

# Zwitterionische Polymere mit antimikrobiellen und Nonfouling-Eigenschaften

Luo Mi und Shaoyi Jiang\*

Abweisende Materialien · Antimikrobielle Wirkung ·  
Bakterizide Wirkung · Polymere · Zwitterionen

**Z**witterionische Polymere werden im Allgemeinen als eine neue Klasse von abweisenden „Nonfouling“-Materialien angesehen. Sie verfügen über eine breitere chemische Diversität als entsprechende Polyethylenglycole (PEG) und eine größere Freiheit hinsichtlich des Moleküldesigns. Dieser Kurzaufsatz stellt neueste mikrobiologische Anwendungen zwitterionischer Polymere und ihrer Derivate in den Mittelpunkt, wobei verschiedene molekulare Strategien hervorgehoben werden, die antimikrobielle und Nonfouling-Eigenschaften integrieren. Ferner werden Erkenntnisse über die Bakterienbewuchshemmung durch zwitterionische Polymere sowie ein Beispiel für die technische Verwendung zwitterionischer Polymerderivate als antimikrobielle Wundauflagen diskutiert.

## 1. Einführung

Definitionsgemäß tragen zwitterionische Polymere gleich viele, homogen verteilte anionische und kationische Gruppen entlang ihrer Ketten.<sup>[1-3]</sup> Diese Verknüpfung von entgegengesetzt geladenen Einheiten („Zwittern“) verleiht den Polymeren ihre hohe Hydrophilie und hält dabei gleichzeitig eine Gesamtladungsneutralität aufrecht. Aus technischer Sicht werden zwitterionische Polymere im Allgemeinen als eine Alternative zu den häufig verwendeten Polyethylenglycolen (PEG) für „Nonfouling“-Anwendungen angesehen, um sowohl eine nichtspezifische Proteinadsorption zu verhindern als auch um eine Adhäsion von bakteriellen oder Säugetierzellen zu minimieren.<sup>[4,5]</sup> Aus chemischer Sicht könnte dieser Vergleich von PEG und zwitterionischen Polymeren irreführend sein, da alle PEG-Polymeren im Wesentlichen die gleiche Wiederholeneinheit gemeinsam haben, während zwitterionische Materialien ein breites Spektrum von Polymeren mit charakteristischen Monomeren umfassen. Einige der wesentlichen Aspekten dieser chemischen Vielfalt sind: 1) die Auswahl der in die Polymerstruktur einzufügenden ionischen Gruppen (Carboxylat,<sup>[6]</sup> Sulfonat<sup>[7]</sup> oder Phosphat<sup>[8]</sup> als anionische Gruppen und quartäres Ammonium,<sup>[9]</sup> Phosphonium,<sup>[10]</sup> Pyridinium<sup>[11]</sup> oder Imidazolium<sup>[12]</sup> als kationische

Gruppen); 2) die räumliche Anordnung der geladenen Gruppen, das heißt, der Abstand zwischen positiven und negativen Ladungen innerhalb der gleichen Polymereinheit<sup>[13]</sup> oder die völlige Trennung der entgegengesetzt geladenen ionischen Gruppen auf unterschiedlichen Polymerseitenketten (in letzterem Fall spricht man auch von gemischtgeladenen Polymeren);<sup>[14]</sup> 3) verschiedene Derivate herkömmlicher zwitterionischer Polymere, die zwischen zwitterionischen und nichtzwitterionischen Formen wechseln können<sup>[15-17]</sup> oder ein geladenes biologisch aktives Molekül als einen Teil der zwitterionischen Komponente tragen.<sup>[18]</sup> Diese Strukturvielfalt verleiht den zwitterionischen Materialien eine funktionelle Flexibilität über ihre Nonfouling-Eigenschaft hinaus. Außerdem ermöglicht der ionische Charakter der zwitterionischen Materialien eine Anpassung von Polymerladungsdichte, pH-Empfindlichkeit, Gegenionenassoziation usw., sodass sich dieser Polymertyp von nichtionischen Nonfouling-Materialien wie Polyoxazolinen<sup>[19]</sup> und Polysarcosinen<sup>[20]</sup> unterscheidet.

Mikrobiologische Anwendungen von zwitterionischen Polymeren und ihren Derivaten wurden in den vergangenen Jahren eingehend untersucht, was zu neuen mechanistischen Erkenntnissen und zu neuartigen Moleküldesigns geführt hat. Dieser Kurzaufsatz soll hauptsächlich einen Überblick zu diesen Studien geben; Leser, die sich für Synthese, Anwendungen und Nonfouling-Mechanismen der zwitterionischen Polymere interessieren, seien auf frühere Übersichtartikel verwiesen.<sup>[1,21,22]</sup> Um einige zentrale Fachausdrücke zu definieren: „Nonfouling“ bedeutet die Abstoßung potenziell adhäsierender Bakterien durch Polymerhydration, „bakterizid“ bezeichnet das aktive Abtöten von Bakterien und „antimikrobiell“ ist ein Oberbegriff, der sowohl bakterizide wie auch bakteriostatische Wirkungen abdeckt. Methacrylat (MA) und Acrylamid (AA) sind zwei übliche Grundgerüste für zwitterionische Polymere.

[\*] L. Mi, Prof. S. Jiang  
Department of Chemical Engineering  
University of Washington, Seattle, WA 98195 (USA)  
E-Mail: sjiang@u.washington.edu

terionische Polymere, deren Einfluss auf die Nonfouling-Eigenschaften recht ähnlich ist.

Während die Widerstandsfähigkeit von Oberflächen gegen eine nichtspezifische Proteinadsorption und Bakterienadhäsion noch im Mittelpunkt der Untersuchungen zu zwitterionischen Polymeren steht, ermöglichen es die chemische Diversität und die Formbarkeit der zwitterionischen Polymere, den ansonsten biologisch inerten Materialien durch ein rationales Moleküldesign weitere Funktionalitäten zu verleihen. Wir möchten hier anhand mehrerer ausgewählter Beispiele die Stärken zwitterionischer Polymere und ihrer Derivate in mikrobiologischen Anwendungen nachweisen. Den Anfang bildet unser aktuelles Verständnis der Strukturmerkmale, welche die bakteriellen Nonfouling-Eigenschaften zwitterionischer Polymere bestimmen (Abbildung 1a), wonach wir zur Integration oberflächenbakterizider (Abbildung 1b) oder antimikrobieller (Abbildung 1c) Funktionalitäten in das Nonfouling-Gerüst übergehen. Auf dem Gebiet der Nonfouling-Studien haben die Polymerdichte und -stabilität (Abbildung 2),<sup>[23,24]</sup> die Auswahl der anionischen Spezies/Spacerlänge (Abbildung 3)<sup>[25]</sup> sowie die Ladungstrennung<sup>[26]</sup> (Abbildung 4) jeweils einen ausgeprägten Einfluss auf das Materialverhalten, was wiederum Aufschluss über die Mechanismen der Wechselwirkung zwischen Bakterien und Oberflächen gibt. Über das Ziel des reinen Nonfouling hinaus sind in den vergangenen Jahren verschiedene Beispiele beschrieben worden, in denen Nonfouling- und antimikrobiellen Eigenschaften in ein einzelnes zwitterionenbasiertes Polymer integriert wurden – durch Seitenketten-Esterhydrolyse (Abbildung 5),<sup>[15]</sup> reversible Lactonisierung (Abbildung 6)<sup>[16,17]</sup> oder kontrollierte Freisetzung von antimikrobiellen Agentien als Gegenionen<sup>[27]</sup> oder Abgangsgruppen<sup>[18]</sup> (Abbildung 7). Als praktisches Beispiel wird ferner die Anwendung von zwitterionischen Polymeren abgeleiteter antimikrobieller Hydrogele zur Wundabdeckung vorgestellt (Abbildung 8).<sup>[28]</sup> Schließlich werden spezifische Aspekte der zukünftigen mikrobiologisch ausgerichteten Forschung zu zwitterionischen Polymeren diskutiert.

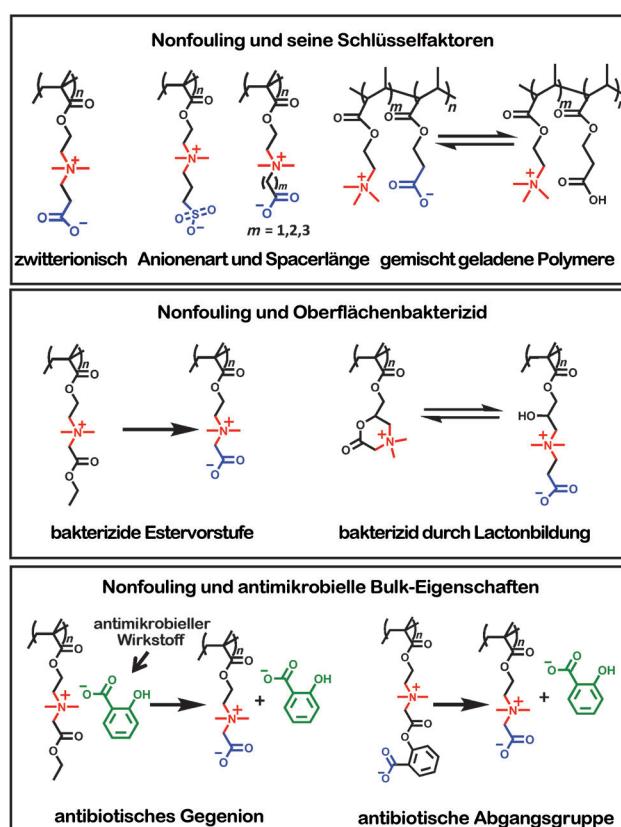


Abbildung 1. Strukturformeln und mikrobiologische Anwendungen verschiedener zwitterionischer Polymere und ihrer Derivate.

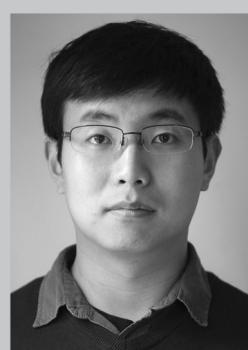
## 2. Das Nonfouling und seine Schlüsselfaktoren

### 2.1. Von selbstorganisierten Monoschichten zu Polymerbürsten: Polymerdichte und -stabilität

Frühe Untersuchungen von Whitesides und Mitarbeitern zeigten, dass eine einzelne Schicht von Nonfouling-Gruppen auf einer Oberfläche in Form einer selbstorganisierten Monoschicht (SAM) die nichtspezifische Proteinadsorption wirksam reduzieren kann.<sup>[29–31]</sup> Die Abwehr einer Bakterienadhäsion (bakterielles Fouling) war dagegen eine anspruchsvollere Aufgabe, bei der sich viele proteinabweisende SAM-Oberflächen als unzureichend erwiesen.<sup>[4]</sup> Diese Tatsache ist sowohl der begrenzten Stabilität der SAM-Oberflächen in komplexen biologischen Umgebungen als auch der



Shaoyi Jiang ist Boeing-Roundhill-Professor für Chemieingenieurwesen und Assistenzprofessor für Bioingenieurwesen an der University of Washington, Seattle. 1993 promovierte er in Chemieingenieurwesen an der Cornell University. Von 1993 bis 1994 war er Postdoktorand an der University of California, Berkeley, und von 1994 bis 1996 wissenschaftlicher Mitarbeiter am California Institute of Technology. Seine Forschungen konzentrieren sich auf die Entwicklung von zwitterionenbasierten Materialien für biomedizinische und technische Anwendungen.



Luo Mi fertigt zurzeit seine Doktorarbeit unter der Anleitung von Prof. Shaoyi Jiang im Department of Chemical Engineering an der University of Washington an. Er erhielt 2007 den BA in Molekularbiologie an der Fudan University (China). Seine gegenwärtigen Forschungen betreffen die Entwicklung von zwitterionischen Polymeren für mikrobiologische Anwendungen und die mechanistische Untersuchung von Bakterien-Oberflächen-Wechselwirkungen.

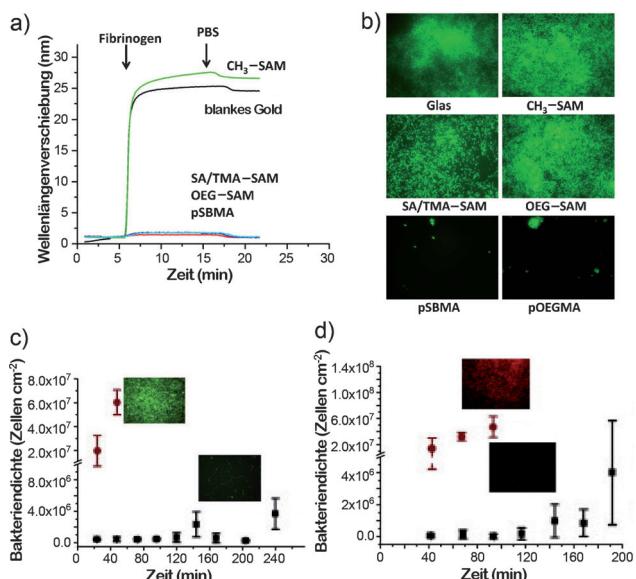
bloßen Masse der Bakterienzellen im Vergleich zu einzelnen Proteinmolekülen zuzuschreiben.<sup>[32,33]</sup>

Eine der ersten Studien, die zwitterionische Polymere einsetzte, um ein bakterielles Fouling zu verhindern, stellte einen direkten Vergleich zwischen Nonfouling-SAM-Oberflächen und durch oberflächeninitiierte radikalische Atomtransferpolymerisation (ATRP) gebildeten Schichten an.<sup>[23]</sup> Bei den SAM-Oberflächen wurde eine einzelne Schicht von Nonfouling-Gruppen mit einer Gesamtdicke von 1–2 nm auf einem Goldsubstrat erzeugt, während im Fall der ATRP die hohe Ppropfdichte und das hohe Molekulargewicht zu bürttenartigen Anordnungen der oberflächengebundenen Polymere führten, die im trockenen Zustand typischerweise 20 nm dick waren. Die Untersuchung prüfte zwei Polymeroberflächen – zwitterionisches Poly(2-(N-3-sulfopropyl-*N,N*-dimethylammonium)ethylmethacrylat) (pSBMA) und PEG-basiertes Poly[oligo(ethylenglycol)methylethermethacrylat] (pOEGMA) – sowie drei SAM-Oberflächen – gemischtes Sulfonat und Trimethylamin (SA/TMA-SAM), Oligoethylenglycol (OEG-SAM) und 1-Dodecanthiol ( $\text{CH}_3\text{SAM}$ ) – bezüglich ihrer Wirkung gegen das Protein Fibrinogen und *P.-aeruginosa*-Bakterien. Einer Bestimmung mithilfe von Oberflächenplasmonenresonanz(SPR)-Sensoren zufolge, sind Nonfouling-SAM- und Polymerbürstenoberflächen hinsichtlich einer Reduzierung der nichtspezifischen Proteinadsorption nicht unterscheidbar. Allerdings waren die ATRP-Oberflächen in einem 24-Stunden-Bakterien-Fouling-Test ihren SAM-Pendants weit überlegen, was darauf hindeutet, dass eine chemisch stabile und dicht gepackte dicke Schicht von Nonfouling-Gruppen notwendig ist, um einem bakteriellen Fouling entgegenzuwirken (Abbildung 2a und b).

Eine Folgestudie zur weiteren Prüfung der Nonfouling-Eigenschaften zwitterionischer Polymere gegen Bakterienadhäsion und Biofilmbildung optimierte zwitterionisches Poly{2-carboxy-*N,N*-dimethyl-*N*[2'-(methacryloyloxy)ethyl]-ethanaminium} (pCBMA-2) und testete es bezüglich seiner Langzeitresistenz gegen die Bildung von Biofilmen.<sup>[24]</sup> So wurde berichtet, dass pCBMA-2-beschichtete Oberflächen eine *P.-aeruginosa*- und *P.-putida*-Biofilmbildung um 95 % für bis zu 10 Tage bei 25 °C und 8 Tage bei 30 °C im Vergleich zu ungeschütztem Glas verringern können (Abbildung 2c und d). Trotz ihrer ausgezeichneten Nonfouling-Eigenschaften wirken herkömmliche zwitterionische Polymere nicht biologisch aktiv gegen oberflächliches und massenhaftes Bakterienwachstum. Auf mehrere Strategien mit dem Ziel, diese funktionelle Einschränkung zu beheben, wird in den Abschnitten 3 und 4 ausführlich eingegangen.

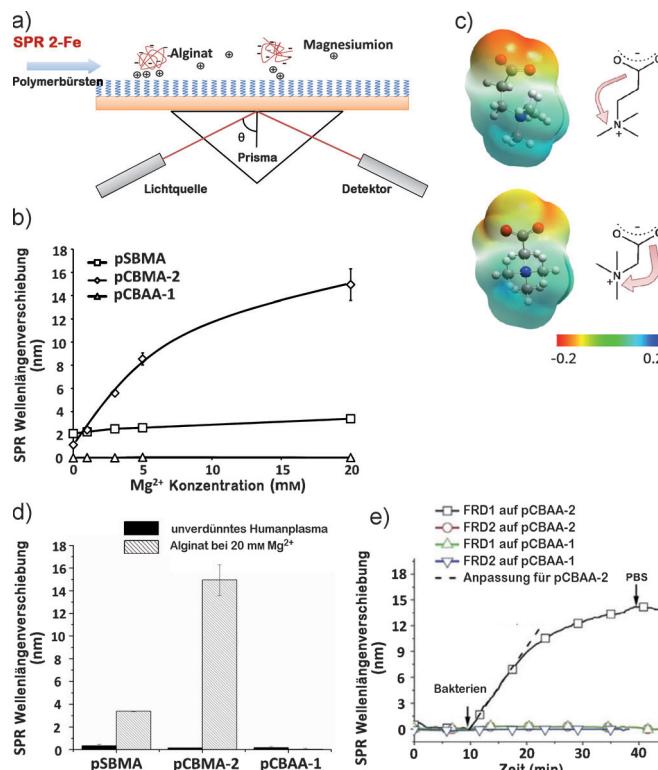
## 2.2. Vom Protein zum Polysaccharid: Dikationen und bakterielle Phänotypen

Eine nichtspezifische Proteinadsorption wurde gewöhnlich als die molekulare Grundlage für eine anfängliche Bakterienadhäsion und die anschließende Biofilmbildung postuliert.<sup>[30]</sup> Diese allgemein akzeptierte Annahme ist jedoch zu stark vereinfacht. Extrazelluläre Polysaccharide (EPS), die in großer Menge auf Bakterienoberflächen vorliegen, sind be-



**Abbildung 2.** a) SPR-Sensorogramm zur Messung der Adsorption von  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  Fibrinogen in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) auf unterschiedlichen Oberflächen. b) Typische fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen einer Anlagerung von *P. aeruginosa* an verschiedene Oberflächen nach 24 h. c) *P.-aeruginosa*-Anhäufung auf den Oberflächen pCBMA-2 (schwarz □) und Glas (rot ●) als Funktion der Zeit bei 25 °C. d) *P.-putida*-Anhäufung auf den Oberflächen pCBMA-2 (schwarz □) und Glas (rot ●) als Funktion der Zeit bei 30 °C.<sup>[23,24]</sup>

züglich ihrer Rolle beim Fouling von Biomaterialien erstaunlich wenig untersucht worden.<sup>[34,35]</sup> Eine neuere Studie erstellte ein System zur Messung der durch Dikationen vermittelten Wechselwirkungen von Polysaccharid mit verschiedenen zwitterionischen Oberflächen durch SPR (Abbildung 3a).<sup>[25]</sup> Aufgrund seiner natürlichen Verbreitung in vielen Bakterienspezies wurde Alginat, ein anionisches Polysaccharid, das reich an Carboxylatgruppen ist, ausgewählt.<sup>[36]</sup> Es wurde beobachtet, dass sich sowohl die Art der anionischen Gruppen als auch die Ladungstrennung auf die Widerstandsfähigkeit des zwitterionischen Materials gegenüber Polysacchariden auswirkt. Hohe  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentrationen, die in natürlichen Umgebungen allerdings unüblich sind, lösten ein Alginat-Fouling auf Carboxybetainpolymeren mit zwei Kohlenstoffatomen zwischen den Carboxylat- und quartären Ammoniumgruppen (pCBMA-2) aus, jedoch nicht auf pSBMA-Oberflächen. Darüber hinaus war der Kationeneffekt auf Poly(carboxybetain) aufgehoben, sobald die Brücke zwischen den Ladungen von zwei Kohlenstoffatomen auf einer verkürzt wurde, wie im Fall von Poly[1-carboxy-*N,N*-dimethyl-*N*-(3'-acrylamidpropyl)methanaminium] (pCBA-1; Abbildung 3b). Dieser Befund fand eine Erklärung anhand spezifischer Ionenwechselwirkungen:<sup>[37–39]</sup> Die höhere Oberflächenladungsdichte des Carboxylats verglichen mit Sulfonat begünstigt eine  $\text{Mg}^{2+}$ -Bindung durch Coulomb-Wechselwirkungen. Eine Verringerung des Abstandes zur stark elektronenanziehenden quartären Ammoniumgruppe setzt die Teilladung am Carboxylat herab und senkt folglich die  $\text{Mg}^{2+}$ -Affinität. Demgegenüber beeinträchtigen Mono-kationen allgemein nicht die Nonfouling-Eigenschaften zwitterionischer Polymere. Wird die Brücke um ein Kohlen-



**Abbildung 3.** a)  $Mg^{2+}$ -vermittelte Alginat-Oberflächenadsorption, gemessen durch SPR. b) Alginat-Oberflächen-Fouling bei verschiedenen  $Mg^{2+}$ -Konzentrationen auf drei zwitterionischen Oberflächen: pSBMA (Sulfonataniion), pCBMA-2 (Carboxylat in  $\beta$ -Position zur quartären Ammoniumgruppe) und pCBAA-1 (Carboxylat in  $\alpha$ -Position zur quartären Ammoniumgruppe). c) Elektronendichteoberflächen von Carboxybetain mit zwei Kohlenstoffatomen (oben) und einem Kohlenstoffatom (unten) zwischen entgegengesetzt geladenen ionischen Gruppen. d) Vergleich der Adsorption von Protein (unverdünntes menschliches Plasma) und Polysaccharid (Alginat) auf drei zwitterionischen Oberflächen. e) In-situ-Messungen langreichweiteriger SPR von alginatreicher (FRD1) und alginatärmer (FRD2) *P.-aeruginosa*-Adhäsion auf pCBAA-1- und pCBAA-2-Oberflächen.<sup>[25, 43]</sup>

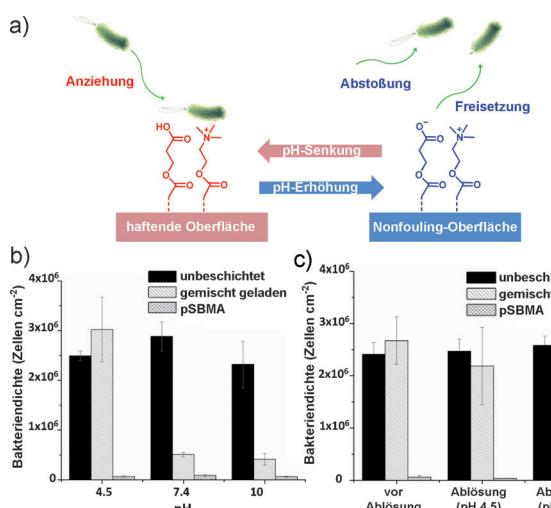
stoffatom verkürzt, so ändert sich übereinstimmend mit dieser Theorie der  $pK_a$ -Wert des Carboxybetains von 3.2 zu 1.8.<sup>[40]</sup> Ein quantenchemischer Vergleich der Elektronendichten der beiden Carboxybetainmoleküle bestätigte zusätzlich den beobachteten Trend (Abbildung 3c).<sup>[25]</sup> Während nichtionische Nonfouling-Materialien gegenüber mehrwertigen Kationen im Allgemeinen unempfindlich sind, reagieren zwitterionische Nonfouling-Materialien auf Kationen eindeutig unterschiedlich, abhängig von ihren spezifischen chemischen Strukturen. Da in menschlichen Körperflüssigkeiten sowohl die Konzentrationen an Dikationen als auch die negativen Ladungsdichten von Biomakromolekülen erheblich geringer sind als unter den experimentellen Bedingungen dieser Studie, behalten pCBMA-2-Materialien ihr Gesamtverhalten in vivo voraussichtlich bei, was eine aktuelle Studie zur Hydrogelimplantation bestätigte.<sup>[41]</sup> Ferner ist beachtenswert, dass alle in dieser Arbeit eingesetzten zwitterionischen Materialien einer nichtspezifischen Proteinadsorption aus unverdünntem menschlichen Plasma entgegenwirken (<0.3 nm SPR-Wellenlängenverschiebung; Abbildung 3d),

ungeachtet ihrer unterschiedlichen Polysaccharid-Fouling-Eigenschaften. Diese Diskrepanz zwischen Protein- und Polysaccharid-Fouling unterstreicht die Notwendigkeit, in Entwicklung und Evaluierung von bakterienresistenten Materialien über die Kriterien des Protein-Nonfouling hinaus zu gehen.

Während die Menge an anionischem EPS zwischen verschiedenen Bakterienstämmen beträchtlich variiert, deuten die zuvor dargelegten Erkenntnisse darauf hin, dass sich die Leistungsfähigkeit von Nonfouling-Materialien auch entsprechend den bakteriellen Phänotypen verändern kann. So verglich eine ähnliche Studie einen alginatreichen *P.-aeruginosa*-Stamm (FRD1) mit seinem alginatarmen isogenen Mutantenstamm (FRD2) hinsichtlich ihrer Adhäsion auf zwei Carboxybetainpolymeren. In-situ-Messungen langreichweiteriger SPRs zeigten, dass beide Poly(carboxybetain)-Beschichtungen, pCBAA-1 und pCBAA-2, einer Adhäsion durch alginatarme mutierte Bakterien entgegenwirken,<sup>[42, 43]</sup> jedoch war nur das Polymer mit der Ein-Kohlenstoffatom-Brücke gegen alginatreiche Wildtyp-Bakterien wirksam (Abbildung 3e). Ähnlich zur vorherigen Untersuchung widerstanden sowohl pCBAA-1- als auch pCBAA-2-Oberflächen nachweislich unter Protein-Fouling-Bedingungen, die genauso anspruchsvoll wie unverdünntes menschliches Plasma waren. Diese Ergebnisse unterstreichen nochmals, dass die Oberflächenresistenz gegen bakterielle Adhäsion und Biofilmbildung nicht eine schlichte Ergänzung ihrer Protein-Nonfouling-Eigenschaft ist.

### 2.3. Vom Betain zur gemischten Ladung: pH-Responsivität

Im Vergleich zur permanent geladenen Sulfonatgruppe ist die Carboxylatgruppe eine Base mit einem typischen  $pK_a$  zwischen 3 und 5, die in Medien mit niedrigem pH-Wert protoniert wird. Weil die meisten Bakterien in der Natur negativ geladen sind, ist es daher möglich, ein pH-empfindliches Carboxybetainmaterial zu entwickeln, das Bakterien unter schwach sauren Bedingungen anzieht und sie danach, beispielsweise zum Nachweis, bei einem höheren pH-Wert wieder freisetzt. Die Neigung zur Carboxylatprotonierung wird durch die benachbarte quartäre Ammoniumgruppe stark beeinflusst: Je weiter entfernt die kationische Gruppe ist, desto stärker ist die Tendenz der Carboxylatprotonierung aufgrund der Abschwächung des induktiven Effekts.<sup>[40]</sup> Ein gemischt geladenes zwitterionisches Polymer, das Carboxylatgruppen und quartäre Ammoniumgruppen auf verschiedenen Polymerseitenketten trägt (Abbildung 4a), sollte daher stärker pH-responsiv als normale Carboxybetainpolymere sein.<sup>[26]</sup> Eine Untersuchung ergab, dass dieses Zufalls-Copolymer aus positiven und negativen Einheiten im Verhältnis 1:1 die Protein- und Bakterien-Nonfouling-Eigenschaften der zwitterionischen Materialien unter neutralen Bedingungen größtenteils behielt, während es die Oberflächenbindung von Bakterien in einem schwach sauren Milieu förderte (Abbildung 4b). Bakterienzellen, die von der gemischt geladenen Oberfläche angezogen wurden, können später bei einem höheren pH-Wert hydrodynamisch wieder abgelöst werden (Abbildung 4c).



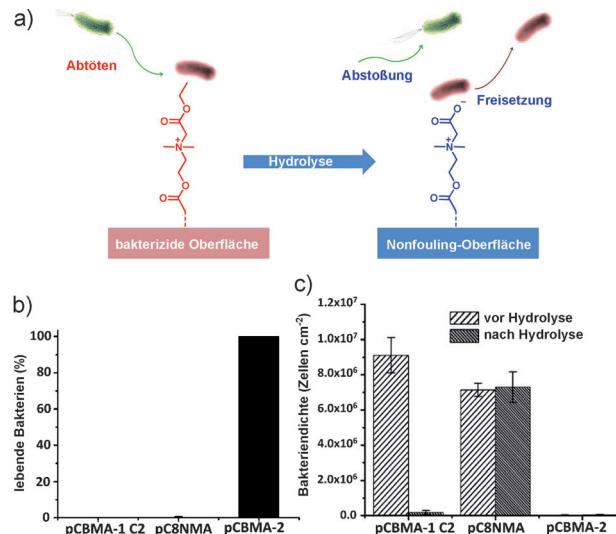
**Abbildung 4.** a) Eine zwitterionische Oberfläche, die als Reaktion auf den pH-Wert der Umgebung Bakterienzellen anzieht oder freisetzt. b) *S. epidermidis*-Anhäufung auf pH-responsiven gemischt geladenen Oberflächen, nicht pH-empfindlichen pSBMA-Oberflächen und unbeschichteten blanken Goldoberflächen unter sauren, neutralen und basischen Bedingungen. c) *S. epidermidis*-Anhäufung auf gemischt geladenen, pSBMA-beschichteten und unbeschichteten Oberflächen vor und nach einem 30 min hydrodynamischen Ablösungstest bei pH 4.5 und pH 10. Die anfängliche Anheftung wurde bei pH 4.5 durchgeführt.<sup>[26]</sup>

### 3. Die Verbindung von Nonfouling- und oberflächenbakteriziden Eigenschaften

Durch oberflächengebundene Bakterien und Biofilme hervorgerufene Infektionen sind ein großes Problem bei klinischen Operationen und Implantationen. Abgesehen vom Antibiotika-Einsatz kann dieser Gefahr durch zwei Beschichtungsstrategien begegnet werden. Die erste ist die Verwendung von Nonfouling-Materialien, beispielhaft gezeigt durch zwitterionische Polymere und PEG-Polymere, um die Anhaftung von Bakterien auf der Oberfläche zu verhindern.<sup>[44–47]</sup> Die zweite ist der Einsatz kationischer Oberflächen mit hohen Ladungsdichten, um die anhaftenden Bakterienzellen aktiv abzutöten. Sämtliche Beschichtungen auf der Grundlage von quartären oder primären Ammoniumpolymeren fallen in diese Kategorie.<sup>[48–50]</sup> Trotz ihrer großen Popularität und allgemeinen Wirksamkeit unterliegen beide Methoden grundsätzlichen Einschränkungen. Nonfouling-Materialien sind unwirksam gegen Bakterienzellen, sobald diese auf der Oberfläche haften, während bakterizide Oberflächen sehr schlecht biokompatibel sind; außerdem sammeln sich auf solchen Oberflächen rasch tote Bakterien an, welche die funktionellen Gruppen abschirmen. Ein ideales Material sollte die Stärken dieser beiden komplementären Strategien verbinden und gleichzeitig sowohl über Nonfouling- als auch über bakterizide Eigenschaften verfügen. Während es möglich ist, eine Doppelfunktion mithilfe von Mehrschichten-/Mehrkomponentensystemen zu erreichen,<sup>[51]</sup> konzentrieren wir uns hier auf Strategien, welche dieses Ziel durch ein Einkomponenten-Monomerdesign verwirklichen.

### 3.1. „Abtöten und loslassen“

Eine Veröffentlichung nutzte die hydrolysierbare Carboxybetainester-Vorstufe Poly{*N,N*-dimethyl-*N*-(ethoxycarbonylmethyl)-*N*-[2-(methacryloyloxy)ethyl]ammoniumbromid} (pCBMA-1 C2), um diese funktionelle Integration zu erreichen (Abbildung 5a).<sup>[15]</sup> Das Konzept geht von einem Mate-



**Abbildung 5.** a) Eine bakterizide Oberfläche basierend auf der Estervorstufe eines Zwitterions tötet Bakterien im kationischen Zustand ab und unterliegt dann einer Hydrolyse, um tote Bakterienzellen freizusetzen und eine Langzeitresistenz gegen Bakterien zu gewährleisten. b) Die bakterizide Aktivität von pCBMA-1 C2 (hydrolysierbare kationische Zwitterionenvorstufe), pC8NMA (kationisch) und pCBMA-2 (zwitterionisch), gemessen mithilfe eines *E. coli*-K12-Koloniebildungstests. c) Die oberflächliche Bakterienanhäufung auf pCBMA-1 C2-, pC8NMA- und pCBMA-2-Oberflächen nach einstündiger Exposition mit einer Suspension mit  $10^{10}$  *E. coli*-K12-Zellen  $\text{mL}^{-1}$ , vor und nach Hydrolyse.<sup>[15]</sup>

rial im kationischen Zustand aus, das Bakterienzellen inaktiviert, die in direkten Kontakt treten (Abbildung 5b). Wie bei jeder bakteriziden Oberfläche verblieben die abgetöteten Mikroben an der Oberfläche, aber anders als bei permanent geladenen kationischen Polymeren sind die Ethylestergruppen in diesem zwitterionischen Polymerer leicht zu anionischen Carboxylaten hydrolysierbar. Dieser Esterhydrolyse überführt die kationischen Polymere in ihre zwitterionischen und Nonfouling-Formen, welche die toten Bakterien freisetzen (Abbildung 5c). Diese Trennung in unterschiedliche Phasen gewährleistete die geringstmögliche Beeinträchtigung zwischen den beiden Funktionen.<sup>[52]</sup> Experimentell wurde in dieser Arbeit gezeigt, dass das umschaltbare Material vor der Hydrolyse über eine ähnliche bakterizide Wirksamkeit wie das häufig eingesetzte quartäre Ammoniumpolymer Poly(methacryloyloxyethyltrimethylammoniumbromid) (pC8NMA) verfügt, während es nach der chemischen Umwandlung Nonfouling-Eigenschaften aufweist, die vergleichbar mit denen herkömmlicher zwitterionischer Oberflächen sind. Durch seine anfängliche bakterizide Funktionalität, die selbstreinigende Eigenschaft und die

Langzeit-Biokompatibilität ist dieses zwitterionische Polymerderivat besonders geeignet für Beschichtungen von implantierbaren biomedizinischen Geräten. Bei diesen Anwendungen sollen die umschaltbaren Polymere die oberflächlich anhaftenden Bakterien in der ersten In-vitro-Phase abtöten und anschließend kurz vor der Implantationsoperation in ihre Nonfouling-Formen hydrolysiert werden, um jede weitere Oberflächen-Fouling zu verhindern und die In-vivo-Biokompatibilität herzustellen.

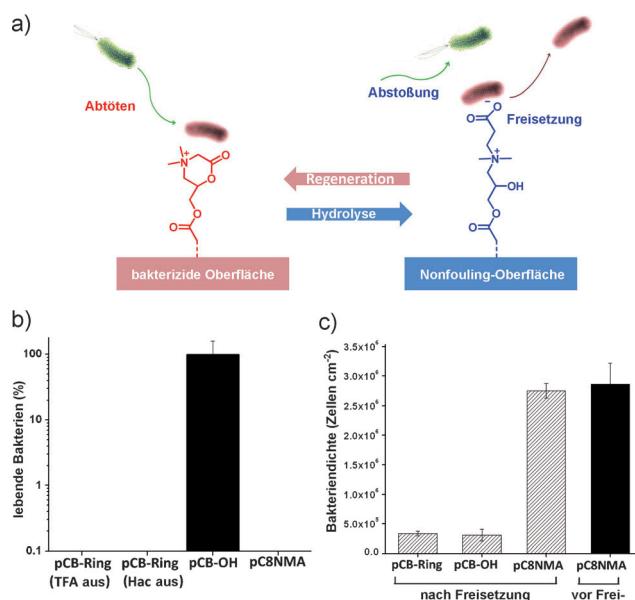
### 3.2. „Abtöten, loslassen und regenerieren“

Während eine einzige Umwandlung zwischen kationischen und zwitterionischen Zuständen für bestimmte klinische Szenarien ausreichend ist, sind für viele Anwendungen, beispielsweise für die meisten wiederverwendbaren chirurgischen Instrumente, häufig erneuerbare bakterizide Oberflächen notwendig. Zu diesem Zweck wurde eine reversible Lactonisierung eingesetzt, um mehrere Zyklen mit Übergang vom bakteriziden in den Nonfouling-Zustand auszuführen (Abbildung 6a).<sup>[16]</sup> In der cyclischen Lactonform sind die Polymere stark positiv geladen und können die Vermehrung

von Bakterienzellen verhindern, die auf die Oberfläche fallen; dies verdeutlichte ein Koloniebildungstest nach direktem Aufsprühen von Bakterien-aerosolen auf das Material (Abbildung 6b). Nach Einwirkung von Wasser wird die Ringform sehr schnell zu einer linearen zwitterionischen Form hydrolysiert, wodurch inaktivierte Bakterien freigesetzt werden und ein weiteres bakterielles Fouling vermieden wird (Abbildung 6c). Die kationische Lactonform ist schließlich aus dem zwitterionischen Zustand durch Dehydratisierung unter sauren Bedingungen wiederherstellbar. Dieses umschaltbare Material konnte sieben dieser Regenerationszyklen ohne merkliche Verminderung der Polymerschichtdicke unterzogen werden, was seine allgemeine chemische Stabilität aneutet.

### 4. Die Verbindung der Nonfouling- mit antimikrobiellen Bulk-Eigenschaften

Während vom kationischen in den zwitterionischen Zustand schaltbare Materialien in wirksamer Weise an Oberflächen gebundene Bakterien inaktivieren können und nach der Umwandlung einen Langzeitschutz gegen weiteren Bakterienbefall bieten, reicht ihre antimikrobielle Wirkung nicht über die unmittelbare Grenzfläche und den Angriff auf planktonische Bakterienzellen hinaus. Für Anwendungen, die sowohl ein Oberflächen-Nonfouling als auch antimikrobielle Bulk-Eigenschaften voraussetzen, müssen daher freisetzbare antimikrobielle Wirkstoffe in die zwitterionischen Materialien eingebunden werden. Bisher sind zwei chemische Methoden beschrieben, um diese Anforderung zu erfüllen.



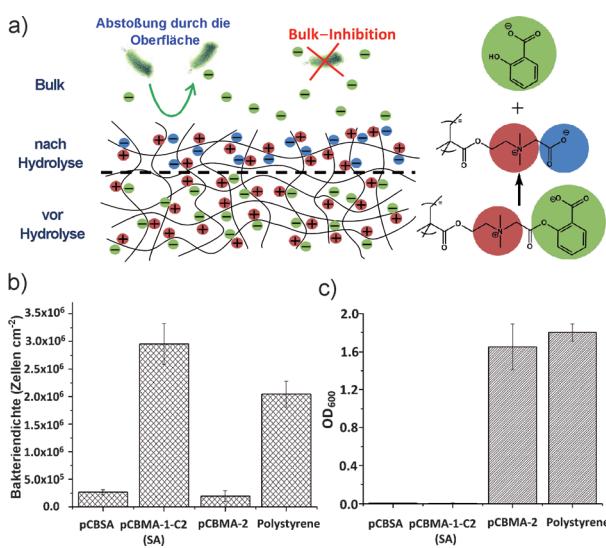
**Abbildung 6.** a) Ein schaltbares Material, das durch eine reversible Lactonisierung im kationischen Zustand ein oberflächliches Bakterienwachstum verhindert, in seinem zwitterionischen Zustand inaktivierte Bakterienzellen freisetzt und sich über einen Dehydratisierungsprozess regeneriert. b) Bakterizide Aktivität des schaltbaren Polymers im kationischen *N,N*-Dimethyl-2-morpholinon-Zustand (CB-Ring) und im zwitterionischen Carboxybetaein-Zustand (CB-OH) gegen *E. coli* K12. pC8NMA ist die als Positivkontrolle einbezogene kationische bakterizide Oberfläche. Die Anmerkungen in Klammern geben das verwendete Dehydratisierungsmittel zur Erzeugung des pCB-Rings an. c) *E. coli*-K12-Dichte auf den Oberflächen vor und nach dem Freisetzungsvorgang (Schütteln in PBS für 1 h). Die Kennzeichnungen pCB-Ring, pCB-OH und pC8NMA entsprechen der anfänglichen Situation im trockenen Zustand. Vor der Freisetzung haben pCB-Ring, pCB-OH und pC8NMA die gleiche auf ihre Oberflächen aufgesprühte Bakteriendichte.<sup>[16]</sup>

### 4.1. Antibiotika als Gegenionen

Ein direkter Weg, dieses Ziel zu erreichen, ist der Einsatz eines antimikrobiellen Anions als Gegenion für die positiv geladene Estervorstufe des Zwitterions.<sup>[27]</sup> Die antimikrobielle Spezies wird im Verlauf der Zeit freigesetzt und kann das Wachstum von Bakterienzellen in der Umgebung hemmen, während die kationische Polymermatrix, ähnlich wie im vorangehenden Abschnitt beschrieben, allmählich zu ihrer endgültigen, zwitterionischen Form hydrolysiert werden sollte. Diese Vorgehensweise hat den Vorteil, dass sie chemisch einfach und für die meisten negativ geladenen antimikrobiellen Wirkstoffe leicht durchführbar ist. Ein möglicher Nachteil ist aber die begrenzte Kontrolle über die Freisetzung kleiner hydrophiler Wirkstoffe bei hohen Salzkonzentrationen. In diesem Fall kann ein Austausch mit umgebenden Ionen die geladenen Wirkstoffe in kurzer Zeit herauslösen und dadurch schlagartig freisetzen.<sup>[53]</sup> Diese mangelnde Kontrolle über das Freisetzungsprofil könnte auch ein Problem beim physikalischen Einschluss von antimikrobiellen Silbernanopartikeln in zwitterionische Polymerbürsten darstellen.<sup>[54]</sup>

#### 4.2. Antibiotika als Abgangsgruppen

Neben der Übertragung eines biologisch aktiven Gegenions auf die Estervorstufe eines Zwitterions ist eine weitere Methode die kovalente Konjugation antimikrobieller Moleküle an die Polymermatrix durch hydrolysierbare Linker. In einer kürzlich erschienenen Untersuchung wurde Salicylat (SA) als schwach antimikrobieller Wirkstoff durch eine leicht hydrolysierbare Esterbindung an der Carboxygruppe eines Carboxybetainmoleküls befestigt, sodass die funktionelle zwitterionische Einheit Poly(2-[2-[2-(methacryloyloxy)ethyl]dimethylammonio]acetoxybenzoat) entstand (pCBSA; Abbildung 7 a).<sup>[18]</sup> Die Freisetzung des durch eine kovalente



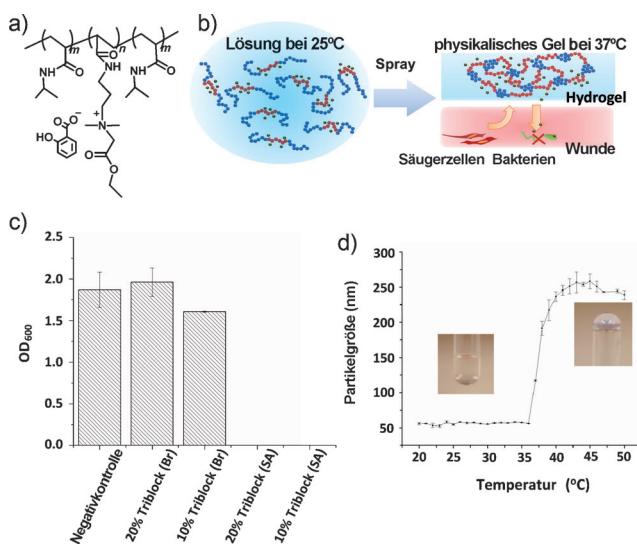
**Abbildung 7.** a) Ein zwitterionisches Hydrogel mit integrierter antimikrobieller Funktion. Für jedes durch Hydrolyse freigesetzte antimikrobielle Salicylatanion wird an der Hydrolysestelle ein Carboxylat anion gebildet, um den zwitterionischen Nonfouling-Zustand beizubehalten. b) Oberflächliche Bakterienadhäson auf den Hydrogelen pCBSA (antimikrobieller Wirkstoff als hydrolysierbare Abgangsgruppe), pCBMA-1-C2 (SA; antimikrobieller Wirkstoff als Gegenion) und pCBMA-2 (zwitterionisch ohne antimikrobielle Aktivität) sowie auf der Polystyrol-Kontrolloberfläche. Die vier Oberflächen wurden vor der Visualisierung einer Suspension des Bakteriums *S. epidermidis* in PBS ( $OD_{600} \approx 0.1$ ) bei Raumtemperatur und leichtem Schütteln für 2 Stunden ausgesetzt. c) Ergebnisse einer 16-stündigen Wachstumshemmung von pCBSA-, pCBMA-1-C2-(SA)- und pCBMA-2-Hydrogelen gegenüber *S. epidermidis*. Die optischen Dichten ( $OD_{600}$ ) der Medien sind ein Maß für die Dichte der Bakterienmasse.<sup>[18]</sup>

Bindung konjugierten Wirkstoffs war im Vergleich zur Gegenionenstrategie nicht länger empfindlich gegenüber der Ionenstärke der Umgebung und ist zusätzlich durch eine Anpassung des Bindungstyps und der benachbarten chemischen Gruppen genau einstellbar. Ein Vergleich mit den vorherigen Veröffentlichungen über die Wirkstofffreisetzung mithilfe von hydrolysierbaren Bindungen zeigte die eigenen spezifischen Merkmale dieses zwitterionischen polymeren Freisetzungssystems. Die anionische Salicylat-Abgangsgruppe war als ein Bestandteil der zwitterionischen Gruppe vorgesehen; dies ermöglichte eine hohe, durch Modifizierung im

Anschluss an die Polymerisation nicht erreichbare Wirkstoffbeladungskapazität sowie eine gute Nonfouling-Wirkung, die für ein zwitterionisches Polymer charakteristisch ist. Die Ladungen der kationischen quartären Ammoniumgruppen auf der Polymerseitenkette wurden zunächst durch die Salicylatanionen ausgeglichen. Im Verlauf der Zeit bildete sich an der Stelle der Hydrolyse für jedes freigesetzte Salicylat eine neue Carboxylatgruppe, sodass die Gesamtladungsneutralität erhalten blieb. Nach vollständiger Wirkstofffreisetzung lag ein chemisch stabiles und biologisch inertes zwitterionisches Material vor, das weiterhin für einen Langzeitschutz gegen Bakterienadhäsion sorgte. Wie diese Untersuchung zeigte, kann dieses zwitterionische Material einer nichtspezifischen Proteinadsorption und einem bakteriellen Fouling während des gesamten Verlaufs der Wirkstofffreisetzung entgegenwirken und gleichzeitig eine antimikrobielle Wirkung auf die Bakterienmasse ausüben (Abbildung 7b und c). Das allgemeine Konzept der „zwitterionischen Materialien mit eingebauten Funktionen“ könnte ebenfalls auf einen großen Bereich biologischer Anwendungen anpassen sein.

#### 5. Eine antimikrobielle Hydrogel-Wundauflage basierend auf zwitterionischen Polymerderivaten: Eine Fallstudie

Viele biologische Vorgänge sind komplex und mehrstufig und stellen somit hohe Ansprüche an die Entwicklung von Materialien für entsprechende biomedizinische Anwendungen. Zum Beispiel sollte ein ideales Wundaflagematerial a) antimikrobielle Aktivität aufweisen, um das Risiko von Wundinfektionen zu reduzieren; b) In-situ-Formungseigenschaften zur erleichterten Anwendung und besseren Anpassung an das geschädigte Gewebe haben; c) Blutplättchen erneuern können, um die Blutgerinnung zu unterstützen; und d) biokompatibel sein, um die Wundheilung und die Gewebeerneubildung zu erleichtern.<sup>[55,56]</sup> In einer Untersuchung zur technischen Entwicklung zwitterionischer Polymerderivate für Anwendungen als Wundaflage wurde ein ABA-Tri-blockcopolymer mithilfe der Kettenübertragungspolymerisation mit reversibler Addition und Fragmentierung („reversible addition/fragmentation chain-transfer polymerization“, RAFT) hergestellt (Abbildung 8a).<sup>[28]</sup> Der innere B-Block bestand aus kationischen Carboxybetainethylestern mit antimikrobiellem Salicylat als Gegenion. Nach der Anwendung konnte das antimikrobielle Salicylat-Ion freigesetzt werden, um die Wundstelle zu sterilisieren, während die kationische Polymermatrix dazu vorgesehen war, die Blutgerinnung durch die Anziehung negativ geladener Blutplättchen zu fördern. Durch die Abgabe antimikrobieller Wirkstoffe als Gegenionen wurde eine vollständige Hemmung des Bakterienwachstums über 16 Stunden erzielt (Abbildung 8b und c). Der positiv geladene Ethylesterblock kann dann in den späteren Phasen des Wundheilungsprozesses in seine biokompatible und nichtklebende zwitterionische Form hydrolysiert werden. Die beiden flankierenden A-Blocks bestanden aus thermoresponsivem Poly(*N*-isopropylacrylamid) (PNIPAM), dessen untere kritische Lösungstemperatur ge-



**Abbildung 8.** a) Chemische Struktur einer antimikrobiellen ABA-Triblockcopolymer-Wundauflage: Die zentralen Estervorstufen der Zwitterionen tragen antimikrobielle Gegenionen, während die flankierenden Blöcke aus thermoresponsiven pNIPAM-Polymeren bestehen. b) In-situ-Bildung einer antimikrobiellen Hydrogel-Wundauflage an der Wundstelle. c) Hemmung des Bakterienwachstums durch Hydrogele bei unterschiedlichen Konzentrationen und Gegenionen (SA oder Br). Die OD<sub>600</sub>-Messwerte der *E. coli*-K12-Medien dienten zur Bestimmung der Dichte der Bakterienmasse. d) Das temperaturabhängige Phasenübergangsverhalten einer Triblockcopolymerlösung, gemessen mithilfe von dynamischer Lichtstreuung (DLS). Ebenfalls eingefügt sind charakteristische Bilder der Polymerlösung vor und nach der Gelierung.<sup>[28]</sup>

ringfügig unter der physiologischen Körpertemperatur des Menschen liegt.<sup>[57]</sup> Nach dem Auftragen der Polymerlösung an der Wundstelle führte die Temperaturerhöhung daher schnell zu einem Phasenübergang des PNIPAM, das als hydrophobe Vernetzungsstelle dient und die flüssige Polymerlösung in ein mechanisch nützliches physikalisches Gel verwandelt (Abbildung 8d). Wie diese Arbeit unterstreicht, sind das Moleküldesign und die chemische Manipulation von zwitterionischen Polymeren und ihren Derivaten dazu geeignet, Nonfouling-, antimikrobielle sowie weitere biologische Funktionen zusammenzuführen, um sie auf komplexe technische und biomedizinische Anwendungen auszurichten.

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

Dieser Kurzaufsatz stellt anhand verschiedener ausgewählter Beispiele mikrobiologische Anwendungen von zwitterionischen Polymeren und ihren Derivaten vor. Die Entwicklung von zwitterionischen Materialien ist weit fortgeschritten, ausgehend von einer einfachen Nonfouling-Beschichtung bis hin zu einem funktionell schaltbaren Polymer, einer speziellen Plattform zur Freisetzung antimikrobieller Wirkstoffe und zu einem Mehrkomponentensystem, dessen Design auf die verschiedenartigen Aspekte eines komplexen biologischen Szenarios ausgerichtet ist. Diese flexible Funktion der zwitterionischen Polymere und ihrer Derivate ist untrennbar von ihrer strukturellen Vielfalt, die sie zu einer

aussichtsreichen Ergänzung und Verbesserung für herkömmliche PEG-basierte Nonfouling-Polymeren macht.

Einige spezifische Gesichtspunkte der mikrobiologischen Forschung mit zwitterionischen Polymeren sind besonders erwähnenswert. Erstens gehören zwitterionische Polymere dank ihrer hohen Dichte an ionischen Gruppen zu den osmotisch aktivsten Makromolekülen.<sup>[58]</sup> Aus diesem Grund erzeugen zwitterionische polymerbasierte Materialien an der Grenzfläche naturgemäß einen Bereich mit hohem osmotischen Druck. Wie die Untersuchung von PEG-Polymeren als Modellsystem vor kurzem offenbarte, hat der durch ein Polymergerüst ausgeübte osmotische Druck einen tiefgreifenden Einfluss auf Bakterienphysiologie und Genexpressionsprofile, darunter die Erzeugung virulenter Faktoren.<sup>[59]</sup> Daher wird es von großem Interesse sein, sowohl die physiologische Antwort der Bakterien bei einer Wechselwirkung mit zwitterionischen Polymermaterialien als auch ihre Auswirkung auf das Design von Nonfouling-Materialien zu erforschen. Zweitens ist es wie in Abschnitt 4.2 gezeigt möglich, ein geladenes biologisch aktives Molekül als Bestandteil eines Zwitterions zu integrieren und eine hohe Wirkstoffbeladung zu erreichen, ohne die Polymereigenschaft zu opfern. Diese Entwicklungsstrategie ist leicht für viele antimikrobielle In-vivo-Wirkstofffreisetzungssysteme zu übernehmen, die als weiteren Vorteil ein Nonfouling des Bulk-Materials aufrechterhalten. Mehrere neuere Veröffentlichungen weisen drittens auf eine höhere bakterizide Aktivität<sup>[60]</sup> und eine geringere Toxizität für Säugetierzellen<sup>[61]</sup> von Polyphosphoniumpolymeren im Vergleich zu quartären Ammoniumpolymeren hin, sodass Phosphoniumpolymere für verschiedene biologische Anwendungen eine interessante Alternative zu ihren häufig eingesetzten Analoga sein könnten. Obwohl schließlich Polymermaterialien, darunter zwitterionische Polymere, in Hinblick auf ihre Fähigkeit zur Abwehr einer oberflächlichen Bakterienadhäsion ausführlich geprüft wurden, ist bisher nichts über ihre Wirksamkeit gegen Viren und bakterielle Endosporen veröffentlicht. Bakteriensporen und Viren haben ihre eigenen charakteristischen Oberflächenstrukturen und sind von großer biomedizinischer Bedeutung. Darauf gerichtete Forschungsarbeiten werden zweifellos dazu beitragen, die mikrobiologischen Anwendungen von zwitterionischen Polymeren und ihren Derivaten zu erweitern.

Diese Arbeit wurde von der Defense Threat Reduction Agency (HDTRA1-10-1-0074) und dem Office of Naval Research (N000141210441) unterstützt.

Eingegangen am 12. Mai 2013,  
veränderte Fassung am 18. Juli 2013  
Online veröffentlicht am 20. Januar 2014

Übersetzt von Dr. Klaus Rabe, Kiel

- [1] A. B. Lowe, C. L. McCormick, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4177–4190.
- [2] A. V. Dobrynin, R. H. Colby, M. Rubinstein, *J. Polym. Sci. B* **2004**, *42*, 3513–3538.
- [3] S. Kudaibergenov, W. Jaeger, A. Laschewsky, *Supramolecular Polymers Polymeric Betaine Oligomers*, Springer, Berlin, **2006**, S. 157–224.

- [4] I. Banerjee, R. C. Pangule, R. S. Kane, *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 690–718.
- [5] C. M. Kirschner, A. B. Brennan, *Annu. Rev. Mater. Res.* **2012**, *42*, 211–229.
- [6] E. E. Kathmann, L. A. White, C. L. McCormick, *Polymer* **1997**, *38*, 879–886.
- [7] C. Viklund, K. Irgum, *Macromolecules* **2000**, *33*, 2539–2544.
- [8] K. Ishihara, H. Nomura, T. Mihara, K. Kurita, Y. Iwasaki, N. Nakabayashi, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *39*, 323–330.
- [9] T. A. Wielema, J. B. F. N. Engberts, *Eur. Polym. J.* **1987**, *23*, 947–950.
- [10] M. Miura, F. Akutsu, F. Kunimoto, H. Ito, K. Nagakubo, *Macromol. Rapid Commun.* **1984**, *5*, 109–113.
- [11] W. Jaeger, U. Wendler, A. Lieske, J. Bohrisch, *Langmuir* **1999**, *15*, 4026–4032.
- [12] J. C. Salamone, W. Volksen, S. C. Israel, A. P. Olson, D. C. Raia, *Polymer* **1977**, *18*, 1058–1062.
- [13] Q. Shao, S. Jiang, *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 1357–1366.
- [14] M. T. Bernards, G. Cheng, Z. Zhang, S. Chen, S. Jiang, *Macromolecules* **2008**, *41*, 4216–4219.
- [15] G. Cheng, H. Xue, Z. Zhang, S. Chen, S. Jiang, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8963–8966; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8831–8834.
- [16] Z. Cao, L. Mi, J. Mendiola, J.-R. Ella-Menyé, L. Zhang, H. Xue, S. Jiang, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 2656–2659; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2602–2605; Z. Cao, N. Brault, H. Xue, A. Keefe, S. Jiang, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 6226–6228; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6102–6104.
- [17] B. Cao, Q. Tang, L. Li, J. Humble, H. Wu, L. Liu, G. Cheng, *Adv. Healthc. Mater.* **2013**, *2*, 1096–1102.
- [18] L. Mi, S. Jiang, *Biomaterials* **2012**, *33*, 8928–8933.
- [19] R. Konradi, C. Acikgoz, M. Textor, *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*, 1663–1676.
- [20] R. Luxenhofer, C. Fetsch, A. Grossmann, *J. Polym. Sci. Part A* **2013**, *51*, 2731–2752.
- [21] S. Chen, S. Jiang, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 335–338.
- [22] S. Jiang, Z. Cao, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 920–932.
- [23] G. Cheng, Z. Zhang, S. Chen, J. D. Bryers, S. Jiang, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4192–4199.
- [24] G. Cheng, G. Li, H. Xue, S. Chen, J. D. Bryers, S. Jiang, *Biomaterials* **2009**, *30*, 5234–5240.
- [25] L. Mi, M. M. Giarmarco, Q. Shao, S. Jiang, *Biomaterials* **2012**, *33*, 2001–2006.
- [26] L. Mi, M. T. Bernards, G. Cheng, Q. Yu, S. Jiang, *Biomaterials* **2010**, *31*, 2919–2925.
- [27] G. Cheng, H. Xue, G. Li, S. Jiang, *Langmuir* **2010**, *26*, 10425–10428.
- [28] L. Mi, H. Xue, Y. Li, S. Jiang, *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 4028–4034.
- [29] M. Mrksich, G. M. Whitesides, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1996**, *25*, 55–78.
- [30] E. Ostuni, R. G. Chapman, M. N. Liang, G. Meluleni, G. Pier, D. E. Ingber, G. M. Whitesides, *Langmuir* **2001**, *17*, 6336–6343.
- [31] R. G. Chapman, E. Ostuni, L. Yan, G. M. Whitesides, *Langmuir* **2000**, *16*, 6927–6936.
- [32] Y. H. An, R. J. Friedman, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *43*, 338–348.
- [33] N. P. Boks, W. Norde, H. C. van der Mei, H. J. Busscher, *Microbiology* **2008**, *154*, 3122–3133.
- [34] J. F. Wilkinson, *Bacteriol. Rev.* **1958**, *22*, 46–73.
- [35] L. R. Evans, A. Linker, *J. Bacteriol.* **1973**, *116*, 915–924.
- [36] A. Boyd, A. M. Chakrabarty, *J. Ind. Microbiol.* **1995**, *15*, 162–168.
- [37] K. D. Collins, *Methods* **2004**, *34*, 300–311.
- [38] K. D. Collins, *Biophys. Chem.* **2006**, *119*, 271–281.
- [39] W. Kunz, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2010**, *15*, 34–39.
- [40] J. G. Weers, J. F. Rathman, F. U. Axe, C. A. Crichtlow, L. D. Folland, D. R. Scheuing, R. J. Wiersema, A. G. Zielske, *Langmuir* **1991**, *7*, 854–867.
- [41] L. Zhang, Z. Cao, T. Bai, L. Carr, J.-R. Ella-Menyé, C. Irvin, B. D. Ratner, S. Jiang, *Nat. Biotechnol.* **2013**, *31*, 553–556.
- [42] D. E. Nivens, D. E. Ohman, J. Williams, M. J. Franklin, *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 1047–1057.
- [43] C.-J. Huang, L. Mi, S. Jiang, *Biomaterials* **2012**, *33*, 3626–3631.
- [44] C. S. Gudipati, J. A. Finlay, J. A. Callow, M. E. Callow, K. L. Wooley, *Langmuir* **2005**, *21*, 3044–3053.
- [45] Y. Nagasaki, *Polym. J.* **2011**, *43*, 949–958.
- [46] H. Ma, J. Hyun, P. Stiller, A. Chilkoti, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 338–341.
- [47] W. J. Yang, T. Cai, K. Neoh, E. Kang, S. L. Teo, D. Rittschof, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 2041–2051.
- [48] B. Gottenbos, H. C. van der Mei, F. Klatter, P. Nieuwenhuis, H. J. Busscher, *Biomaterials* **2002**, *23*, 1417–1423.
- [49] A. J. Isquith, E. A. Abbott, P. A. Walters, *Appl. Microbiol.* **1972**, *24*, 859–863.
- [50] K. Lienkamp, A. E. Madkour, K. Kumar, K. Nüsslein, G. N. Tew, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11715–11722.
- [51] P. Zou, W. Hartleb, K. Lienkamp, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 19579–19589.
- [52] J.-Y. Wach, S. Bonazzi, K. Gademann, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 7232–7235; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7123–7126.
- [53] T. R. Hoare, D. S. Kohane, *Polymer* **2008**, *49*, 1993–2007.
- [54] R. Hu, G. Li, Y. Jiang, Y. Zhang, J. Zou, L. Wang, X. Zhang, *Langmuir* **2013**, *29*, 3773–3779.
- [55] J. J. Hutchinson, *Am. J. Infect. Control.* **1990**, *18*, 257–268.
- [56] G. B. Schneider, A. English, M. Abraham, R. Zaharias, C. Stanford, J. Keller, *Biomaterials* **2004**, *25*, 3023–3028.
- [57] S. Fujishige, K. Kubota, I. Ando, *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 3311–3313.
- [58] A. Katchalsky, *Biophys. J.* **1964**, *4*, 9–41.
- [59] S. M. Rubinstein, I. Kolodkin-Gal, A. McLoon, L. Chai, R. Kolter, R. Losick, D. A. Weitz, *Mol. Microbiol.* **2012**, *86*, 426–436.
- [60] A. Kanazawa, T. Ikeda, T. Endo, *J. Appl. Polym. Sci.* **1994**, *53*, 1245–1249.
- [61] C. Ornelas-Megiatto, P. R. Wich, J. M. J. Frechet, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 1902–1905.