhafte. Die Wechselwirkung der Speichelproteine mit den Copolymeren ist daher weiter zu untersuchen. Als erster einfacher Überblick sollen AFM-Aufnahmen auf Glimmer zeigen, ob ein morphologischer Unterschied zwischen dem natürlichen Pellikel, dem Polymerfilm und dem modifizierten Pellikel besteht. Da die deutlichste Differenz in der Zelladhäsion für Ani2/P besteht, wird diese für die Untersuchung verwendet. Das Auftragen auf das Glimmer-Substrat hat dabei keinen Einfluss auf die Morphologie der Beschichtungen, da für natürlichen Pellikel bekannt ist, dass dieser auf Siliziumdioxid, Graphit und Glimmer identisch ist^[151]. Abbildung 25 zeigt die topographischen Aufnahmen sowie die entsprechenden Höhenprofile. In Übereinstimmung mit der Literatur^[151,152], wird sowohl für den natürlichen, als auch für den modifizierten Pellikel, eine sphärische Morphologie erhalten. Unterschiede bestehen jedoch in der Homogenität der Proben, so scheinen die Aggregate des natürlichen Pellikel einheitlicher und kleiner (80-100 nm), als die von Ani2/P zu sein (140-180 nm). Die Beschichtung mit dem Ani2 Copolymer führt dagegen zu einem 0,5 nm dicken und weichen Film, der die Oberfläche schlecht benetzt. Die Präsenz eines solchen Films unterhalb des Ani2/P ist nicht geklärt und würde tiefergehender Untersuchungen bedürfen.

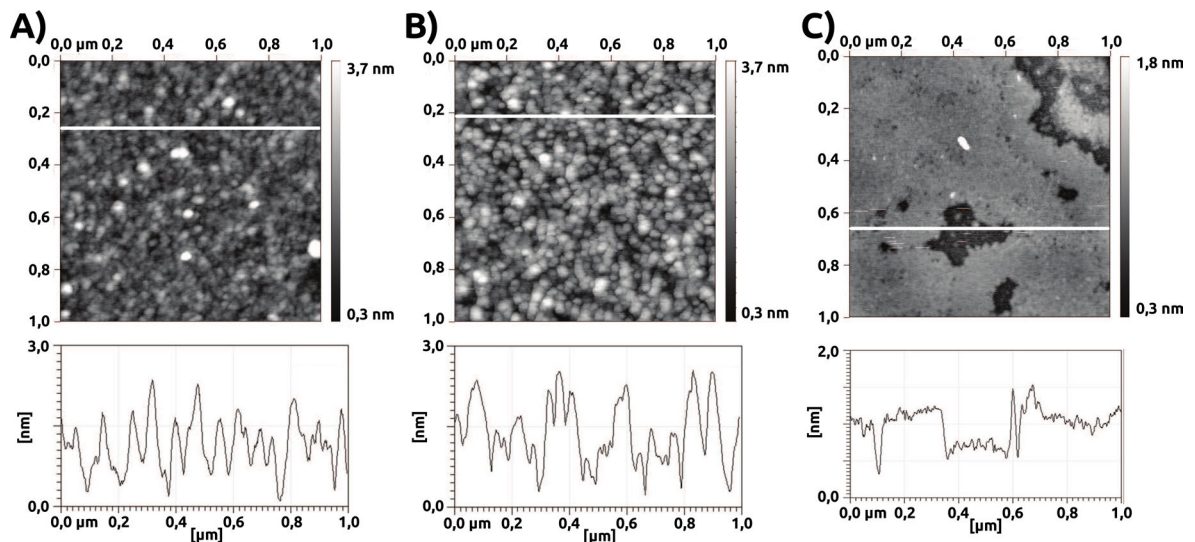


Abbildung 25: Oberflächentopographie (oben) und Höhenprofile (unten) auf Glimmer. A) Pellicel auf Glimmer. B) Ani2/P hergestellt aus einem 1:1 Gemisch einer Ani2-Lösung und Speichel, C) Ani2-Film. Die Aufnahmen erfolgten im Taping-Mode an getrockneten Proben.

5.5 Polymerbürsten

5.5.1 Herstellung der Polymerbürsten

Mit Hilfe der Oberflächenfunktionalisierung von Implantaten durch Polymerbürsten soll, im Hinblick auf schwere Schäden an Zähnen und Knochen, eine Erhöhung der Biokompatibilität^[153,154] erreicht werden. Implantate würden so schneller vom Körper angenommen und in bestehende Strukturen eingebaut werden. Gleichzeitig könnten Entzündungen vermieden werden, die durch am Implantat anhaftende Keime ausgelöst werden. Weiterhin kann eine Oberflächenfunktionalisierung bspw. dazu dienen, Bauteilen selbstreinigende Eigenschaften^[155–157], Schutz vor Korrosion^[157–159] oder geringe Reibung^[157,160,161] zu verleihen.

In Anlehnung an die vorangegangenen Ergebnisse, ist es sinnvoll die Polymerbürsten mit einer ähnliche Architektur bzw. Chemie zu konzipieren, wie die Polymere. Für die Synthese liegt der Fokus auf dem Sulfonsäure-Monomer SPM. Es weist die besten Polymerisationseigenschaften auf und wirkt, zumindest in Form von Ani2 auf Zahnoberflächen adsorbiert, eine kurze Zeit inhibierend auf *Streptococcus gordonii* (Abbildung 24, Seite 77)^[133]. Die Bürsten werden mit Brush1, Brush2 und Brush3 beschrieben, wobei Brush1 und Brush2 sich lediglich durch eine Methylgruppe an der Aminfunktion der Vorläufer unterscheiden. Für Brush1 wird (3-Aminopropyl)trimethoxysilan verwendet, während für Brush2 [3-(Methylamino)propyl]trimethoxysilan verwendet wird. Die Aminfunktion wird jeweils genutzt um im Anschluss einen ATRP-Starter herzustellen, mit dem von der Oberfläche weg polymerisiert wird. Brush3 stellt eine Diblockbürste dar, die aus einem PEO- und einem PSPM-Block aufgebaut ist. Das PEO wird dabei im zweiten Schritt mit einem auf der Oberfläche fixierten 3-Iodopropyl)trimethoxysilan zur Reaktion gebracht und anschließend in einen ATRP-Starter überführt. Die so hergestellten drei verschiedene Polymerbürsten sind in Abbildung 26 mit der schematischen Synthese und vereinfacht in Abbildung 27 dargestellt. Eine genaue Beschreibung der Synthesen kann Kapitel 11.5 – Bürsten (Seite 137) entnommen werden.

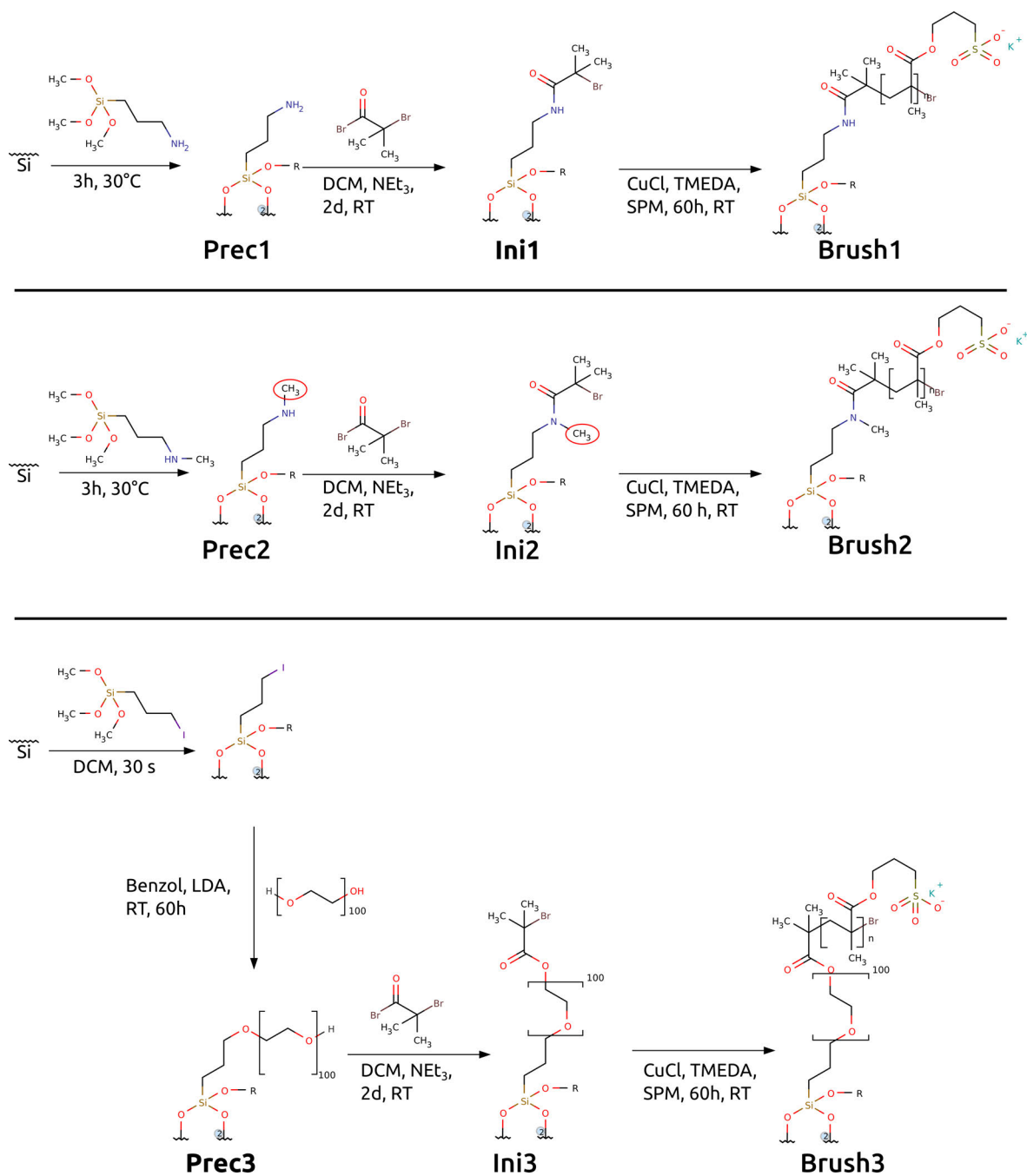


Abbildung 26: schematische Synthese der Polymerbürsten Brush1, Brush2 und Brush3 mit resultierender Struktur.

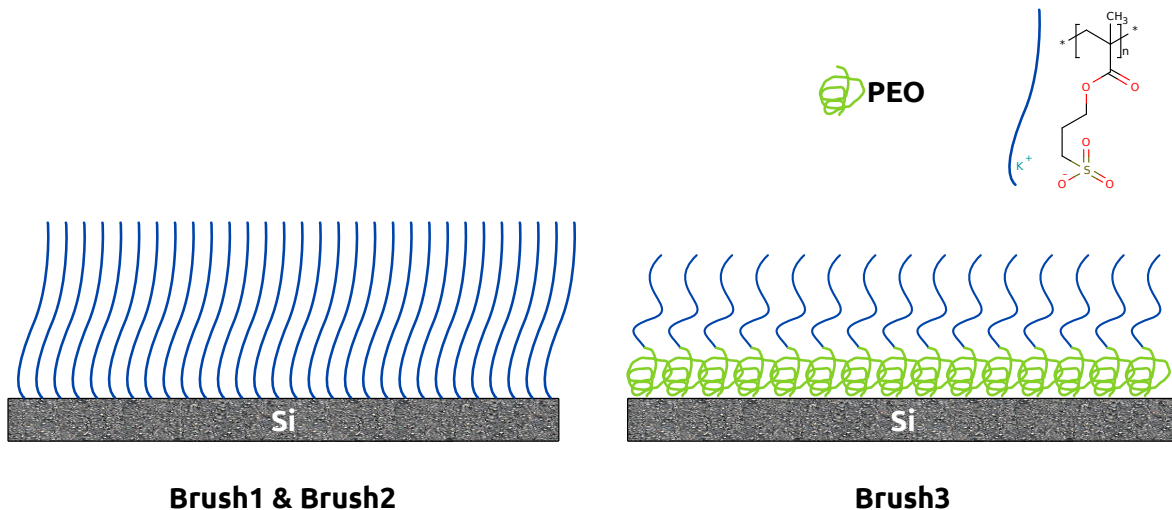


Abbildung 27: Vereinfachte Darstellung der Polymerbürsten. Für Brush1 und Brush2 (links) wird angenommen, dass die einzelnen Polymere sehr dicht beieinander gewachsen sind. Bei Brush3 dagegen liegt das PEO vermutlich als Knäuel vor, weshalb die PSPM-Bürsten weiter voneinander getrennt vorliegen.

Zur Kontrolle der einzelnen Reaktionsschritte werden Kontaktwinkelmessungen mit Wasser durchgeführt – Tabelle 7. Die Vorläufer Prec1 und Prec2 zeigen mit $20 \pm 10^\circ$ eine eher hydrophile Oberfläche. Die Starter Ini1 und Ini2 sind mit $75 \pm 5^\circ$ eher hydrophob. Für Prec3, das im wesentlichen ein auf der Oberfläche fixiertes PEO darstellt (Abbildung 26), werden Kontaktwinkel von $15 \pm 5^\circ$ erhalten. Dieser Wert ändert sich auf $50 \pm 5^\circ$ für Ini3 und zeigt damit einen weniger hydrophoben Charakter als Prec1 und Prec2. Durch Polymerisation werden die PSPM-Bürsten auf den Oberflächen aufgebracht, was bei allen Proben zu einer Änderung des Kontaktwinkels auf $7 \pm 5^\circ$ führt. Es hat sich gezeigt, dass höhere Kontaktwinkel auf Verschmutzungen oder Inhomogenitäten hinweisen.

Die Bestimmung der Schichtdicken erfolgte durch die Rasterkraftmikroskopie (AFM). Dabei wird auf einer Probe mit einer PTFE-Pinzette ein Kratzer verursacht und von dort aus der Höhenunterschied zu der Oberfläche der Polymerbürsten in Form einer Stufe gemessen. Ebenfalls werden mittels AFM-Topographieaufnahmen angefertigt, die die Oberfläche der Bürsten darstellen. Jeweils ein Beispiel der AFM-Aufnahmen ist in den Abbildungen 28 und 29 dargestellt.

Außerdem war es möglich die Schichtdicken durch Ellipsometriemessungen zu bestätigen. Aufgrund der Absorbtionseigenschaften aller hier diskutierten Bürsten, können jedoch nur MSE-Werte (Mean Squared Error) von 4–5 erreicht werden, wohingegen gute Werte für einen MSE unter 1 liegen. Als schnelle Methode zur Bestimmung der Schichtdicke kommt die Ellipsometrie daher nicht infrage, weshalb auf die Darstellung der Daten im folgenden verzichtet wird.

Nicht alle der Bürsten konnten mit der gleichen Ausbeute hergestellt werden. Über alle Schritte hinweg weist Brush3 eine Ausbeute von 50% auf und eine Streuung der Schichtdicken von 30 – 300 nm. Bei Brush1 und Brush2 liegt die Quote einer erfolgreichen Synthese mit 90% bzw. 95 % deutlich höher, wobei reproduzierbar Schichtdicken von 80 bzw. 90 nm erzielt werden konnten. Die hohe Variation und Verlustquote für Brush3 könnte ihre Ursache in der Knäulung des PEO-Blocks haben.

Tabelle 7: Zusammenfassung der Kontaktwinkel, Schichtdicken (AFM) und Erfolgsquote der Herstellung.

Struktur	Prec1	Ini1	Brush 1	Prec2	Ini2	Brush 2	Prec3	Ini3	Brush 3
Kontakt- winkel [°]	20±10	75±5	7±5	20±10	75±5	7±5	15±5	50±5	7±5
Schicht- dicke [nm]			78,3 ±6,1			92,3 ±10,5			30 – 300
Ausbeute			90%			95%			50%

5 Ergebnisse

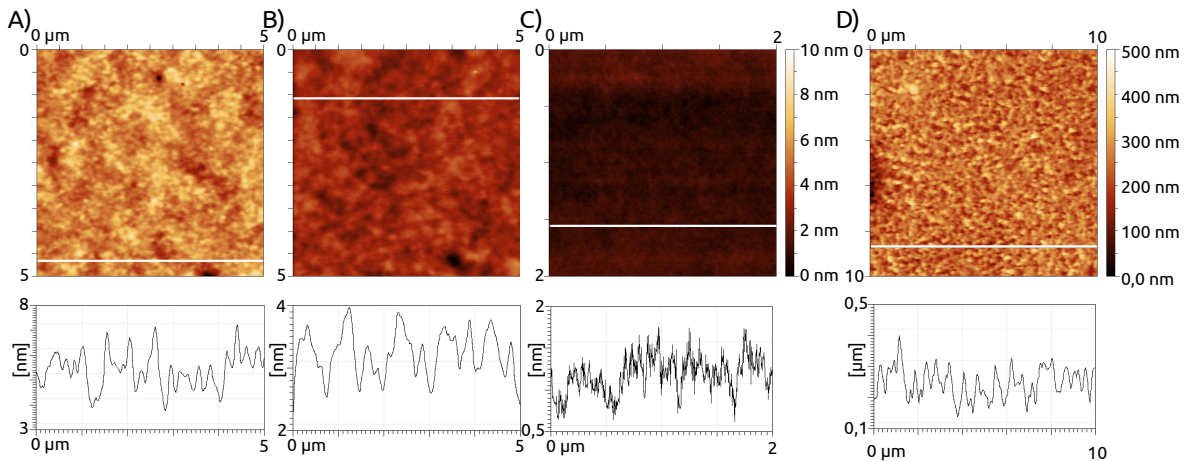


Abbildung 28: AFM-Topographieaufnahmen mit Querschnitten für A) Brush1, B) Brush2, C) Brush3 mit einer Schichtdicke von 30 nm und D) Brush3 mit einer Schichtdicke von 300 nm.

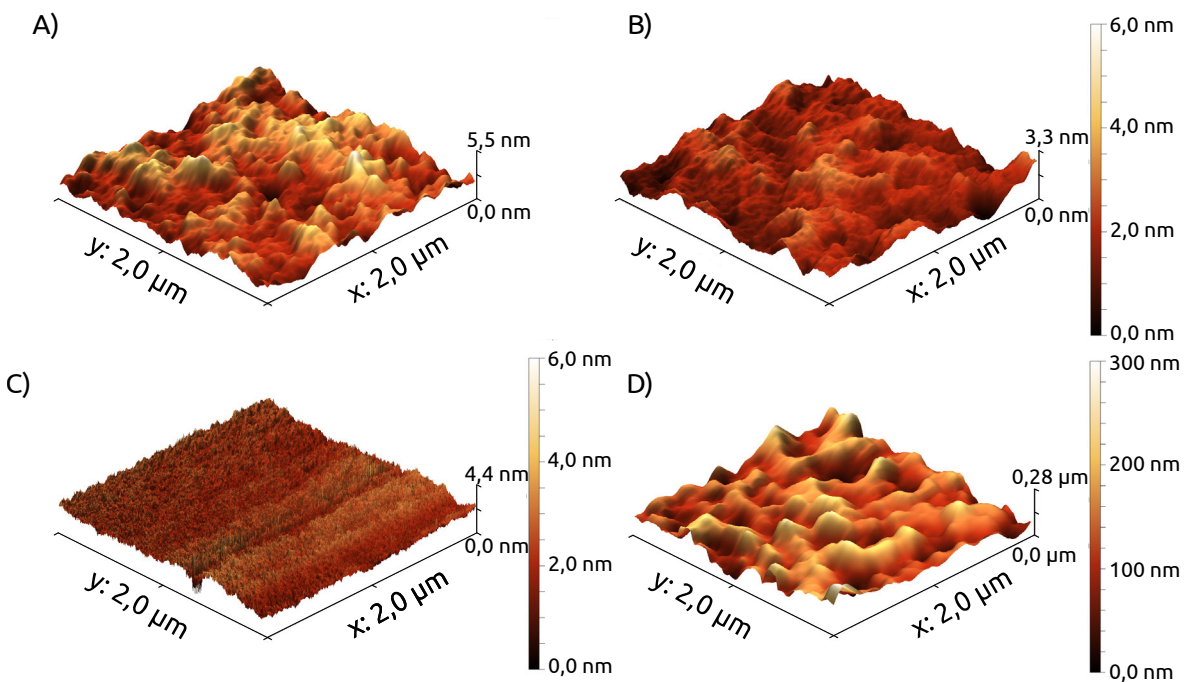


Abbildung 29: 3D AFM-Topographieaufnahmen von A) Brush1, B) Brush2, C) Brush3 mit einer Schichtdicke von 30 nm und D) Brush3 mit einer Schichtdicke von 300 nm.

Zur weiteren Charakterisierung werden Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS) Messungen an den hergestellten Polymerbürsten durchgeführt. In Abbildung 30 werden die IRRAS-Aufnahmen aller Polymerbürsten mit einer FTIR-Aufnahme von Ani1 verglichen. Die Polymerbürsten zeigen alle wichtigen Signale des Grundpolymers. Signale, die den Initiatoren zuzuordnen sind, scheinen zu fehlen, was, wie schon in Kapitel 5.1.1 (Seite 55) erwähnt, ein Indiz für die große Kettenlänge des PSPM ist. Im Falle von Brush3 kann selbst für die 30 nm dicken Polymerbürsten kein PEO-Signal zugeordnet werden. In allen Spektren kann bei 1107 cm^{-1} ein Si–O–Si sowie ein Si–C Signal bei 1263 cm^{-1} gefunden werden. Diese Schwingungen sind für gewöhnlich sehr intensiv^[162–164] und zum einen auf eine Siliziumoxidschicht und zum anderen auf die Prec1, Prec2 bzw. dem Vorläufer von Prec3 auf den Wafern zurückzuführen.

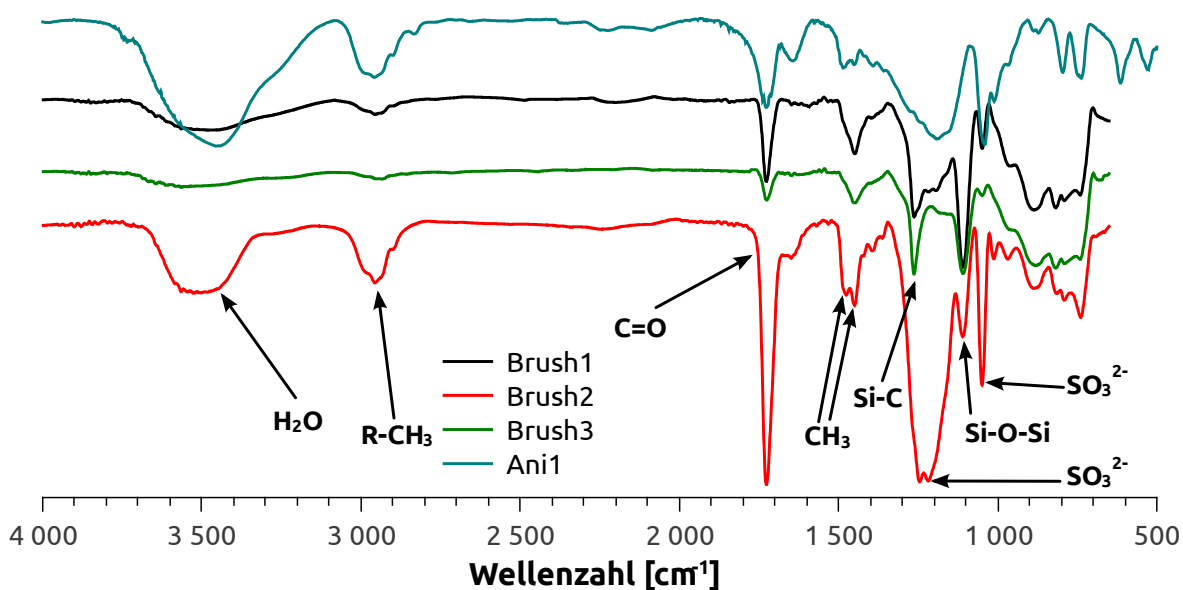


Abbildung 30: IRRAS-Aufnahmen der Polymerbürsten Brush1, Brush2 und Brush3 sowie ein Vergleichsspektrum von Ani1 aufgenommen als FTIR.

5.5.2 Polymerbürsten zur biomimetischen Calciumphosphatmineralisation

Die Polymerbürsten sind potentielle Materialien für die Beschichtung von Implantaten. Es wird daher untersucht, ob durch sie das Wachstum von Hydroxylapatit oder eines seiner Vorläufer gefördert werden kann. Hierzu werden die Polymerbürsten mehrmals mit einer 2SBF-Lösung über 24 Stunden mineralisiert. Eine genauere Beschreibung wird in Kapitel 11.5.6 – Mineralisierung der Bürsten (Seite 140) gegeben. Die erhaltenen mineralisierten Polymerbürsten werden mit Min1, Min2 und Min3 bezeichnet, wobei die Nummern auf die jeweiligen Polymerbürsten Brush1, Brush2 und Brush3 hinweisen, so geht etwa Min1 aus Brush1 hervor.

Versuche, die Proben mittels SEM und EDX zu untersuchen schlugen aufgrund der starken elektrischen Aufladung der Proben fehl. AFM-Aufnahmen, die ebenfalls der morphologischen Untersuchung dienen, scheiterten an den zu rauen Oberflächen der Proben. Detailliertere Aussagen zur Morphologie sind daher nicht möglich, die Proben erscheinen jedoch optisch homogen.

Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) wird verwendet, um die Zusammensetzung der Oberflächen der gebildeten Minerale zu untersuchen. Insbesondere das Ca/P-Verhältnis kann dabei genutzt werden, um die Calciumphosphate zu identifizieren^[100,102,165]. Tabelle 8 gibt die Zusammensetzung der Proben wieder. Die dazugehörigen Bindungsenergien können A 22 auf Seite 164 entnommen werden. In allen Proben ließen sich Calcium, Schwefel in Form von Sulfat, Phosphor in Form von Phosphat, Kohlenstoff in Form von C-H- und C-O/C-N-Verbindungen sowie Sauerstoff in Form von P-O-, C=O-, SiO_x-, und O=C-O-Verbindungen nachweisen. In Min3 konnte zudem Silizium als Si₀ und SiO_x gefunden werden, was für eine etwas geringere Schichtdicke des gebildeten Minerals spricht. Dazu wurden in allen Proben Spuren von Natrium und Magnesium nachgewiesen. Die Ca/P-Verhältnisse der Proben Min1 und Min3 liegen bei 1,9 wohingegen bei Min2 ein Ca/P von 1,5 erreicht wird. Min1 und Min3 liegen somit über dem für HAP erwarteten Wert von 1,67.

Durch die Röntgenphotoelektronenspektroskopie können ebenfalls Querschnittmessungen einer Probe durchgeführt werden. Dazu wird ein Spektrum der Oberfläche aufgenommen und anschließend durch den Beschuss mit Ar^+ -Ionen Probenmaterial abgetragen. Dieser Vorgang wird Sputterabtrag genannt. Anschließend wird auf dem nun vorhandenen Kraterboden erneut ein Spektrum aufgezeichnet und der Vorgang wiederholt. Diese Technik kann, neben dem Erstellen von Querschnitten der Elementverteilung, auch verwendet werden, um die Schichtdicke einer Probe zu bestimmen. Dazu wird jedoch im Vorfeld großes Wissen um die Beschaffenheit der Probe benötigt, wie etwa Kristallinität, Topographie und Sublimationsenergien^[166]. In Abbildung 31 werden die Tiefenprofile der mineralisierten Polymerbürsten dargestellt. In allen Proben nimmt der Schwefelgehalt mit zunehmender Probentiefe zu, sodass dieser sehr wahrscheinlich den Polymerbürsten zuzuordnen ist. In den beiden Proben Min1 und Min2, auf deren Oberfläche kein Silizium gefunden wurde (siehe Tabelle 8), wird dieses bereits nach kurzem Sputterabtrag detektiert. Der gemessene Anteil an Silizium nimmt in allen Proben mit der Probentiefe zu und erreicht Werte über 40%. Der Sauerstoffgehalt der Proben zeigt ein entgegengesetztes Verhalten. Er fällt in allen Proben auf die Hälfte des detektierten Höchstwertes ab. In Min1 und Min2 ist jedoch am Anfang des Tiefenprofils ein Anstieg zu beobachten. Für den gemessenen Kohlenstoffgehalt wird ein Abfall am Anfang des Tiefenprofils deutlich, danach sinkt er nur noch langsam.

Um die Homogenität des mineralisierten Materials zu überprüfen, kann aus den Tiefenprofilen das Ca/P-Verhältnis als Funktion der Sputterzeit aufgetragen werden. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 32 zu finden. Das einheitlichste Mineral wurde demzufolge bei Min1 erreicht. Das Ca/P ist über die gesamte Tiefe zwischen 1,9 und 2 und damit im Erwartungsbereich von Carbonat-substituiertem Hydroxylapatit (CHAP). Sehr viel inhomogener verlief die Mineralisation bei Min2. Hier lässt sich ein Wechsel von CHAP zu HAP ausmachen, da der Sputterabtrag entgegen der Mineralisationszeitachse erfolgt. Die Mineralisation startet an der Basis der Polymerbürsten und setzt sich, den Bürsten folgend, nach außen hin fort. Der Sputterabtrag dagegen muss in umgekehrter Richtung erfolgen. Der Ca/P steigt in Min2 entsprechend von 1,5 auf der Oberfläche, im Verlauf des Tiefenprofils auf 2,2

5 Ergebnisse

an, fällt jedoch am Ende wieder auf 2,0 ab. Es wurde also erst CHAP gebildet und anschließend HAP. In Min3, das an der Oberfläche eine sehr gute Übereinstimmung mit CHAP zeigte, sinkt der Ca/P im ersten drittel des Tiefenprofils sehr schnell auf 1,3 ab, steigt anschließend jedoch wieder auf etwa 1,6 an. Im zweiten Drittel wird ein konstantes Verhältnis um 1,6 erhalten, welches im letzten Drittel auf 1,2 abfällt.

Tabelle 8: Durch XPS bestimmte Zusammensetzung der Oberflächen der mineralisierten Polymerbürsten. Es resultieren daraus die Ca/P-Werte Min1=1,92, Min2=1,50 und Min3=1,93. Die in der zweiten Zeile dargestellten Parameter wie Si-2p3 benennen die Rumpforbitale deren Bindungsenergien bestimmt wurden. Die Rohspektren sind dem Anhang A 22, 23 und 24 auf Seite 164) zu entnehmen.

Probe	Si ⁰	SiO _x	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	C-H	C-O / COO C-N	Ca ²⁺	SiO _x , C=O, PO ₄ ³⁻	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{O} \end{array}$		
	Si-2p3	Si-2p	P-2p3	S-2P3	C-1s	C-1s	C-1s	Ca-2p3	O-1s	O-1s	O-1s
At%											
Min1			4,95	6,02	27,63	6,75	4,47	9,48	16,85	18,31	5,54
Min2			6,68	4,55	25,81	6,58	4,14	10,04	18,85	17,84	5,50
Min3	4,17	1,41	4,59	5,23	24,50	7,05	4,65	8,85	15,59	18,39	5,56
Peak BE [eV]											
Min1			133,3	168,4	285,1	286,4	289,0	347,7	531,3	532,3	533,6
Min2			133,4	168,5	285,2	286,5	289,0	347,7	531,3	532,3	533,6
Min3	99,2	102,9	133,2	168,5	285,2	286,5	289,0	347,7	531,3	532,3	533,6

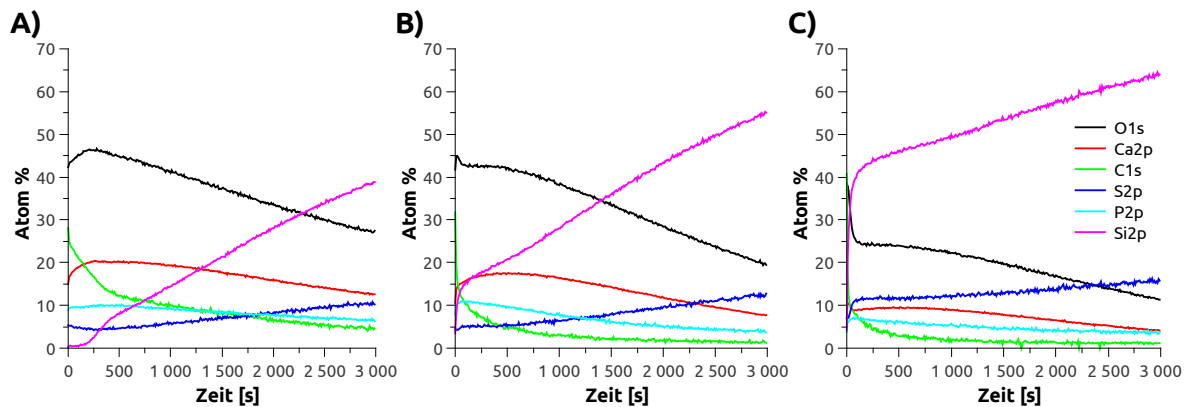


Abbildung 31: XPS-Tiefenprofile der mineralisierten Wafer A) Min1, B) Min2 und C) Min3.

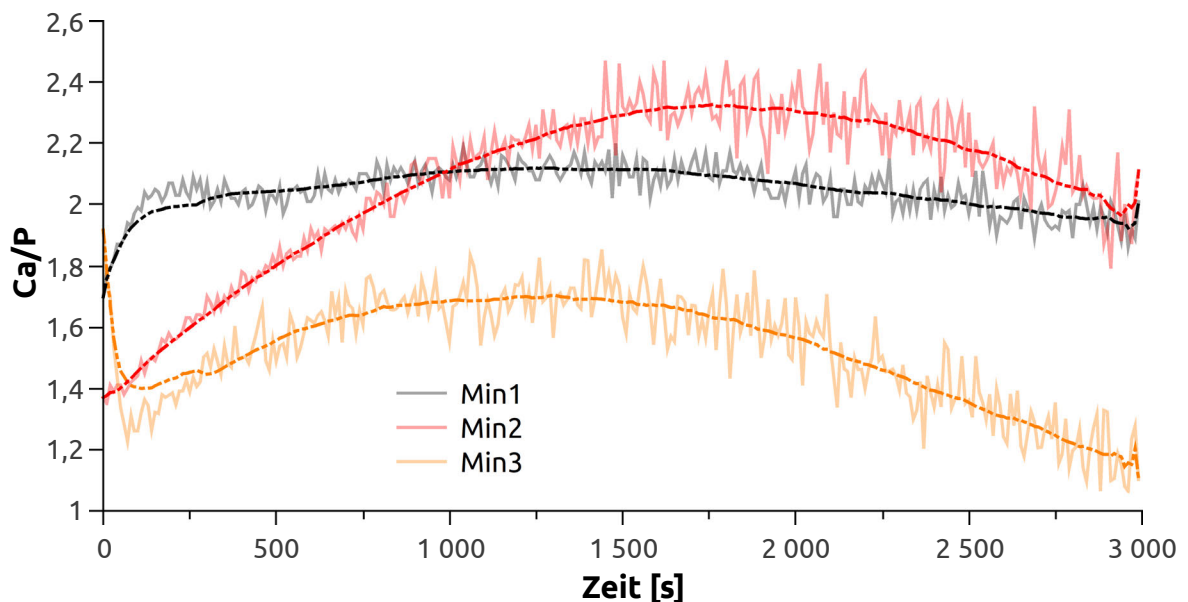


Abbildung 32: Ca/P-Verhältnisse der Proben über ihren Querschnitt. Als Strich-Punkt-Linien dargestellt die Glättungen, ermittelt via gleitenden Mittelwert.

Zur weiteren Charakterisierung wurden die mineralisierten Polymerbürsten durch IRRAS untersucht. Diese Technik ist besonders gut für dünne Schichten geeignet, da die Infrarotstrahlung erstens von der Oberfläche unterhalb der Probenschicht reflektiert wird. Hierdurch passiert der Strahl die Probe zweimalig. Zweitens kann bei sehr hohen Winkeln zum Lot gemessen werden (quasi-streifend), wodurch der Weg der Infrarotstrahlung durch das Probenmaterial ebenfalls

verlängert wird. Abbildungen 33 zeigt das Spektrum einer Min1-Probe. Das breite Signal, das bei einer Wellenzahl von 1107 cm^{-1} zu finden ist, kann der $\nu^3\text{-PO}_4^{3-}$ -Schwingung^[9,167,168] zugeordnet werden. Zu beachten ist hier, dass eine Si–O–Si-Schwingung ebenfalls an dieser Stelle auftreten kann. Für Brush1, Brush2 und Brush3 war dieses Signal jedoch stets in ähnlicher Intensität feststellbar, wie die Schwingungen der Polymerbürsten. Im Falle von Min1 (Abbildung 33) lassen sich diese anhand von zwei Schultern bei 1043 cm^{-1} und 1190 cm^{-1} für SO_3^- , und einer C=O-Bande bei 1726 cm^{-1} wieder finden. Da diese sehr klein sind, kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei dem Signal bei 1107 cm^{-1} primär um eine Schwingung des Phosphats handelt. Dessen Maximum ist durch die darunterliegenden SO_3^- und Si–O–Si-Schwingungen verschoben. Des Weiteren können die Signale bei 1445 cm^{-1} und 893 cm^{-1} den ν^2 - und ν^3 -Schwingungen des CO_3^{2-} zugeordnet werden^[167,168]. Die große Breite der ν^2 -Schwingung und die Form der ν^3 -Schwingung deuten dabei auf ein im Kristalltyp AB kristallisierten Carbonat-substituierten Hydroxylapatit (CHAP) hin. Für Min2 (Abbildung 34) wird ebenfalls die $\nu^3\text{-PO}_4^{3-}$ -Schwingung bei 1109 cm^{-1} gefunden, jedoch treten die SO_3^- und Si–O–Si-Signale etwas mehr in den Vordergrund, wodurch sich zwei Maxima ergeben. In Übereinstimmung dazu, ist die C=O-Schwingung bei 1726 cm^{-1} ebenfalls etwas ausgeprägter. Darüber hinaus lassen sich Schwingungen des Carbonats erkennen. Hier können sogar die einzelnen ν^2 -Schwingungen des AB-Typ CHAP mit 871 cm^{-1} für den B-Typ und 903 cm^{-1} für den A-Typ des CO_3^{2-} zugeordnet werden. Unterstützt wird dies durch die Form der $\nu^3\text{ CO}_3^{2-}$ -Bande bei 1416 cm^{-1} . Abbildung 35 stellt die IRRAS-Aufnahmen von Min3 dar. Im Vergleich zu Min1 und Min2 sind hier die Carbonatbanden bei 1490 cm^{-1} und 862 cm^{-1} sehr viel dominanter. Die ν^3 -Schwingung des CO_3^{2-} ist indes sogar stärker als die sehr breite Phosphatbande bei 1043 cm^{-1} ausgeprägt. Da es sich hierbei ebenfalls um einen AB-Typ CHAP mit größerem Carbonatgehalt handelt, kann nur vermutet werden, da die beiden Banden sehr breit sind. Ebenso erkennbar sind Schultern an der Phosphatbande, die auf SO_3^- - und Si–O–Si-Schwingungen zurückzuführen sind.

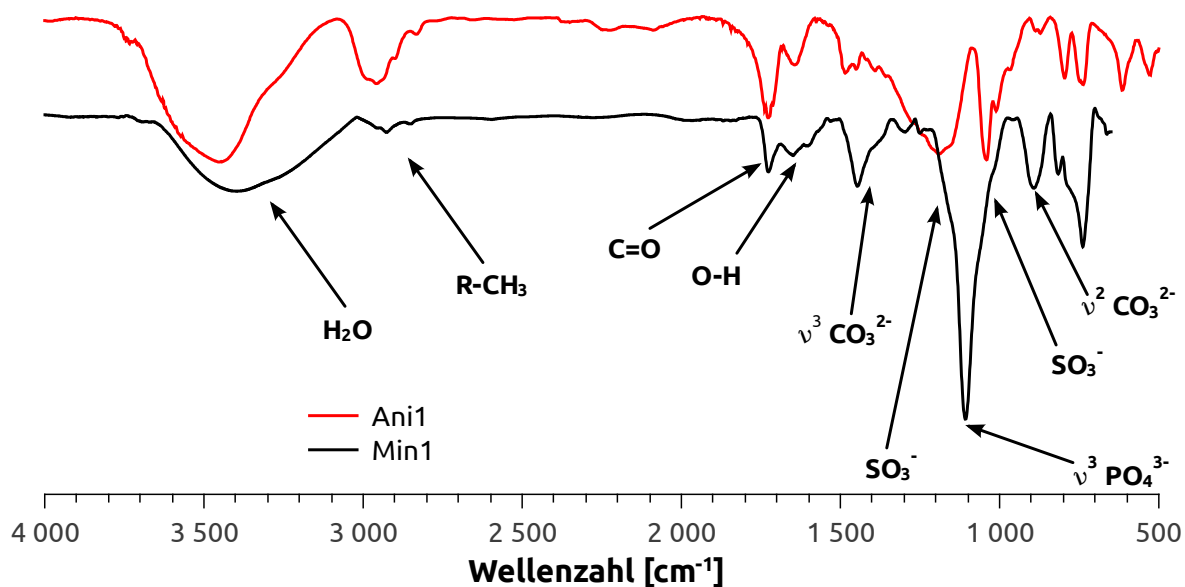


Abbildung 33: IRRAS-Aufnahmen der mineralisierten Polymerbürste Min1 im Vergleich mit dem Grundpolymer Ani1, das bereits in Abbildung 30 (Seite 85) für die Vergleiche mit Brush1, Brush2 und Brush3 herangezogen wurde.

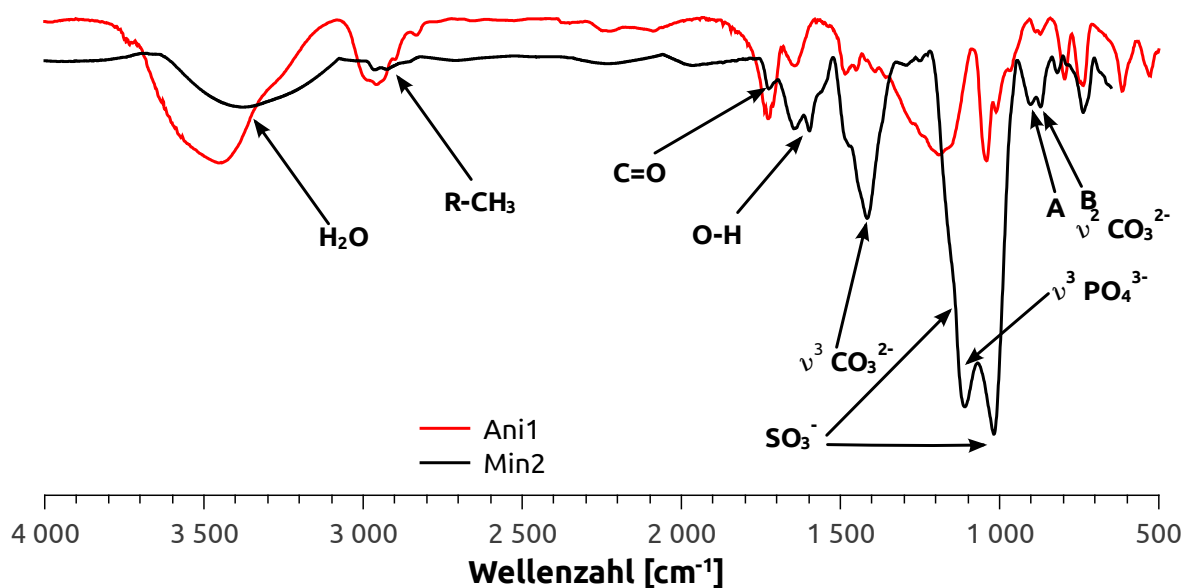


Abbildung 34: IRRAS-Aufnahmen der mineralisierten Polymerbürste Min2 im Vergleich mit dem Grundpolymer Ani1, das bereits in Abbildung 30 (Seite 85) für die Vergleiche mit Brush1, Brush2 und Brush3 herangezogen wurde.

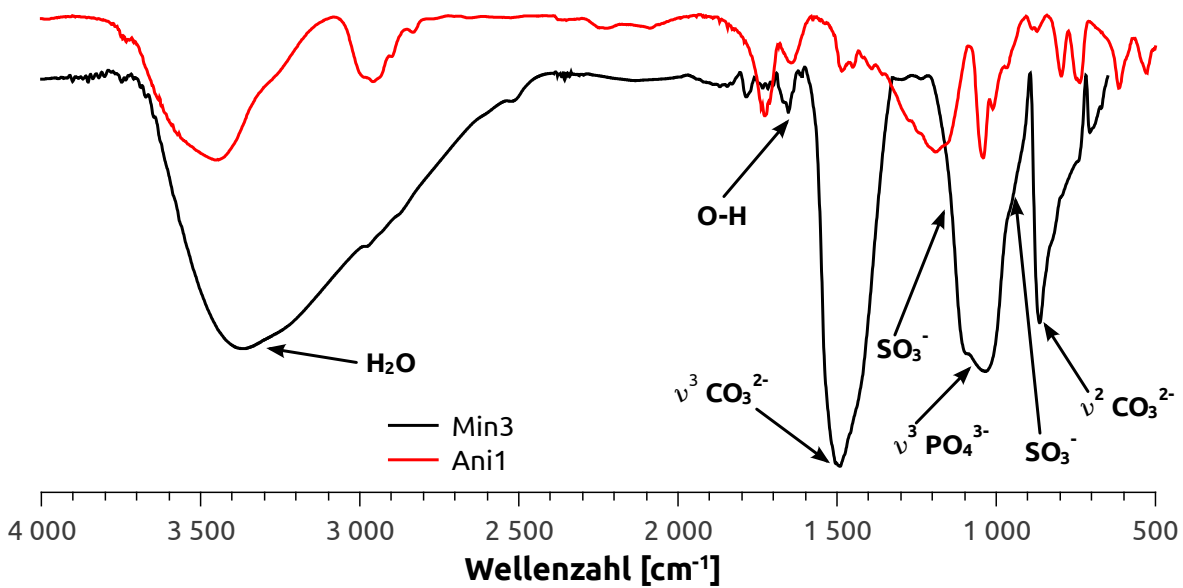


Abbildung 35: IRRAS-Aufnahmen der mineralisierten Polymerbürste Min3 im Vergleich mit dem Grundpolymer Ani1, das bereits in Abbildung 30 (Seite 85) für die Vergleiche mit Brush1, Brush2 und Brush3 herangezogen wurde.

5.5.3 Zellverträglichkeit

Um eine mögliche Verwendung der mineralisierten und unmineralisierten Polymerbürsten als Beschichtung für Implantate zu untersuchen, wurden Cytotoxizitätstests mit dem AX2-Stamm der *Dictyostelium discoideum* Amöben durchgeführt. Diese Zellen stellen ein etabliertes Modellsystem für eukaryotische Zellen dar^[169,170]. Als Parameter für die Zellgesundheit dienen die Zellmorphologie sowie das Vorhandensein und die Verteilung von Aktin und Mikrotubuli Cytoskelett nach 60-stündiger Inkubationszeit. Zur Visualisierung wurde die Fluoreszenzmikroskopie genutzt. Aktin fluoresziert dabei grün, da es durch Expression mit einem grün fluoreszierenden Protein (GFP), GFP-Limdeltacoil Fusionsprotein, welches durch die Amöben synthetisiert wird, markiert ist. Die Anfärbung erfolgt mit dem Farbstoff Phalloidin-AlexaFluor-543. Das alpha-Tubulin der Zellen wurde mit dem monoklonalen YL1/2-Antikörper und dem anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 in rot sichtbar gemacht. Die Zellkerne wurden durch 4',6-diamidino-2-phenylindol Dihydrochlorid (DAPI) blau markiert.

Die Abbildung 36 sowie Anhang A 25-30 zeigen, dass *Dictyostelium discoideum* sowohl auf den Polymerbürsten (Brush1-3) als auch auf den mit Calciumphosphat mineralisierten Polymerbürsten (Min1-3) über eine längere Zeit überleben können. Die Zellen zeigen keine deutlich erkennbare Veränderung der Kernmorphologie oder abnorme Verteilung des Aktins, der Mikrotubuli auf. Ob die Zellen neben der leichten morphologischen Veränderung auch anderweitig beeinträchtigt werden, muss durch Reproduktionstests festgestellt werden.

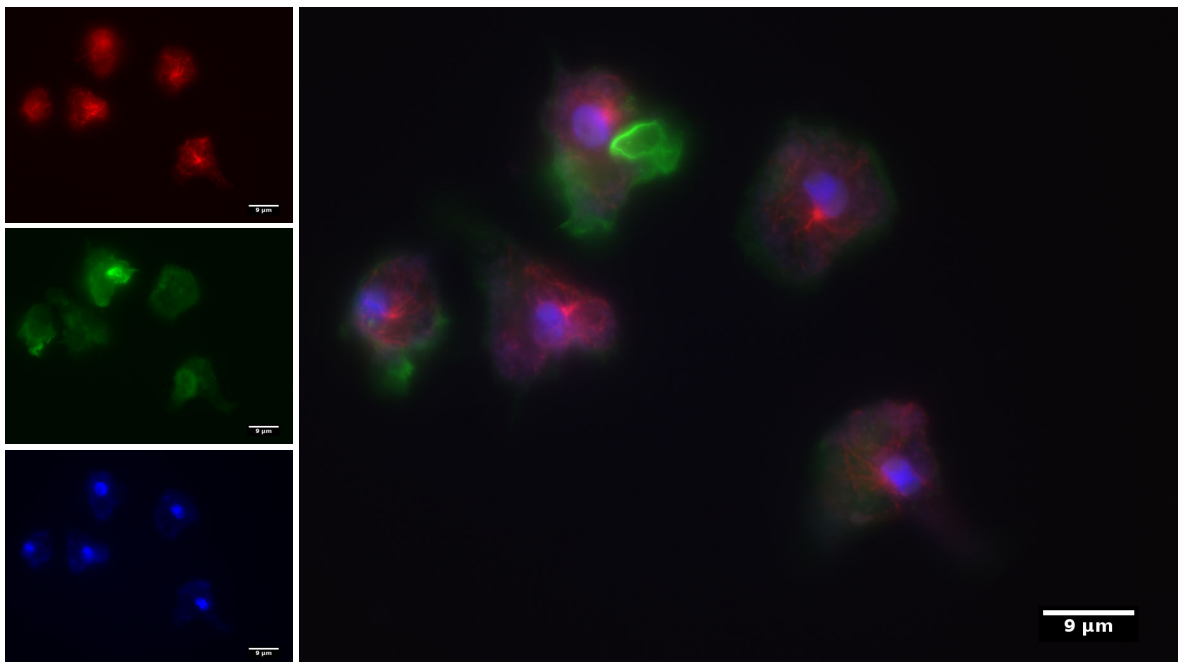


Abbildung 36: *Dictyostelium discoideum* Amöben auf der Oberfläche von Min3. Links die einzelnen Fluoreszenzmarker und rechts deren Kombination. In Grün autofluoreszierendes GFP und mit Phalloidin-AlexaFluor-543 markiertes Aktin, in Rot Tubulin mit YL1/2 und anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 und in Blau mit DAPI markierte Zellkerne. Der Maßstab entspricht in allen Aufnahmen 9 μm .

6 Diskussion

In biologischen Systemen sind beim Aufbau von mineralhaltigen Strukturen wie Zähnen, Knochen oder Stacheln stets auch Makromoleküle in Form von Proteinen beteiligt. Für eine bioinspirierte Mineralisation und Demineralisation von Calciumphosphaten stellen synthetische Polymere daher wichtige Additive dar, um diese Systeme nachempfinden zu können. Der Großteil der vorangegangenen Forschung konzentriert sich dabei auf negativ geladene Polymere oder Copolymere. Studien zu positiv geladenen Polymeren sind sehr viel seltener, Daten zu Polyampholyten und -betainen bisher kaum vorhanden.

In der vorliegenden Arbeit wird die Synthese von anionischen, kationischen, ampholytischen und betainischen Polymeren, die in reinem bzw. isotonischem Wasser löslich sind, beschrieben. Weiterhin wird ihr Einfluss auf die Mineralisation und Auflösung von Calciumphosphat näher betrachtet. Zusätzlich wurden die anionischen Polymere auf ihre Wirkung hin untersucht, die Biofilmbildung durch *S. gordonii* zu beeinflussen. Dieses auf menschlichem Zahnschmelz lebende Bakterium ist an den ersten Schritten der Biofilmbildung beteiligt. Außerdem wird die Synthese und Mineralisation von anionischen Polymerbürsten beschrieben, diese wurden auf ihre Bioverträglichkeit mit eukaryotischen Zellen in Form von *Dictyostelium discoideum* Amöben getestet.

Zur Polymerisation wurde eine kontrollierte freie radikalische Polymerisation (*controlled free radical polymerization*) als ATRP durchgeführt. Dies resultierte in allen Fällen in sehr hohen Molekulargewichten der Polymere und Ausbeuten zwischen 9% und 90%. Die alleinige Anwesenheit der kationischen Monomere, TMAEMA und CPDAMEMA/Cl, scheint die Geschwindigkeit der Polymerisation dramatisch einzuschränken. Eine Ursache für diese Beobachtung könnte, wie in Abbildung 15 dargestellt, in der hohen Chloridkonzentration liegen, die zu einer Deaktivierungsreaktion führt. Dieser Sachverhalt müsste jedoch weitergehend untersucht werden. Besonders deutlich wirkt sich dies bei der Verwendung der großen Makroinitiatoren MI3 und MI5 aus. Für MI3 kann bei alleiniger Verwendung der kationischen Monomere kein Polymer und für MI5 nur geringe Mengen Polymer

isoliert werden. Im Gegensatz dazu scheint die Polymerisation bei Anwesenheit negativer Ladungen durch das Sulfonsäure- und Betainmonomer beschleunigt zu sein. Die gleichen Beobachtungen machte die Gruppe um Matyjaszewski^[119,121,123] für ATRP in Wasser. Die starke Polarität des Wassers führt dazu, dass der Halogenidligand am Übergangsmetall durch Wassermoleküle substituiert wird und demnach keine Deaktivierung erfolgen kann. Im Falle der Polyampholyten ist die Chloridkonzentration geringer und es kommt zu einer Präorganisation der gegensätzlich geladenen Monomere zu Kontaktionenpaaren wie sie bereits Salamone^[130] beobachtet hat. Die Molmassen der Polymere wurden mit verschiedenen Methoden bestimmt. Für die anionischen Polymere konnten GPC, GPC-LS, AUC, AF4, SLS durchgeführt werden, wobei alle übereinstimmende Molmassen lieferten (Tabelle 2). Das anionische Polymer Ani4 ist polydispers und enthält eine kleinere Fraktion einer kürzeren Spezies. Bei dieser könnte es sich um den Makroinitiator MI3 oder ein Triblockcopolymer mit nur wenigen PSPM-Einheiten handeln, die mittels diverser Aufreinigungsmethoden nicht entfernt werden konnten.

Für die Molmassencharakterisierung der kationischen, ampholytischen und betainischen Polymere wurden ebenfalls verschiedene Methoden verwendet (GPC, GPC-LS, AUC, AF4, SLS, ¹H NMR), jedoch lieferte nur die ¹H NMR-Spektroskopie belastbare Ergebnisse für einen Großteil der Polymere. Die NMR-Spektroskopie belegt zudem, dass die Polymere sehr große Molmassen aufweisen und der größte Anteil von den ionischen Blöcken beigetragen wird. Eine Analyse durch GPC konnte nur für die rein kationischen Polymere durchgeführt werden. Bei den anderen Polymeren kommt es zu starken Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial. Mittels AF4-Techniken konnten die Molmassen für acht Polymere bestimmt werden. Alle anderen Polymere führen zu starken Verschmutzungen der verwendeten Membranen, was auf ausgeprägte Wechselwirkungen zurückzuführen ist. Die SLS lieferte uneindeutige Ergebnisse, was auf geringe dn/dc zurückgeführt werden kann. Dies signalisiert das Auftreten von mindestens zwei Spezies während der Analysen, was wahrscheinlich durch die partielle Aggregation der Polymere verursacht wurde. Es ist

durchaus bekannt, dass stark hydrophile Blöcke, wie die hier untersuchten in wässrigen Lösungen aggregieren können^[171–174]. Zusätzlich wurde die chemische Zusammensetzung aller Polymere durch NMR-(Anhang 4-9, Seite 152) und IR-Spektroskopie (Anhang 10-15, Seite 155) sowie Elementaranalysen (Tabelle 3) untersucht.

In den Mineralisationsexperimenten konnte gezeigt werden, dass alle geladenen Polymere dieser Studie, verglichen mit Kontrollproben, die kein Additiv enthalten, die Calciumphosphatmineralisation hemmen. Überraschenderweise ist die Effizienz dieser Verzögerung für anionische, kationische, ampholytische und betainische Polymere gleich – Abbildung 17, Seite 61. Eine noch stärkere Verzögerung zeigen lediglich die drei Polymere, C2^{CN}, C3^{CN} und Ani4. Der retardierende Effekt scheint daher nicht auf die Ladungen der einzelnen Polymere zurückzuführen zu sein, sondern vielmehr auf kinetische Effekte. Eine Erklärung könnte die Anreicherung von entgegengesetzt geladenen Ionen an den Polymeren sein. Im Fall der Kationen werden Phosphationen angereichert, die unter Umständen von vorhandenen Calciumionen abgeschirmt sind. Die Mineralisation wird so verzögert. Anionische Polymere würden demnach Calciumionen anreichern, diese aber von Phosphationen abschirmen. Im Fall der ampholytischen und betainischen Polymere werden zwar sowohl Calcium- als auch Phosphationen angereichert, jedoch stimmt das Verhältnis nicht mit einem der HAP-Vorläufer überein. Eine weitere Erklärung könnte ein starker stabilisierender Effekt der Polymere auf frühe Stadien der Nukleation sein. Kleine nanometergroße Cluster, die durch die Trübungsmessungen weniger detektiert werden, könnten unmittelbar nach ihrer Entstehung eine sterische Stabilisierung erfahren. Die Polymere schirmen die Cluster solange ab, bis der chemische Druck, in Form der Calciumkonzentration, hoch genug ist, um das Wachstum und die Aggregation einzuleiten. Dies könnte durch eine Komplexierung der Calciumionen durch anionische Gruppen oder elektrostatisch durch kationische Gruppen erfolgen.

In guter Übereinstimmung mit dem eben beschriebenen Sachverhalt wird bei Anwesenheit der Polymere, unabhängig von der Polymerchemie, die gleiche Kristallphase erhalten. Durch XRD kann in allen Fällen HAP als Produkt gefunden werden. Überdies weisen die Niederschläge, mit einer Ausnahme, ein Ca/P Verhältnis von 1,33 bis 1,53 auf, was auf calciumdefizitäres HAP hinweist. Das ist insofern interessant, als dass die Ladung der Polymere keinen Einfluss auf die gebildete Kristallphase oder die verzögerte Mineralisation zu haben scheint. Übereinstimmend mit der Literatur^[175,176] liegt es daher nahe, dass der pH-Wert die Bildung des Calciumphosphats dominiert. Für alle Polymere weisen die EDX- und XRD-Daten auf eine Umwandlung von einem amorphen Vorläufer oder einem *polymer-induced liquid-precursor* (PILP) zu HAP hin. Das ist auch der Grund für das schlechte Signal-Rausch-Verhältnis und die breiten Reflexe, die auf schlecht geordnete Produkte hinweisen. Zustande kommt dies durch eine unvollständige Umwandlung der amorphen Phase oder des PILP zu HAP.

Ein weiterer Aspekt, der hier aufgezeigt werden konnte, ist der Einfluss der Polymere auf die Morphologie des gebildeten Calciumphosphats. Bei Anwesenheit der anionischen Polymere werden relativ einheitliche sphärische Partikel mit verhältnismäßig schmaler Verteilung erhalten (etwa 20% im besten Fall, Abbildung 20, Seite 67). Die etwas breitere Größenverteilung der Partikel bei Anwesenheit von Ani4 kann vermutlich darauf zurückgeführt werden, dass dieses Polymer eine bimodale Größenverteilung aufweist. Daraus resultiert auch ein größerer PDI. Im Gegensatz dazu werden für die weiteren kationischen, ampholytischen und betainischen Polymere sehr viel kleinere, aber immer noch untereinander einheitliche, Partikel gebildet. Dieser Befund unterscheidet die untersuchten geladenen Polymere von den Vergleichsproben, in denen weniger einheitliche Partikel erhalten worden sind. Die Ladung der Polymere scheint somit einen Einfluss auf die Formgebung, nicht aber auf die Kristallphase, die verzögerte Nukleation oder das Wachstum zu haben. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine elektrostatische Wechselwirkung der Oberfläche der gebildeten Niederschläge mit den geladenen Gruppen der Polymere sein. Die Gruppe um Helga Füredi-Milhofer^[177] fand heraus,

dass sich an der Oberfläche von ACP, welches meist zuerst gebildet wird, sowohl negative als auch positive Polyelektrolyte anlagern können. Sie spekulierten zudem, dass durch diese Polymerschicht eine sekundäre Nukleation eingeleitet würde, indem die zum Polymer gegensätzlich geladenen Ionen angereichert werden. Dieser Prozess verläuft für das größere Phosphat weniger effizient, als für das Calcium.

Diese These unterstützt die Ergebnisse dieser Arbeit, in der Polyelektrolyte mit positiven Ladungen eher zur Bildung kleinerer Partikel führen. Die XRD-Daten legen nahe, dass sich gebildetes ACP während der Titrations- und Mineralisationsversuche ganz oder teilweise in eine Apatitform umgewandelt haben muss. Daher sollte die leicht negativ geladene Oberfläche von HAP^[69] mit in die Überlegungen einbezogen werden. Polymere mit positiv geladenen Gruppen können von der HAP-Oberfläche angezogen werden und die HAP-Partikel somit stabilisieren. Anschließend würde auch hier das Phosphat in der Nähe des Polymers angereichert. Dadurch werden sehr viele Partikel gleichzeitig stabilisiert, die später, durch ihre relative Nähe zueinander, schnell aggregieren können. Für die rein anionischen Polymere liegt eine gegenteilige Situation vor. Die gebildeten Partikel werden vom Polymer abgestoßen und destabilisiert, da sie die gleiche Ladung aufweisen. Um die Destabilisierung zu minimieren, werden Kugeln gebildet, da diese das kleinste Oberfläche-Volumen-Verhältnis haben und sich keine Ladungen an Ecken und Kanten konzentrieren. Größere Kugeln minimieren die Oberfläche zusätzlich, wobei der maximal mögliche Radius eine Funktion der Kettenlänge ist^[178,179]. Die betainischen und ampholytischen Polymere können dieses Verhalten nicht zeigen, weil die Interaktion der kationischen Gruppen zu überwiegen scheint.

Neben dem Einfluss auf die Mineralisation wurde der Einfluss der Polymere auf die HAP-Auflösung untersucht. Diese Wechselwirkung zwischen Polymer und Oberfläche ist zum Beispiel bei der Anwendung als Zahnpflegeprodukt wichtig. Allgemein führt die Verwendung der PEO Polymere zu keinem Effekt oder im Fall des größten, PEO100k, zu einer Verringerung der Auflösung. Eine mögliche Ursache hierfür könnte in einer größeren Wechselwirkung mit der Oberfläche über Wasserstoffbrücken sein. Ähnliches wurde von Rubio und Kitchner^[178] mit Silica und Shen^[179] mit Montmorillonite, einem Schichtsilikat, beobachtet. Analog zu diesen

Arbeiten würde die PEO-HAP-Wechselwirkung zwischen den protonierten Phosphatspezies und den freien Elektronenpaaren des Sauerstoff realisiert. Mit steigender Kettenlänge wird diese Interaktion effizienter und so eine Art „Schutzfilm“ auf der Oberfläche aufgebaut. Der Einsatz der geladenen Polymere führt dagegen zu einer steigenden Freisetzung von Calciumionen aus den HAP-Partikeln mit steigendem Polymergehalt, Abbildung 22, Seite 72.

Polymere mit gleichen Ladungen zeigen hier ein identisches Verhalten. Wie bereits bei der Mineralisation, führen die anionischen Polymere im Gegensatz zu Polymeren mit positiven Ladungen, zu abweichenden Ergebnissen. In ihrer Anwesenheit konnte die geringste Menge herausgelösten Calciums gefunden werden. Die Calciumkonzentration beträgt hier unter 20% derer, die in Anwesenheit der Polykationen, -ampholyte oder -betaine freigesetzt worden ist. Ein Vergleich der herausgelösten Calciummenge je geladene Wiederholeinheit (κ) in Tabelle 6 (Seite 73) sowie Abbildung 23 (Seite 75), verstärkt diesen Eindruck. Geringe Mengen der Polyanionen führen zu einem negativen κ und geringerer Freisetzung von Calcium. Demzufolge wird bei geringen Polyanionenkonzentrationen die HAP-Oberfläche stabilisiert. Bei größeren Konzentrationen der Polyanionen steigt κ dagegen auf etwa 0,1 an und es tritt ein destabilisierender Effekt auf.

Gegenteiliges wird für die anderen geladenen Polymere beobachtet. Kleine Konzentrationen führen hier zu einer starken Destabilisierung, die sich mit steigender Polymerkonzentration abschwächt und bei hohen Konzentrationen ebenfalls $\kappa=0,1$ erreicht. Überraschend ist dies vor allem deshalb, da für die Polyanionen und PEOs sowohl die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen, als auch die Chelatisierung von Calcium angenommen werden kann. Dies stimmt mit Simulationen zur Auflösung von HAP^[180,181] und der beobachteten Wechselwirkung von phosphorylierten Peptiden mit Calciumphosphat^[182,183] überein. Als Schlüsselschritt wurde in den Arbeiten dabei die Komplexierung des Calciums ausgemacht. Als eine mögliche Ursache könnte hier die leicht negativ geladene Oberfläche^[69] des HAP wirken.

Bei geringen Konzentrationen der Polykationen könnten diese auf der Oberfläche adsorbiert werden und dort das Herauslösen des Calciums fördern. Die HAP-Oberfläche wird zunehmend negativ aufgeladen. Für die Betaine und Ampholyte kann der gleiche Zusammenhang angenommen werden, jedoch werden bei diesen nur die positiven Gruppen auf die HAP-Oberfläche ausgerichtet. Anionische Polymere dagegen, werden durch ihre gleiche Ladung abgestoßen, was das Herauslösen des Calciums für kleine Polymerkonzentrationen erschwert. Steigt die Konzentration der Polyelektrolyte jedoch an, wird das Anreichern des entgegengesetzt geladenen Ions um die Polymerketten immer mehr zum dominierenden Faktor. Demzufolge wird bei hohen Polymerkonzentrationen, unabhängig davon, ob es sich um ein Polyanion, -kation, -ampholyt oder -betain handelt, ein einheitliches Niveau für α erreicht.

Bei der Entwicklung von Karies spielt die Biofilmbildung eine entscheidende Rolle. Diese verläuft dabei über mehrere Schritte^[145,146]. Involviert sind eine Vielzahl von Bakterien^[147–150], wobei das in dieser Arbeit verwendete *S. gordonii* zu den frühen Kolonisatoren gehört. Ein Inhibieren der an den ersten Schritten der Biofilmbildung beteiligten Bakterien, kann letztendlich auch kariogene Bakterien wie *Streptococcus mutans* oder *Lactobacillus casei* einschränken. Eine große Herausforderung beim zurückdrängen der frühen Kolonisatoren besteht dabei darin, dass diese sowohl auf dem Proteinfilm, dem Pellicel, als auch auf dem reinen Zahnschmelz, wie er nach dem Zähneputzen vorliegt, binden können. Hier besteht ein Ansatzpunkt zur Bekämpfung. Synthetische Polymere können zum einen die Konformation der Speichelproteine auf dem Zahnschmelz verändern oder zum anderen selbst dort adsorbiert werden. Als erste Kandidaten für bakterielle in vitro-Tests wurden die anionischen Polymere Ani2, Ani3 und Ani4 ausgewählt (eine detaillierte Beschreibung der Experimente ist in Kapitel 10, Seite 117 zu finden).

Die eben genannten Polymere sollten über die Sulfonatgruppen mit der HAP-Oberfläche wechselwirken^[48,184–187]. In dieser Arbeit konnte bereits die Wechselwirkung der geladenen Polymere mit der HAP-Oberfläche (Abbildung 22, 23 auf Seite 72, 75) sowie eine veränderte Struktur des Pellicel, in Anwesenheit von Ani2 (Abbildung 25 auf Seite 79) gezeigt werden. Im Gegensatz dazu ist die Interaktion von PEO mit Calciumphosphat sehr viel geringer, sorgt jedoch für

Antifouling Eigenschaften^[188,189] und eine Oberflächenhydrophilisierung^[48]. Ein veränderter Pellikel auf der Oberfläche des Zahnschmelzes könnte direkt die Kolonisation der Bakterien beeinflussen. Für diese Tests wird *S. gordonii* verwendet. Um sowohl Informationen über spezifische als auch unspezifische Wechselwirkungen von *S. gordonii* mit polymermodifiziertem Zahnschmelz und Pellikel erhalten zu können, werden als Inkubationszeiten 30 min und 120 min gewählt. Eine Folgestudie sollte weitere Inkubationszeiten und verschiedene Zellkonzentrationen zum Thema haben.

Der Zahnschmelz besteht hauptsächlich aus calciumdefizitärem HAP und Wasser, daher kann von unspezifischer Adhäsion von *S. gordonii* auf Zahnschmelz und den mit anionischen Polymeren (Ani2, Ani3, Ani4) beschichtetem Zahnschmelz ausgegangen werden. Bei einem Vergleich der bakteriellen Adhäsion auf Zahnschmelz und mit Ani2 oder Ani3 beschichtetem Zahnschmelz konnte kein Effekt der Polymere festgestellt werden (A 21, Seite 163). Dies stützt die Annahme der unspezifischen Wechselwirkung. Nach einer Inkubationszeit von 120 Minuten waren auf den Proben geringfügig mehr Zellen (1.03–1.04 mal mehr CFU/mm²) zu finden als nach 30 Minuten. Da kein Unterschied zwischen dem reinen Zahnschmelz und den polymerbeschichteten Proben besteht, scheinen die reinen Polymere zu keiner Biopassivierung zu führen. Auf den Zahnschmelzproben, die durch natürlichen Speichel mit einem Pellikel beschichtet wurden, konnten im Vergleich mit der reinen Zahnschmelzoberfläche, nach 120 min mehr Zellen nachgewiesen werden (Abbildung 24, Seite 77). Diese Erkenntnisse stimmen gut mit Ergebnissen aus der Literatur überein^[190–192]. Auf reinem Zahnschmelz kommen nur unspezifische Wechselwirkungen mit den Bakterien zu tragen. Bei Anwesenheit des Pellikel treten dagegen unspezifische und spezifische Wechselwirkungen parallel auf, was in einer stärkeren Adhäsion von *S. gordonii* resultiert.

Aus dem Lösen der Polymere im Speichel folgt eine gemischte Copolymer-Pellikel Beschichtung. Diese stellt, verglichen mit dem Pellikel, der aus natürlichem Speichel hervorgeht, bei beiden Inkubationszeiten eine weniger attraktive Oberfläche für *S. gordonii* dar (Pellikel gegen Ani2/P, Ani3/P, Ani4/P, Abbildung 24, Seite 77, A 21, Seite 163). Anscheinend beeinflussen die synthetischen Copolymere die spezifischen Wechselwirkungen der Bakterien mit dem Pellikel. Für diese Beobachtung sind verschiedene Ursachen denkbar: I) die synthetischen Makromoleküle konkurrieren mit den Speichelproteinen um die Bindungsstellen auf dem Zahnschmelz und stören so die Anordnung und Stabilität des Pellikel; II) die Copolymere interagieren mit den Proteinen oder Adhäsinen und schränken deren Funktion ein oder unterbrechen den Kontakt zu den Ankergruppen der Bakterien, III) die Copolymere hydrophilieren den Pellikel und behindern einen stärkeren Kontakt zwischen Zellen und Substrat. Sehr wahrscheinlich werden auch die unspezifischen Wechselwirkungen zwischen der Polymerbeschichtung und den Bakterienzellen durch die Anwesenheit der Speichelproteine beeinflusst.

Nach der 30-minütigen Inkubationszeit findet sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Proben, die mit den Polymeren beschichtet worden sind und den, mit einem Gemisch aus Copolymer und Speichel beschichteten Proben (Ani2 gegen Ani2/P, Ani3 gegen Ani3/P Ani4 gegen Ani4/P, Abbildung 24, Seite 77, A 21, Seite 163). Nichtsdestotrotz findet sich eine leichte Tendenz für eine reduzierte bakterielle Adhäsion auf der Zahnschmelzoberfläche, wenn der Pellikel mit Ani2 oder Ani3 modifiziert worden ist (Ani2 gegen Ani2/P und Ani3 gegen Ani3/P). Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass die Speichelproteine unspezifische Wechselwirkungen von *S. gordonii* mit den Polymerketten herabsetzen, indem diese deren Verfügbarkeit für einen direkten Kontakt mit den Bakterienzellen reduzieren.

Auf der anderen Seite sollten die Speichelproteine eine stärkere Adhäsion^[190] über spezifische Wechselwirkungen erlauben, die jedoch größere Zeiträume benötigen. So wird nach der 120-minütigen Inkubation, im Vergleich zu der 30-minütigen, ein statistisch signifikanter Unterschied der haftenden Bakterienzellen auf dem polymermodifizierten Pellikel gefunden (A 21, Seite 163). Erstaunlich ist, dass zwischen den Beschichtungen mit den Polymeren Ani2, Ani3 und Ani4 kein Effekt auf

die *S. gordonii* Adhäsion gefunden werden konnte. Proben, bei denen ein mit Ani4 modifizierter Pellikel verwendet wurde, Ani4/P, weisen jedoch für die kürzere Inkubationszeit eine höhere Anzahl von Bakterien auf, als bei Ani2/P und Ani3/P (Abbildung 24, Seite 77). Größere PEO-Blöcke verhindern vermutlich eine Verankerung beider PSPM-Blöcke auf der Oberfläche, sodass die zusätzlich freien Ladungen, in unspezifische elektrostatische Wechselwirkungen mit den Lysinresten der Membranpeptide von *S. gordonii* treten könnten^[193]. Es sollten jedoch weitere Untersuchungen folgen, um die Wechselwirkungen von Copolymeren mit Speichel, von Proteinen mit Bakterien und nicht zuletzt den Einfluss der Copolymere auf die Pellikelbildung besser zu verstehen.

Bisher wurde der Einfluss der geladenen Polymere auf die Mineralisation in Lösungen untersucht. In natürlichen Systemen findet die Mineralisation jedoch vornehmlich an Grenzflächen statt^[194,195]. Ameloblasten etwa, die den Zahnschmelz bilden, scheiden erst eine Polymermatrix ab und betten in diese später die HAP-Kristalle ein^[71,72]. Werden Polymere auf einer Oberfläche befestigt stellt dies ein vergleichbares System her und erleichtert zudem die Beobachtung von Mineralisationsvorgängen. Daher werden die anionischen Polymere auf einer Siliziumoberfläche in Form von Polymerbürsten fixiert, um die Mineralisation an dieser Grenzfläche sowie deren Einfluss auf verschiedene Zellen zu untersuchen.

Dies kann auch als Anwendungsszenario für permanente oder temporäre Implantate dienen. Abgesehen von der Verbesserung, die durch Übernahme einer gewünschten Funktion durch das Implantat bereitgestellt wird, ist das Einbringen eines solchen Fremdkörpers in den menschlichen Körper stets ein Risiko. Wird ein Implantat nicht gut vom umgebenden Gewebe besiedelt, kann es zur Verkapselung und zur Abstoßung kommen. Eine weitere Operation zum Entfernen oder Austauschen wird dann nötig. Es kann jedoch auch eine mikrobiologische Kontamination von Implantaten ausgehen, welche dann zu schmerzhaften Entzündungen und anderen Beschwerden führt und ebenfalls eine Entfernung des Implantats nach sich zieht. Daher werden Implantate häufig mit dem biokompatiblen HAP beschichtet^[6,196,197], das die Besiedlung durch menschliche Zellen vereinfacht. Von Beschichtungen durch Polymere ist dagegen bekannt, dass sie bakterielles Wachstum

einschränken können^[24,154,159,198,199]. Daher könnten die anionischen Polymere als Beschichtung eine Doppelfunktion übernehmen: zunächst das bakterielle Wachstum einschränken und später die Bildung einer HAP-Schicht fördern, um das Wachstum menschlicher Zellen zu begünstigen. Zu diesem Zweck wird die Wirkung der Polymerbürsten auf *Dictyostelium discoideum* Amöben untersucht. Diese eukaryotischen Zellen stellen ein etabliertes Modellsystem zur Untersuchung der Biokompatibilität dar und können daher als erste Etappe vor angestrebten Studien mit menschlichen Zellen gesehen werden.

Bei einem Vergleich der Syntheserfolge der drei Polymerbürsten Brush1, Brush2 und Brush3 fällt auf, dass die Diblockpolymerbürste die schlechtesten Ausbeuten und geringste Reproduzierbarkeit bringt. Lediglich 50% der Wafer weisen am Ende eine homogene Schicht aus Polymerbürsten auf, deren Dicke zwischen 30 und 300 nm liegt. Eine Ursache hierfür kann bereits im Anbringen des PEO-Blocks liegen. Dieser wird mittels grafting-to (zur Oberfläche hin) angebracht, was zu einer geringeren Oberflächenfunktionalisierung verglichen mit grafting-from (von der Oberfläche weg) Techniken führt^[202]. Während der Oberflächenfunktionalisierung soll eine OH-Gruppe des PEO mit den C-I-Gruppen des verankerten 3-Iodpropyltrimethoxysilans auf der Waferoberfläche reagieren. Dabei ist es möglich, dass ein bereits reagiertes Polymer leicht benachbarte reaktive Stellen auf der Oberfläche blockiert, indem es diese als Knäuel bedeckt. Ebenfalls könnte hier die zweite OH-Gruppe des PEO mit der Oberfläche reagieren und so die Folgereaktionen unmöglich machen. Es ist denkbar, dass ein ähnliches Problem bei der sich anschließenden Funktionalisierung und Polymerisation auftritt. Da nur das Ende des verankerten PEO zum letztendlichen ATRP-Starter reagiert, könnten bei zu kurzer Reaktionszeit nicht alle Endgruppen funktionalisiert werden, da sich diese im zeitlichen Mittel nicht auf der Oberfläche des Knäuels befanden. Bei einem hohen Grad der Funktionalisierung, schränkt die Knäulung wiederum die reaktive Gruppe sterisch stark ein, so dass eine Polymerisation nicht oder nur verzögert startet. Dies kann auch zur Blockade eines Startes durch eine andere wachsende Polymerkette führen. Für ein homogenes

Ergebnis ist es jedoch wichtig, dass alle Polymerbürsten die Polymerisation in einem sehr kleinem Zeitfenster beginnen^[105,107,123]. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die anionischen Bürsten, Brush3, wie in Abbildung 27 (Seite 82) dargestellt, im Vergleich zu Brush1 und Brush2 im größeren Abstand zueinander gewachsen sind und weniger gestreckt vorliegen.

Für Brush1 und Brush2 werden ähnliche Erfolgsquoten in der Synthese, sowie reproduzierbare Schichtdicken von 80 nm bis 90 nm erreicht. Die Ergebnisse von Brush2 sind insgesamt etwas gleichmäßiger. Für Brush3 werden ebenfalls in sich einheitliche Ergebnisse erzielt, jedoch beträgt die Erfolgsquote hierfür nur 50% und die Schichtdicken streuen zwischen 30 nm bis 300 nm. Die hohe Homogenität der Proben wird durch AFM-Untersuchungen gefunden, die für keine der Proben eine größere Höhendifferenz als 6 nm aufweist. Der kleinste Unterschied wird sogar für die 300 nm dicken Brush3 Proben mit 0,2 nm erreicht. Die Bestimmung der Schichtdicken der Bürsten konnte nur mittels AFM durchgeführt werden, da die Absorptionen des Films während der Ellipsometermessungen zu einer schlechten Übereinstimmung mit dem berechneten Modell führen. Das Vermessen mittels AFM stellt jedoch eine etablierte Absolutmethode dar^[203,204].

Die große Ähnlichkeit zwischen Brush1 und Brush2 überrascht insofern nicht, da sich die beiden für die Polymerisation verwendeten Vorläufer lediglich in einer Methylgruppe unterscheiden. Diese befindet sich bei Prec2 am Stickstoff, während Prec1 an dieser Stelle ein Proton trägt (Abbildung 26, Seite 81). Dies kann zur Folge haben, dass im Falle von Prec1 teilweise zwei Äquivalente 2-Brom-2-methylpropionylbromid reagieren. Die räumliche Nähe der Starter fördert eventuell Abbruchreaktionen. Denkbar wäre auch, dass aufgrund des Platzbedarfs einer Polymerkette im Verlauf der Reaktion an einem Starter keine Polymerisation mehr erfolgt, da dieser durch eine andere Kette blockiert ist. Im Bezug auf die Homogenität der Schichtdicken scheint dies allerdings eine untergeordnete Rolle zu spielen, sollte aber dennoch in späteren Untersuchungen geklärt werden. Infrarotspektroskopische Messungen durch die IRRAS-Technik, zeigen für alle Polymerbürsten sehr gute Übereinstimmungen verglichen mit einem freien PSPM (Abbildung 30, Seite 85) aus dem Beginn dieser Studie. Wichtige Signale wie die C=O-Schwingungen bei 1726 cm^{-1} ,

die asymmetrische und die symmetrische Streckschwingungen des CH_3 bei 1485 cm^{-1} oder 1450 cm^{-1} und die symmetrische und die asymmetrische Streckschwingungen des SO_3^- bei 1190 cm^{-1} oder 1041 cm^{-1} , werden für alle Bürsten gefunden und belegen so eine erfolgreiche Polymerisation. Für Brush3 trifft dies darüber hinaus sowohl auf Proben mit Schichtdicken von 30 nm Dicke zu, als auch für Proben die eine Schichtdicke von 300 nm erreichen. Es folgt daraus eine große Kettenlänge des PSPM-Blocks im Vergleich zum PEO-Block^[133].

Die Polymerbürsten lassen sich reproduzierbar herstellen, so dass diese in 2SBF mineralisiert werden können, um HAP oder eines seiner Vorläufer auf der Oberfläche zu bilden. Um ein homogenes Ergebnis zu erzielen, werden diese mehrmals über 24 Stunden in 2SBF getaucht. Eine detaillierte Beschreibung ist in Kapitel 11.5.6, auf Seite 140 zu finden. Die Oberfläche der mineralisierten Bürsten Min1, Min2 und Min3 wurden durch XPS-Experimente untersucht. Es werden Schwefel, Calcium, Phosphor, Kohlenstoff, Sauerstoff sowie Spuren von Magnesium und Natrium nachgewiesen (Tabelle 8, Seite 88). Auf Brush3 kann zudem Silizium gefunden werden. Dies ist ein Indiz dafür, dass die Schicht von Brush3 dünner ist, verglichen mit denen von Brush1 und Brush2. Kohlenstoff und Schwefel kann teilweise auf die Polymerbürsten zurückzuführen sein, es könnte jedoch auch Sulfat oder Carbonat aus der verwendeten 2SBF eingebaut worden sein. Andererseits ist die Sulfatkonzentration in 2SBF sehr gering, so dass vermutlich die SO_3^- -Gruppen der Polymerbürsten eingebaut wurden. Unterstützt wird dieser Befund durch die Ca/P-Verhältnisse von Min1=1,92 und Min3=1,93, die auf eine Substitution des Phosphats hinweisen wie es in CHAP des B- bzw. AB-Typs zu erwarten ist^[102] (Tabelle 1, Seite 35). Min2 erreicht ein Ca/P Verhältnis von 1,50, was auf amorphes Calciumphosphat, calciumdefizitäres Hydroxylapatit oder ein Gemisch aus OCP und HAP hindeutet.

Da auf der Oberfläche von HAP schnell Kohlenstoffdioxid adsorbiert wird^[102,103], sollen XPS-Tiefenprofile die Homogenität der mineralisierten Bürsten untersuchen (Abbildung 31, Seite 89). Insbesondere die Kohlenstoffwerte fallen hier sehr schnell ab und könnten auf im Oberflächenbereich absorbiertes Kohlenstoffdioxid hindeuten. Ferner wird ein Anstieg des Schwefelgehalts für alle mineralisierten Bürsten festgestellt, was auf die Polymerbürsten zurückgeführt werden kann. Deren Dichte

sollte mit zunehmender Sputterzeit ansteigen. Durch die Tiefenprofile kann das Ca/P-Verhältnis über den Probenquerschnitt berechnet werden (Abbildung 32, Seite 89). Min1 zeigt über den gesamten Querschnitt das konstanteste Ca/P-Verhältnis. Es liegt stets zwischen 1,9 und 2 und damit im Erwartungsbereich von CHAP, dessen Ca/P über 1,67 liegt.

Im Querschnitt von Min2 findet dagegen ein Anstieg des Ca/P-Verhältnisses von 1,5 auf 2,2 und später auf 2 statt. Da der Sputterabtrag entgegen der Mineralisationszeitachse vorgenommen wird, entspricht dies einer Änderung hin zu eher HAP ähnlich am Ende der Mineralisation. Die Ursache hierfür, ist ein größerer Abfall des Phosphorgehalts im mittleren Bereich der Tiefenprofile verglichen mit den anderen Proben (siehe Abbildung 31, auf Seite 89). Verursacht werden könnte dies, durch die dichter werdenden Polymerbürsten, die zu einer stärkeren Substitution im HAP führen. In Min3 fällt das Ca/P-Verhältnis schnell auf 1,3 ab. Im mittleren Teil des Tiefenprofils wird jedoch ein Wert von 1,6 erreicht und liegt im dem für HAP erwarteten Bereich von 1,67. Im unteren Bereich von Brush3 sollte sich das PEO befinden, das in den Mineralisationsexperimenten in Lösung zu geringeren Ca/P-Werten führt. Im Bereich des geladenen Blocks wird dann Phosphat substituiert und das Verhältnis steigt zugunsten des Calciums an.

Durch XPS-Messungen und die Ca/P-Verhältnisse ist es nicht möglich zu klären, in welcher Kristallphase Calciumphosphat vorliegt. Zur Aufklärung der Kristallphase eignen sich XRD-Aufnahmen nicht, da die Probenmenge zu gering und die Rauigkeit der Proben zu hoch war. Häufig werden Ramanexperimente herangezogen um Calciumphosphate zu untersuchen^[56,205-207]. In den vorliegenden Fällen überdecken jedoch, in Übereinstimmung mit der Literatur^[208,209] Silizium- und SiO_x-Signale der Waferoberfläche die Wellenzahlen (400 und 1000 cm⁻¹), bei denen die Banden der Calciumphosphate zu erwarten sind. Folglich liefern Ramanspektren, die im Winkel von 90° zur Probe gemessen wurden, für die Polymerbürsten und die mineralisierten Bürsten identische Spektren, verglichen mit einem unfunctionalisierten Wafer. Es ist dennoch möglich mittels Infrarotspektroskopie Calciumphosphate zu unterscheiden^[5,9,103,167,207,210,211]. Für dünne Schichten bieten Infrarot-Reflexions-Absorption-Spektroskopie-Aufnahmen (IRRAS-Aufnahmen) oft die besten Ergebnisse.

Mittels IRRAS konnten auswertbare Spektren aller mineralisierten Bürsten gewonnen werden (Abbildung 33, 34, 35, Seite 33). In allen mineralisierten Bürsten kann durch dieses Verfahren CHAP, das bereits durch die XPS-Messungen angenommen wurde, als gebildetes Mineral bestätigt werden. So wird eine intensive ν^3 -Phosphatbande zwischen 1000 cm^{-1} und 1100 cm^{-1} gefunden. Die Lage des Maximums ist durch starke Banden der Polymerbürsten und des Wafermaterials verschoben. Hierzu gehören die SO_3^- -Gruppen, der Polymerbürsten bei 1190 cm^{-1} und 1043 cm^{-1} , sowie die deutlichen Si–O–Si-Signale. Da die SO_3^- und Si–O–Si-Signale für die zugrunde liegenden Bürsten klar von einander getrennt und ähnlich intensiv sind (Abbildung 30, Seite 85), kann davon ausgegangen werden dass es sich um ein Phosphatsignal handelt. Die IRRAS Messungen bestätigen zudem, die Anwesenheit von CO_3^{2-} im gebildeten Mineral. Hierbei scheint es sich um eine AB-Substitution im HAP zu handeln. So ist es für Min2 möglich, die ν^2 -Banden des Karbonat bei 871 cm^{-1} und 903 cm^{-1} dem B- und A-Typ zuzuordnen. Unterstützt wird dieser Befund durch die Form der ν^3 -Bande^[167,168] bei 1416 cm^{-1} . Für Min1 kann ebenfalls ein AB-Typ des CHAP angenommen werden, bei dem das Hydroxid und Phosphat durch Carbonat substituiert wurden. Zwar wird hier nur eine ν^2 -Bande bei 893 cm^{-1} gefunden, diese ist jedoch sehr breit und in der Mitte der beiden gesuchten ν^2 -Banden, so dass es sich vermutlich um eine Überlagerung der Bande des A- und B-Typs handelt. Zusätzlich deutet auch hier die Form der ν^3 -Bande bei 1445 cm^{-1} einen AB-Typ an. Min3 weist die intensivsten Carbonatbanden auf. Die ν^3 -Bande ist hier sogar stärker ausgeprägt als die Phosphatbande, was auf einen hohen Carbonatanteil hindeutet. Da Min3 jedoch die kleinsten Ca/P-Verhältnisse in den XPS-Tiefenprofilen aufweist, wird der A-Anteil (Substitution des Hydroxids) höher sein als in Min2 oder Min1. Die deutlichen Banden erschweren hier aber eine genauere Aussage darüber welcher CHAP-Typ vorliegt.

CHAP, insbesondere der AB-Typ, ist das Calciumphosphat aus dem mit zunehmenden Alter der anorganische Teil der Knochen^[4-9] und Zähne^[3,5,9] aufgebaut wird. Die Bildung von CHAP durch die Polymerbürsten könnte demnach eine Nutzung dieser als Beschichtung für Implantate im Knochen- oder Zahnbereich ermöglichen. Die gute Bioverträglichkeit von CHAP ist bekannt. Es muss allerdings noch geklärt werden, ob die Anwesenheit der Polymerbürsten einen negativen Einfluss auf menschliche Zellen hat. Derartige Studien sind sehr aufwendig und sollten erst erfolgen, nachdem Tests mit einfacheren Organismen positive Ergebnisse geliefert haben. Daher wird zum Abschluss dieser Arbeit, der Einfluss auf den X2 Stamm der *Dictyostelium discoideum* Amöben diskutiert. Es kommt dabei nach einer 60 Stunden andauernden Inkubationszeit, sowohl auf den unmineralisierten als auch auf den mineralisierten Bürsten zu keinen Auffälligkeiten an den Zellen im Bezug auf Aktin, Mikrotubuli oder der Kernmorphologie.

Den eben diskutierten Polymerbürsten ähnliche Varianten auf Basis von Polymethacrylsäure (PMMA)^[154,212,213], SPM^[154] und MEDSAH^[154] wurden bereits für die Untersuchung der Mineralisation von Calciumcarbonat verwendet. Letsche et al.^[154] untersuchten bereits die Auswirkung der gebildeten Calciumcarbonatschichten auf menschliche mesenchymale Stammzellen. Sie beobachteten die Zellen hier vor allem in, durch Fotolithographie hergestellten, freien Räumen zwischen den Polymerbürsten. Erste Erkenntnisse zu Calciumphosphat auf Polymerfilmen und -bürsten machten etwa Löbbicke et al.^[200]. Sie fixierten Polymerbürsten bestehend aus Poly(methacrylsäure) (PMAA) oder (2-Dimethylaminoethyl)methacrylat (PDMAEMA) auf einer Goldoberfläche und mineralisierten diese mit einer Lösung aus CaCl_2 und NaH_2PO_4 . Auf dem gebildeten HAP-ähnlichen Mineral zeigten Prä-Osteoblasten eine gesteigerte Lebensfähigkeit, im Vergleich zu den reinen Polymerbürsten. Beucken et al.^[201] machten eine ähnliche Beobachtung unter Verwendung von osteoblastenähnlichen Zellen (gewonnen aus Rattenknochenmark). Sie konnten durch layer-by-layer-Technik Filme aus DNA/Polyallylamin oder DNA/Poly(D-Lysin) auf

6 Diskussion

Titanoberflächen aufbringen und mineralisierten sie mit 2SBF. Das gebildete Calciumphosphat auf der Oberfläche wurde von den Autoren nicht näher untersucht, führte aber bei den Zellen zu einer verstärkten Abscheidung von Osteocalcin in die extrazelluläre Matrix. Dieses Protein bindet an Hydroxylapatit und wird auch von Odontoblasten gebildet.

Sowohl die Beobachtungen dieser Arbeit als auch die der vorangehend genannten Autoren lassen komplexe Beziehungen zwischen dem gebildeten Mineral, Polymerbürsten und Zellen vermuten. Für spätere Analysen der Polymerbürsten Brus1, Brush2 und Brush3 empfehlen sich Reproduktionstests an *Dictyostelium discoideum* und es ist die Wirkung auf Osteoblasten und Osteoklasten einzubeziehen.

7 Zusammenfassung

Im Verlauf dieser Arbeit sind Blockcopolymere verschiedener Ladung auf Basis von PEO mit hohen Molekulargewichten durch lebendende freie radikalische Polymerisation hergestellt worden. Die Polymere sind einfach im Grammmaßstab herstellbar. Sie zeigen sowohl einen großen Einfluss auf die Nukleation als auch auf die Auflösung von Calciumphosphat. Gleichwohl scheint das Vorhandensein von positiven Gruppen (Kationen, Ampholyten und Betainen) keinen dramatischen Einfluss auf die Nukleation zu haben.

So verursachen Polymere mit positiven Ladungen die gleiche Retentionwirkung wie solche, die ausschließlich anionische Gruppen enthalten. Aus der Verwendung der kationischen, ampholytischen und betainischen Copolymere resultiert allerdings eine andersartige Morphologie der Niederschläge, als aus der Verwendung der Anionischen hervorgeht. Bei der Stabilisierung einer HAP-Oberfläche setzt sich dieser Trend fort, das heißt, rein anionische Copolymere wirken stärker stabilisierend als solche, die positive Ladungen enthalten. Durch Inkubation von menschlichem Zahnschmelz mit anionischen Copolymeren konnte gezeigt werden, dass die Biofilmbildung verglichen mit einer unbehandelten Zahnoberfläche eingeschränkt abläuft. All dies macht die Polymere zu interessanten Additiven für Zahnpflegeprodukte.

Zusätzlich konnten auf Basis dieser rein anionischen Copolymere Polymerbürsten, ebenfalls über lebendende freie radikalische Polymerisation, hergestellt werden. Diese zeichnen sich durch einen großen Einfluss auf die Kristallphase aus und bilden mit dem CHAP des AB-Types das Material, welches auch in Knochen und Zähnen vorkommt. Erste Cytotoxizitätstests lassen auf das große Potential dieser Polymerbürsten für Beschichtungen in der Medizintechnik schließen.

8 Abstract

The thesis at hand describes the preparation of block-copolymers composed of uncharged polyethyleneoxides and differently charged methacrylate-based blocks. Synthesized via living free-radical polymerization the charged blocks were prepared by using of the following monomers: I) for anionic blocks 3-Sulfopropyl methacrylate potassium salt (SPM); II) for cationic blocks 2-(trimethyl ammonium) ethyl methacrylate chloride (TMAEMA) or 2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethyl ammonium chloride) ethyl methacrylate (CPDMAEMA); III) for betainic blocks [2-(methacryloyloxy) ethyl] dimethyl-(3-sulfopropyl) ammonium hydroxide (MEDSAH) and IV) for ampholytic blocks the anionic SPM and one of the two cationic monomers TMAEMA or CPDMAEMA were used in equal parts. The polymers were accessible in a multigram scale.

The resulting block-copolymers show a strong effect on both the dissolution and the nucleation of calcium phosphate. The presence of positively charged moieties in case of applying polycations, polyampholytes and polybetaines does not seem to influence the nucleation in a different manner than the negatively charged polyanions. Nonetheless the application of cationic, betainic or ampholytic polymers leads to different morphology of the calcium phosphate precipitates compared to the anionic polymers. The presence of anions results in the formation of spherical well-separated particles whereas cations, ampholytes and betaines cause the composition of smaller particles. In contrast to this data obtained by energy-dispersive X-ray spectroscopy and X-ray crystallography show that calcium deficient hydroxyapatite was formed in all cases. Therefore it can be concluded that the polymers' charge influences the morphology but not the crystal phase.

This observation extends to the stabilization of the hydroxyapatite's (HAP) surface. A comparison of polymers containing cations and anionic polymers reveals a stronger stabilizing effect for anions. With the calcium phosphate's dissolution per monomer unit taken into consideration only the anionic charges lead to a stabilization of the HAP-surface at low polymer concentrations while in presence of positive charges a destabilization is observed.

By incubating human enamel specimen with mixtures of anionic copolymers and natural human saliva a reduced biofilm formation could be detected when compared to polymer free saliva. Thus the polymers could be potentially used for dental care products.

Additionally it was possible to synthesize polymer brushes based on the anionic copolymers' architecture. Again SPM was polymerized yet fastened on a silicon surface via living free-radical polymerization in a grafting-from mechanism. The brushes stand out due to a great influence on the crystal phase of calcium phosphate. They promote the formation of AB-type carbonate substituted hydroxyapatite (CHAP) a material in human bones and teeth that is formed increasingly with age. Initial cytotoxicity tests of both mineralized and unmineralized brushes indicate a high potential of the brushes for biomedical engineering.

9 Ausblick

Die Polymere, die in dieser Arbeit verwendetet worden sind, zeigen einen großen Einfluss auf die Calciumphosphatmineralisation. Die gewonnenen Resultate sind vielversprechend, im Bezug auf eine Anwendung in Zahnpflegeprodukten, wurden aber zum Teil erstmalig beobachtet. Zur Verifikation die gewonnenen Ergebnisse können die Mineralisation und Titration der Polymere bei verschiedenen Konzentrationen wiederholt werden. Dabei ist die Verwendung eines Titrators der manuellen Titration vorzuziehen und möglichst der pH-Wert und die Calciumkonzentration zeitgleich zu erfassen.

Um den Einfluss der Polymere auf frühe Stadien der Mineralisation in 2SBF zu untersuchen und zu verstehen, bietet es sich an zeitaufgelöste Lichtstremessungen bei unterschiedlichen Calciumkonzentrationen durchzuführen. Die Messungen fänden idealerweise unter Variation des Winkels in einem möglichst großen spektralen Bereich statt. Hierzu konnten bereits erste vielversprechende Ergebnisse mit Poly(vinylamin-co-vinylformamid) erzielt werden. Von besonderem Interesse für diese Experimente sind die durch die Trübungsmessungen bestimmten $[Ca]^{P}$ -Werte.

Auch wenn der antifouling^[66-68] und antibakterielle^[63-65] Effekt von Polykationen, -betainen und -ampholyten bekannt ist, kann der Einfluss auf verschiedene Organismen variieren. Daher sollten zukünftige Untersuchungen mit diesen Polymeren und den als frühe Kolonisierer an der Biofilmbildung beteiligten Bakterien fortgeführt werden. Im Fall der Polyanionen sind nun Studien auf weitere Biofilmbildner auszudehnen. Überdies sollten die Auflösungsexperimente auf Zähne mit und ohne Zahnstein ausgedehnt werden, um eine Verwendbarkeit der Polymere als Zahnsteinmittel zu klären.

Die ersten positiv ausgefallenen Cytotoxizitätstests der Polymerbürsten sind durch Reproduktionsuntersuchungen an *Dictyostelium discoideum* zu erweitern. Insofern diese ebenfalls positiv verlaufen, wären hier im Anschluss Versuche an menschlichen Zellen wie etwa Osteoblasten, Osteoklasten oder Myozyten denkbar. Daneben verspricht die zeitaufgelöste Beobachtung der Mineralisation der Polymerbürsten und eine nähere Charakterisierung der entstehenden Minerale neue Erkenntnisse. Hierzu kommen ein AFM mit Nasszelle^[91], Auflichtmikroskopie, Röntgenphotoelektronenspektroskopie sowie zeitaufgelöste Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie in Frage. Auch der Einfluss von Bürstendichte und Schichtdicke auf Cytotoxizität und Mineralisation sollte untersucht werden.

Aufgrund ihrer Struktur lassen sich die Dreiblocke der in dieser Arbeit synthetisierten Polykationen und Polyanionen verwenden, um künstliche Kollagenfasern herzustellen. Natürliches Kollagen wird aus Polymeren aufgebaut, die einen positiven, neutralen und negativen Block besitzen^[62,214]. Dabei lagern sich die entgegengesetzt geladenen Blöcke zusammen und bilden lange Fasern, die sich anschließend umeinander wickeln und durch enthaltene Lysineinheiten quervernetzen. Kollagene bilden in Knochen und Zähnen die organische Matrix^[62]. Mit künstlichem Kollagen könnten schnell und passgenau Implantate und Zähne nachempfunden werden. Bei den synthetischen Polymeren sollte die Bildung der Fasern ebenfalls durch Anlagerung der entgegengesetzten Blöcke geschehen. Die PEO-Blöcke fungieren dabei als Abstandshalter. Hierzu wurden bereits erste Laborversuche mit verdünnten Lösungen durchgeführt, die die Bildung von Fasern aus beiden Copolymerarten nahelegen (A 31, Seite 173). Für die Erforschung der Faserbildung des künstlichen Kollagens könnten sich Lichtstreuversuche und optische Mikroskopie als geeignet erweisen. Raman-, Infrarotspektroskopie und Festkörper-NMR lassen sich zur Charakterisierung der Fasern heranziehen. Anschließend sollten die Fasern mineralisiert sowie biologischen und mechanischen Tests unterzogen werden, die sie mit natürlichen Kollagenstrukturen vergleichen.

10 Methoden

Bei denen im Anschluss mit † gekennzeichneten Textteilen handelt es sich um Übersetzungen, die ursprünglich von einem Coauthor der unter 4 genannten Veröffentlichung „Blockcopolymere auf Basis von PEO und SPM für die Calciumphosphatmineralisation und Biofilmhemmung“ verfasst worden sind.

Analytische Ultrazentrifugation (AUZ)†^[133]. Das partielle spezifische Volumen der Proben wurde in einem *DMA 5000* (Anton Paas, Graz, Österreich) Biegeschwinger gemessen. Die Sedimentationen sind auf einer *Optima XLI* Zentrifuge (Beckman Coulter, Palo Alto, CA, USA) bei 25°C und 60.000 rpm durchgeführt worden. Die Verteilung des Sedimentationskoeffizienten ist mit der in der Software *SEDFIT* (Version 11.8, P. Schuck, 2009)^[215] implementierten Methode der kleinsten Fehlerquadrate $g^*(s)$ durchgeführt worden. Die Gleichgewichtsexperimente für die einzelnen Polymere wurden bei 2500 rpm, 3500 rpm oder 5000 rpm bei verschiedenen Konzentrationen durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit *MSTAR* (K.Schilling, Nanolytics, Germany)^[216]. Um nicht-ideale Sedimentationen zu vermeiden, wurden alle Proben mit 0,5 M Natriumchloridlösungen vorbereitet.

Asymmetrische-Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF4). Für die Messungen der anionischen Polymere (Ani1, Ani2, Ani3 und Ani4) wurden eine 0,2 %-ige wässrige Natriumazidlösung und eine regenerierte Cellulosemembran mit einer Grenzdurchlässigkeit von 10kDa und einer Kanalhöhe von 490 μm verwendet. Als Detektoren kamen ein *Agilent Technologies UV-detector*, ein *DAWN EOS multi-angle scattering detector* von Wyatt Technologies und ein *RI-detector WGE Bures*, der im Bereich von 620 nm arbeitet, verwendet. Die Flussrate von 1 mL/min bei 25°C wurde mit einem exponentiellen Querflussgradient von 3 auf 0 mL/min über 20 min festgelegt, wobei ein Kurvenmultiplikator von 2 genutzt wurde. Die Probengröße betrug jeweils 50 μL einer 2 mg/mL Polymerlösung.

Für die Messungen der weiteren Polymere (C1, C2^{CN}, C3^{CN}, C2, C3, Bet1, Bet3, Bet4) wurde eine 0,2 prozentige wässrige Natriumazidlösung mit 50 mmol/L Natriumnitrat eingesetzt. Ferner wurde eine regenerierte Cellulosemembran mit einer Grenzdurchlässigkeit von 10kDa und einer Kanalhöhe von 350 µm genutzt. Als Detektoren kamen zum Einsatz: ein *Agilent Technologies UV-detector*, ein *DAWN EOS multi-angle scattering detector* von Wyatt Technologies, und ein *RI-detector Optilab T-rEX* von Wyatt welcher im Bereich von 690 nm arbeitet. Die Flussrate von 1 mL/min bei 25°C wurde mit einem exponentiellen Querflussgradient von 3 auf 0 mL/min über 15 min abgesenkt, wobei ein Kurvenmultiplikator von 2,5 ausgewählt worden ist. Die Probengröße betrug 100 µL für C1, C2^{CN}, C3^{CN} und 50 µL für C2, C3, Bet1, Bet3, Bet4 bei einer Polymerkonzentration von 1,0 mg/mL.

Bakterielle In-vitro Tests^[133]. Die vorbereiteten menschlichen Zahnschmelzproben wurden willkürlich in 16 Gruppen aufgeteilt, so dass jeweils acht für jede der zwei Inkubationszeiten mit *Streptococcus gordonii* bereitstehen: 1) unbehandelter Zahnschmelz (E, n=20); 2) mit Plaque (Pellikel) beschichteter Zahnschmelz (P, n = 20); 3) mit Ani2 beschichteter Zahnschmelz (Ani2, n = 20); 4) mit Ani3 beschichteter Zahnschmelz (PSPM-b-Ani3, n = 20); 5) mit Ani4 beschichteter Zahnschmelz (Ani4, n = 20); 6) Zahnschmelz beschichtet mit Ani2 modifiziertem Pellikel (Ani2/P, n = 20); 7) Zahnschmelz beschichtet mit Ani3 modifiziertem Pellikel (Ani3/P, n = 20); 8) Zahnschmelz beschichtet mit Ani4 modifiziertem Pellikel (Ani4/P, n = 20). Um die Polymere und die Polymer-modifizierten Beschichtungen zu erzeugen, wurden die Zahnschmelzproben für 2 h unter sterilen Bedingungen in die entsprechende 0,1 mg/mL wässrigen Lösungen der Polymere Ani2, Ani3 und Ani4 oder in einem entsprechendem 1:1 Gemisch aus Speichel und 0,2 mg/mL der Polymere inkubiert.

S. gordonii ATCC-10558 wurde auf Trypton-Soja-Agar (TSA, Oxoid, Basingstoke, UK) ergänzt durch 5% Schafblut und 5% CO₂ bei 37°C über 15 h kultiviert. Die Suspension der Bakterien wurde in *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM; Gibco, Invitrogen) mit einer Zielzellkonzentration von 5×10⁸ Zellen/mL hergestellt. Alle Proben wurden gleichzeitig für 30 oder 120 min in die Suspensionen gegeben und danach dreimal in DMEM eingetaucht, um nicht anhaftende Zellen zu entfernen. Im

Anschluss wurden die Proben mit der Einstellung auf 16 W für 30 s in 0,9% steriler Natriumchloridlösung (Bichsel, Interlaken, Switzerland) mit Ultraschall behandelt, gefolgt von 30 s Vortexbehandlung um die anhaftenden *S. gordonii* zu entfernen. Aliquote dieser Lösungen werden auf das 100-Fache mit DMEM verdünnt und auf eine TSA-Platte aufgetragen. Die Agar-Platten wurden für 48 h bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert. Die Zahl der anhaftenden *S. Gordonii* Bakterien wurde mit einem *Acolyte SuperCount Colony Counter* (Synbiosis, Cambridge, UK) bestimmt und als dekadischer Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (colony-forming units) je Zahnschmelzfläche dargestellt (CFU/mm²).

Die statistische Datenanalyse wurde mit einem parameterfreien *ANOVA-Modell* (F1_LD_F1)^[217] mit doppeltem Wilcoxon-Rangsummentest mit Bonferroni-Holm-Korrektur für Mehrfachtests durchgeführt. Das Signifikanzniveau beträgt 0,05.

Elementaranalyse (EA). EA wurden mit einem *Vario EL III* von Elementar durchgeführt.

Ellipsometrie. Die Messungen erfolgten auf einem *M-2000U* der Firma J.A. Woollam Co. im Messbereich von 250-1000 nm. Alle Proben wurden vor jeder Messung mit Wasser gespült und mit Stickstoff getrocknet.

Gel-Permeations-Chromatographie (GPC)^{†[133]}. Poly(ethylenoxid) (PEO) Makroinitiatoren: Standard GPC mit gleichzeitigem UV- und Brechungsindexdetektor in N-methyl-2-pyrrolidon (NMP, NMP + 0.5 wt% Lithiumbromid) bei 70°C und einer Flussrate von 0,8 mL/min mit zwei 300 × 8 mm² PSS-GRAM (7 µm Partikel) Säulen mit Porositäten von 10² und 10³ Å. Für die Kalibrierung wurden PEO-Standards (PSS, Mainz, Germany) verwendet. Blockcopolymer: GPC-MALLS mit gleichzeitiger UV-, Brechungsindex- und MALLS (multi-angle laser light scattering, Wyatt Dawn Eos) Detektion in 0,1 M wässriger Natriumnitrat Lösung bei Raumtemperatur. Es wurden zwei 300 × 8 mm² PSS-

SUPREMA (10 µm Partikel) Säulen mit einer Porösität von 30 und 3000 Å und eine Flussrate von 1,0 mL/min verwendet. Die Lösungen enthielten ~0,15wt% Polymer und wurden mit einem 0,45 µm Polytetrafluorethylen (PTFE) Spritzenfilter filtriert, das Probenvolumen betrug 100 µL. Zur Aufnahme der Daten wurde das *PSS-WinGPC Unichrom* Softwarepaket verwendet.

Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES). Für ICP-OES Messungen wurden ein *Perkin Elmer Optima 5300 DV* und ein *VARIAN Vista MPX* mit axialem Plasma verwendet. Alle Messungen erfolgten aus wässrigen Lösungen.

Infrarotspektroskopie (IR). Die Fourier-Transformation-Infrarotspektren (FTIR) wurden auf einen *ThermoNicolet Nexus* Spektrometer in Kaliumbromid aufgenommen. Die Auswertung erfolgte mittels *Omnice 6.2*. Abgeschwächte Totalreflexions-Spektren (ATR-IR) wurden mit einem *Thermo Nicolet 6700* Spektrometer auf einem Diamant-ATR Kristall aufgenommen. Die Auswertung erfolgte ebenfalls mittels *Omnice 6.2*.

IRRAS-Aufnahmen erfolgten in der Nanoengineering of Functional Polymeric Materials Gruppe von Dr. Szczepan Zapotoczny an der Jagiellonen-Universität in Krakau. Verwendet wurde ein Nicolet iS10 FT-IR mit *grazingangle reflectance* Zubehör.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR). ¹H NMR-Spektren wurden bei Raumtemperatur auf einem *Bruker Avance 300* (300 MHz) aufgenommen.

Massenspektrometrie. Die ESI Messungen erfolgten aus wässrigen Lösungen auf einem ESI-Q-TOFmicro (Quadrupol - Time of Flight) von Bruker.

Menschliche Zahnschmelzproben und Berechnung der Zahnschmelzoberflächen^{†[133]}. Die Zahnschmelzproben (n=320) wurden aus kreisfreien Vorderbackenzähnen entnommen, von Schweizer Zahnärzten präpariert (keine Trinkwasserfluoridierung, 250 ppm Fluorid im Kochsalz). Vor der Entnahme wurde der Patient über die Verwendung der Zähne zu Forschungszwecken informiert und eine Patientenzustimmung eingeholt. Zahnkronen sind mit einer *Isomet low speed Säge* (Buehler, Düsseldorf, Germany) von den Wurzeln getrennt worden. Die

bukkale Seite wurde entnommen und in würfelförmige Platten geteilt. Jede Seite der Platten wurde unter Wasserkühlung mit einer *Kuntch-Rotor* Poliermaschine mit Carbidpapier (30 μm , 18 μm und 6 μm Körnung) poliert. Die Lagerung der Proben erfolgte in einer Mineralienlösung (1.5 mmol/L CaCl_2 , 1.0 mmol/L KH_2PO_4 , 50 mmol/L NaCl , pH 7.0). Die Berechnung der Zahnschmelzoberfläche ist mit einem *Leica M 420* Lichtmikroskop für jede Seite eines Zahnschmelzwürfels durchgeführt worden. Unter Berücksichtigung der Vergrößerung erfolgte die Auswertung der Aufnahmen Mithilfe der *IM500* Software. Die Gesamt Oberfläche ergibt sich aus der Summe aller Seiten eines Würfels. Vor jedem Experiment wurden die Proben 1 h in 70%igem Ethanol desinfiziert und 1 h mit Wasser gewaschen.

Mineralisation unter Polymereinfluss. Zusätzliche Fällungsexperimente wurden in zwei Gruppen durchgeführt. Die Erste Gruppe enthält 150 mg des Polymers gelöst in 15 mL des Calciumteils der doppelt konzentrierte künstliche Körperflüssigkeit (2SBF-Ca). Dieser Lösung wurden anschließend 15 mL des phosphathaltigen Teils der doppelt konzentrierte künstliche Körperflüssigkeit (2SBF-Phosphat) hinzu gegeben. Für die zweite Gruppe wurde das Polymer in 15 mL 2SBF-Phosphat gelöst und anschließend 15 mL 2SBF-Ca hinzu gegeben. Zum Mischen wurden die Proben 30 s gevortext und anschließend 3 min bei 500 rpm gerührt. Danach wurden 15 mL Calciumchloridlösung in drei Schritten unter Rühren hinzugegeben, gefolgt von 30 s Mischen auf einem Vortex. Danach wird die Lösung für 5 Tage gerührt. Der gebildete Feststoff wird bei 10.000 rpm durch Zentrifugation abgetrennt und durch fünfmaliges Waschen mit 30 mL Reinstwasser ($\rho=18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) und dreimaliges Waschen mit Ethanol gereinigt.

Polymer induzierte Calciumphosphatauflösung. In jeweils 10 mL Reinstwasser ($\rho=18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) werden 50 mg, 30 mg, 10 mg und 2 mg des Polymers gelöst und 100 mg HAP dazu gegeben. Nachdem die Suspension 3 Tage geschüttelt wurde, wird das verbliebene HAP abzentrifugiert und der erhaltene Überstand durch einen 0,2 μm PTFE Spritzenfilter filtriert. Die Ca^{2+} -Konzentration der Lösung wird daraus mittels ICP-OES bestimmt. Als Kontrollprobe dient eine Lösung ohne Polymerzusatz.

Rasterkraftmikroskopie (AFM). Für die Aufnahmen der Polymerbürsten wurden ein MultiMode der Veeco Metrology Group im Tapping-Modus (Arbeitsgruppe für Experimentalphysik um Prof. Dr. Svetlana Santer) und ein *AFM Bruker Dimension* im PeakForce QNM[®]-Modus (Nanoengineering of Functional Polymeric Materials Gruppe von Dr. Szczepan Zapotoczny an der Jagiellonen-Universität in Krakau) verwendet. Alle Proben wurden vor jeder Messung mit Wasser gespült und im Stickstoffstrom getrocknet. Die AFM-Aufnahmen des Speichelproteinfilms^{†[133]} wurden auf frisch gespaltenem Muskovit (Glimmer) der Firma Bal-Tec AG mit einem PycoLE System im Tapping-Modus durchgeführt. Für die Aufnahmen wurden Siliziumnitrid-Cantilever ($k = 42 \text{ N/m}$, 1 line/s) und eine Auflösung von 512×512 Pixeln verwendet. Die Auswertung erfolgte jeweils mit *Gwyddion*.

Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD). Es wurde ein *Siemens D5005 Röntgendiffraktometer* mit Kupferanode und vertikalem Kreisgoniometer mit optionalem Mikrofokussystem verwendet. Zur Auswertung der XRD-Aufnahmen wurde die Datenbank des International Center For Diffraction Data (ICDD version pdf2_46, 1996) verwendet. Zum Auftragen der Proben wurden diese in Ethanol suspendiert.

Rasterelektronenmikroskop (SEM) und Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDXS). SEM und EDX wurden auf einem *JEOL JSM-6510* Mikroskop in Kombination mit einem *INCA-x-act detector* durchgeführt. Alle Proben wurden mit einem *EMITECH SC7620 sputter coater* für 5 s mit Kohlenstoff beschichtet. pulverförmige Proben wurden aus einer Ethanoldispersion aufgetragen.

Statische Lichtstreuung (SLS)^{†[133]}. Die SLS wurde auf einem *CGS-3 Compact Goniometer* mit einem He-Ne Laser durchgeführt. Die Proben durch einen $0,2 \mu\text{m}$ PTFE Spritzenfilter filtriert und bei verschiedenen Konzentrationen in $0,5 \text{ M}$ Natriumchloridlösung von 30° bis 150° vermessen. Die Daten wurden mit der *ALV-Stat* Software aufgenommen. Der Brechungsindex dn/dc wurde mit einem *ScanRef* (NFT Nanofilm Technologie GmbH, Göttingen, Germany) Refraktometer gemessen

Steriler Speichel^[133]. Der durch die Stimulation mit Paraffinwachs gewonnene Speichel wurde von 25 gesunden Spendern ohne Anzeichen von Gignivitis oder Karies gesammelt. Die Speichelsammlung wurde von der Ethikkommission der Universität Bern genehmigt. Der Speichel wurde vereinigt und mit 4000 g bei 4°C über 20 Min. zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand zur Sterilisation für 30 Min. mit UV Licht bestrahlt und in kleinen Portionen bei -80°C eingelagert. Der Speichel wurde unmittelbar vor seiner Verwendung aufgetaut.

Trübungsmessungen. Die doppelt konzentrierte künstliche Körperflüssigkeit (2SBF) wurde wie von Kokubo^[131,132,134,218] beschrieben hergestellt (Die genaue Zusammensetzung kann den Supporting Information der unter 4 genannten Veröffentlichung entnommen werden). 2SBF wird verwendet, da es eine mit dem menschlichen Speichel vergleichbare Calciumkonzentration enthält^[127]. Auch wenn die Phosphatkonzentration nur zur Hälfte der des natürlichen Speichels entspricht^[127], so stellt es dennoch ein robustes und etabliertes System dar, um den Einfluss der hier verwendeten Polymere auf die Mineralbildung und Inhibition zu untersuchen^[131,218]. Um den pH-Wert der Teillösungen auf 7,42±0,02 einzustellen, wurde zu 1 L der Teillösungen rauchende Salzsäure hinzu gegeben und anschließend die Ausgangskonzentration des Calciums mittels ICP-OES bestimmt. In eine Quarzküvette wurden 10 mg Polymer und jeweils 1 mL 2SBF-Ca und 2SBF-Phosphat gegeben und 2 Min. gerührt. Danach wurde in 20 µL und 100 µL Schritten 0,1 M Calciumchloridlösung hinzugegeben und zwischen jeder Zugabe 2 Min. gerührt. Die Trübung wurde mit einem *Shimadzu UV mini 1240* bei 746 nm im Absorptionsmodus verfolgt. Die Wellenlänge wurde ausgewählt, da sich dort ein Plateau befindet. Die Trübungskurven werden gegen die aktuelle Calciumkonzentration aufgetragen und die resultierenden Kurven mit einer Boltzmann Stufenfunktion angenähert. Die Calciumkonzentration die für eine Trübung nötig ist ($[Ca]^P$) wird durch das Zentrum x_0 bzw. den Wendepunkt der Gleichung $y = A1 + (A2 - A1) / (1 + e^{(x - x_0) / dx})$ repräsentiert. Mit $A1$ als unterem und $A2$ als oberem Niveau, x_0 als Funktionszentrum und dx als Funktionssteilheit. Alle Messungen wurde dreimal durchgeführt und der Mittelwert der x_0 als $[Ca]^P$ verwendet.

Zellverträglichkeitsstudien an Polymerbürsten. Mineralisierte und unmineralisierte Siliciumwafer wurden mit *Dictyostelium discoideum* Zellen (AX2 Stamm GFP- α -Tubulin Zellen) bei 21°C im HL5c Medium (Formedium, Hunsanton, UK) kultiviert. Die Wafer wurden für 60 h mit dem Zellmedium und HL5c in 24-Loch-Zellkulturplatten (Sarstedt) inkubiert. Danach wurden die Wafer mit den anhaftenden Zellen mit Glutaraldehyd (0,5%, Plano, Wetzlar) fixiert und in Mowiol eingebettet. Als Antibleichmittel wurde N-Propylgallat (98%, Sigma-Aldrich) zugesetzt. Weitfeldmikroskopieaufnahmen wurden mit einem *Zeiss CellObserver HS/Axiocvert 200M system* mit einer *PlanApo 100 \times /1.4 N.A.* Linse und einer *Axiocam MRm Rev. 3 CCD Kamera* aufgenommen. Bei den z-Stapelaufnahmen wurden ein Ebenenabstand von 0,25 μm verwendet. Mithilfe von ImageJ 1.48k (Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014.) erfolgte die Auswertung der Aufnahmen.

11 Experimenteller Teil

11.1 Chemikalien und Materialien

(2-Dimethylaminoethyl)methacrylat (DMAEMA)	Merck Millipore
(3-Iodopropyl)trimethoxysilan	abcr
[2-(Methacryloyloxy)ethyl]-dimethyl-(3-sulfopropyl)- ammoniumhydroxid (MEDSAH), bzw. (SMAEMA) (97%)	Sigma Aldrich
0,2 und 0,45 µm PTFE Spritzenfilter	VWR Collection
15 mL Zentrifugenröhrchen (steril)	VWR Collection
2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (80% in Wasser)	Sigma Aldrich
2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (80% in Wasser)	abcr
2-Brom-2-methylpropionylbromid (98%)	Sigma Aldrich
3-(Triethoxysilyl)-propylamin	abcr
37%ige Salzsäure (reinst)	Carl Roth
4-Bromobutyronitril (97%)	abcr
69%ige Salpetersäure (AnalaR NORMAPUR)	VWR Chemicals
Acetonitril (≥99%, technisch) – vor Gebrauch destilliert	VWR Chemicals
Ammoniumsulfat (Ultra Pure)	VWR Chemicals
Bromacetylbromid (≥98%)	Sigma Aldrich
Calciumchlorid Dihydrat (ACS grade)	VWR Chemicals
Chloroform(≥99,0%, stabilisiert mit 20 – 50 ppm Amylen)	Carl Roth
Dikaliumhydrogenphosphat (ACS, ≥98%)	Sigma Aldrich
Dioxan (Chromanorm für HPLC)	VWR Chemicals
DOWEX®1x4-50 Ion Exchange resin, Chloridform	Sigma Aldrich
Ethanol (96%, AnalR NORMAPUR®)	VWR Chemicals
Hexan (Emplura®)	Merck Millipore
Isopropanol (NORMAPUR®, ACS, Reag. Ph. Eur. zur Analyse)	VWR Chemicals
Kalium-3-sulfopropylmethacrylat (SPM) (98%)	Sigma Aldrich

Kaliumchlorid (Analyse EMSURE®)	Merck Millipore
Kanülen (steril), Braun® (diverse)	Carl Roth
KPDS (≥99%, ACS)	Fluka
Kupfer(I)chlorid (≥97%,reinst)	Carl Roth
Kupfer(I)chlorid (ACS)	Merck Millipore
Lithiumdiisopropylamidlösung (2M in THF/Heptan/Ethylbenzol)	Acros
Magnesiumchlorid Hexahydrat (ACS, 99,0 – 102,0%)	Sigma Aldrich
Methanol (NORMAPUR®, ACS, Reag. Ph. Eur. zur Analyse)	VWR Chemicals
MPEO5000 ($\bar{M}_n=5000$ g/mol)	Fluka
MTBE (Emplura®)	Merck Millipore
N-Methyl-3-(trimethoxysilyl)propylamin	abcr
Natriumchlorid (p.a., ACS, ≥99,5%)	Carl Roth
Natriumhydrogencarbonat (p.a., ACS, ≥99,5%)	Carl Roth
Natriumsulfat Decahydrat (ACS, ≥9,0%)	Sigma Aldrich
PEO100k ($\bar{M}_w=100.000$ g/mol)	abcr
PEO4600 ($\bar{M}_n=4600$ g/mol 4400-4800 g/mol)	Sigma Aldrich
Siliziumwafer mit 150 mm Durchmesser und <100> Orientierung	SI-MAT
Spritzen, Braun®, Luer und Luer lock (diverse) (steril)	Carl Roth
TMEDA (99%), frisch destilliert	abcr
TMEDA (ReagentPlus®, 99%), frisch destilliert	Sigma Aldrich
Triethylamin (≥99,5%)	Sigma Aldrich
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (99,3%, Buffergrade)	Carl Roth
Zentrifugenröhrchen (PP, steril), 15 mL und 35 mL	VWR Collection

Falls nicht anders vermerkt oder im Anschluss beschrieben wurden alle Chemikalien verwendet wie erhalten.

11.2 Monomer 2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (CPDMAEMA/Cl)

In einem Zweihalskolben werden 70 mmol (10.95 mL, 1 Äquivalent) von (2-Dimethylaminoethyl)methacrylat (DMAEMA) und 77 mmol (6.45 mL, 1.1 Äquivalente) 4-Bromobutyronitril in 20 mL CHCl_3 gelöst und für 1 Tag auf 50°C erwärmt. Nach der Zugabe von 50 mL Hexan wird die Hexan/ CHCl_3 -Phase verworfen und der schleimartige Rückstand 3 mal mit 100 mL Hexan und 2 mal mit 50 mL Dioxan gewaschen. Das weiße Produkt wird in 50 mL Dioxan suspendiert und anschließend gefriergetrocknet. Das CPDMAEMA/Br (2-(N-3-Cyanopropyl-N,N-dimethylammoniumbromid)ethylmethacrylat) wird in Ausbeuten von 55-65% erhalten, ist stark hygroskopisch und sollte daher unter Schutzatmosphäre gelagert werden.

Um die Chloridform des Monomers, CPDMAEMA/Cl, zu erhalten wird eine wässrige, leicht gelbe, Lösung des CPDMAEMA/Br durch ein mit Chlorid beladenes DOWEX®1x4-50 Ionentauscherharz filtriert. Der Austausch wird mit 0,2M Silbernitratlösung überprüft. Der Großteil des vorhandenen Wassers wird bei 30°C bei vermindertem Druck entfernt. Anschließend wird die eingeeengte Produktlösung gefriergetrocknet. Der Feststoff ist stark polymerisationsempfindlich, hygroskopisch und sollte daher bei 4°C, dunkel und unter Schutzgasatmosphäre gelagert werden.

11.3 Makroinitiatoren

Insgesamt wurden 5 Makroinitiatoren verwendet, deren Synthese einer einheitlichen Vorschrift folgt. Die Makroinitiatoren sind in Abbildung 12 auf Seite 46 dargestellt.

11.3.1 MI1

MI1 wird wie unter 11.3.2 beschrieben hergestellt, mit dem Unterschied, dass 136 μL 2-Brom-2-methylpropionylbromid anstelle von Bromacetyl bromid und die Hälfte des Triethylamins eingesetzt werden.

11.3.2 MI2

Für eine typische Synthese werden 5 g PEO4600 (1,08 mmol, 1 Äquivalent) in 10 mL trockenem Dichlormethan gelöst und anschließend auf 0°C gekühlt. Mit argongefüllten Spritzen werden abwechselnd 384 μL Bromacetyl bromid (4.40 mmol, 4 Äquivalente) und 609 μL trockenes Triethylamin (4.40 mmol, 4 Äquivalente) zugegeben. Es fällt sofort ein weißer Feststoff aus. Nach zwei minütigem Rühren wird die Lösung auf Eiswasser gegeben und die organische Phase mit Natriumsulfat getrocknet und anschließend filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird aus Benzol gefriergetrocknet und 4.73 g (96%) des beigefarbenen Produkts erhalten.

11.3.3 MI3, MI4 und MI5

MI3, MI4 und MI5 werden wie unter 11.3.2 beschrieben hergestellt, mit dem Unterschied, dass für MI4 und MI5 272 μL 2-Brom-2-methylpropionylbromid anstelle des Bromacetyl bromids eingesetzt werden. Für MI3 und MI5 werden 500 mL trockenes Chloroform als Lösungsmittel verwendet und das Lösen des PEO100k dauert etwa eine Woche, aufgrund des hohen Molekulargewichtes.

11.4 Synthese der Polymere

Die Polymere Ani1 (Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), PSPM), Ani2 (Poly(ethylenoxid)monomethylether-block-poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), MPEO5000-b-PSPM) und Ani3 (Poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat)-block-Poly(ethylenoxid)-block-poly(Kalium-3-sulfopropylmethacrylat), PSPM-b-PEO4600-b-PSPM) sowie die Makroinitiatoren MI1 und MI2 wurden im Verlauf meiner Diplomarbeit^[70] synthetisiert. Die Charakterisierung beschränkte sich auf Trübungsmessungen, ¹H NMR und IR-Spektroskopie. Alle weiteren Daten mit Bezug auf diese Polymere sind im Rahmen der Dissertation gesammelt worden.

Sofern nicht anders angegeben wird deionisiertes Wasser eingesetzt.

Das für die ATRP nötige CuCl wird vor seiner Verwendung gereinigt, da es sich im Laufe der Zeit durch Oxidation mit Kupfer(II)-Verbindungen anreichert. Dazu wird zu dem pistaziengrünen bis braunen Kupferchlorid solange 25%ige Salzsäure zugegeben, bis in der dunklen Lösung kaum mehr Feststoff zu erkennen ist. Nach Filtration wird die dunkle Lösung unter Rühren in mindestens die zehnfachen Menge Wasser gegeben und das CuCl zur Fällung gebracht. Das weiße Pulver wird unter Argonatmosphäre abfiltriert und nacheinander großzügig mit Wasser, Ethanol und Methyl-tertiär-butylether (MTBE) gewaschen, bevor es bei vermindertem Druck getrocknet wird. Die Lagerung des CuCl erfolgt unter Argon oder bei vermindertem Druck.

11.4.1 Ani1 – PSPM

Für die Synthese des PSPM (Ani1) werden 1,230 g (5 mmol, 200 Äquivalente) Kalium-3-sulfopropylmethacrylat (SPM) in 5 mL Wasser gelöst und die Lösung anschließend für 5 Minuten mit Argon entgast. Nach der Zugabe von 8 mg (0,025 mmol, 1 Äquivalent) von Kaliumperoxodisulfat (KPDS) wird das Reaktionsgefäß verschlossen und unter Rühren auf 60°C erhitzt. Nach 90 Minuten wird das Gefäß geöffnet und das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, bevor es zur Fällung in 100 mL Methanol gegeben wird. Der weiße Feststoff wird erneut in 3 mL Wasser gelöst und in Methanol ausgefällt. Nach einer Gefriertrocknung aus Wasser erhält man 847 mg (69%) des Produkts.

11.4.2 Ani2 – MPEO5000-b-PSPM

Für die Synthese von MPEO5000-b-PSPM (Ani2) werden in einem Zweihalskolben 250 mg (0,05 mmol, 1 Äqu.) MI1 und 6,16 g (25 mmol, 500 Äqu.) SPM in 11 mL entgastem Wasser gelöst^[219]. Die Lösung wird fünfmal mit Argon sekuriert, bevor 10 µL (0,1 mmol, 2 Äqu.) Tetramethylethyldiamin (TMEDA) und 10 mg (0,1 mmol, 2 Äqu.) CuCl hinzugegeben und der Kolben mit einem Septum verschlossen wird. Nach etwa 10 Minuten ist eine deutliche Zunahme der Viskosität zu bemerken, nach 30 Minuten erfolgt der Abbruch der Reaktion durch Öffnen des Kolbens und die Zugabe von 2 mL 0,1 M Dinatrium-ethylendiamin-tetraacetat (EDTA/Na₂). Die nun türkisfarbene Lösung wird zur Fällung in 200 mL Methanol gegeben, wobei ein weißer Feststoff entsteht. Dieser wird in 5-10 mL Wasser gelöst und erneut in Methanol gefällt. Nach Gefriertrocknung aus Wasser werden 5,43 g (84%) des Produkts erhalten.

11.4.3 Ani3 – PSPM-b-PEO4600-b-PSPM

PSPM-b-PEO4600-b-PSPM (Ani3) wird wie unter 11.4.2 beschrieben synthetisiert, jedoch mit der doppelten Menge an CuCl und TMEDA. Es werden 4,32 g (67%) nach Gefriertrocknung aus Wasser erhalten.

11.4.4 Ani4 – PSPM-b-PEO100k-b-PSPM

Für die Synthese des PSPM-b-PEO100k-b-PSPM (Ani4) werden 507 mg (0,005 mmol, 1 Äqu.) MI3 in 15 mL entgastem Wasser unter Argonatmosphäre gelöst. Nachdem das Lösen nach zwei Tagen abgeschlossen ist, werden 5 mL entgastetes Wasser hinzugegeben und fünfmal sekuriert. Zeitgleich werden in einem zweiten Gefäß 2,464 g (10 mmol, 2000 Äqu.) SPM in 5 mL entgastem Wasser gelöst und 18 µL TMEDA (0,2 mmol, 40 Äqu.) und 19 mg CuCl (0,2 mmol, 40 Äqu.) hinzugegeben. Diese Lösung wird im Argongegenstrom schnell in Ersterer gegeben und das Reaktionsgefäß nach der Zugabe von 5 mL entgastem Wasser verschlossen. Nach 35 Minuten erfolgt der Abbruch der Reaktion durch Öffnen des Gefäßes und die Zugabe von 2 mL 0,1 M EDTA/Na₂ bevor die Lösung zur Fällung in 100 – 200 mL Methanol gegeben wird. Der entstandene weiße Feststoff wird zur erneuten Fällung in Methanol in 5 – 10 mL Wasser gelöst und anschließend aus Wasser gefriergetrocknet. Es werden 1,8 – 2,4 g (63-80%) des Produkts erhalten.

11.4.5 C1 – PTMAEMA

Zur Herstellung des PTMAEMA (C1) werden in einem Zweihalskolben 4,7 mL (20 mmol, 167 Äqu.) 2-(Trimethylammoniumchlorid)ethylmethacrylat (TMAEMA) in 19,3 mL entgastem Wasser gelöst und fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 31,8 mg (0,12 mmol, 1 Äqu.) KPDS wird der Kolben verschlossen und für 90 min auf 60°C erhitzt. Im Anschluss erfolgt der Abbruch der Reaktion durch Öffnen und Einleiten von Luft bevor die Lösung auf etwa 50% eingengt und das Produkt in 500 mL Acetonitril ausgefällt wird. Es werden 4,01 g (97%) des Produkts nach Gefriertrocknung aus Wasser gewonnen.

11.4.6 C2 – MPEO5000-b-PTMAEMA

Zur Herstellung von MPEO5000-b-PTMAEMA (C2) werden in einem Zweihalskolben 256 mg (0,05 mmol, 1 Äqu.) MI1 und 5,86 mL (25 mmol, 500 Äqu.) TMAEMA in 10 mL entgastem Wasser gelöst und fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 19 mg CuCl (0,2 mmol, 4 Äqu.) und 18 μ L (0,2 mmol, 4 Äqu.) TMEDA wird der Kolben verschlossen und für 2,5 h gerührt. Der Abbruch der Reaktion erfolgt durch Öffnen und einminütigem einleiten von Luft, bevor die Lösung zur Fällung in 300 mL Isopropanol gegeben und der Feststoff mit MTBE gewaschen wird. Nach erneuter Fällung in Isopropanol aus Wasser werden nach Gefriertrocknung aus Wasser 3,0 g (57%) des Produkts erhalten.

11.4.7 C3 – PTMAEMA-b-PEO4600-b-PTMAEMA

PTMAEMA-b-PEO4600-b-PTMAEMA (C3) wird wie unter 11.4.6 beschrieben synthetisiert, jedoch mit 195 mg (0,04 mmol) MI4 und der doppelten Menge an CuCl und TMEDA. Es konnten nach Gefriertrocknung aus Wasser 1,1 g (21%) des Produkts gewonnen werden.

11.4.8 C4 – PTMAEMA-b-PEO100k-b-PTMAEMA

PTMAEMA-b-PEO100k-b-PTMAEMA (C4) wird wie unter 11.4.6 beschrieben synthetisiert, jedoch werden 406 mg (0,004 mmol) MI4 in 20 mL Wasser gelöst und die doppelte Menge an CuCl und TMEDA verwendet. Es kann kein Produkt isoliert werden. Ein Grund hierfür könnte die hohe Chloridkonzentration sein, die zu einer starken Deaktivierung^[121,123] führt.

11.4.9 C1^{CN} – PCPDMAEMA

Zur Synthese von PCPDMAEMA (C1^{CN}) werden 2,61 g (20 mmol, 333 Äqu.) CPDMAEMA/Cl in 10 mL entgastem Wasser gelöst und fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 16 mg (0,06 mmol, 1 Äqu.) KPDS wird das Reaktionsgefäß mit einem Septum verschlossen und für 90 Minuten auf 60°C erwärmt. Zum Abbruch der Reaktion wird das Gefäß geöffnet und für eine Minute Luft eingeleitet. Anschließend wird in 200 mL Acetonitril ausgefällt und der Feststoff mit MTBE gewaschen. Nach erneuter Fällung aus Wasser in Acetonitril wird der Feststoff großzügig mit MTBE gewaschen, bei verringertem Druck getrocknet und in Wasser gelöst. Nach Filtration durch einen 0,2 µm PTFE Spritzenfilter werden nach Gefriertrocknung 2,1 g (81%) des Produkts gewonnen.

11.4.10 C2^{CN} – MPEO5000-b-CPDMAEMA

Für die Herstellung des MPEO5000-b-CPDMAEMA (C2^{CN}) werden in einem Zweihalskolben 205 mg (0,04 mmol, 1 Äqu.) MI1 und 5,22 g (20mmol, 500 Äqu.) CPDMAEMA/Cl in 20 mL entgastem Wasser gelöst und fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 19 mg (0,2 mmol, 5 Äqu.) CuCl und 18 µL (0,2 mmol, 5 Äqu.) TMEDA wird der Kolben mit einem Septum verschlossen. Nach 100 Minuten wird die Reaktion durch Öffnen und einminütigem Einleiten von Luft abgebrochen und 36 µL TMEDA hinzugegeben, bevor in 450 mL Isopropanol gefällt wird. Nach erneuter Fällung in Isopropanol aus Wasser wird der weiße Feststoff großzügig mit MTBE gewaschen und unter verringertem Druck getrocknet. Nach erneutem Lösen in Wasser und anschließender Filtration durch einen 0,2 µm PTFE Spritzenfilter werden nach Gefriertrocknung 4,5 g (83%) des Produkts gewonnen.

11.4.11 C3^{CN} – PCPDMAEMA-b-PEO4600-b-PCPDMAEMA

Die Herstellung des PCPDMAEMA-b-PEO4600-b-PCPDMAEMA (C3^{CN}) erfolgt wie unter 11.4.10 beschrieben. Es werden jedoch 195 mg (0,04 mmol) des MI4 sowie die doppelte Menge an CuCl und TMEDA verwendet. Es werden 4,8 g (90%) des weißen Produktes nach Gefriertrocknung aus Wasser erhalten.

11.4.12 C4^{CN} – PCPDMAEMA-b-PEO100k-b-PCPDMAEMA

Die Herstellung von PCPDMAEMA-b-PEO100k-b-PCPDMAEMA (C4^{CN}) verläuft wie unter 11.4.11 beschrieben, jedoch werden 406 mg (0,004 mmol) MI5 verwendet und über 18h in 20 mL Wasser gelöst, bevor CPDMAEMA/Cl hinzugegeben wird. Nach Gefriertrocknung werden 0,5 g (9%) des Produkts erhalten. Aufgrund der geringen Ausbeute konnten mit diesem Polymer die Trübungs- und Auflösungsexperimente nicht durchgeführt werden. Wie unter 11.4.8 erwähnt, ist es möglich, dass die hohe Chloridkonzentration einen Grund hierfür darstellt.

11.4.13 A1 – P(SPM-co-TMAEMA)

Zur Synthese von P(SPM-co-TMAEMA) (A1) werden in einem Zweihalskolben 2,35 mL (10 mmol, 83 Äqu.) TMAEMA und 2,46 g (10 mmol, 83 Äqu.) SPM in 17,65 mL entgastem Wasser gelöst und fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 32 mg (0,12 mmol, 1 Äqu.) KPDS wird der Kolben mit einem Septum verschlossen und unter Rühren für 90 Minuten auf 60°C erhitzt. Zum Abbruch der Reaktion wird der Kolben geöffnet und für eine Minute Luft eingeleitet, bevor die Lösung auf 50% eingeeengt und das Produkt in 400 mL Acetonitril ausgefällt wird. Im Anschluss wird der Feststoff bei verringertem Druck getrocknet und erneut in 20 mL Reinstwasser ($\rho = 18.2 \text{ M}\Omega\text{-cm}$) gelöst, bevor durch die schrittweise Zugabe von gesättigter Ammoniumsulfatlösung wieder ein weißer Feststoff gefällt wird. Dieser wird in 20 mL Reinstwasser ($\rho = 18.2 \text{ M}\Omega\text{-cm}$) gelöst und in 400 mL Methanol gefällt. Nach entfernen des Methanols unter verringertem Druck und Gefriertrocknung aus Wasser werden 3,6 g (79%) des Produkts erhalten.

11.4.14 A2 – MPEO5000-b-P(SPM-co-TMAEMA)

Zur Herstellung des MPEO5000-b-P(SPM-co-TMAEMA) (A2) werden in einem Zweihalskolben 5,86 mL (25 mmol, 500 Äqu.) TMAEMA, 6,16 g (25 mmol, 500 Äqu.) SPM und 512 mg (0,05 mmol, 1 Äqu.) MI1 in 20 mL entgastem Wasser gelöst und anschließend fünfmal mit Argon sekuriert. Danach werden 38 mg (0,4 mmol, 8 Äqu.) CuCl und 36 μL (0,4 mmol, 8 Äqu.) TMEDA hinzugegeben und der Kolben mit einem Septum verschlossen. Nach 150 Minuten erfolgt der Abbruch durch Öffnen des Kolbens und einminütigem Einleiten von Luft. Zum Ausfällen wird die Lösung in 400

11 Experimenteller Teil

mL Methanol getropft und der erhaltene Feststoff mit MTBE gewaschen. Nach dem Trocknen wird in 100 mL Wasser gelöst und durch langsame Zugabe gesättigter Ammoniumsulfatlösung gefällt. Diese Fällung wird noch einmal wiederholt, bevor der Feststoff in 20 mL Wasser gelöst und in 400 mL Methanol gefällt wird. Nach Gefriertrocknung aus Wasser werden 5,3 g (50%) des Produkts erhalten.

11.4.15 A3 – P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO4600-b-P(SPM-co-TMAEMA)

Die Synthese des P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO4600-b-P(SPM-co-TMAEMA) (A3) erfolgt wie unter 11.4.14 beschrieben, mit dem Unterschied, dass 242 mg (0,05 mmol, 1 Äqu.) MI4 sowie die Hälfte des TMAEMA, SPM und Wassers verwendet werden. Es werden 3,32 g (60%) des Produkts nach Gefriertrocknung aus Wasser gewonnen.

11.4.16 A4 – P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO100k-b-P(SPM-co-TMAEMA)

Die Herstellung des P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO100k-b-P(SPM-co-TMAEMA) (A4) erfolgt wie unter 11.4.14 beschrieben, jedoch werden 500 mg (0,005 mmol, 1 Äqu.) MI5 in 20 mL Wasser über 18 h gelöst, sowie die Hälfte des TMAEMA und SPM verwendet. Es werden 1,39 g (34%) des Produkts nach Gefriertrocknung aus Wasser gewonnen.

11.4.17 A1^{CN} – P(CPDMAEMA-co-SPM)

Für die Synthese von P(CPDMAEMA-co-SPM) (A1^{CN}) werden in einem Zweihalskolben 2,46 g (10 mmol, 83 Äqu.) SPM und 2,61 g (10 mmol, 83 Äqu.) CPDMAEMA/Cl in 17,65 mL entgastem Wasser gelöst und die Lösung fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 32 mg (0,12 mmol, 1 Äqu.) KPDS wird der Kolben verschlossen und für 90 Minuten auf 60°C erhitzt. Zum Abbruch der Reaktion wird der Kolben geöffnet und für eine Minute Luft eingeleitet, bevor durch

tropfenweise Zugabe gesättigter Ammoniumsulfatlösung ein weißer Feststoff ausfällt. Im Anschluss wird der Feststoff je dreimal in 20 mL Wasser durch Zugabe von Kaliumchlorid gelöst und durch Zutropfen von gesättigter Ammoniumsulfatlösung gefällt. Durch Gefriertrocknung aus Wasser werden 4,3 g (84%) des Produktes erhalten.

11.4.18 A2^{CN} – MPEO5000-b-P(CPDMAEMA-co-SPM)

Zur Herstellung des MPEO5000-b-P(CPDMAEMA-co-SPM) werden 204 mg (0,04 mmol, 1 Äqu.) MI1 sowie 2,46 g (10 mmol, 250 Äqu.) SPM und 2,61 g (10 mmol, 250 Äqu.) CPDMAEMA/Cl in 15 mL entgastem Wasser gelöst und die Lösung fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 19 mg (0,2 mmol, 5 Äqu.) CuCl und 18 µL (0,2 mmol, 5 Äqu.) TMEDA wird das Gefäß verschlossen und das Reaktionsgemisch 120 Minuten gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wird das Gefäß geöffnet und eine Minute Luft eingeleitet, bevor tropfenweise gesättigte Ammoniumsulfatlösung zur Fällung hinzugegeben wird. Im Anschluss wird der Feststoff je dreimal in 20 mL Wasser durch Zugabe von Kaliumchlorid gelöst und durch Zutropfen von gesättigter Ammoniumsulfatlösung gefällt. Durch Gefriertrocknung aus Wasser werden 4,9 g (93%) des weißen Produkts erhalten.

11.4.19 A3^{CN} – P(CPDMAEMA-co-SPM)-b-PEO4600-b-P(CPDMAEMA-co-SPM)

P(CPDMAEMA-co-SPM)-b-PEO4600-b-P(CPDMAEMA-co-SPM) (A3^{CN}) wird wie unter 11.4.18 angegebenen synthetisiert, wobei 195 mg (0,04 mmol) MI4 und die doppelte Menge an CuCl und TMEDA verwendet werden. Es werden 3,9 g (74%) des Produkts nach Gefriertrocknung aus Wasser gewonnen.

11.4.20 A4^{CN} – P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO100k-b-P(SPM-co-TMAEMA)

Für die Synthese des P(SPM-co-TMAEMA)-b-PEO100k-b-P(SPM-co-TMAEMA) (A4^{CN}) werden 406 mg (0,004 mmol, 1 Äqu.) MI5 über 18 h in Wasser gelöst und anschließend 2,46 g (10 mmol, 2500 Äqu.) SPM und 2,61 g (10 mmol, 2500 Äqu.) CPDMAEMA/Cl hinzugegeben. Die weitere Synthese verläuft wie unter 11.4.18 beschrieben. Nach Gefriertrocknung aus Wasser werden 2,1 g (40%) des Produkts gewonnen.

11.4.21 Bet1 – PMEDSAH

Zur Herstellung des PMEDSAH (Bet1) werden 5,00 g (17,8 mmol, 200 Äqu.) MEDSAH in 18 mL entgastem Wasser gelöst und fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 24,3 mg (0,09 mmol, 1 Äqu.) KPDS und dem Verschließen des Gefäßes wird für 90 Minuten auf 60°C erhitzt. Zum Abbruch der Reaktion werden zügig 60 mL Reinstwasser ($\rho = 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) hinzugegeben und der erhaltene Feststoff anschließend mit 200 mL Methanol gewaschen. Bei verringertem Druck wird verbliebenes Methanol entfernt und daraufhin 4,48 g (90%) des Produkts, durch Gefriertrocknen aus einer wässrigen Suspension, erhalten.

11.4.22 Bet2 – MPEO5000-b-PMEDSAH

Zur Herstellung von MPEO5000-b-PMEDSAH (Bet2) werden 6,98 g (25 mmol, 500 Äqu.) MEDSAH sowie 256 mg (0,05 mmol, 1 Äqu.) MI1 in 10 mL entgastem Wasser gelöst und anschließend fünfmal mit Argon sekuriert. Nach der Zugabe von 10 mg (0,1 mmol, 2 Äqu.) CuCl und 10 μL (0,1 mmol, 2 Äqu.) wird das Reaktionsgefäß verschlossen und 40 min gerührt. Durch die Zugabe von 60 mL Reinstwasser ($\rho = 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) wird das Produkt ausgefällt und durch Zentrifugation abgetrennt. Anschließend wird zweimalig in 30 mL Reinstwasser ($\rho = 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) suspendiert und durch Zentrifugation abgetrennt, bevor ein hellgrüner Feststoff durch Gefriertrocknung erhalten wird. Dieser wird in 15 mL Wasser durch hinzugeben von Kaliumchlorid in Lösung gebracht und anschließend durch die tropfenweise Zugabe

von gesättigter Ammoniumsulfatlösung ausgefällt. Der weiße Feststoff wird durch Zentrifugation abgetrennt und in 20 mL Wasser gelöst. Durch Abkühlen auf 0°C wird das weiße schleimartige Produkt erhalten, das 5 mal in Reinstwasser suspendiert und durch Zentrifugation abgetrennt wird. Durch Gefriertrocknen aus einer wässrigen Suspension werden 3,56 g (51%) des Produkts erhalten.

11.4.23 Bet3 – PMEDSAH-b-PEO4600-b-PMEDSAH

Das Polymer PMEDSAH-b-PEO4600-b-PMEDSAH (Bet3) wird wie unter 11.4.22 beschrieben hergestellt, jedoch mit 256 mg (0,05 mmol) MI4 und der doppelten Menge an CuCl und TMEDA. Es werden 3,76 g (54%) des Produkts, nach Gefriertrocknung aus Wasser erhalten.

11.4.24 Bet4 – PMEDSAH-b-PEO100k-b-PMEDSAH

Für die Synthese des PMEDSAH-b-PEO100k-b-PMEDSAH (Bet4) werden 507 mg (0,005 mmol, 1 Äqu.) MI5 in 20 mL Wasser über 18 h gelöst und anschließend in dieser Lösung 6,98 g (25 mmol, 5000 Äqu.) MEDSAH gelöst. Von hier an verläuft die Synthese wie unter 11.4.22 beschrieben, jedoch mit der doppelten Menge an CuCl und TMEDA. Nach Gefriertrocknung aus Wasser werden 1,56 g (22%) des Produkts erhalten.

11.5 Bürsten

Die verwendeten Si-Wafer werden auf eine Kantenlänge von ca. 1 cm zugeschnitten und die spätere Unterseite vor der Reaktion zerkratzt. Zur Reinigung werden sie nacheinander mit Ethanol, Chloroform, Ethanol und Wasser gespült und im Anschluss mit einem Argonstrom getrocknet. Anschließend werden die Si-Wafer für 30 s in eine 1:1 Mischung aus Schwefelsäure (96%) und Wasserstoffperoxid (35%) getaucht und danach mit viel Wasser gespült und im Argonstrom getrocknet.

11.5.1 Prec1

In ein 15 mL Zentrifugenröhrchen werden erst 30 μL 3-(Triethoxysilyl)propylamin sowie ein Wafer gegeben. Nach dem Verschließen des Röhrchens wird dieses in einem Wasserbad für 30 Min. auf 30°C erhitzt und anschließend der Wafer wieder entfernt und nacheinander großzügig mit Ethanol, Chloroform, Ethanol und Wasser gespült und im Argonstrom getrocknet.

11.5.2 Prec2

Die Synthese erfolgt wie unter 11.5.1 beschrieben, jedoch mit 30 μL N-Methyl-3-(trimethoxysilyl)propylamin.

11.5.3 Prec3

Die Oberseite eines vorbereiteten Wafers wird für 2 Min. vollständig mit einem Tropfen (3-Iodopropyl)trimethoxysilan bedeckt und im Anschluss nacheinander mit Chloroform, Ethanol und viel Wasser gespült und im Argonstrom getrocknet. Danach wird der Si-Wafer in ein 15 mL Zentrifugenröhrchen verbracht und trockenes Benzol hinzu gegeben, so dass die äußerste Kante des Wafers sich 5 – 10 mm unter der Lösungsmittelmitteloberfläche befindet. Nach Zugabe von 100 mg PEO4600 wird das Röhrchen für 2 Min. geschüttelt, bevor 100 μL einer 2 M Lithiumdiisopropylamidlösung (in Tetrahydrofuran) hinzugegeben werden und das Röhrchen für 5 s geschüttelt wird. Nach 60 h wird der Wafer aus der Lösung entfernt, nacheinander großzügig mit Ethanol, Chloroform, Ethanol und Wasser gespült und im Argonstrom getrocknet.

11.5.4 Ini1, Ini2 und Ini3

Zur Herstellung von Ini1 wird ein mit Prec1 funktionalisierter Si-Wafer in ein 15 mL Zentrifugenröhrchen gegeben und mit trockenem Chloroform, Dichlormethan oder Benzol bedeckt, so dass die äußerste Kante des Si-Wafers sich 5-10 mm unter der Lösungsmitteloberfläche befindet. Im Anschluss werden 139 μL trockenes Triethylamin und 123 μL 2-Brom-2-methylpropionylbromid hinzugegeben, das Zentrifugenröhrchen verschlossen und für 5 s geschüttelt. Nach 60 h wird der Si-Wafer aus der Lösung entfernt und großzügig nacheinander mit Ethanol, Chloroform, Ethanol und Wasser gespült, bevor er im Argonstrom getrocknet wird.

Ini2 und Ini3 werden analog zu dieser Vorschrift hergestellt, wobei Prec2 den Vorläufer für Ini2 und Prec3 den Vorläufer für Ini3 darstellt.

11.5.5 Brush1, Brush2 und Brush3

In einem mit 69%iger Salpetersäure gereinigten Schraubdeckelgläschen wird ein mit Ini2 funktionalisierter Wafer mit der zerkratzten Seite nach unten am Boden platziert und das Gefäß mit einem Septum verschlossen. In einem weiteren mit einem Septum verschlossenen Gläschen befinden sich 10 mg CuCl. Gleichzeitig werden 1 g SPM sowie 11 μL TMEDA in einem dritten Gläschen in 1 mL Wasser gelöst. Alle Gläschen werden in folgender Reihenfolge durch Transferkanülen verbunden und mit Argon entgast: SPM-Lösung, CuCl, Wafer. Nach 5 Minuten wird die SPM-Lösung in das Gläschen transferiert, welches das CuCl enthält und solange kräftig gerührt, bis das CuCl gelöst ist. Diese Lösung wiederum wird in das letzte Gläschen mit dem Wafer transferiert, die Kanülen daraus entfernt und 12 h erschütterungsfrei belassen. Nach dem Entfernen des Wafers wird dieser großzügig mit Wasser gespült, für 1 h in Wasser ruhen gelassen und erneut mit Wasser gespült, bevor er im Argonstrom getrocknet wird.

In analoger Weise werden die Polymerbürsten Brush2 und Brush3 hergestellt, wobei Ini2 den Vorläufer für Brush2 und Ini3 den Vorläufer für Brush3 darstellt.

11.5.6 Mineralisierung der Bürsten

Die Polymerbürsten werden nach einer einheitlichen Methode mineralisiert. Für Min1 wird ein mit Brush1, für Min2 ein Brush2 und für Min3 ein Brush3 funktionalisierter Si-Wafer verwendet. Es werden jeweils 15 mL eine 2SBF-Ca- und 2SBF.Phosphatlösung-Lösung gemischt und ein Wafer darin platziert. Nachdem die Lösung 5 min gealtert ist, werden 2,5 mL 0,1 M Calciumchloridlösung ohne Rühren dazugegeben und das Gefäß für 24 h verschlossen. Der Si-Wafer wird nun aus der Lösung entfernt und die anhaftende Flüssigkeit im Argonstrom entfernt (der Si-Wafer wird nicht getrocknet!), anschließend wird der Wafer großzügig mit Wasser gespült und im Argonstrom getrocknet.

Um eine einheitliche mineralisierte Oberfläche zu erhalten, werden die Polymerbürsten zweimal mineralisiert.

11.6 Zusammenfassung ausgewählter Analytikdaten

CPDMAEMA/Cl: FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 2924 cm⁻¹, C–H asymmetrische Streckschwingung; 2247 cm⁻¹, CN-Streckschwingung; 1716 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1634 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1453 cm⁻¹, C–H Scherschwingung; 1294 cm⁻¹, CH₂ Ebene Deformationsschwingung; 1156 cm⁻¹, C–N-Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 1,94 (t, J=1,32 Hz, 3 H); 2,19 – 2,31 (m, 2 H); 2,66 (t, J=7,06 Hz, 2 H); 3,23 (s, 6 H) 3,56 (dqin, J=7,50, 4,00, 4,00, 4,00 Hz, 2 H); 3,81 – 3,87 (m, 2 H) 4,64 (tt, J=4,70, 2,30 Hz, 2 H); 5,78 (quin, J=1,50 Hz, 1 H); 6,16 (quin, J=0,90 Hz, 1 H), EA experimentell (berechnet): C 43,3% (47,1%), H 7,1% (7,2%), N 8,9% (9,2%), HRMS (ESI-Q-TOF) m/z: [M – Br]⁺ berechnet als C₁₂H₂₁N₂O₂ 225,1603; gemessen 225,1598, [M – Br + 1H]⁺ berechnet als C₁₂H₂₁N₂O₂ 226,1676; gemessen 226,1624.

Ani1: FTIR (KBr, 298 K)^[220]: 2960 cm⁻¹, C–H asymmetrische Streckschwingung; 2897 cm⁻¹, C–H symmetrische Streckschwingung; 1726 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung gesättigter Ester; 1450 cm⁻¹, C–H asymmetrische Deformationsschwingung von CH₃; 1485 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformation von CH₃; 1190 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung von SO₃; 1041 cm⁻¹, asymmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H-NMR (D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,6–1,3 (m); 1,5–2,3 (m); 2,8–3,1 (m); 3,2–3,4 (m); 3,8–4,3 (m), EA experimentell (berechnet): C 31,9% (34,1%); H 4,9% (4,5%); S 12,2% (13,0%), dn/dc = 0,1183 mL/g, AF4 M_w = 1,320·10⁶ g/mol, PDI = 1,12.

Ani2: FTIR (KBr, 298 K)^[220]: 2960 cm⁻¹, C–H asymmetrische Streckschwingung; 2897 cm⁻¹, C–H symmetrische Streckschwingung; 1726 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung gesättigter Ester; 1450 cm⁻¹, C–H asymmetrische Deformation von CH₃; 1485 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformation von CH₃; 1190 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung von SO₃; 1043 cm⁻¹, asymmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H-NMR (D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,6–1,3 (m); 1,5–2,3 (m); 2,8–3,1 (m); 3,2–3,4 (m); 3,57–3,64 (s); 3,8–4,3 (m), EA Experiment (berechnet): C 32,6% (34,2%); H 5,0% (4,5%); S 12,0% (13,0%), dn/dc = 0,1091 mL/g, AF4 M_w = 1,895·10⁶ g/mol, PDI = 1,11.

Ani3: FTIR (KBr, 298 K)^[220]: 2960 cm⁻¹, C–H asymmetrische Streckschwingung; 2897 cm⁻¹, C–H symmetrische Streckschwingung; 1725cm⁻¹, C=O-Streckschwingung gesättigter Ester; 1450 cm⁻¹, C–H asymmetrische Deformation von CH₃; 1485 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformation von CH₃; 1190 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung von SO₃; 1043 cm⁻¹, asymmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H-NMR (D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,6–1,3 (m); 1,5–2,3 (m); 2,8–3,1 (m); 3,2–3,4 (m); 3,55–3,64 (s); 3,8–4,3 (m), EA experimentell (berechnet): C 32,6% (34,2%); H 5,0% (4,5%); S 12,0% (13,0%), Value dn/dc = 0,1091 mL/g, AF4 M_w = 3,255·10⁶ g/mol, PDI = 1,01.

11 Experimenteller Teil

Ani4: FTIR (KBr, 298 K)^[220]: 2960 cm⁻¹, C–H asymmetrische Streckschwingung; 2897 cm⁻¹, C–H symmetrische Streckschwingung; 1727 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung gesättigter Ester; 1450 cm⁻¹, C–H asymmetrische Deformation von CH₃; 1485 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformation von CH₃; 1193 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung von SO₃; 1043 cm⁻¹, asymmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H-NMR (D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,6–1,3 (m); 1,5–2,3 (m); 2,8–3,1 ppm (m); 3,2–3,4 (m); 3,51–3,70 (s); 3,8–4,3 (m), EA experimentell (berechnet): C 35,7% (34,7%); H 3,6% (4,6%); S 10,6% (12,7%), Value dn/dc = 0,1215 mL/g, AF4 M_w = 4,580·10⁶ g/mol, PDI = 1,51 (enthält wenig unreaktiertes Startmaterial mit M_w = 0,112·10⁶ g/mol, PDI = 1,81).

C1. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3023 cm⁻¹, C–N asymmetrische Streckschwingung, 2962 cm⁻¹, C–H Schwingung von R–CH₃; 1724 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1643cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1481 cm⁻¹, C–H Scherschwingung; 1283 cm⁻¹ und 1153 cm⁻¹, C–N Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,66 – 1,47 (m, 3 H) 1,56 – 2,39 (m, 2 H) 3,28 (br, s., 9 H) 3,83 (br, s., 2 H) 4,27 – 4,64 (m, 2 H), EA Experiment (berechnet): C 44,1% (50,6%), H 9,6% (7,7%), N 5,% (8,1%), dn/dc = 0,143 mL/g, M_n(GPC) = 40,7 kg/mol, PDI = 4,15.

C2. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3023 cm⁻¹, C–N asymmetrische Streckschwingung, 2962 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1724 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1643cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1481 cm⁻¹, C–H Scherschwingung; 1283 cm⁻¹ und 1153 cm⁻¹, C–N Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,67 – 1,45 (m, 3 H) 1,47 – 2,49 (m, 2 H) 3,29 (br, s., 9 H) 3,58 – 4,12 (m, 3 H) 4,20 – 4,63 (m, 2 H), EA experimentell (berechnet): C 44,5% (50,6%), H 8,6% (7,7%), N 5,5% (8,1%), dn/dc = 0,145 mL/g, M_n(GPC) = 136,5 kg/mol, PDI = 6,01, M_n(¹H NMR) = 98,8 kg/mol.

C3. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3023 cm⁻¹, C–N asymmetrische Streckschwingung, 2962 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1724 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1643cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1481 cm⁻¹, C–H Scherschwingung; 1283 cm⁻¹ und 1153 cm⁻¹, C–N Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,65 - 1,43 (m, 6 H) 1,50 - 2,48 (m, 4 H) 3,29 (br, s., 18 H) 3,70 (s, 5 H) 4,22 - 4,64 (m, 4 H), EA experimentell (berechnet): C 43,8% (50,6%), H 9,7% (7,7%), N 5,3% (8,1%), dn/dc = 0,132 mL/g, M_n(GPC) = 61,7 kg/mol, PDI = 5,56, M_n(¹H NMR) = 300,0 kg/mol.

C1^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3027 cm⁻¹, C–N asymmetrische Streckschwingung; 2248 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ und 1625 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1463 cm⁻¹, C–H Scherschwingung; 1149 cm⁻¹ C–N Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,62 – 1,58 (m, 3 H) 2,27 (br, s., 4 H) 2,73 (br, s., 2 H) 3,26 (br, s., 6 H) 3,58 (br, s., 2 H) 3,70 – 4,10 (m, 2 H) 4,20 – 4,68 (m, 1 H), EA experimentell (berechnet): C 53,1% (55,3%), H 9,0% (8,1%), N 10,1% (10,7%), Value dn/dc = 0,149 mL/g, GPC M_n(GPC) = 90,2 kg/mol, PDI = 3,7.

C2^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3027 cm⁻¹, C–N asymmetrische Streckschwingung; 2248 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ und 1625 cm⁻¹, C=O-Streckung; 1415 cm⁻¹, C–H Deformation von CH₂; 1091 cm⁻¹, C–N Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,61 – 1,43 (m, 3 H) 1,63 – 2,40 (m, 4 H) 2,59 – 2,85 (m, 2 H) 3,25 (br, s., 6 H) 3,47 – 3,73 (m, 3 H) 3,87 (br, s., 2 H) 4,34 – 4,60 (m, 2 H), EA experimentell (berechnet): C 17,4% (55,3%), H 6,9% (8,1%), N 16,5% (10,7%), dn/dc = 0,158 mL/g, M_n(GPC) = 82,2 kg/mol, PDI = 5,47, M_n(¹H NMR) = 67,3 kg/mol.

C3^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3027 cm⁻¹, C–N asymmetrische Streckschwingung; 2248 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ und 1625 cm⁻¹, C=O-Streckung; 1415 cm⁻¹, C–H Deformation von CH₂; 1091 cm⁻¹, C–N Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,56 – 1,45 (m, 8 H) 1,58 – 2,38 (m, 8 H) 2,54 – 2,84 (m, 5 H) 3,07 – 3,40 (m, 12 H) 3,45 – 3,72 (m, 6 H) 3,74 – 3,98 (m, 5 H) 4,26 – 4,60 (m, 3 H), EA experimentell (berechnet): C 20,4% (55,3%), H 9,1% (8,1%), N 15,8% (10,7%), Value dn/dc = 0,159 mL/g, M_n(GPC) = 119,0 kg/mol, PDI = 4,02, M_n(¹H NMR) = 85,8 kg/mol.

C4^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3027 cm⁻¹, C–N asymmetrische Streckschwingung; 2248 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ und 1625 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1463 cm⁻¹, C–H Scherschwingung; 1149 cm⁻¹ C–N Streckschwingung. ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K) δ [ppm]: 0,56 – 1,43 (m, 7 H) 1,52 – 2,46 (m, 8 H) 2,68 (br, s., 4 H) 3,21 (br, s., 12 H) 3,58 (br, s., 6 H) 3,82 (br, s., 6 H) 4,23 – 4,63 (m, 3 H), EA experimentell (berechnet): C 50,4% (55,3%), H 8,1% (8,1%), N 10,0% (10,7%), M_n(GPC) = 111,3 g/mol, PDI = 4,83, M_n(¹H NMR) = 1293,3 kg/mol.

11 Experimenteller Teil

A1. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2969 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1724 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1481 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformationsschwingung von N–CH₃; 1419 cm⁻¹, C–H Deformationsschwingung von CH₂; 1153 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 1037 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,56 – 1,47 (m, 6 H) 1,50 – 2,36 (m, 5 H) 2,86 – 3,12 (m, 2 H) 3,15 – 3,50 (m, 9 H) 3,62 – 3,97 (m, 2 H) 3,99 – 4,32 (m, 2 H) 4,33 – 4,62 (m, 2 H), EA experimentell (berechnet): C 39,3% (50,6%), H 6,6% (7,7%), N 4,0% (3,7%), S 6,9% (8,5%), dn/dc = 0,150 mL/g.

A2. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2969 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1724 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1481 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformationsschwingung von N–CH₃; 1419 cm⁻¹, C–H Deformationsschwingung von CH₂; 1153 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 1037 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung of SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,38 – 1,47 (m, 6 H) 1,50 - 2,38 (m, 5 H) 2,86 – 3,10 (m, 2 H) 3,13 – 3,41 (m, 9 H) 3,65 – 3,94 (m, 2 H) 3,99 – 4,32 (m, 2 H) 4,34 – 4,64 (m, 2 H), EA experimentell (berechnet): C 43,9% (50,6%), H 7,8% (7,7%), N 4,7% (3,7%), S 9,5% (8,5%), dn/dc = 0,134 mL/g, M_n(¹H NMR) = 764,0 kg/mol.

A3. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2969 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1724 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1481 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformationsschwingung von N–CH₃; 1419 cm⁻¹, C–H Deformationsschwingung von CH₂; 1153 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 1037 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,49 – 1,48 (m, 12 H) 2,13 (br, s,, 11 H) 3,00 (br, s,, 5 H) 3,15 – 3,43 (m, 18 H) 3,66 – 3,96 (m, 5 H) 3,99 – 4,34 (m, 4 H) 4,35 – 4,65 (m, 3 H), EA experimentell (berechnet): C 46,5% (50,6%), H 7,7% (7,7%), N 3,8% (3,7%), S 8,6% (8,5%), dn/dc = 0,137 mL/g, M_n(¹H NMR) = 443,3 kg/mol.

A4. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2969 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1724 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1481 cm⁻¹, C–H symmetrische Deformationsschwingung von N–CH₃; 1419 cm⁻¹, C–H Deformationsschwingung von CH₂; 1153 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 1103 cm⁻¹, asymmetrische Streckdeformation von SO₃; 1037 cm⁻¹, symmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,57 – 1,44 (m, 12 H) 1,56 – 2,30 (m, 12 H) 2,90 – 3,10 (m, 5 H) 3,12 – 3,38 (m, 18 H) 3,64 – 3,93 (m, 8 H) 4,02 – 4,30 (m, 4 H) 4,37 – 4,62 (m, 4 H), EA experimentell (berechnet): C 37,4% (50,6%), H 7,4% (7,7%), N 6,9% (3,7%), S 11,7% (8,5%), dn/dc = 0,165 mL/g, M_n(¹H NMR) = 2429,4 kg/mol.

A1^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2252 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ und 1646 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1415 cm⁻¹, C–H CH₂ Deformationsschwingung; 1149 cm⁻¹ C–N Streckschwingung; 1110 cm⁻¹ asymmetrische Streckschwingung von SO₃; 1041 cm⁻¹ symmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,76 – 1,52 (m, 7 H) 1,72 – 2,36 (m, 6 H) 2,37 – 2,57 (m, 2 H) 2,77 – 2,99 (m, 2 H) 3,05 – 3,26 (m, 2 H) 3,42 (br, s., 6 H) 3,60 – 3,85 (m, 2 H) 3,88 – 4,16 (m, 2 H) 4,18 – 4,45 (m, 2 H) 4,54 – 4,70 (m, 1 H), EA experimentell (berechnet): C 36,2% (52,8%), H 6,9% (7,5%), N 9,2% (6,5%), S 11,9% (7,4%), Value dn/dc = 0,144 mL/g.

A2^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2252 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ und 1646 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1415 cm⁻¹, C–H CH₂ Deformationsschwingung; 1149 cm⁻¹ C–N Streckschwingung; 1110 cm⁻¹ asymmetrische Streckschwingung von SO₃; 1041 cm⁻¹ symmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,49 – 1,44 (m, 7 H) 1,57 – 2,49 (m, 8 H) 2,65 – 2,87 (m, 2 H) 2,89 – 3,14 (m, 2 H) 3,30 (br, s., 6 H) 3,51 – 3,75 (m, 3 H) 3,78 – 4,02 (m, 2 H) 4,06 – 4,35 (m, 2 H) 4,41 – 4,67 (m, 1 H), EA experimentell (berechnet): C 29,4% (52,8%), H 6,0% (7,5%), N 9,4% (6,5%), S 11,9% (7,4%), Value dn/dc = 0,146 mL/g, M_n(¹H NMR) = 179,1 kg/mol.

11 Experimenteller Teil

A3^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2252 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ und 1646 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1415 cm⁻¹, C–H CH₂ Deformationsschwingung; 1149 cm⁻¹ C–N Streckschwingung; 1110 cm⁻¹ asymmetrische Streckschwingung von SO₃; 1041 cm⁻¹ symmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,50 – 1,46 (m, 8 H) 1,60 – 2,47 (m, 9 H) 2,63 – 2,85 (m, 2 H) 2,91 – 3,13 (m, 3 H) 3,17 – 3,45 (m, 6 H) 3,50 – 3,69 (m, 2 H) 3,70 – 3,78 (m, 2 H) 3,79 – 3,99 (m, 2 H) 4,06 – 4,32 (m, 2 H) 4,37 – 4,65 (m, 2 H), EA experimentell (berechnet): C 35,6% (52,8%), H 7,0% (7,5%), N 9,3% (6,5%), S 10,7% (7,4%), dn/dc = 0,146 mL/g, M_n(¹H NMR) = 123,6 kg/mol.

A4^{CN}. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 3046 cm⁻¹, C–N Streckschwingung; 2252 cm⁻¹, CN Streckschwingung; 1724 cm⁻¹ and 1646 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1465 cm⁻¹ C–H Scherschwingung; 1415 cm⁻¹, C–H CH₂ Deformationsschwingung; 1149 cm⁻¹ C–N Streckschwingung; 1110 cm⁻¹ asymmetrische Streckschwingung von SO₃; 1041 cm⁻¹ symmetrische Streckschwingung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,80 – 1,53 (m, 13 H) 1,68 – 2,61 (m, 17 H) 2,79 – 2,97 (m, 4 H) 3,06 – 3,22 (m, 5 H) 3,41 (br, s., 12 H) 3,64 – 3,90 (m, 38 H) 3,92 – 4,12 (m, 4 H) 4,17 – 4,40 (m, 4 H), EA experimentell (berechnet): C 39,0% (52,8%), H 7,0% (7,5%), N 7,1% (6,5%), S 7,9% (7,4%), dn/dc = 0,152 mL/g, M_n(¹H NMR) = 397,2 kg/mol.

B1. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 2981 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1731 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1484 cm⁻¹, C–H Scherschwingung von CH₂; 1184 cm⁻¹, C–N Streckschwingung, 1041 cm⁻¹, symmetrische Streckung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,66 – 1,59 (m, 3 H) 1,63 – 2,57 (m, 5 H) 2,89 – 3,15 (m, 4 H) 3,39 (s, 10 H) 3,75 (s, 7 H) 3,81 – 4,03 (m, 3 H) 4,38 – 4,65 (m, 3 H), EA experimentell (berechnet): C 42,6% (47,3%), H 10,1% (7,6%), N 4,6% (5,0%), S 10,0% (11,5%), dn/dc = 0,143 mL/g, M_n(AF4) = 1053,0 kg/mol, PDI = 1,80.

B2. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 2981 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1731 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1484 cm⁻¹, C–H Scherschwingung von CH₂; 1184 cm⁻¹, C–N Streckschwingung, 1041 cm⁻¹, symmetrische Streckung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,52 – 1,40 (m, 4 H) 1,55 – 2,50 (m, 5 H) 3,05 (br, s., 2 H) 3,30 (br, s., 6 H) 3,52 – 3,76 (m, 2 H) 3,78 – 4,04 (m, 2 H) 4,32 – 4,63 (m, 2 H), EA experimentell (berechnet): C 42,3% (47,3%), H 10,2% (7,6%), N 4,6% (5,0%), S 10,1% (11,5%), dn/dc = 0,085 mL/g, M_n(¹H NMR) = 630,8 kg/mol, M_n(AF4) = 1746,0 kg/mol, PDI = 1,52.

B3. FTIR (ATR, 298 K)^[220]: 2981 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1731 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1484 cm⁻¹, C–H Scherschwingung von CH₂; 1184 cm⁻¹, C–N Streckschwingung, 1041 cm⁻¹, symmetrische Streckung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ ppm 0.53 - 1.52 (m, 3 H) 1.60 - 2.53 (m, 4 H) 3.02 (br. s., 2 H) 3.27 (br. s., 6 H) 3.51 - 3.72 (m, 2 H) 3.85 (br. s., 2 H) 4.26 - 4.64 (m, 2 H). EA Experiment (berechnet): C 42.9% (47.3%), H 10.1% (7.6%), N 4.6% (5.0%), S 10.3% (11.5%). dn/dc = 0.144 mL/g. M_n(¹H NMR) = 555.9 kg/mol.

B4. FTIR (KBr, 298 K)^[220]: 2981 cm⁻¹, C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1731 cm⁻¹ und 1650 cm⁻¹, C=O-Streckschwingung; 1484 cm⁻¹, C–H Scherschwingung von CH₂; 1184 cm⁻¹, C–N Streckschwingung, 1041 cm⁻¹, symmetrische Streckung von SO₃. ¹H NMR (300 MHz, D₂O + KCl, 298 K) δ [ppm]: 0,71 – 1,49 (m, 4 H) 1,61 – 2,54 (m, 5 H) 3,03 – 3,21 (m, 2 H) 3,38 (br, s., 6 H) 3,59 – 3,83 (m, 2 H) 3,84 – 4,16 (m, 2 H) 4,43 – 4,66 (m, 2 H), EA experimentell (berechnet): C 42,1% (47,3%), H 10,2% (7,6%), N 4,5% (5,0%), S 10,6% (11,5%), Value dn/dc = 0,138 mL/g, M_n(¹H NMR) = 11760,4 kg/mol, M_n(AF4) = 1133,0 kg/mol, PDI = 1,28.

Brush1. IRRAS (298K): 2957 cm⁻¹ asymmetrische C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1725 cm⁻¹ und 1647 cm⁻¹ C=O-Streckschwingung; 1449 cm⁻¹ asymmetrische C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1189 cm⁻¹ symmetrische Streckschwingung SO₃; 1107 cm⁻¹ asymmetrische C–O-Streckschwingung Ester; 1048 cm⁻¹ asymmetrische Streckschwingung SO₃; 739 cm⁻¹ C–C Skelettschwingung.

11 Experimenteller Teil

Brush2. IRRAS (298K): 2946 cm^{-1} asymmetrische C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1726 cm^{-1} und 1648 cm^{-1} C=O-Streckschwingung; 1477 cm^{-1} C–H symmetrische Streckschwingung von CH₃; 1449 cm^{-1} asymmetrische C–H Deformation von CH₃; 1232 cm^{-1} symmetrische Streckschwingung SO₃; 1108 cm^{-1} asymmetrische C–O-Streckschwingung Ester; 1049 cm^{-1} asymmetrische Streckschwingung SO₃; 738 cm^{-1} C–C Skelettschwingung.

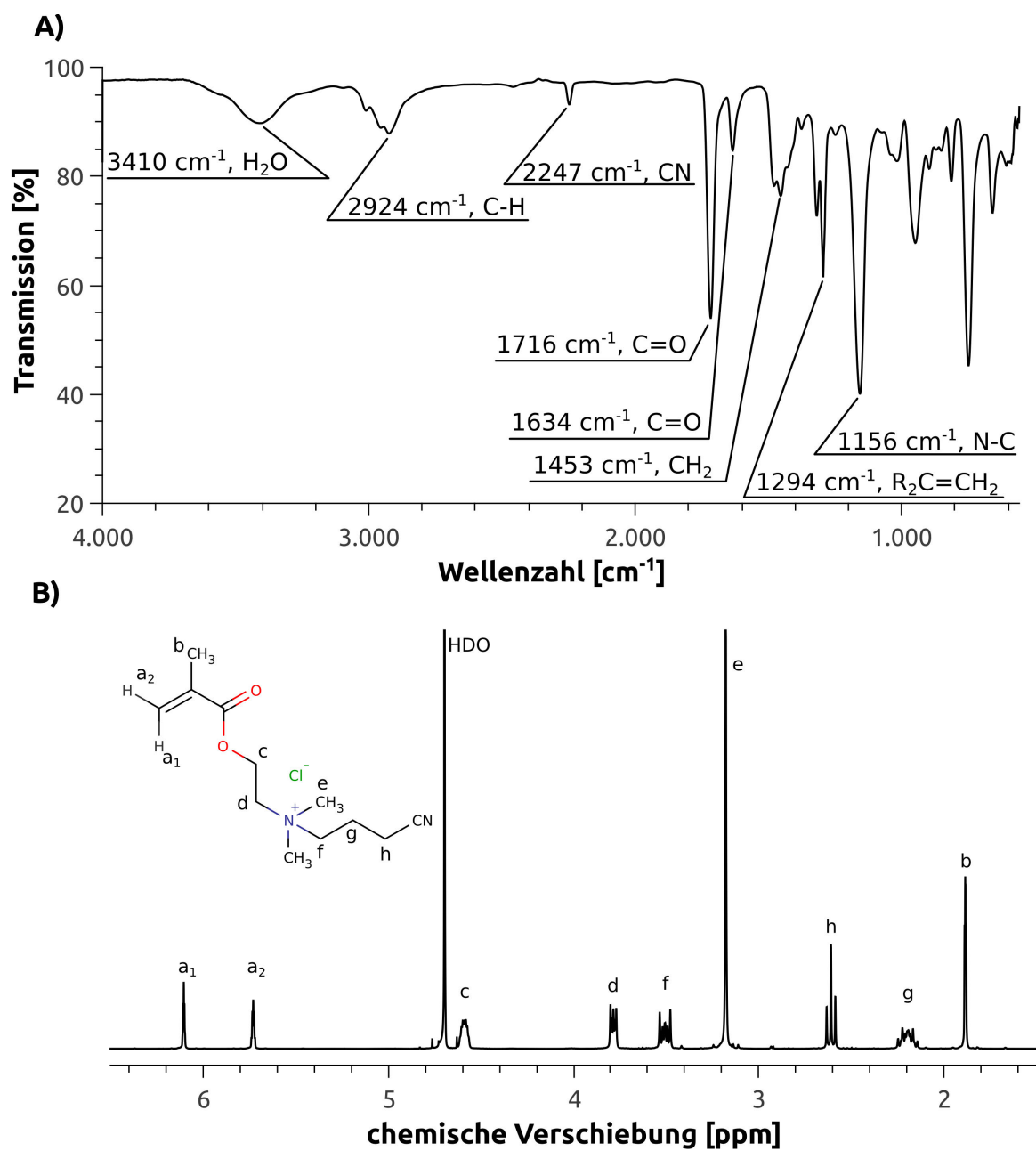
Brush3. IRRAS (298K): 2946 cm^{-1} asymmetrische C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1735 cm^{-1} C=O-Streckschwingung; 1449 cm^{-1} asymmetrische C–H Deformation von CH₃; 1185 cm^{-1} ; 1108 cm^{-1} asymmetrische C–O-Streckschwingung Ester; 1050 cm^{-1} asymmetrische Streckschwingung SO₃; 740 cm^{-1} C–C Skelettschwingung.

Min1. IRRAS (298K): 2927 cm^{-1} asymmetrische C–H Streckschwingung von R–CH₃; 1726 cm^{-1} und 1645 cm^{-1} C=O-Streckschwingung; 1447 cm^{-1} asymmetrische C–O-Streckschwingung von CO₃²⁻ A- und B-Typ; 1107 cm^{-1} asymmetrische P–O Streckschwingung von PO₄³⁻; 892 cm^{-1} symmetrische C–O-Streckschwingung von CO₃²⁻ A- und B-Typ; 736 cm^{-1} C–C Skelettschwingung.

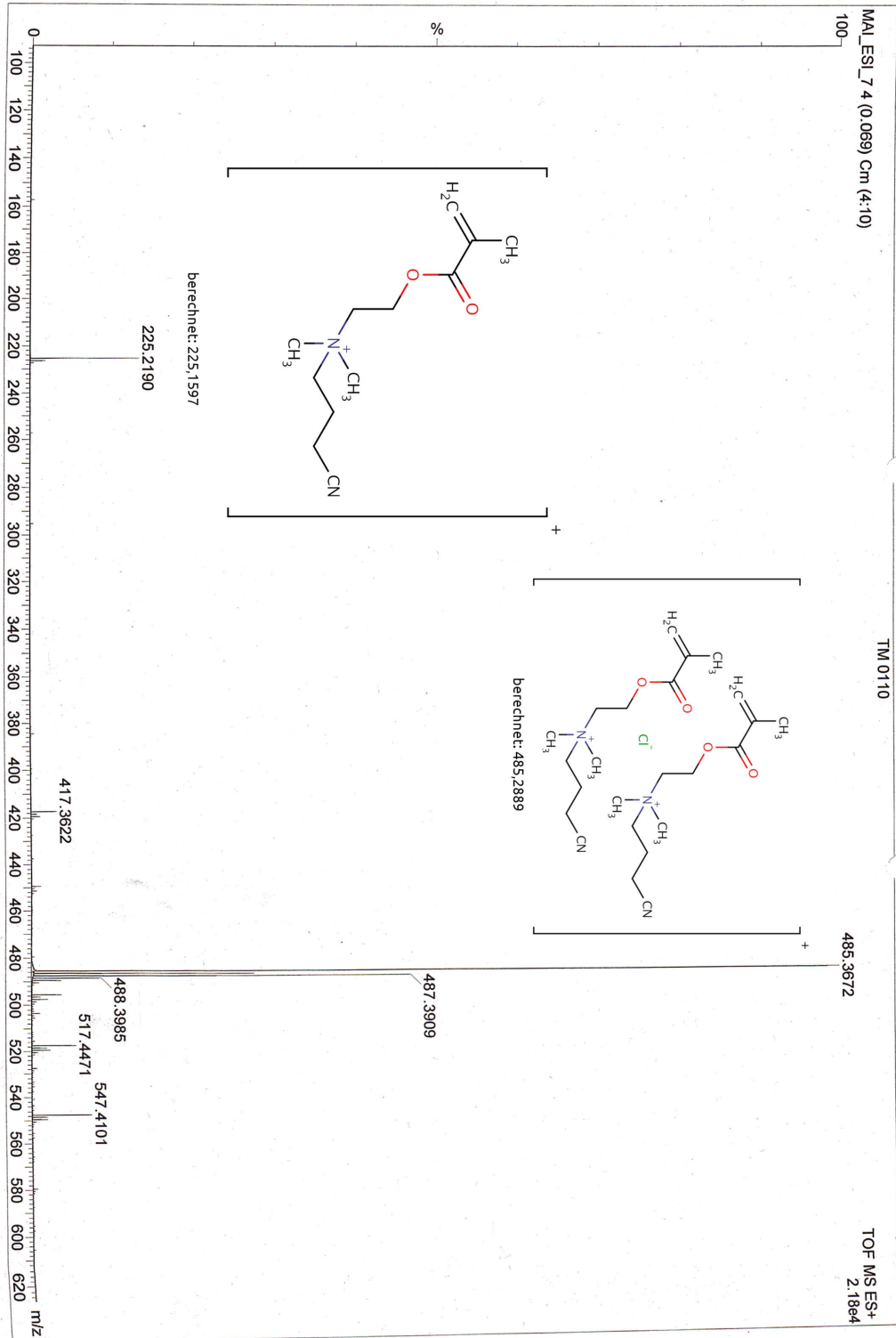
Min2. IRRAS (298K): 2966 cm^{-1} ; 1725 cm^{-1} ; 1644 cm^{-1} C=O-Streckschwingung; 1415 cm^{-1} asymmetrische C–O-Streckschwingung von CO₃²⁻ A- und B-Typ; 1109 cm^{-1} asymmetrische P–O Streckschwingung von PO₄³⁻; 902 cm^{-1} symmetrische C–O-Streckschwingung von CO₃²⁻ A-Typ; 870 cm^{-1} symmetrische C–O Streckschwingung von CO₃²⁻ B-Typ; 736 cm^{-1} C–C Skelettschwingung.

Min3. IRRAS (298K): 1654 cm^{-1} C=O-Streckschwingung; 1493 cm^{-1} asymmetrische C–O-Streckschwingung von CO₃²⁻ A- und B-Typ; 1043 cm^{-1} asymmetrische P–O Streckschwingung von PO₄³⁻; 862 cm^{-1} symmetrische C–O-Streckschwingung von CO₃²⁻ A- und B-Typ.

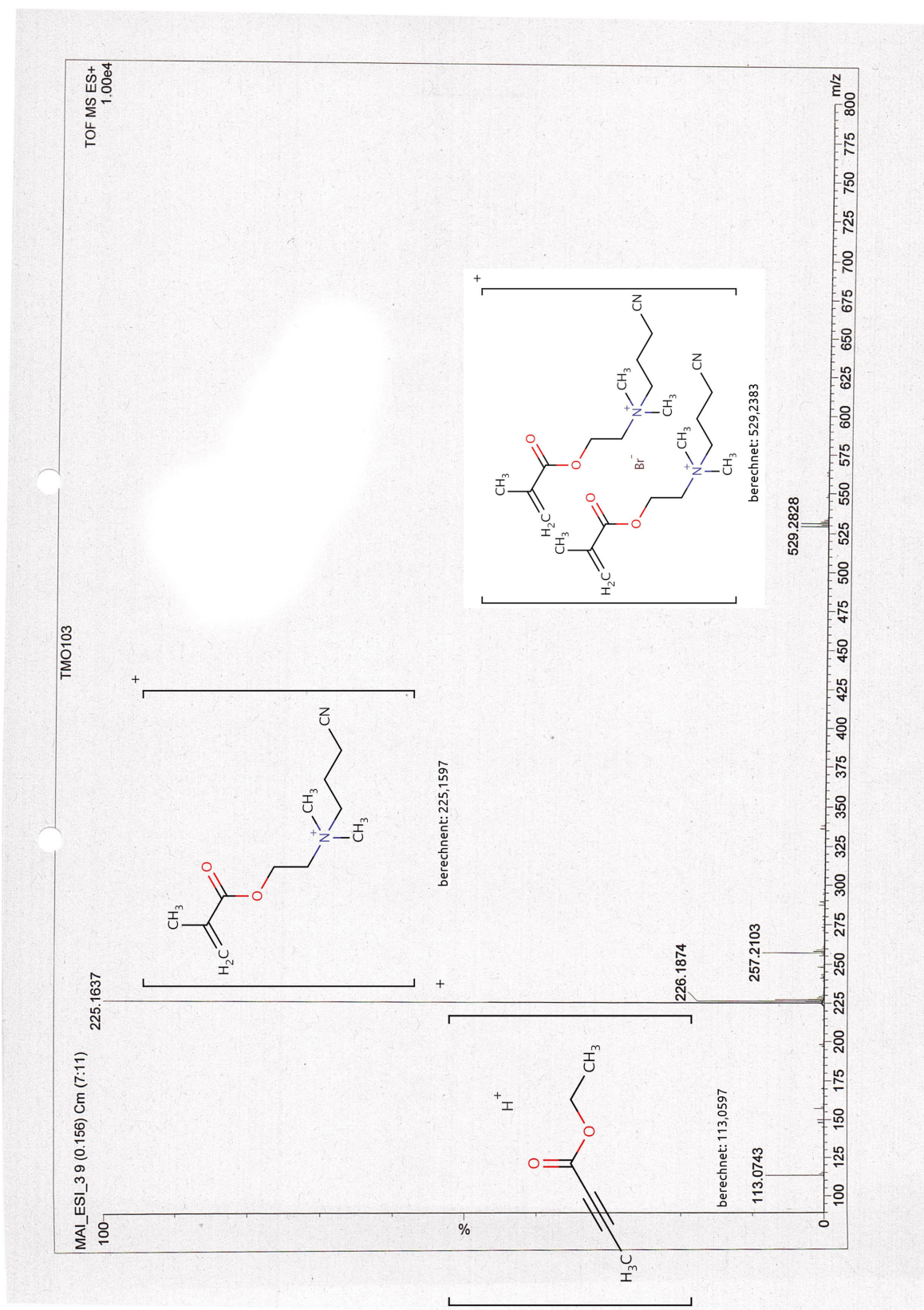
12 Anhang



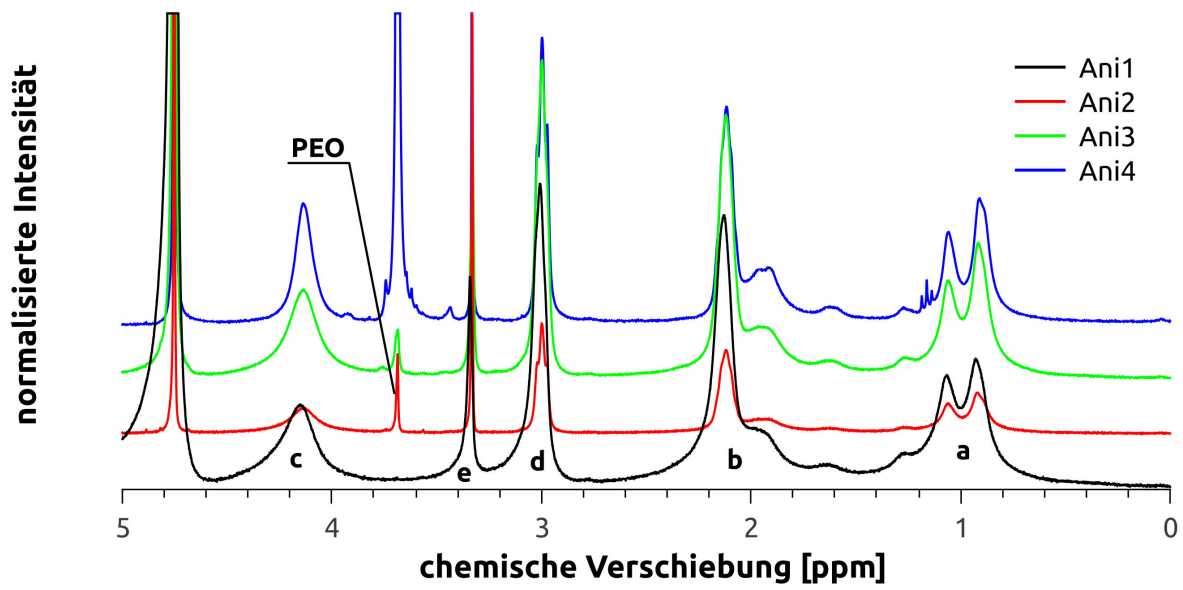
A 1. A) FTIR Aufnahme und B) ^1H NMR in D_2O von CPDMAEMA/Cl



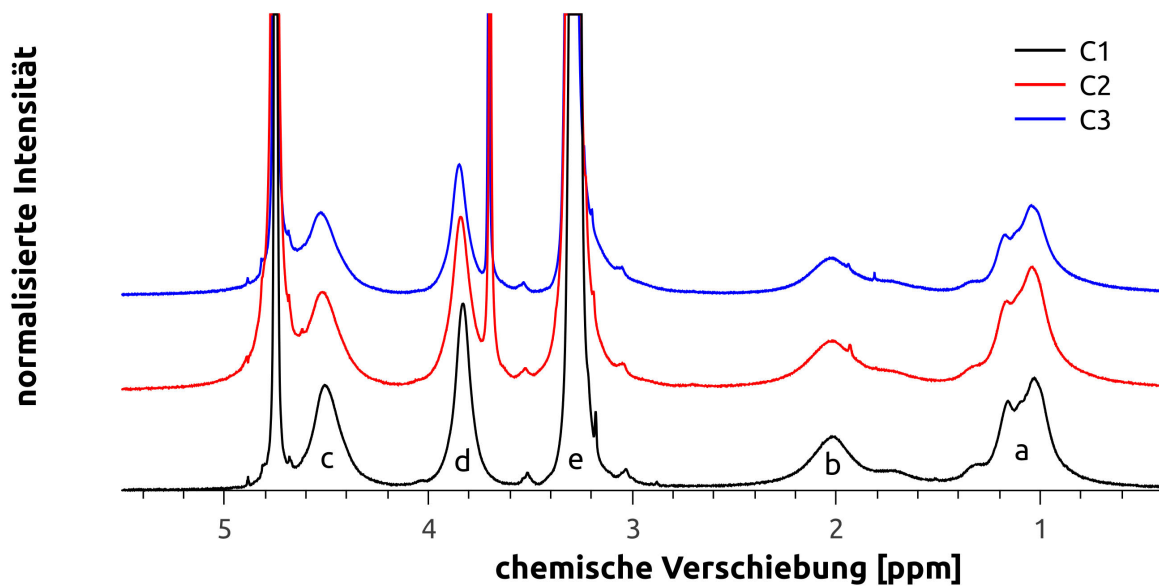
A 2. ESI-Massenspektrogramm aus wässriger Lösung von CPDMAEMA/Cl



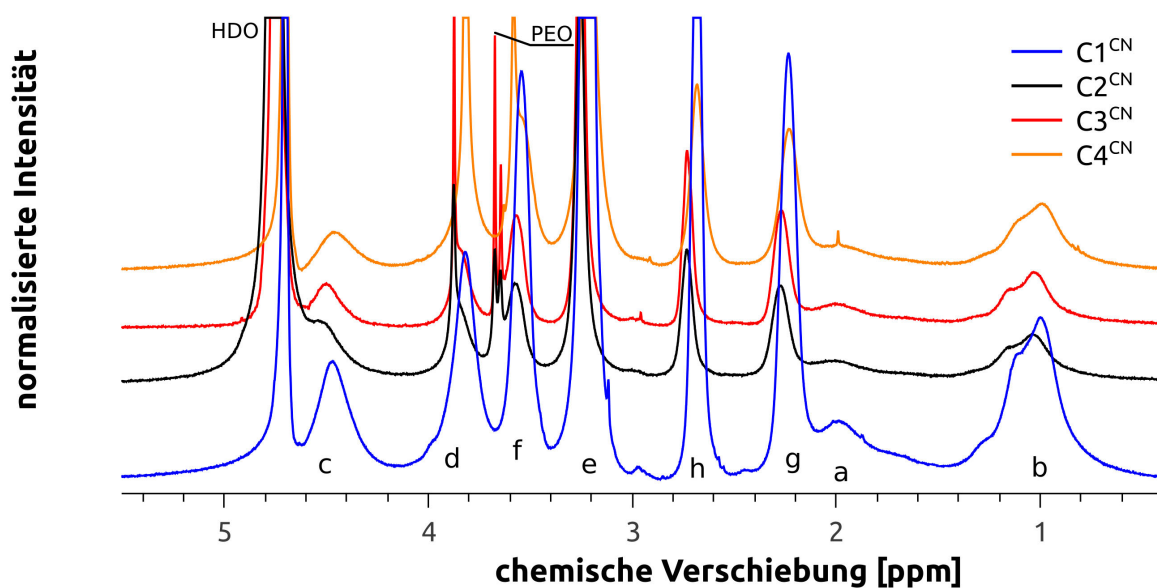
A 3. ESI-Massenspektrogramm aus wässriger Lösung von CPDMAEMA/Br



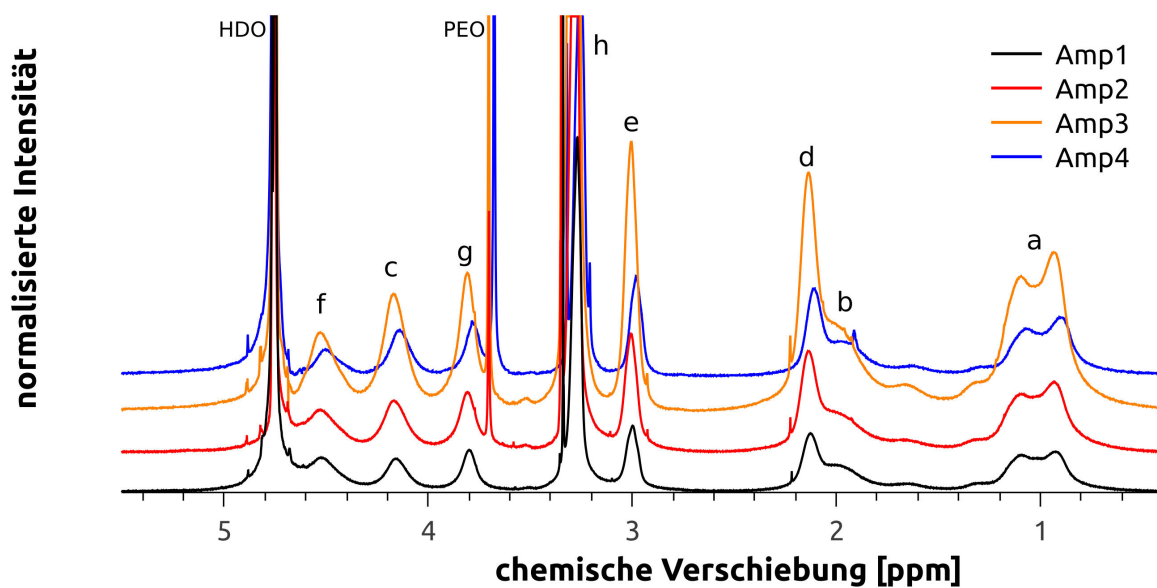
A 4. ^1H NMR-Spektren von Ani1, Ani2, Ani3 und Ani4. Die Beschriftung kann Abbildung 13 entnommen werden.



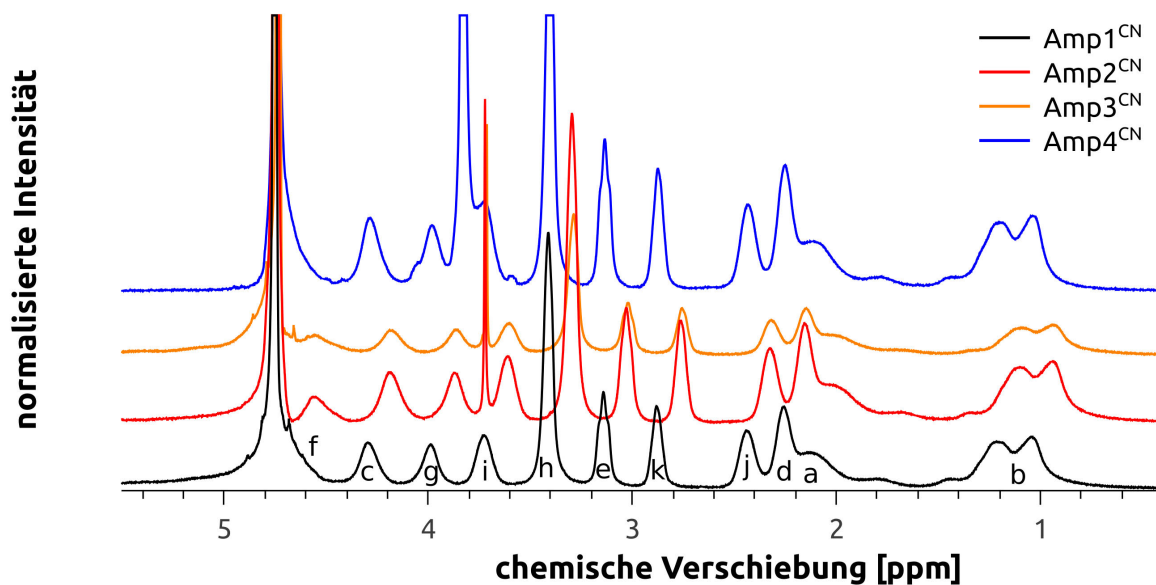
A 5. ^1H NMR-Spektren von C1, C2 und C3. Die Beschriftung kann Abbildung 13 entnommen werden.



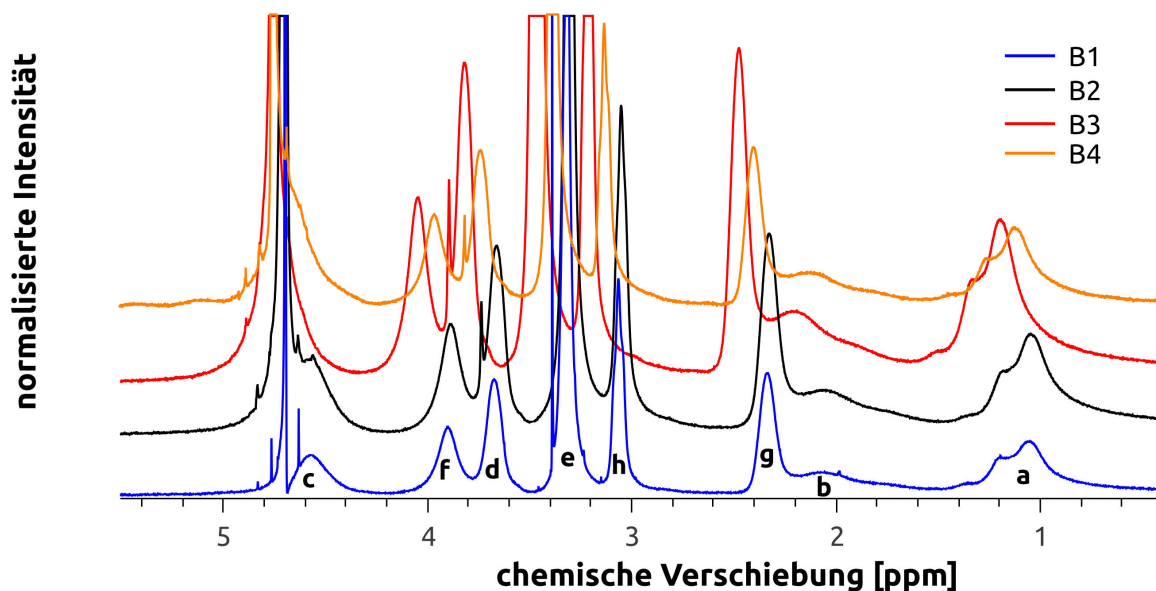
A 6. ^1H NMR-Spektren von C1^{CN}, C2^{CN}, C3^{CN} und C4^{CN}. Die Beschriftung kann Abbildung 13 entnommen werden.



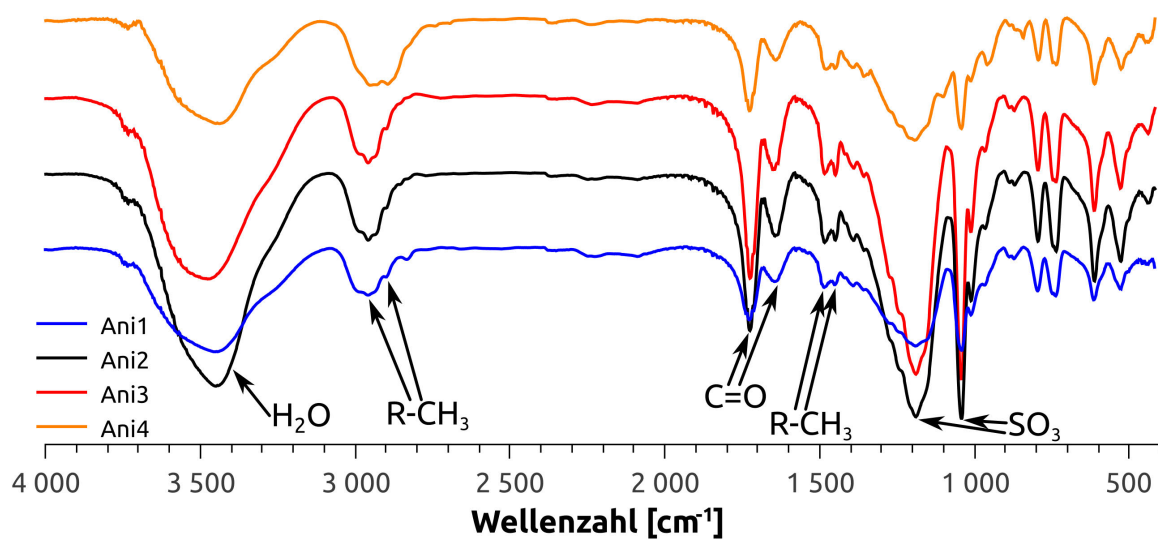
A 7. ^1H NMR-Spektren von A1, A2, A3 und A4. Die Beschriftung kann Abbildung 13 entnommen werden.



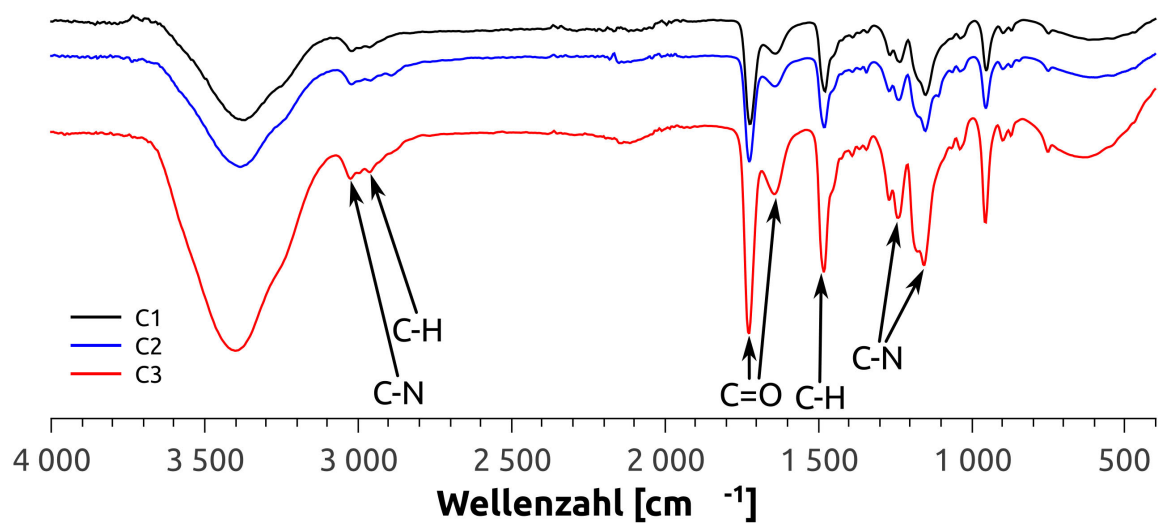
A 8. ^1H NMR-Spektren von A1^{CN}, A2^{CN}, A3^{CN} und A4^{CN}. Die Beschriftung kann Abbildung 13 entnommen werden. Die leicht unterschiedlichen chemischen Verschiebungen kommen durch unterschiedliche Mengen an KCl zustande, die nötig sind, um die Polymere in Wasser zu lösen.



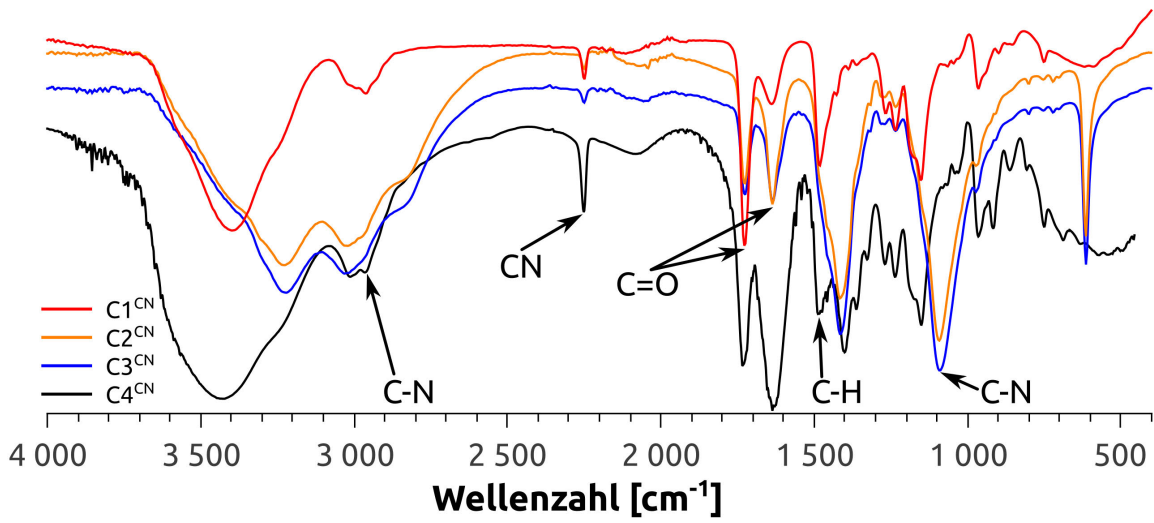
A 9. ^1H NMR-Spektren von B1, B2, B3 und B4. Die Beschriftung kann Abbildung 13 entnommen werden. Die leicht unterschiedlichen chemischen Verschiebungen kommen durch unterschiedliche Mengen an KCl zustande, die nötig sind, um die Polymere in Wasser zu lösen.



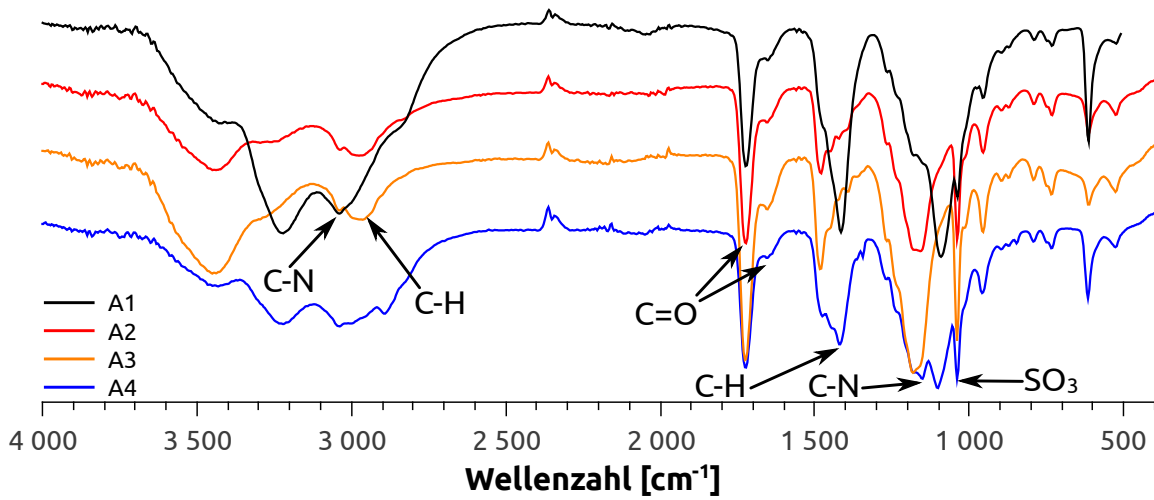
A 10. FTIR-Spektren von Ani1, Ani2, Ani3 und Ani4



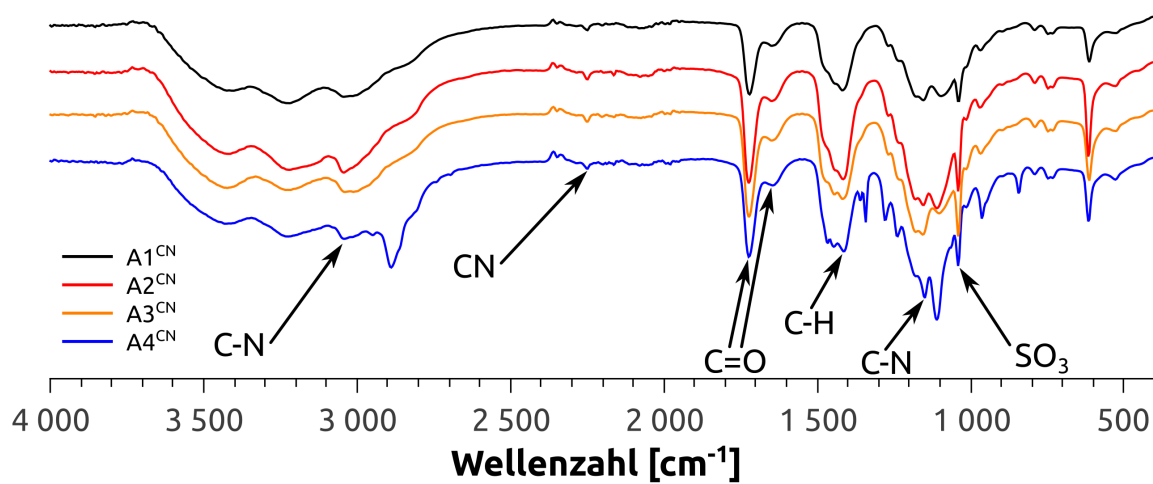
A 11. FTIR-Spektren von C1, C2 und C3



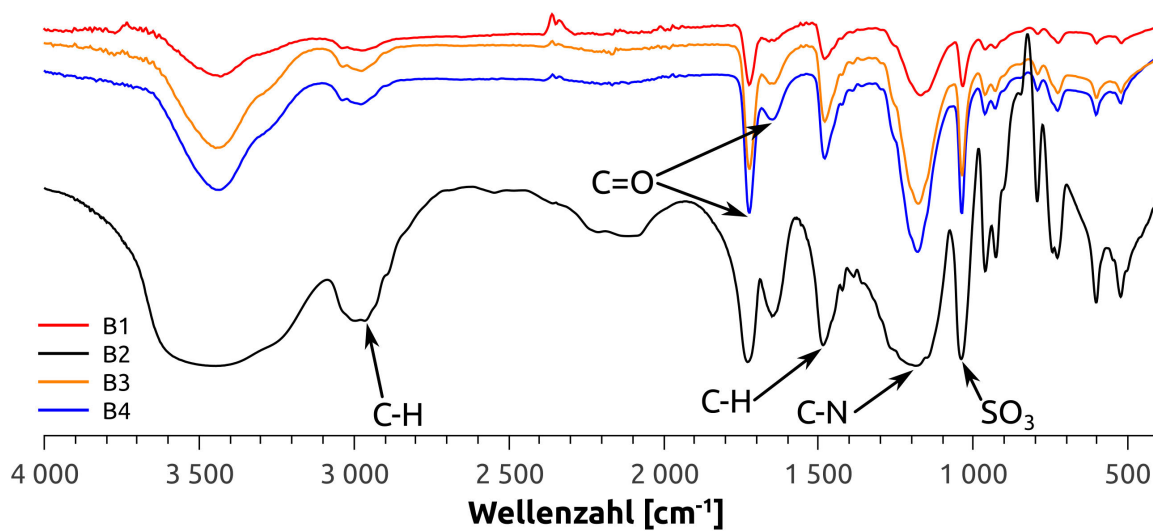
A 12. FTIR-Spektren von C1^{CN}, C2^{CN}, C3^{CN} und C4^{CN}



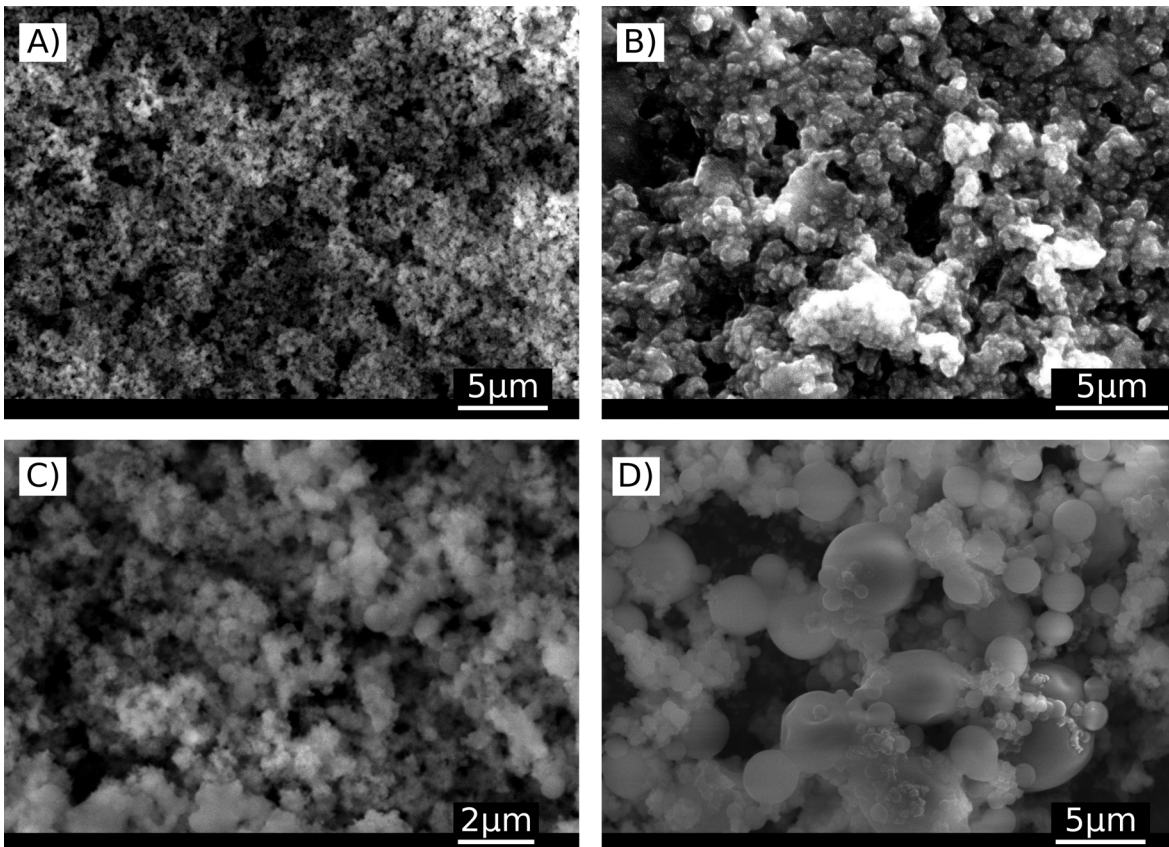
A 13. FTIR-Spektren von A1, A2, A3 und A4



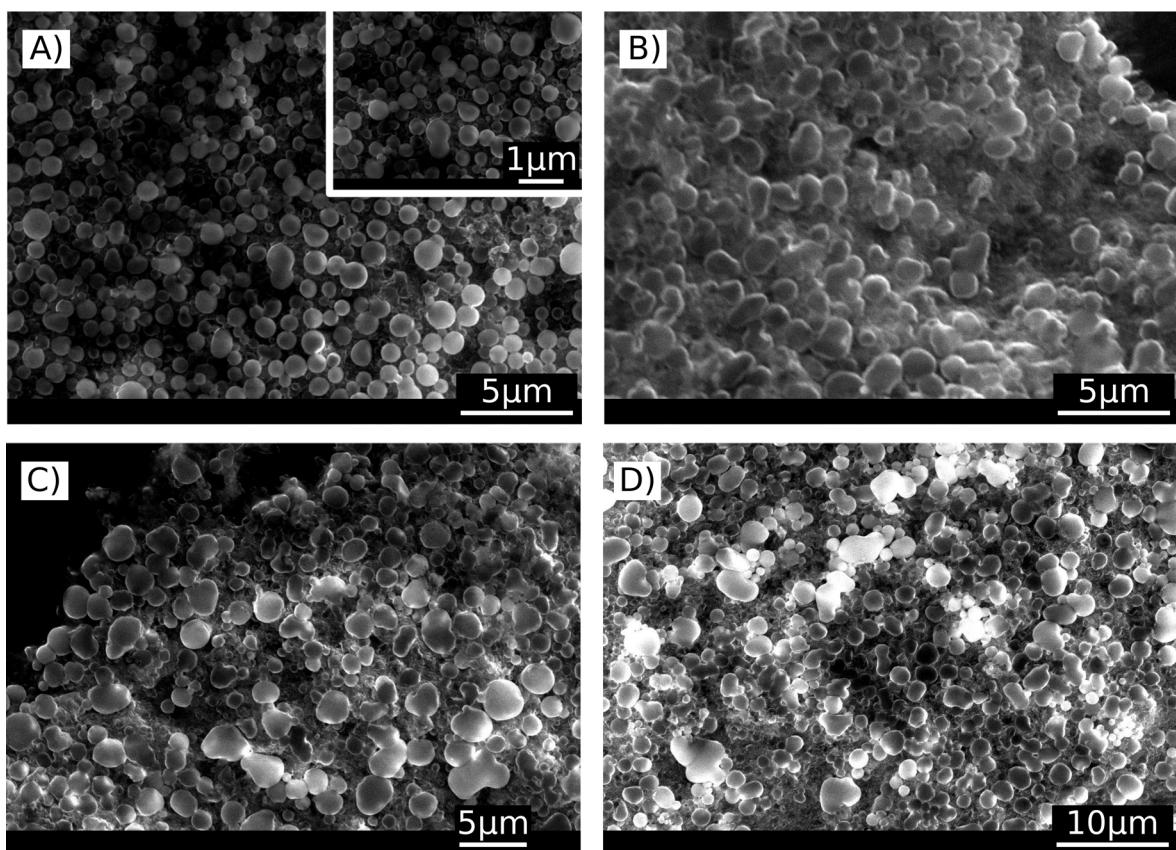
A 14. FTIR-Spektren von A1^{CN}, A2^{CN}, A3^{CN} und A4^{CN}



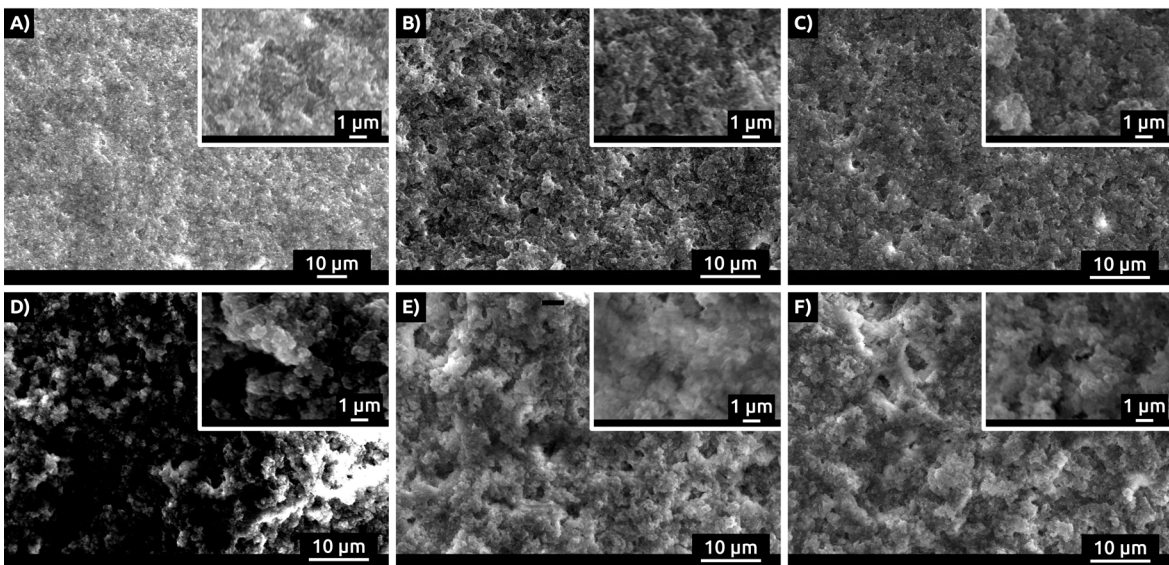
A 15. FTIR-Spektren von B1, B2, B3 und B4



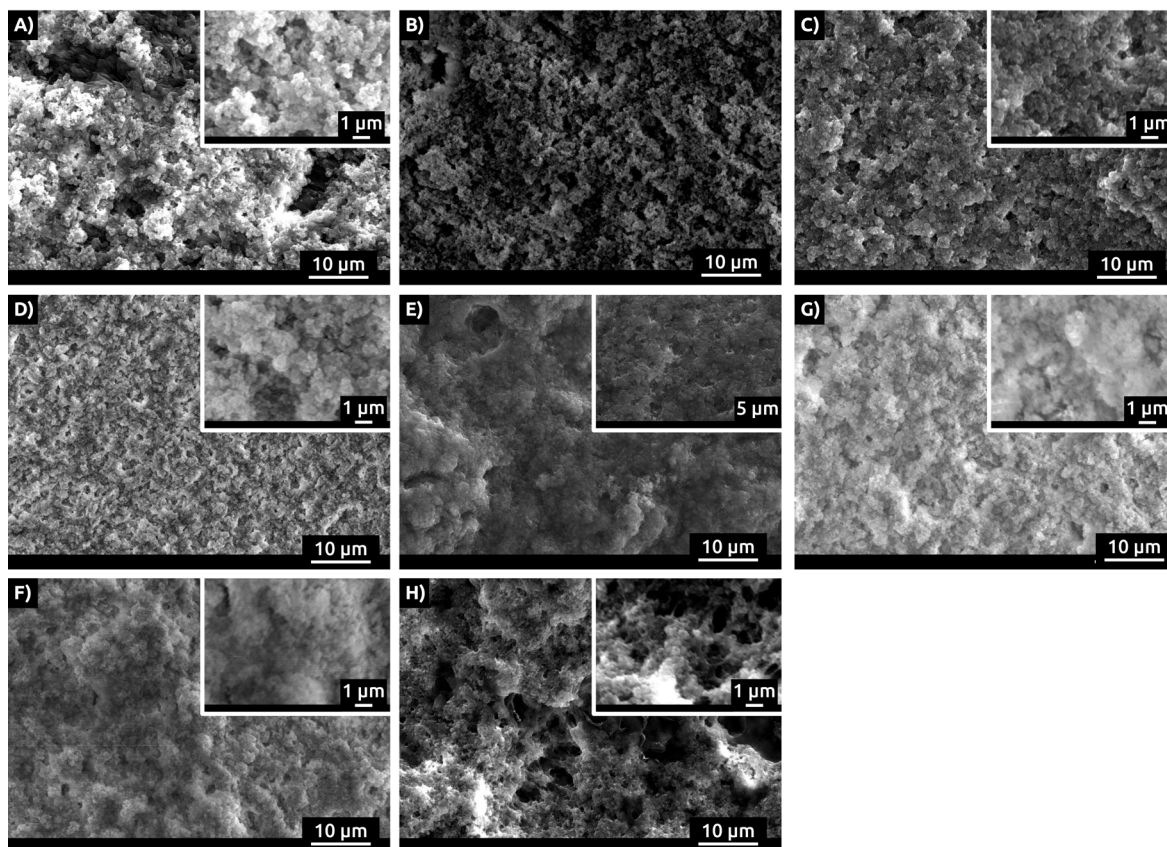
A 16. SEM-Aufnahmen der während der Titrations gewonnenen Niederschläge. Dargestellt werden Proben: A) ohne Polymerzusatz (Blindprobe) B) mit Zusatz von MPEO5000 C) mit Zusatz von PEO4600 D) mit Zusatz von PEO100k.



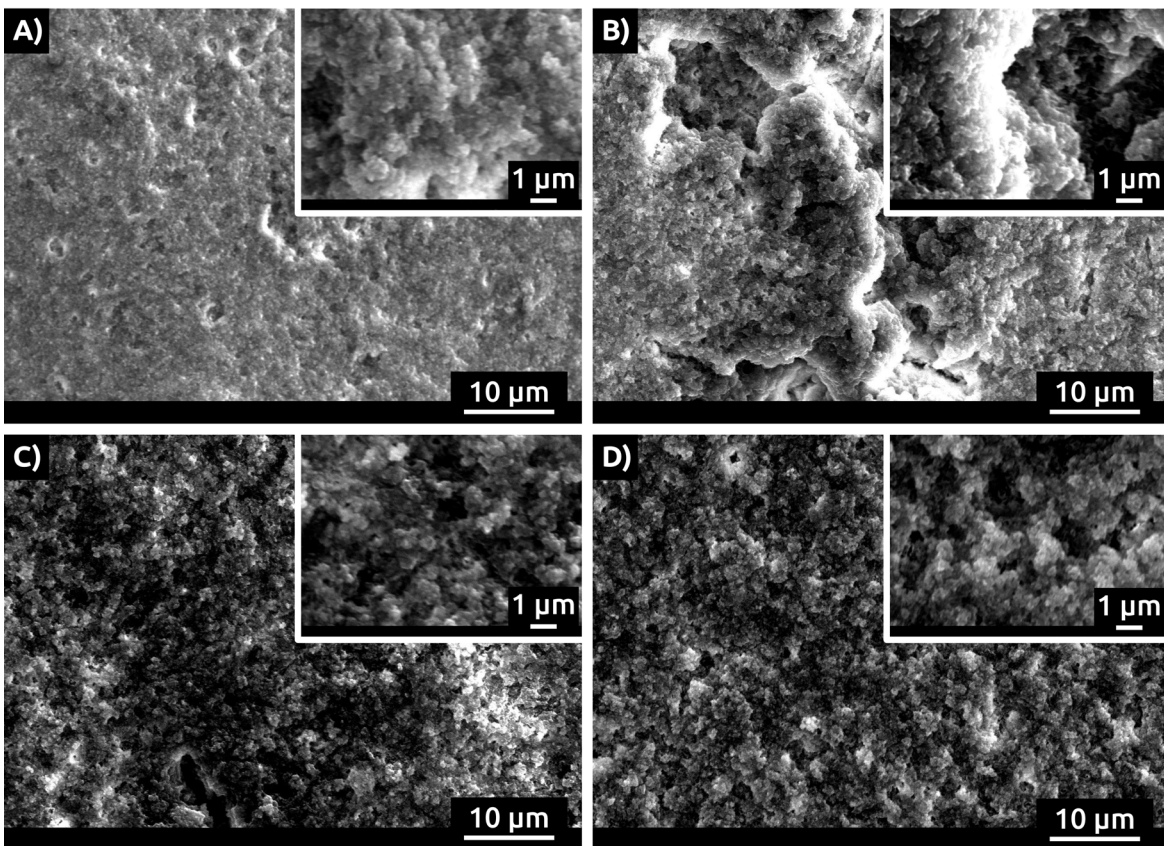
A 17. SEM-Aufnahmen der während der Titrations gewonnenen Niederschläge. Dargestellt werden Proben: A) mit Zusatz von Ani1 B) mit Zusatz von Ani2 C) mit Zusatz von Ani3 D) mit Zusatz von Ani4.



A 18. SEM-Aufnahmen der während der Titrations gewonnenen Niederschläge. Dargestellt werden Proben: A) mit Zusatz von C1 B) mit Zusatz von C2 C) mit Zusatz von C3 D) mit Zusatz von C1^{CN} D) mit Zusatz von C2^{CN} E) mit Zusatz von C3^{CN}.



A 19. SEM-Aufnahmen der während der Titrations gewonnenen Niederschläge. Dargestellt werden Proben: A) mit Zusatz von A1 B) mit Zusatz von A2 C) mit Zusatz von A3 D) mit Zusatz von A4 E) mit Zusatz von A1^{CN} F) mit Zusatz von A2^{CN} G) mit Zusatz von A3^{CN} H) mit Zusatz von A4^{CN}.

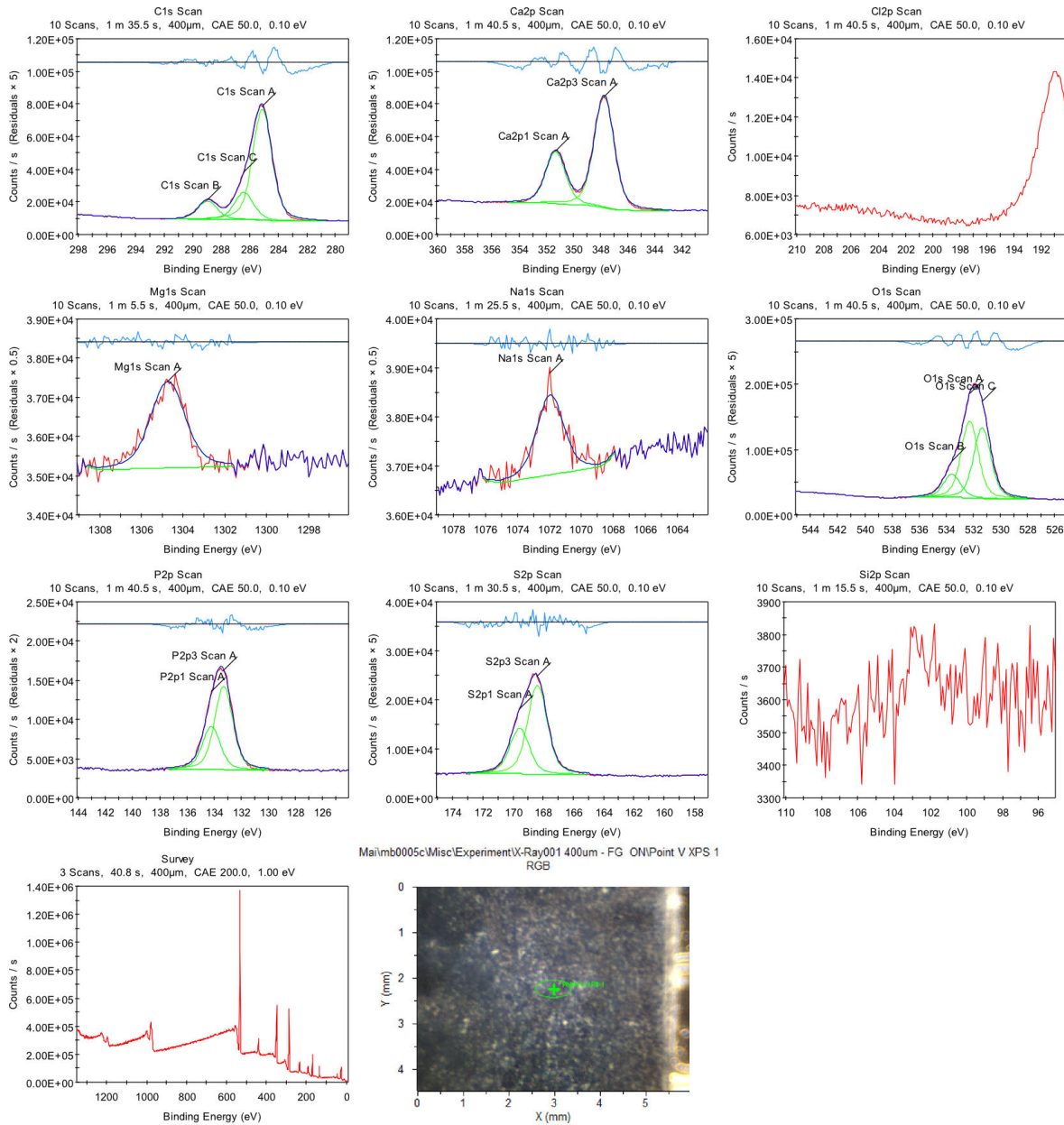


A 20. SEM-Aufnahmen der während der Titrations gewonnenen Niederschläge. Dargestellt werden Proben: A) mit Zusatz von B1 B) mit Zusatz von B2 C) mit Zusatz von B3 D) mit Zusatz von B4.

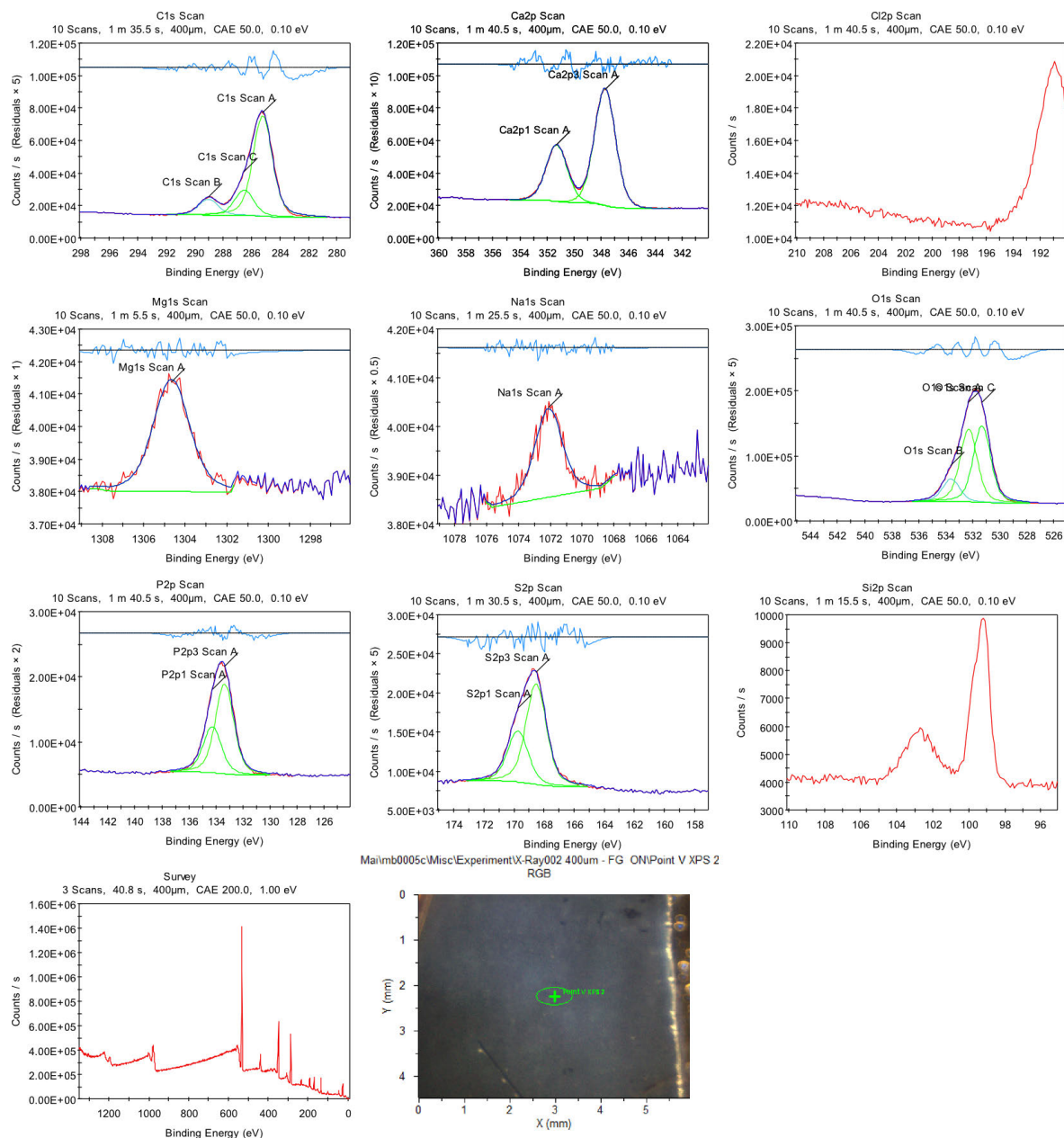
A 21. Signifikanzwerte (p-Werte) der haftenden *S. gordonii* Zellen zwischen den einzelnen Gruppen bei jeder Inkubationszeit. Signifikante p-Werte sind mit einem Sternchen markiert und als Schwelle der Signifikanz wird 0,05 verwendet. Jede der 16 Gruppen besteht aus 20 Proben. Abkürzungen der Gruppen: P) Zahnschmelz beschichtet mit Pelikel aus in vitro Speichel, E) reiner polierter Zahnschmelz, Ani2) Zahnschmelz beschichtet mit Ani2, Ani3) Zahnschmelz beschichtet mit Ani3, Ani4) Zahnschmelz beschichtet mit Ani4, Ani2/P) Zahnschmelz inkubiert mit 1:1 Gemisch von Ani2-Lösung und Speichel, Ani3/P) Zahnschmelz inkubiert mit 1:1 Gemisch von Ani3-Lösung und Speichel, Ani4/P) Zahnschmelz inkubiert mit 1:1 Gemisch von Ani4-Lösung und Speichel.

	30 min gegen 120 min	Zeit [min]	Ani3/P	Enamel	Ani2	Ani3	Ani4	Ani4/P	Ani2/P
P	0.0006*	30	<0.0001*	>0.05	0.0009*	0.0014*	0.0001*	0.0001*	<0.0001*
		120	0.0001*	<0.0001*	0.0006	0.0413*	<0.0001*	0.0136*	<0.0001*
E	0.5252	30		0.0034*	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
		120		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
Ani2	0.1026	30			>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	0.0002*
		120			>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
Ani3	0.5252	30				>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
		120				>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
Ani4	0.02222*	30					>0.05	>0.05	>0.05
		120					>0.05	>0.05	>0.05
Ani4/P	<0.0001*	30						>0.05	>0.05
		120						>0.05	>0.05

12 Anhang

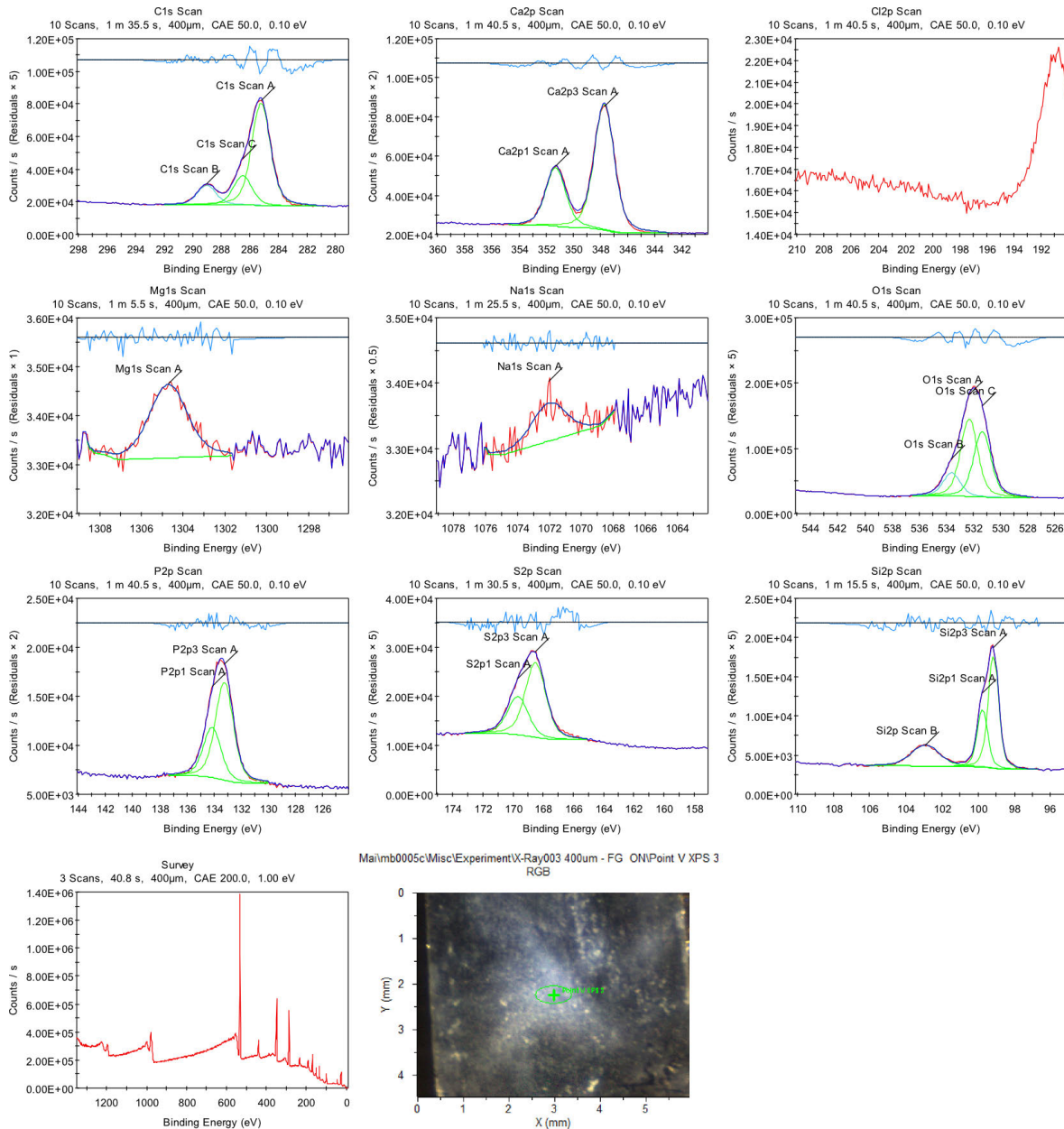


A 22. Originaldaten der XPS-Messungen zu Min1. Bindungsenergien und letztendliche Zusammensetzung der Probe kann Tabelle 8 auf Seite 88 entnommen werden.

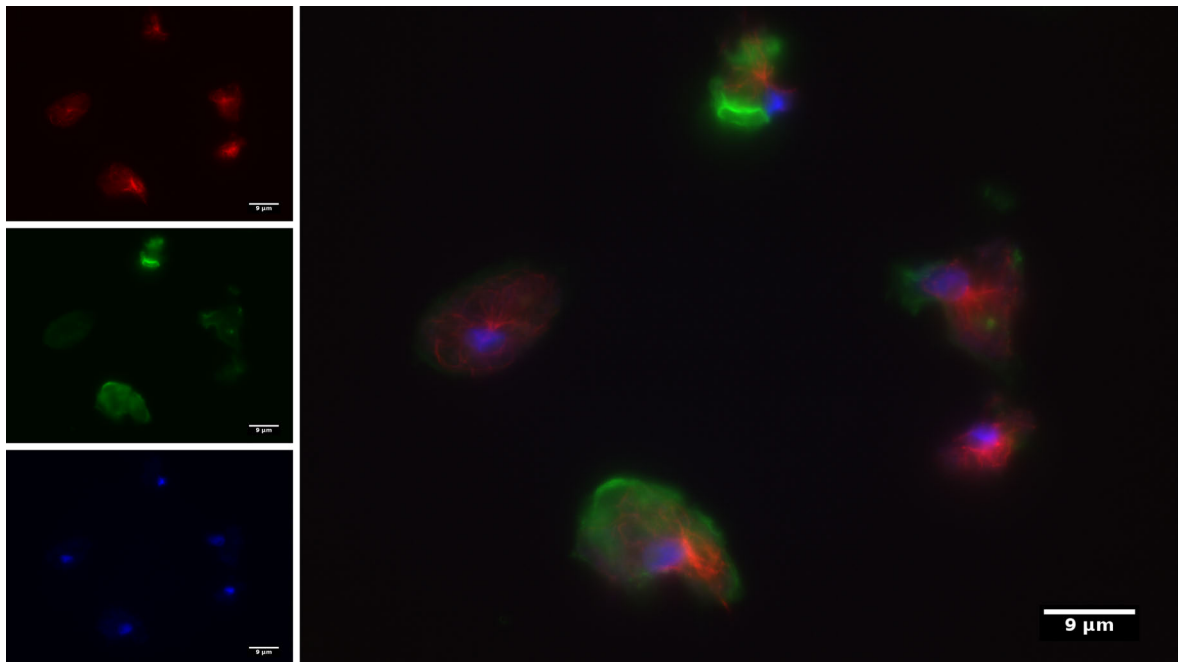


A 23. Originaldaten der XPS-Messungen zu Min2. Bindungsenergien und letztendliche Zusammensetzung der Probe kann Tabelle 8 auf Seite 88 entnommen werden.

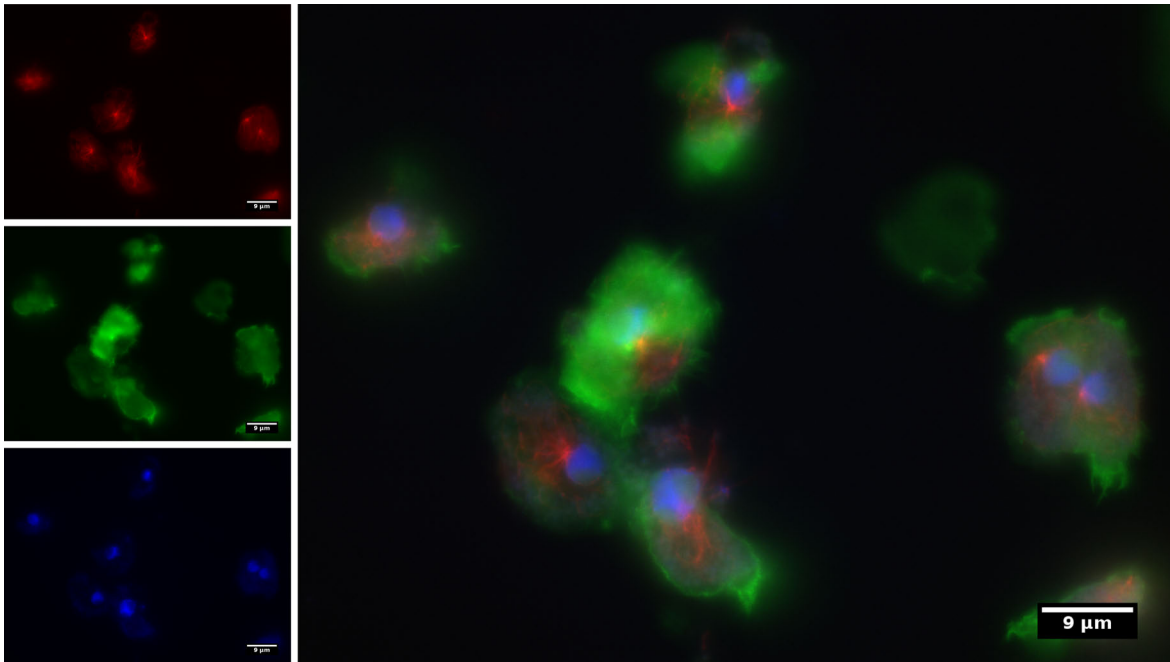
12 Anhang



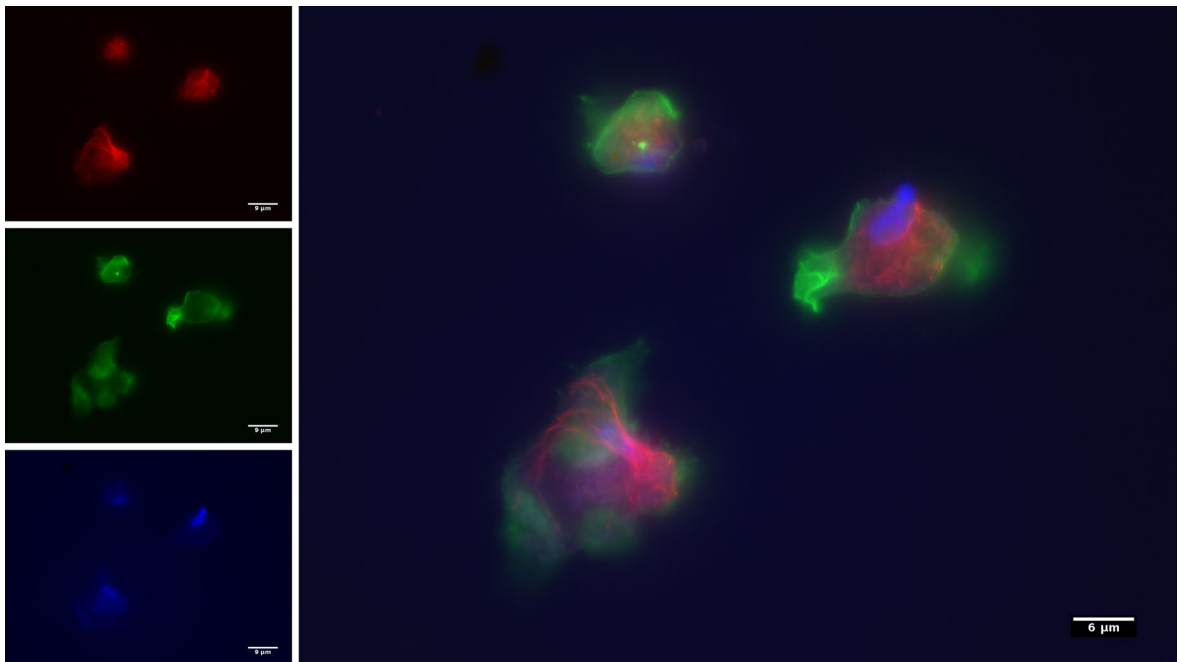
A 24. Originaldaten der XPS-Messungen zu Min3. Bindungsenergien und letztendliche Zusammensetzung der Probe kann Tabelle 8 auf Seite 88 entnommen werden.



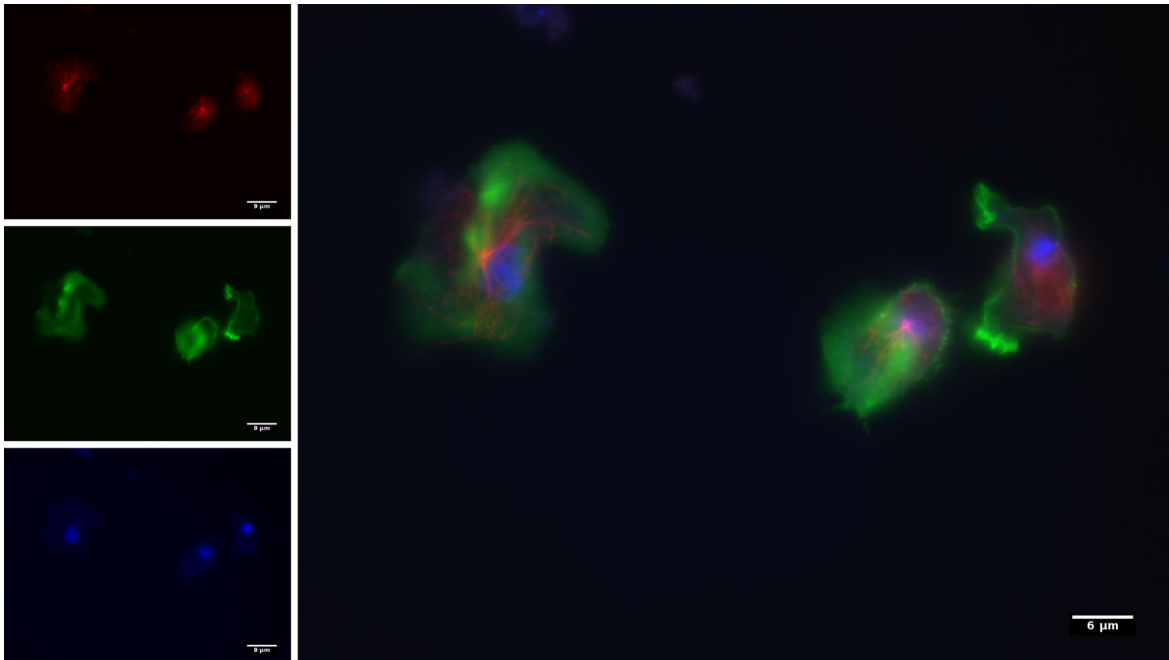
A 25. Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen für Brush1. Links die einzelnen Fluoreszenzmarker und rechts deren Kombination. In Grün autofluoreszierendes (GFP) und mit Phalloidin-AlexaFluor-543 markiertes Aktin, in Rot Tubulin mit YL1/2 und anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 und in Blau mit DAPI markierte Zellkerne. Der Maßstab entspricht in allen Aufnahmen 9 μm. Dargestellt wird jeweils die gleiche Ebene der z-Stapelaufnahmen.



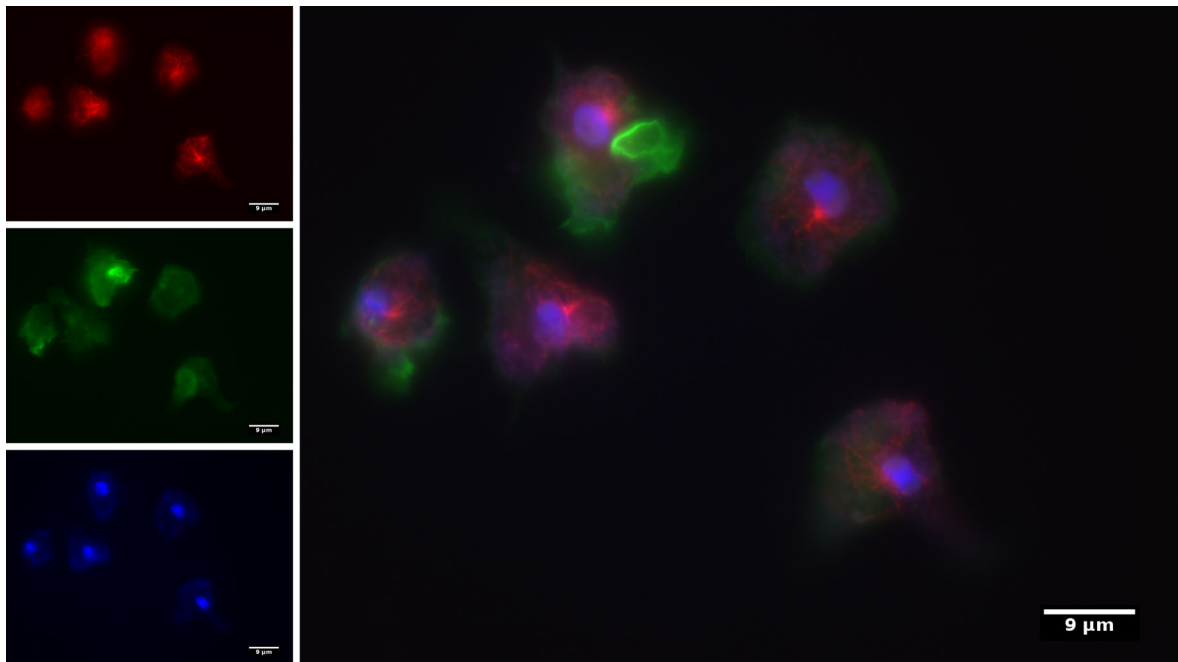
A 26. Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen für Min1. Links die einzelnen Fluoreszenzmarker und rechts deren Kombination. In Grün autofluoreszierendes (GFP) und mit Phalloidin-AlexaFluor-543 markiertes Aktin, in Rot Tubulin mit YL1/2 und anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 und in Blau mit DAPI markierte Zellkerne. Der Maßstab entspricht in allen Aufnahmen 9 μm . Dargestellt wird jeweils die gleiche Ebene der z-Stapelaufnahmen.



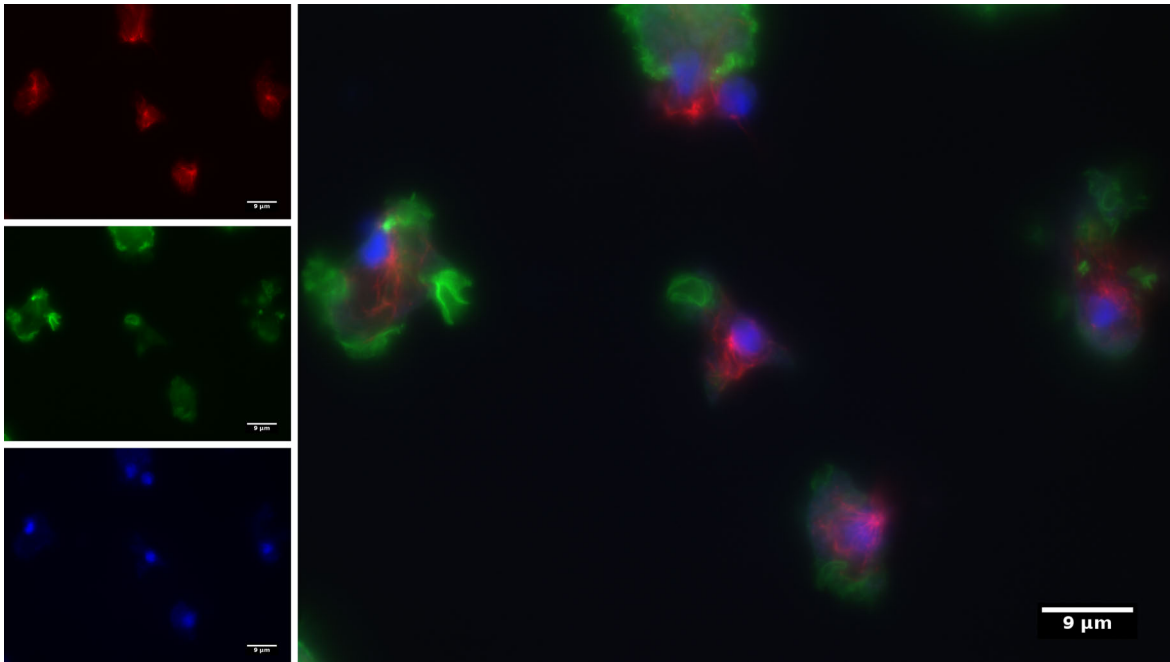
A 27. Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen für Brush2. Links die einzelnen Fluoreszenzmarker und rechts deren Kombination. In Grün autofluoreszierendes (GFP) und mit Phalloidin-AlexaFluor-543 markiertes Aktin, in Rot Tubulin mit YL1/2 und anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 und in Blau mit DAPI markierte Zellkerne. Der Maßstab entspricht in allen Aufnahmen 9 µm. Dargestellt wird jeweils die gleiche Ebene der z-Stapelaufnahmen.



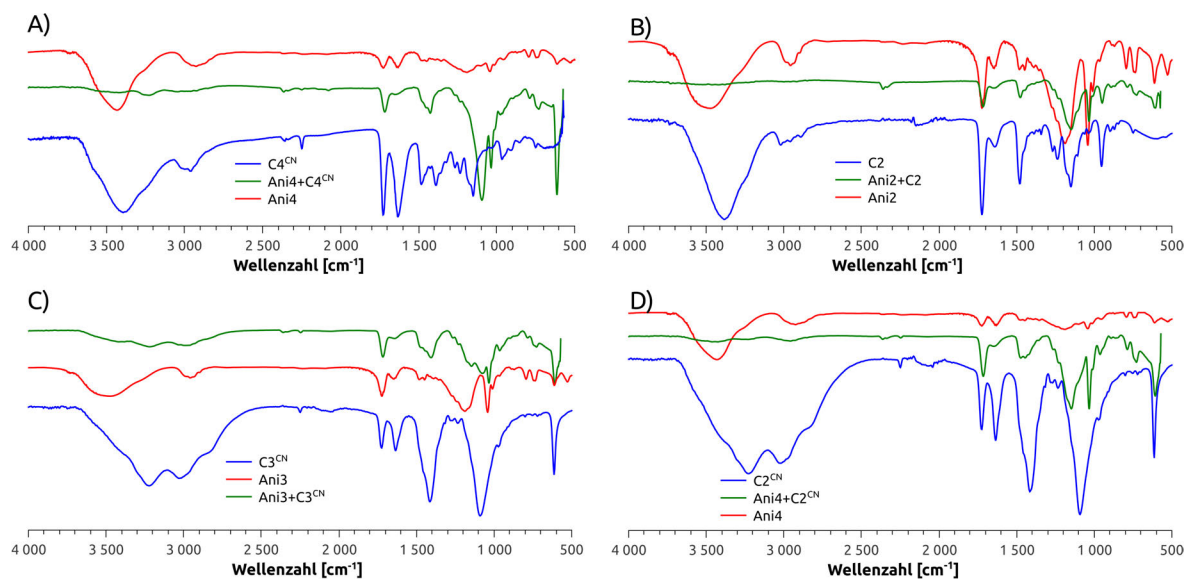
A 28. Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen für Min2. Links die einzelnen Fluoreszenzmarker und rechts deren Kombination. In Grün autofluoreszierendes (GFP) und mit Phalloidin-AlexaFluor-543 markiertes Aktin, in Rot Tubulin mit YL1/2 und anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 und in Blau mit DAPI markierte Zellkerne. Der Maßstab entspricht in allen Aufnahmen 9 μm . Dargestellt wird jeweils die gleiche Ebene der z-Stapelaufnahmen.



A 29. Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen für Brush3. Links die einzelnen Fluoreszenzmarker und rechts deren Kombination. In Grün autofluoreszierendes (GFP) und mit Phalloidin-AlexaFluor-543 markiertes Aktin, in Rot Tubulin mit YL1/2 und anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 und in Blau mit DAPI markierte Zellkerne. Der Maßstab entspricht in allen Aufnahmen 9 μm . Dargestellt wird jeweils die gleiche Ebene der z-Stapelaufnahmen.



A 30. Fluoreszenzmikroskopieaufnahmen für Min3. Links die einzelnen Fluoreszenzmarker und rechts deren Kombination. In Grün autofluoreszierendes (GFP) und mit Phalloidin-AlexaFluor-543 markiertes Aktin, in Rot Tubulin mit YL1/2 und anti-Ratte-Antikörper AlexaFluor-568 und in Blau mit DAPI markierte Zellkerne. Der Maßstab entspricht in allen Aufnahmen 9 μm . Dargestellt wird jeweils die gleiche Ebene der z-Stapelaufnahmen.



A 31. FTIR einiger künstlicher Kollagene. „Proof of Concept“. A) Ani4+C4^{CN} B) Ani2+C2 C) Ani3+C3^{CN} D) Ani4+C2^{CN} jeweils im Vergleich mit den Ausgangspolymeren.

13 Quellen

- [1] DESTATIS, “Durchschnittliche weitere Lebenserwartung nach Altersstufen ab 1871-81 bis 2010-12,” can be found under <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Bevoelkerung/Sterbefaelle/Sterbefaelle.html#tab194502No2>, **2015**.
- [2] P. Schicketanz, *Das PTA Mag.* **2013**, 24–32.
- [3] R. Legros, N. Balmain, G. Bonel, *Calcif. Tissue Int.* **1987**, *41*, 137–144.
- [4] Z. Li, J. D. Pasteris, *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2014**, *1840*, 2331–2339.
- [5] C. Rey, M. Shimizu, B. Collins, M. J. Glimcher, *Calcif. Tissue Int.* **1991**, *49*, 383–388.
- [6] R. Z. LeGeros, *Clin. Orthop. Relat. Res.* **2002**, 81–98.
- [7] J. S. Yerramshetty, C. Lind, O. Akkus, *Bone* **2006**, *39*, 1236–1243.
- [8] S. Boonen, D. Vanderschueren, F. Callewaert, P. Haentjens, *Osteoporos. Men* **2010**, *89*, 207–219.
- [9] C. Rey, M. Shimizu, B. Collins, M. J. Glimcher, *Calcif. Tissue Int.* **1990**, *46*, 384–394.
- [10] T. Leventouri, A. Antonakos, A. Kyriacou, R. Venturelli, E. Liarokapis, V. Perdikatsis, *Int. J. Biomater.* **2009**, *2009*, 1–6.
- [11] **2011**, <http://soft.proindependent.com/qtiplot.html>.
- [12] F. L. Coe, A. P. Evan, E. M. Worcester, J. E. Lingeman, *Urol. Res.* **2010**, *38*, 147–160.
- [13] L. B. Gower, F. F. Amos, S. R. Khan, *Urol. Res.* **2010**, *38*, 281–292.
- [14] A. Lussi, *Monogr. Oral Sci.* **2006**, *20*, 1–8.
- [15] P. E. Petersen, *Community Dent. Oral Epidemiol.* **2003**, *31 Suppl 1*, 3–23.

- [16] F. D. I. World, D. Federation, *Oral Health Worldwide “A Report by FDI World Dental Federation ,”* Geneva, **2014**.
- [17] C. a Hemingway, a J. White, R. P. Shellis, M. Addy, D. M. Parker, M. E. Barbour, *Caries Res.* **2010**, *44*, 525–30.
- [18] J. O. Grippo, M. Simring, T. a Coleman, *J. Esthet. Restor. Dent.* **2012**, *24*, 10–23.
- [19] S. Kashket, J. Zhang, J. Van Houte, *J. Dent. Res.* **1996**, *75*, 1885–1891.
- [20] A. Lussi, T. Jaeggi, D. Zero, *Caries Res.* **2004**, *38 Suppl 1*, 34–44.
- [21] A. Kovtun, D. Kozlova, K. Ganesan, C. Biewald, N. Seipold, P. Gaengler, W. H. Arnold, M. Epple, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 870.
- [22] M. A. S. Melo, L. Cheng, M. D. Weir, R.-C. Hsia, L. K. a Rodrigues, H. H. K. Xu, *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* **2013**, *101*, 620–9.
- [23] C. Chen, M. D. Weir, L. Cheng, N. J. Lin, S. Lin-Gibson, L. C. Chow, X. Zhou, H. H. K. Xu, *Dent. Mater.* **2014**, *30*, 891–901.
- [24] M. Sin, Y. Sun, Y. Chang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 861–73.
- [25] S.-J. Ahn, S.-J. Lee, J.-K. Kook, B.-S. Lim, *Dent. Mater.* **2009**, *25*, 206–13.
- [26] N. B. Arweiler, T. M. Ausschill, N. Donos, A. Sculean, *Clin. Oral Investig.* **2002**, *6*, 205–9.
- [27] S. Twetman, A. Hallgren, L. G. Petersson, *Caries Res.* **1995**, *29*, 188–191.
- [28] A. C. Magalhães, A. Wiegand, D. Rios, M. A. R. Buzalaf, A. Lussi, *Monogr. Oral Sci.* **2011**, *22*, 158–70.
- [29] N. Schlueter, J. Klimek, C. Ganss, *Clin. Oral Investig.* **2011**, *15*, 361–7.
- [30] N. Schlueter, M. Hardt, A. Lussi, F. Engelmann, J. Klimek, C. Ganss, *Eur. J. Oral Sci.* **2009**, *117*, 427–34.

- [31] N. Schlueter, L. Neutard, J. von Hinckeldey, J. Klimek, C. Ganss, *Acta Odontol. Scand.* **2010**, *68*, 180–4.
- [32] S. Miller, T. Truong, R. Heu, M. Stranick, D. Bouchard, A. Gaffar, *Int. Dent. J.* **1994**, *44*, 83–98.
- [33] W. Wade, M. Addy, J. Hughes, S. Milsom, F. Doherty, *J. Clin. Periodontol.* **1997**, *24*, 81–85.
- [34] G. S. Ingram, E. A. Agalamanyi, S. M. Higham, *J. Dent.* **2005**, *33*, 187–191.
- [35] L. Chen, K. Liang, J. Li, D. Wu, X. Zhou, J. Li, *Arch. Oral Biol.* **2013**, *58*, 975–80.
- [36] P. Tschoppe, D. L. Zandim, P. Martus, A. M. Kielbassa, *J. Dent.* **2011**, *39*, 430–437.
- [37] J. Klimek, N. Schlüter, C. Dietz, C. Ganß, *Zahnärztliche Mitteilungen* **2010**, *7*, 60–64.
- [38] F. Müller, C. Zeitz, H. Mantz, K.-H. Ehses, F. Soldera, J. Schmauch, M. Hannig, S. Hufner, K. Jacobs, *Langmuir* **2010**, *26*, 18750–9.
- [39] J. Hinckeldey, A. Tolle, J. Schlüter, C. Ganss, *ZWR - Das Dtsch. Zahnärzteblatt* **2012**, *121*, 112–113.
- [40] C. Ganss, N. Schlueter, J. Klimek, *Arch. Oral Biol.* **2007**, *52*, 9–14.
- [41] C. Ganss, N. Schlueter, M. Hardt, P. Schattenberg, J. Klimek, *Caries Res.* **2008**, *42*, 2–7.
- [42] F. D. Babcock, J. C. King, T. H. Jordan, *J. Dent. Res.* **2015**, *57*, 933–938.
- [43] G. Orsini, M. Procaccini, L. Manzoli, F. Giuliadori, A. Lorenzini, A. Putignano, *J. Clin. Periodontol.* **2010**, *37*, 510–517.
- [44] M. Lelli, A. Putignano, M. Marchetti, I. Foltran, F. Mangani, M. Procaccini, N. Roveri, G. Orsini, *Front. Physiol.* **2014**, *5*, 1–7.

- [45] G. Alessandri Bonetti, E. Pazzi, M. Zanarini, S. Marchionni, L. Checchi, *Scanning* **2014**, *36*, 356–361.
- [46] P. Liu, B. Zhu, X. Yuan, G. Tong, Y. Su, X. Zhu, *J. Mater. Chem. B* **2015**, *3*, 1301–1312.
- [47] M. Beyer, J. Reichert, E. Heurich, K. D. Jandt, B. W. Sigusch, *Dent. Mater. Off. Publ. Acad. Dent. Mater.* **2010**, *26*, 831–839.
- [48] A. Shimotoyodome, T. Koudate, H. Kobayashi, J. Nakamura, I. Tokimitsu, T. Hase, T. Inoue, T. Matsukubo, Y. Takaesu, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 3634–41.
- [49] M. E. Barbour, R. P. Shellis, D. M. Parker, G. C. Allen, M. Addy, *Eur. J. Oral Sci.* **2005**, *113*, 457–61.
- [50] F. Dabsie, G. Grégoire, P. Sharrock, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2012**, *23*, 543–554.
- [51] E. I. F. Pearce, *Calcif. Tissue Int.* **1981**, *33*, 395–402.
- [52] M. J. Joralemon, S. McRae, T. Emrick, *Chem. Commun. (Camb)*. **2010**, *46*, 1377–93.
- [53] L.-J. Zhang, H.-G. Liu, X.-S. Feng, R.-J. Zhang, L. Zhang, Y.-D. Mu, J.-C. Hao, D.-J. Qian, Y.-F. Lou, *Langmuir* **2004**, *20*, 2243–2249.
- [54] M. Junginger, K. Kita-Tokarczyk, T. Schuster, J. Reiche, F. Schacher, A. H. E. Müller, H. Cölfen, A. Taubert, *Macromol. Biosci.* **2010**, *10*, 1084–1092.
- [55] M. Junginger, K. Bleek, K. Kita-Tokarczyk, J. Reiche, A. Shkilnyy, F. Schacher, A. H. E. Müller, A. Taubert, *Nanoscale* **2010**, *2*, 2440–2446.
- [56] A. Shkilnyy, J. Brandt, A. Manton, O. Paris, H. Schlaad, A. Taubert, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 1572–1578.
- [57] S. Grohmann, H. Rothe, K. Liefelth, *Biointerphases* **2012**, *7*, 1–13.

- [58] S. Segman-Magidovich, H. Rapaport, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 11197–204.
- [59] Y. Yusufoglu, Y. Hu, M. Kanapathipillai, M. Kramer, Y. E. Kalay, P. Thiagarajan, M. Akinc, K. Schmidt-Rohr, S. Mallapragada, *J. Mater. Res.* **2011**, *23*, 3196–3212.
- [60] M. Kanapathipillai, Y. Yusufoglu, A. Rawal, Y.-Y. Hu, C.-T. Lo, P. Thiagarajan, Y. E. Kalay, M. Akinc, S. Mallapragada, K. Schmidt-Rohr, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 5922–5932.
- [61] P. Liu, J. Song, *Biomaterials* **2013**, *34*, 2442–54.
- [62] D. J. S. Hulmes, *J. Struct. Biol.* **2002**, *137*, 2–10.
- [63] S. Lin, J. Wu, H. Jia, L. Hao, R. Wang, J. Qi, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 20758–64.
- [64] B. B. Hsu, A. M. Klibanov, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 6–9.
- [65] D. Park, J. Wang, A. M. Klibanov, *Biotechnol. Prog.* **2006**, *22*, 584–9.
- [66] R. Quintana, M. Gosa, D. Jańczewski, E. Kutnyanszky, G. J. Vancso, *Langmuir* **2013**, *29*, 10859–10867.
- [67] Y. Chang, W.-J. Chang, Y.-J. Shih, T.-C. Wei, G.-H. Hsiue, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 1228–37.
- [68] J. B. Schlenoff, *Langmuir* **2014**, *30*, 9625–36.
- [69] J. Vandiver, D. Dean, N. Patel, W. Bonfield, C. Ortiz, *Biomaterials* **2005**, *26*, 271–83.
- [70] T. Mai, Synthetische Polymere Für Die Calciumphosphatmineralisation, Universität Potsdam, **2011**.
- [71] B. Steiniger, H. Schwarzbach, V. Stachniss, *Mikroskopische Anatomie Der Zähne Und Des Parodonts*, Thieme, **2010**.
- [72] W. Klimm, S. Gäbler, G. Viergutz, *Endodontologie: Grundlagen Und Praxis*, Dt. Zahnärzte-Verlag, DÄV, **2003**.

- [73] H. Meyer-Lückel, S. Paris, K. Ekstrand, *Karies: Wissenschaft Und Klinische Praxis*, Thieme, **2012**.
- [74] N. X. West, *Monogr. Oral Sci.* **2006**, *20*, 173–89.
- [75] S. L. Lee, a Veis, T. Glonek, *Biochemistry* **1977**, *16*, 2971–2979.
- [76] S. Suzuki, T. Sreenath, N. Haruyama, C. Honeycutt, A. Terse, A. Cho, T. Kohler, R. Müller, M. Goldberg, A. B. Kulkarni, *Matrix Biol.* **2009**, *28*, 221–229.
- [77] M. Goldberg, J. J. Lasfargues, *J. Dent.* **1995**, *23*, 15–20.
- [78] M. L. Painei, W. Luo, H. J. Wang, P. Bringas, A. Y. W. Ngan, V. G. Miklus, D. H. Zhu, M. MacDougall, S. N. White, M. L. Snead, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 31991–31998.
- [79] K.-J. Soderholm, in *Appl. Fract. Mech.*, InTech, **2012**.
- [80] T. M. Smith, M. Toussaint, D. J. Reid, A. J. Olejniczak, J.-J. Hublin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, *104*, 20220–20225.
- [81] M. Epple, *Biomaterialien Und Biomineralisation*, Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden, **2003**.
- [82] M. Volmer, *Kinetik Der Phasenbildung*, T. Steinkopff, Dresden Und Leipzig, **1939**.
- [83] A. W. Max Volmer, *Zeitschrift Für Phys. Chemie* **1926**, *119*, 277–301.
- [84] R. Becker, W. Döring, *Ann. Phys.* **1935**, *416*, 719–752.
- [85] J. W. Gibbs, *Trans. Connect. Acad. arts Sci.* **1876**, *V3 1874-18*, 108–248.
- [86] L. Wang, G. H. Nancollas, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4628–4669.
- [87] L. Du, S. Bian, B.-D. Gou, Y. Jiang, J. Huang, Y.-X. Gao, Y.-D. Zhao, W. Wen, T.-L. Zhang, K. Wang, *Cryst. Growth Des.* **2013**, *13*, 3103–3109.
- [88] A. S. Posner, F. Betts, *Acc. Chem. Res.* **1975**, *8*, 273–281.

- [89] N. Kanzaki, G. Treboux, K. Onuma, S. Tsutsumi, A. Ito, *Biomaterials* **2001**, *22*, 2921–2929.
- [90] G. Treboux, N. Kanzaki, K. Onuma, A. Ito, *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 8118–8120.
- [91] L. Wang, S. Li, E. Ruiz-Agudo, C. V. Putnis, A. Putnis, *CrystEngComm* **2012**, *14*, 6252.
- [92] J. Christoffersen, M. R. Christoffersen, W. Kibalczyk, F. A. Andersen, *J. Cryst. Growth* **1989**, *94*, 767–777.
- [93] M. R. Christoffersen, J. Christoffersen, W. Kibalczyk, *J. Cryst. Growth* **1990**, *106*, 349–354.
- [94] W. Kibalczyk, J. Christoffersen, M. R. Christoffersen, A. Zielenkiewicz, W. Zielenkiewicz, *J. Cryst. Growth* **1990**, *106*, 355–366.
- [95] H. Cölfen, S. Mann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2003**, *42*, 2350–65.
- [96] H. Cölfen, *Top. Curr. Chem.* **2006**, *271*, 1–77.
- [97] T. T. Thula, D. E. Rodriguez, M. H. Lee, L. Pendi, J. Podschun, L. B. Gower, *Acta Biomater.* **2011**, *7*, 3158–69.
- [98] Y. Li, T. T. Thula, S. Jee, S. L. Perkins, C. Aparicio, E. P. Douglas, L. B. Gower, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 49–59.
- [99] F. F. Amos, M. J. Olszta, S. R. Khan, L. B. Gower, *Chapter 4. Relevance of a Polymer-Induced Liquid-Precursor (PILP) Mineralization Process to Normal and Pathological Biomineralization*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2007**.
- [100] S. Schweizer, A. Taubert, *Macromol. Biosci.* **2007**, *7*, 1085–99.
- [101] E. D. Eanes, in *Octacalcium Phosphate*, KARGER, Basel, **2001**, pp. 130–147.
- [102] B. Wopenka, J. D. Pasteris, *Mater. Sci. Eng. C* **2005**, *25*, 131–143.

- [103] I. R. Gibson, W. Bonfield, *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *59*, 697–708.
- [104] M. Szwarc, M. Levy, R. Milkovich, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2656–2657.
- [105] M. Szwarc, *Nature* **1956**, *178*, 1168–1169.
- [106] A. D. Jenkins, P. Kratochvíl, R. F. T. Stepto, U. W. Suter, *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68*, 2287–2311.
- [107] M. Szwarc, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1998**, *36*, ix–xv.
- [108] M. Szwarc, T. Aida, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2000**, *38*, 1710–1752.
- [109] J. Chiefari, Y. K. (Bill) Chong, F. Ercole, J. Krstina, J. Jeffery, T. P. T. Le, R. T. a. Mayadunne, G. F. Meijs, C. L. Moad, G. Moad, et al., *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559–5562.
- [110] P. Vana, T. P. Davis, C. Barner-Kowollik, *Macromol. Theory Simulations* **2002**, *11*, 823–835.
- [111] E. Rizzardo, D. H. Solomon, *Polym. Bull.* **1979**, *1*, 529–534.
- [112] D. H. Solomon, E. Rizzardo, P. Cacioli, *Free Radical Polymerization and the Produced Polymers*, **1985**, AU571240 (B2).
- [113] M. S. Kharasch, E. V Jensen, W. H. Urry, *Science* **1945**, *102*, 128.
- [114] D. Konkolewicz, Y. Wang, M. Zhong, P. Krys, A. a. Isse, A. Gennaro, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2013**, *46*, 8749–8772.
- [115] M. Zhong, Y. Wang, P. Krys, D. Konkolewicz, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2013**, *46*, 3816–3827.
- [116] C.-H. Peng, M. Zhong, Y. Wang, Y. Kwak, Y. Zhang, W. Zhu, M. Tonge, J. Buback, S. Park, P. Krys, et al., *Macromolecules* **2013**, *46*, 3803–3815.

- [117] D. Konkolewicz, P. Krysz, J. R. Góis, P. V. Mendonça, M. Zhong, Y. Wang, A. Gennaro, A. a Isse, M. Fantin, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2014**, *47*, 560–570.
- [118] Q. Zhang, P. Wilson, Z. Li, R. McHale, J. Godfrey, A. Anastasaki, C. Waldron, D. M. Haddleton, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 7355–7363.
- [119] D. Konkolewicz, P. Krysz, K. Matyjaszewski, *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 3028–3036.
- [120] N. V Tsarevsky, K. Matyjaszewski, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2270–2299.
- [121] N. V. Tsarevsky, T. Pintauer, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2004**, *37*, 9768–9778.
- [122] W. Tang, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2007**, *40*, 1858–1863.
- [123] K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2012**, *45*, 4015–4039.
- [124] **2015**, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>).
- [125] F. Li, M. D. Weir, H. H. K. Xu, *J. Dent. Res.* **2013**, *92*, 932–8.
- [126] G. J. Baley, G. E. Peck, G. S. Banker, *J. Pharm. Sci.* **1977**, *66*, 696–699.
- [127] B. Muhlenbruch, *Pharm. Unserer Zeit* **1982**, 41–47.
- [128] K. E. S. Locock, L. Meagher, M. Haeussler, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 2131–7.
- [129] M. Wagner, C. Pietsch, L. Tauhardt, A. Schallon, U. S. Schubert, *J. Chromatogr. A* **2014**, *1325*, 195–203.
- [130] J. C. Salamone, L. Quach, A. C. Watterson, S. Krauser, M. U. Mahmud, *J. Macromol. Sci. Part A - Chem.* **1985**, *22*, 653–664.
- [131] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Res.* **1990**, *24*, 721–34.

- [132] M. Tanahashi, T. Yao, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto, T. Nakamura, T. Yamamuro, *J. Am. Ceram. Soc.* **1994**, *77*, 2805–2808.
- [133] T. Mai, E. Rakhmatullina, K. Bleek, S. Boye, J. Yuan, A. Völkel, M. Gräwert, Z. Cheaib, S. Eick, C. Günter, et al., *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 3901–3914.
- [134] T. Kokubo, S. Ito, Z. T. Huang, T. Hayashi, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Res.* **1990**, *24*, 331–43.
- [135] Y. Jiao, Z. Liu, F. Cui, C. Zhou, *J. Bioact. Compat. Polym.* **2007**, *22*, 492–507.
- [136] W. L. Murphy, D. J. Mooney, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1910–1917.
- [137] G. Jutz, A. Böker, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 4299–4304.
- [138] M. Väkiparta, A. a-P. Forsback, L. V Lassila, M. Jokinen, a U. O. Yli-Urpo, P. K. Vallittu, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2005**, *16*, 873–9.
- [139] P. Zhu, Y. Masuda, K. Koumoto, *Biomaterials* **2004**, *25*, 3915–21.
- [140] X. Chen, W. Wang, S. Cheng, B. Dong, C. Y. Li, *ACS Nano* **2013**, *7*, 8251–8257.
- [141] J. D. B. Featherstone, A. Lussi, *Monogr. Oral Sci.* **2006**, *20*, 66–76.
- [142] S. Busch, U. Schwarz, R. Kniep, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3260–3271.
- [143] B. R. Lawn, J. J.-W. Lee, H. Chai, *Annu. Rev. Mater. Res.* **2010**, *40*, 55–75.
- [144] R. T. Downs, The RRUFF Project: An Integrated Study of the Chemistry, Crystallography, Raman and Infrared Spectroscopy of Minerals., Program and Abstracts of the 19th General Meeting of the International Mineralogical Association in Kobe, **2006**.
- [145] I. Dige, H. Nilsson, M. Kilian, B. Nyvad, *Eur. J. Oral Sci.* **2007**, *115*, 459–67.

- [146] C. J. Whittaker, C. M. Klier, P. E. Kolenbrander, *Annu. Rev. Microbiol.* **1996**, *50*, 513–52.
- [147] J. Li, E. J. Helmerhorst, C. W. Leone, R. F. Troxler, T. Yaskell, a D. Haffajee, S. S. Socransky, F. G. Oppenheim, *J. Appl. Microbiol.* **2004**, *97*, 1311–8.
- [148] K. Hojo, S. Nagaoka, T. Ohshima, N. Maeda, *J. Dent. Res.* **2009**, *88*, 982–990.
- [149] H. F. Jenkinson, R. Lamont, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **1997**, *8*, 175–200.
- [150] R. Huang, M. Li, R. L. Gregory, *Virulence* **2011**, *2*, 435–444.
- [151] M. Hannig, A. Döbert, R. Stigler, U. Müller, S. A. Prokhorova, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2004**, *4*, 532–538.
- [152] M. Hannig, S. Herzog, S. F. Willigeroth, R. Zimehl, *Colloid Polym. Sci.* **2001**, *279*, 479–483.
- [153] P. Liu, E. Domingue, D. C. Ayers, J. Song, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 7141–7152.
- [154] S. a. Letsche, A. M. Steinbach, M. Pluntke, O. Marti, A. Ignatius, D. Volkmer, *Front. Mater. Sci. China* **2009**, *3*, 132–144.
- [155] M. Kobayashi, Y. Terayama, H. Yamaguchi, M. Terada, D. Murakami, K. Ishihara, A. Takahara, *Langmuir* **2012**, *28*, 7212–7222.
- [156] J. A. Howarter, J. P. Youngblood, *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 3838–3843.
- [157] V. Mittal, *Polymer Brushes: Substrates, Technologies, and Properties*, CRC Press, **2012**.
- [158] M. K. Brinks, A. Studer, *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30*, 1043–1057.
- [159] M. Ignatova, S. Voccia, S. Gabriel, B. Gilbert, D. Cossement, R. Jérôme, C. Jérôme, *Langmuir* **2009**, *25*, 891–902.

- [160] F. Zhou, W. T. S. Huck, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 3815–18.
- [161] R. Barbey, L. Lavanant, D. Paripovic, N. Schüwer, C. Sugnaux, S. Tugulu, H. A. Klok, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5437–5527.
- [162] I. W. Boyd, J. I. Wilson, *J. Appl. Phys.* **1982**, *53*, 4166–72.
- [163] O. Pluchery, J.-M. Costantini, *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2012**, *45*, 495101.
- [164] N. Mansour, A. Momeni, R. Karimzadeh, M. Amini, *Phys. Scr.* **2013**, *87*, 035701.
- [165] M. Bohner, *Injury* **2000**, *31 Suppl 4*, 37–47.
- [166] W. Naumann, Ultrahochvakuum Präparation Und Charakterisierung von InAs (100) -Oberflächen, Universität Hamburg, **2001**.
- [167] F. Ren, Y. Ding, Y. Leng, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **2014**, *102*, 496–505.
- [168] J. H. Kim, S. H. Kim, H. K. Kim, T. Akaike, S. C. Kim, *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *62*, 600–612.
- [169] M. Pozzolini, L. Sturla, C. Cerrano, G. Bavestrello, L. Camardella, A. M. Parodi, F. Raheli, U. Benatti, W. E. G. Müller, M. Giovine, *Mar. Biotechnol. (NY)*. **2005**, *6*, 594–603.
- [170] A. Shkilnyy, R. Gräf, B. Hiebl, A. T. Neffe, A. Friedrich, J. Hartmann, A. Taubert, *Macromol. Biosci.* **2009**, *9*, 179–86.
- [171] A. Blanz, N. J. Warren, A. L. Lewis, S. P. Armes, A. J. Ryan, *Soft Matter* **2011**, *7*, 6399–403.
- [172] W. Agut, A. Brûlet, D. Taton, S. Lecommandoux, *Langmuir* **2007**, *23*, 11526–33.
- [173] M. Arotçaréna, B. Heise, S. Ishaya, A. Laschewsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3787–3793.
- [174] J. H. Lee, M. L. Shofner, *Langmuir* **2013**, *29*, 10940–4.

- [175] R. Palanivelu, A. Mary Saral, A. Ruban Kumar, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, *131*, 37–41.
- [176] X. Lu, Y. Leng, *Biomaterials* **2005**, *26*, 1097–1108.
- [177] P. Bar-Yosef Ofir, R. Govrin-Lippman, N. Garti, H. Füredi-Milhofer, *Cryst. Growth Des.* **2004**, *4*, 177–183.
- [178] J. Rubio, J. . Kitchener, *J. Colloid Interface Sci.* **1976**, *57*, 132–142.
- [179] Y.-H. Shen, in *Chemosphere*, **2002**, pp. 1075–9.
- [180] D. Zahn, O. Hochrein, *Zeitschrift für Anorg. und Allg. Chemie* **2006**, *632*, 79–83.
- [181] O. Hochrein, D. Zahn, *J. Mol. Model.* **2011**, *17*, 1525–1528.
- [182] D. A. Pampena, K. A. Robertson, O. Litvinova, G. Lajoie, H. A. Goldberg, G. K. Hunter, *Biochem. J.* **2004**, *378*, 1083–1087.
- [183] G. K. Hunter, C. L. Kyle, H. A. Goldberg, *Biochem. J.* **1994**, *300*, 723–728.
- [184] P. Barkvoll, G. Embery, G. Rølla, *J. Biol. Buccale* **1988**, *16*, 75–9.
- [185] M. Rykke, G. Rølla, T. Sönju, *Scand. J. Dent. Res.* **1990**, *98*, 135–43.
- [186] D. I. Hay, *Arch. Oral Biol.* **1973**, *18*, 1531–1541.
- [187] D. I. Hay, *Arch. Oral Biol.* **1975**, *20*, 553–558.
- [188] B. Pidhatika, J. Möller, E. M. Benetti, R. Konradi, E. Rakhmatullina, A. Mühlebach, R. Zimmermann, C. Werner, V. Vogel, M. Textor, *Biomaterials* **2010**, *31*, 9462–72.
- [189] R. R. Maddikeri, S. Tosatti, M. Schuler, S. Chessari, M. Textor, R. G. Richards, L. G. Harris, *J. Biomed. Mater. Res. A* **2008**, *84*, 425–35.
- [190] H. C. van der Mei, M. Rustema-Abbing, J. de Vries, H. J. Busscher, *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 5511–5.

- [191] W. B. Clark, L. L. Bammann, R. J. Gibbons, *Infect. Immun.* **1978**, *19*, 846–53.
- [192] R. J. Gibbons, E. C. Moreno, D. M. Spinell, *Infect. Immun.* **1976**, *14*, 1109–12.
- [193] H. Koba, K. Okuda, H. Watanabe, J. Tagami, H. Senpuku, *Oral Microbiol. Immunol.* **2009**, *24*, 162–9.
- [194] T. Mai, K. Bleek, A. Taubert, in *Biomater. Surf. Sci.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2013**, pp. 311–336.
- [195] S. Mann, *Biomineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, **2001**.
- [196] A. Elyada, N. Garti, H. Füredi-Milhofer, *Biomacromolecules* **2014**, *15*, 3511–3521.
- [197] S. V. Dorozhkin, *Int. J. Mater. Chem.* **2012**, *2*, 19–46.
- [198] M. Ramstedt, N. Cheng, O. Azzaroni, D. Mossialos, H. J. Mathieu, W. T. S. Huck, *Langmuir* **2007**, *23*, 3314–21.
- [199] A. Steinbach, A. Tautzenberger, A. Ignatius, M. Pluntke, O. Marti, D. Volkmer, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2012**, *23*, 573–9.
- [200] R. Löbbecke, M. Chanana, H. Schlaad, C. Pilz-Allen, C. Günter, H. Möhwald, A. Taubert, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 3753–3760.
- [201] J. J. J. P. van den Beucken, X. F. Walboomers, S. Leeuwenburgh, M. F. J. Vos, N. a. J. M. Sommerdijk, R. J. M. Nolte, J. a. Jansen, *Key Eng. Mater.* **2008**, *361-363*, 605–608.
- [202] S. Minko, in *Polym. Surfaces Interfaces*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2008**, pp. 215–234.
- [203] K. Wolski, M. Szuwarzyński, S. Zapotoczny, *Chem. Sci.* **2015**, 1754–1760.

- [204] M. Wiemann, D. Bingmann, S. Franzka, N. Hartmann, H. Urch, M. Epple, *Adv. Eng. Mater.* **2007**, *9*, 1077–1081.
- [205] D. Tsiourvas, A. Tsetsekou, M.-I. Kammenou, N. Boukos, *J. Am. Ceram. Soc.* **2011**, *94*, 2023–2029.
- [206] M. Weinlaender, J. Beumer, E. B. Kenney, P. K. Moy, F. Adar, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1992**, *3*, 397–401.
- [207] B. O. Fowler, M. Markovic, W. E. Brown, *Chem. Mater.* **1993**, *5*, 1417–1423.
- [208] Z. Ma, X. Liao, W. Zheng, J. Yu, J. Chu, in *Proc. SPIE* (Eds.: J. Chu, P. Liu, Y. Chang), **2000**, pp. 258–261.
- [209] P. Borowicz, M. Latek, W. Rzodkiewicz, A. Łaszcz, A. Czerwinski, J. Ratajczak, *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.* **2012**, *3*, 045003.
- [210] E. E. Berry, C. B. Baddiel, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* **1967**, *23*, 2089–2097.
- [211] E. E. Berry, C. B. Baddiel, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* **1967**, *23*, 1781–1792.
- [212] S. Tugulu, M. Harms, M. Fricke, D. Volkmer, H.-A. Klok, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, *45*, 7458–61.
- [213] S. Tugulu, R. Barbey, M. Harms, M. Fricke, D. Volkmer, A. Rossi, H.-A. Klok, *Macromolecules* **2007**, *40*, 168–177.
- [214] M. D. Shoulders, R. T. Raines, *Annu. Rev. Biochem.* **2009**, *78*, 929–58.
- [215] P. Schuck, *Biophys. J.* **2000**, *78*, 1606–19.
- [216] H. Cölfen, S. E. Harding, *Eur. Biophys. J.* **1997**, *25*, 333–346.
- [217] F. L. Edgar Brunner, Sebastian Domhof, *Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in Factorial Experiments*, J. Wiley, **2002**.

- [218] C. Ohtsuki, “How to prepare the simulated body fluid (SBF) and its related solutions, proposed by Kokubo and his colleagues,” can be found under <http://mswebs.naist.jp/LABs/tanihara/ohtsuki/SBF/index.html>, **n.d.**
- [219] Y. Xu, A. Walther, A. H. E. Müller, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1462–6.
- [220] S. Thomas, “online Programme zur Spektroskopie,” can be found under <http://www.spec-online.de/>, **2012**.

II. Danksagung

Am Ende einer Dissertation hat man stets mit vielen Menschen zusammengearbeitet, die auf unterschiedlichste Weise Quelle für Anregung und Unterstützung waren. Daher möchte ich mich hier an all jene wenden, denen ich zu Dank verpflichtet bin. Als erster Gutachter und Betreuer hat mir Prof. Dr. Andreas Taubert ermöglicht die Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen und stand mir stets mit Rat und Tat zur Seite. Ebenso danke ich den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Taubert und meinen ehemaligen Kommilitonen für eine wunderbare gemeinsame Zeit und die vielen fruchtbaren Diskussionen. Des weiteren möchte ich der Gruppe um Dr hab. Szczepan Zapotoczny an der Jagiellonen-Universität in Krakau und besonders Agnieszka Puciul-Malinowska und Karol Wolski für die schöne Zeit danken, die ich während des Aufenthalts dort hatte. Ferner danke ich allen Mitarbeitern der Universität Potsdam, des Max-Planck-Instituts für Kolloid- und Grenzflächenforschung, des Leibniz-Instituts für Polymerforschung e.V. und des Geoforschungszentrums Potsdam, die zur Entstehung der Arbeit beigetragen haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt nicht zuletzt meiner Familie und meiner Frau, für ihre immerwährende Unterstützung auch in schwierigen Phasen der Arbeit.

III. Eigenständigkeitserklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Berlin, der

Tobias Mai