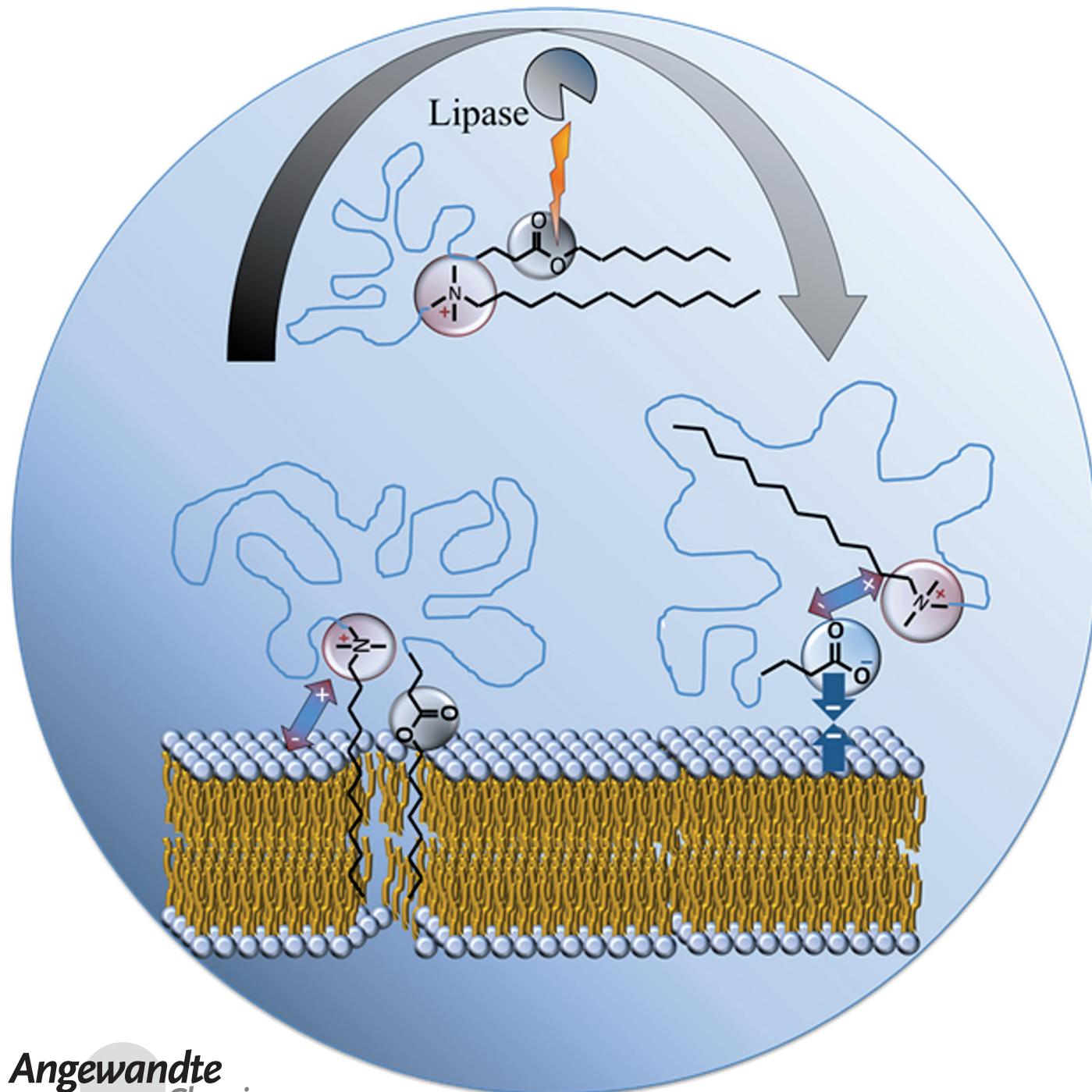




Biologisch schaltbare antimikrobielle Poly(2-methyloxazoline) auf Grundlage des Satellitengruppeneffekts**

Christian Krumm, Simon Harmuth, Montasser Hijazi, Britta Neugebauer,
Anne-Larissa Kampmann, Helma Geltenpoth, Albert Sickmann und
Joerg C. Tiller*



Abstract: Ein neues Konzept wird demonstriert, bei dem die Abspaltung einer einzelnen funktionellen Gruppe die Wirksamkeit eines antimikrobiellen bioziden Polymers aufhebt. Grundlage hierfür ist der Satellitengruppeneffekt, bei dem sich zwei Endgruppen an demselben Polymer gegenseitig beeinflussen. Eine biozide quartäre Ammoniumgruppe wurde über ein Poly(2-methyloxazolin) mit einer Ester-Satellitengruppe gekuppelt. Dabei zeigt ein Polymer mit einer Octyl-3-propanoat-Satellitengruppe eine sehr gute antimikrobielle Aktivität gegen Gram-positive Bakterienstämme. Zudem weist es eine niedrige Hämotoxizität auf, was sich im hohen Verhältnis $HC_{50}/MIC = 120$ für *S. aureus* widerspiegelt. Die Hydrolyse der Ester-Satellitengruppe, die über Lipase-Katalyse erfolgen kann, bewirkt eine 30-fache Abnahme der antimikrobiellen Aktivität des Polymers. Über den Satellitengruppeneffekt ist es damit tatsächlich möglich, ein wirksames biozides Polymer unter natürlichen Bedingungen zu deaktivieren.

Eines der bedrohlichsten Probleme der globalisierten Gesellschaft sind Antibiotika-resistente Mikroorganismen.^[1] Zur Bekämpfung pathogener Keime werden enorme Mengen an Desinfektionsmitteln eingesetzt – allerdings werden diese Waffen zunehmend stumpfer, da sie die Bildung von Antibiotika-resistenten Mikroorganismen fördern. Zusätzlich werden Biozide in der Umwelt aufkonzentriert, was zu nicht vorhersehbaren Langzeitproblemen führt,^[2,3a] die entweder durch die Biozide selbst oder durch ihre Abbauprodukte hervorgerufen werden.^[3] Das ideale moderne Biozid würde Krankheitserreger abtöten und danach einfach verschwinden.^[4a] Dem am nächsten kommt ein biologisch abbaubares Biozid, das in eine nicht aktive und nicht toxische Form überführt werden kann. Bis dato gibt es nur wenige und nicht vollständig akzeptierte Beispiele für Biozide, die abbaubar sind.^[4]

Eine vielversprechende Alternative zu niedermolekularen Antibiotika und Desinfektionsmitteln sind antimikrobi-

elle Polymere.^[5] Solche Makromoleküle können in folgende drei Kategorien eingeteilt werden: Biozid-freisetzende Polymere, polymerisierte Biozide und biozide Polymere.^[6] Unter den ersten beiden Klassen finden sich wenige Beispiele, die bioabbaubar sind und Biozide bei Bedarf freisetzen.^[7] Im Unterschied dazu wirken biozide Polymere als einzelne Moleküle, die die Zellmembran von Mikroorganismen destabilisieren und letztlich zerstören können, was zur Zellyse und zum Zelltod der Mikroorganismen führt.^[6,8a,b] Dadurch können Antibiotika-resistente Bakterien wie Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), ohne Unterschied zu nicht resistentem *S. aureus*, abgetötet werden.^[8c] Die Struktur biozider Polymere, die aus nicht-bioziden Wiederholungseinheiten bestehen, ist von besonderem Interesse, weil ein voller Abbau solcher Polymere zwangsläufig zu inaktiven Komponenten führt.^[8d,e,13] Einige Beispiele möglicher bioabbaubarer biozider Polymere wurden kürzlich beschrieben.^[9] Nur eines von diesen wurde tatsächlich hinsichtlich des Abbaus untersucht und zeigte eine Desaktivierung unter nicht physiologischen, stark basischen Bedingungen.^[10] Eine Alternative zu den oben aufgeführten Polymeren sind Biozide, die als funktionelle Endgruppe an ein nicht-aktives Polymer gekuppelt sind.^[8b,11] In Kombination mit einer am anderen Kettende lokalisierten, nicht-antimikrobiell wirksamen Endgruppe, bezeichnet als „Satellitengruppe“ (SG), kann die antimikrobielle Aktivität solcher Polymere über mehrere Größenordnungen hinweg kontrolliert werden.^[8a] Dies eröffnet die Möglichkeit, ein antimikrobielles Polymer so zu designen, dass es durch die Modifizierung einer einzigen Gruppe ohne Freisetzung eines Biozides deaktiviert wird. Die grundlegende Idee beruht darauf, dass geeignete hydrophobe SGs das eigentliche Biozid am anderen Ende des Polymers aktivieren, wohingegen nicht basische hydrophile Gruppen es deaktivieren. Aus diesem Grund haben wir uns dazu entschlossen, eine Esterfunktion als SG einzusetzen. Es wird angenommen, dass der aktivierende Effekt der Ester-SG durch Hydrolyse der Esterbindung beispielweise mithilfe enzymatischer Katalyse von allgegenwärtigen Lipasen aufgehoben werden kann und damit eine Desaktivierung des gesamten Polymers bewirkt wird (Abbildung 1).

Die Ester-SG wurde durch ein funktionelles Initiatormolekül am Polymerende eingeführt. Dieses wurde durch Veresterung von 3-Brompropionsäure und dem jeweiligen Alkohol,^[12] gefolgt von einem Austausch des Bromids gegen ein Iodid in einer Finkelsteinreaktion mit NaI, hergestellt. Da der Aktivitätseinfluss der hydrophoben SG nicht einfach vorausgesagt werden kann, wurde eine Reihe von Esterinitiatoren mit unterschiedlichen Alkylresten von Ethyl bis Tetradecyl synthetisiert (Tabelle S1 der Hintergrundinformationen).

Die Polymere wurden durch lebende kationische ringöffnende Polymerisation von 2-Methyl-2-oxazolin (MOx) hergestellt und mit der bekannten bioziden quartären *N,N*-Dimethyldodecylammonium(DDA)-Endgruppe terminiert. Alle Polymere zeigen laut ¹H-NMR-Spektroskopie einen Funktionalitätsgrad von mehr als 86 % bezüglich SG und biozider DDA-Gruppe. Zunächst wurde untersucht, ob die Ester-SG selektiv hydrolysierbar ist. Dafür wurde das mit Octyl-3-iodpropanoat (OP) gestartete OP-PMOx-DDA mit

[*] Dipl.-Ing. C. Krumm, Dipl.-Chem. S. Harmuth, M. Hijazi, B. Neugebauer, A.-L. Kampmann, Prof. Dr. J. C. Tiller
Biomaterialien und Polymerwissenschaften
Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen, TU Dortmund
Emil-Figge-Straße 66, 44227 Dortmund (Deutschland)
E-Mail: joerg.tiller@udo.edu

H. Geltenpoth, Prof. Dr. A. Sickmann
Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V.
Otto Hahn-Straße 6b, 44227 Dortmund (Deutschland)

[**] Wir danken T. Moll für die Molmassenbestimmung der Polymere durch Gelpermeationschromatographie und Dr. W. Hiller für die Durchführung der ¹H-NMR-spektroskopischen Messungen. Darüber hinaus möchten wir A. Breitkopf, P. Bolduan und S. Selvarasa für ihre Assistenz im Labor und bei den antimikrobiellen Tests danken. Alle vorgestellten Polymere wurden mit einem CEM-Discover-Mikrowellenreaktor hergestellt, der freundlicherweise von CEM für die Ausbildung von Studenten zur Verfügung gestellt wurde. Diese Arbeit wurde unterstützt vom Ministerium für Innovation, Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen durch Beihilfen des BMBF. Zusätzlich danken wir der Metzgerei Niemann in Dortmund für die Bereitstellung von frischem Schweineblut.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201311150> zu finden.

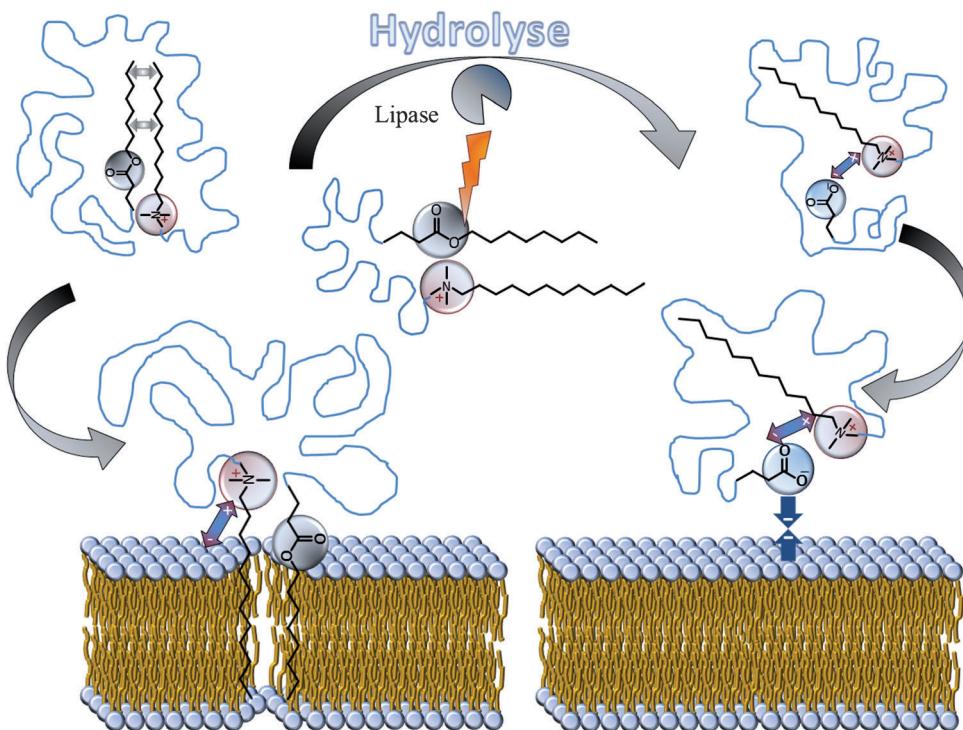


Abbildung 1. Membranaktives, biozides PMOx, gesteuert durch eine spaltbare Satellitengruppe (SG) vor und nach Hydrolyse.

0.015 M wässriger NaOH bei 50°C über Nacht gerührt. Ein Kontrollexperiment wurde mit einem Octylbromid-gestarteten PMOx-DDA (O-PMOx-DDA) durchgeführt, das bereits in Vorarbeiten beschrieben worden war.^[8a] Anhand von ¹H-NMR-spektroskopischen Messungen konnte beobachtet werden, dass sich nur OP-PMOx-SG während der Prozedur chemisch verändert (Abbildung S3 der Hintergrundinformationen). Das ¹H-NMR-Spektrum des NaOH-behandelten OP-PMOx-DDA (Abbildung S3b der Hintergrundinformationen) zeigt, dass die charakteristischen Octylester signale nach basischer Verseifung verschwinden. Alle anderen Signale bleiben unbeeinflusst, was andeutet, dass keine weitere Modifizierung stattgefunden hat.

Da ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchungen nicht immer hinreichend genau die Struktur von Polymerketten charakterisieren, wurden zusätzliche Untersuchungen mit Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) von OP-PMOx-DDA vor und nach der Umsetzung mit NaOH durchgeführt. Die Messungen wurden mit Trifluoresigsäure/H₂O-Lösungen der Polymere durchgeführt. Wie Abbildung 2a zu entnehmen ist, bestätigt das Massenspektrum des Polymeren vor der Hydrolyse die Ergebnisse der ¹H-NMR-spektroskopischen Messung. Mehr als 93% der detektierten absoluten Massen entsprechen Makromolekülen, die sowohl die Ester-SG als auch die biozide DDA-Endgruppe und eine variable Zahl an MOx-Wiederholungseinheiten enthalten. Nach der Umsetzung mit NaOH sind alle Massenpeaks hin zu Molekulargewichten verschoben, die sich Polymeren mit einer COOH- statt der Octylester-Endgruppe zuordnen lassen. Dies lässt auf die vollständige Hydrolyse der Ester-SG ohne Abbau des Polymerrückgrates schließen. Die

erwartete Massenabnahme der Signale beträgt 112 g mol⁻¹, da die Octylgruppe 113 g mol⁻¹ aufweist und formal gegen ein Proton (1 g mol⁻¹) ausgetauscht wird. Alle anderen SG-PMOx-DDA-Polymeren wurden auf die gleiche Weise behandelt.

Als nächstes wurde die antimikrobielle Aktivität der Polymere gegen allgegenwärtige und klinisch relevante Bakterienstämme untersucht. Als Vertreter wurden das Gram-positive Bakterium *Staphylococcus aureus* und das Gram-negative Bakterium *Escherichia coli* ausgewählt. Die minimale inhibierende Konzentration (MIC) der Polymere wurde durch eine Faktor-zwei-Verdünnungsreihe mit einer Startkonzentration von 2500 µg mL⁻¹ bestimmt.

Wie Abbildung 2c (vordere Säulen) zu entnehmen

ist, hängt die biozide Wirksamkeit der Polymere stark von der Länge der Alkylkette der Ester-SG ab. In Übereinstimmung mit Vorarbeiten^[8a] führen SGs mit sehr kurzen Alkylketten wie der Ethylester, und solche mit sehr lange Alkylketten wie der Tetradecylester, zu einer verminderten antimikrobiellen Aktivität der Makromoleküle gegen *S. aureus*. Die höchste antimikrobielle Aktivität erzielte das Polymer mit einer Octylester-SG (Abbildung 2c). Zudem weist nur OP-PMOx-DDA eine Wirksamkeit gegen *E. coli* auf (Tabelle S2 der Hintergrundinformationen). Nach der Esterhydrolyse wurde die antibakterielle Wirkung der Polymere erneut untersucht, wobei sich zeigte, dass die Carbonsäure-SG die Aktivität der Polymere gegen beide Mikroorganismen praktisch auslöscht (Abbildung 2c, hintere Säulen). Diese Befunde verdeutlichen, dass es tatsächlich möglich ist, ein polymeres Biozid durch die Spaltung einer einzelnen Gruppe infolge des Satellitengruppeneffekts zu deaktivieren. In einem Kontrollexperiment mit O-PMOx-DDA, das keine spaltbaren SGs trägt, zeigte dieses Polymer den gleichen MIC-Wert vor und nach der Umsetzung mit NaOH. Da die Länge der PMOx-Kette nur einen kleinen Einfluss auf die molare Aktivität hat,^[13] wurde ein kürzeres OP-PMOx₃₀-DDA mit einer Kettenlänge von 30 Wiederholungseinheiten synthetisiert, weil hierfür eine größere massenbezogene antimikrobielle Aktivität erwartet wurde. Es hat sich gezeigt, dass dieses Polymer tatsächlich eine höhere Aktivität gegen *S. aureus* (40 µg mL⁻¹), aber nicht gegen *E. coli* (1250 µg mL⁻¹) aufweist. Zur weiteren Erforschung des antibakteriellen Wirkungsspektrums dieses Polymeren wurden zusätzliche Tests mit den Keimen *B. subtilis* (MIC 40 µg mL⁻¹), *S. epidermidis* (MIC 40 µg mL⁻¹), *S. mutans* (MIC 156 µg mL⁻¹) und

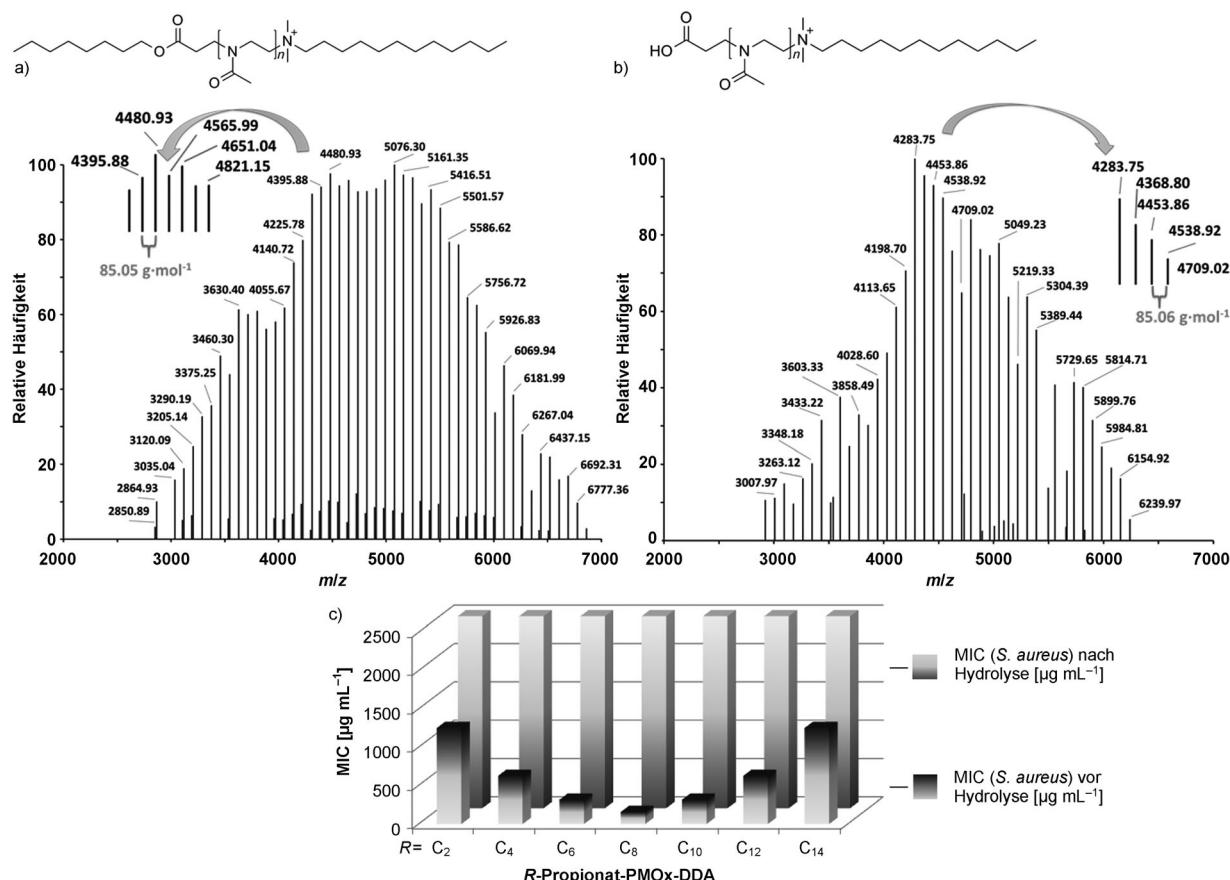


Abbildung 2. Elektrospray-Ionisations-Massenspektren von OP-PMOx-DDA a) vor und b) nach Verseifung. Die abgebildeten Signale repräsentieren die Massen auf Grundlage der Isotope mit den niedrigsten Molekulargewichten. c) Minimale inhibierende Konzentration (MIC) der antimikrobiellen telechelen PMOx vor und nach Hydrolyse.

P. aeruginosa (keine Aktivität) durchgeführt. Ganz offensichtlich ist die antimikrobielle Aktivität von OP-PMOx₃₀-DDA spezifisch für Gram-positive Bakterien. Die Hydrolyse der SG-Gruppe des Makromoleküls (Gewichtsverlust von etwa 3 Gew.-%) resultiert in einen MIC-Wert gegen *S. aureus* von 1250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, was andeutet, dass keine vollständige Desaktivierung durch die Esterspaltung erzielt wurde; allerdings entspricht der Aktivitätsverlust einer Abnahme um den Faktor 30. Dies bestätigt wiederum Befunde aus Vorarbeiten, in denen PMOx-DDA-Polymeren mit einer Decyl-SG hohe antimikrobielle Aktivität zeigten, wohingegen Polymere mit einer kürzeren Methyl-SG eine 30-fach geringere Wirksamkeit aufwiesen.^[8a] Untersuchungen der Wechselwirkungen der Polymeren mit Liposomen haben gezeigt, dass der Effekt der SG auf die Steuerung der Adhäsion der Polymeren an die Zellmembran und ihr Eindringen in selbe zurückzuführen ist.^[11] Die zusätzliche Carboxy-Endgruppe könnte den desaktivierenden Effekt kurzkettiger Alkyl-SGs aufgrund elektrostatischer Abstoßung von der negativ geladenen äußeren Oberfläche der bakteriellen Zytoplasmamembran noch verstärken (Abbildung 1).

Nachdem nun die selektive Spaltung der Esterbindung der Satellitengruppe des Ester-PMOx-DDA mithilfe von NaOH Erfolg gezeigt hatte, wurde untersucht, ob diese Hydrolyse ebenfalls unter natürlichen Bedingungen möglich ist. Typischerweise werden hydrophobe Ester in der Natur mit

allgegenwärtigen Lipasen hydrolysiert. Um die Lipase-katalysierte Hydrolyse der Ester-SG verfolgen zu können, wurde das Polymer OP-PMOx₃₀-DDA in phosphatgepuffertem D₂O (pH 7.0) bei 37°C mit Lipase gerührt und periodisch mit ¹H-NMR-Spektroskopie untersucht. Der Hydrolysegrad wurde auf Grundlage der Abnahme des Integrals des Signals bei 1.56 ppm berechnet. Die Abbaukurve in Abbildung 3 zeigt, dass eine Hydrolyse des Esters in Gegenwart von Lipase mit einem 50-proz. Umsatz nach zehn Tagen erzielt wird. Daraufhin wurde die Lipase-katalysierte Reaktion in wässrigem Phosphatpuffer durchgeführt und die antimikrobielle Aktivität dieser Mischung nach drei und sieben Tagen bestimmt. Ein Kontrollversuch der Lipase/Puffer-Lösung ohne Polymer zeigte keine Wirksamkeit gegen *S. aureus*. Die MIC-Werte (*S. aureus*) von OP-PMOx₃₀-DDA nach drei und sieben Tagen in der Lipaselösung betragen 156 bzw. 312 $\mu\text{g mL}^{-1}$. In einem Kontrollexperiment, bei dem das Polymer ohne Lipase in einem Phosphatpuffer inkubiert wurde, ergab sich keine Veränderung des MIC-Wertes des Polymeren. Dieser Befund belegt, dass Lipase OP-PMOx₃₀-DDA in Bezug auf seine antimikrobielle Aktivität desaktiviert.

Eine weitere wichtige Eigenschaft von bioziden Polymeren ist die Toxizität gegen eukaryotische Zellen (Zytotoxizität). Diese wird oft an roten Blutkörperchen gemessen und liefert den HC₅₀-Wert.^[14] Der Hämokompatibilitätstest wurde mit Erythrozyten aus Schweineblut durchgeführt und ergab

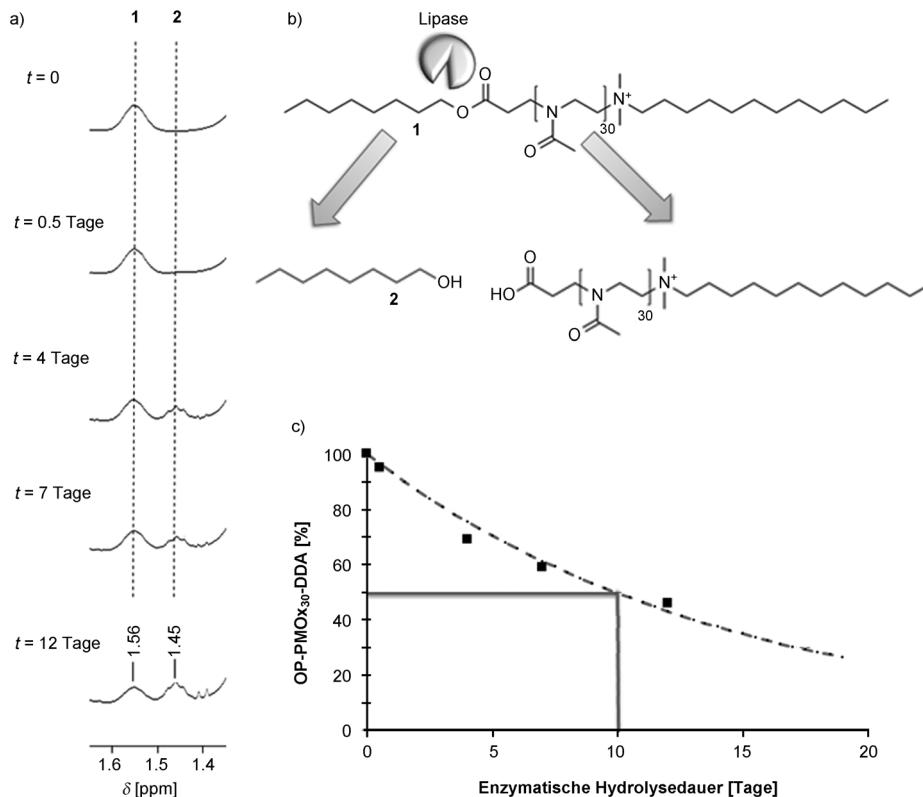


Abbildung 3. a) Graphische Zusammenfassung der durchgeföhrten ¹H-NMR-spektroskopischen Untersuchungen der Lipase-katalysierten Hydrolyse von *n*-Octanol in D₂O. b) Übersicht über die enzymkatalysierte Hydrolyse. c) Graphische Auftragung der ermittelten Lipase-katalysierten Endgruppenhydrolyse.

einen HC₅₀-Wert für OP-PMOx₃₀-DDA von (4730 ± 220) µg mL⁻¹. Damit steuert die Octylester-SG nicht nur die Aktivität des Polymers, sondern steigert zusätzlich dessen Hämoloskopabilität gegenüber der früher synthetisierter biozider PMOx-DDA-Derivate um eine Größenordnung.^[8b] Die Selektivität HC₅₀/MIC für *S. aureus* beträgt 120 ± 5, was vergleichbar mit den besten zurzeit beschriebenen hämoloskopischen und antimikrobiellen Polymeren ist.^[15]

Der HC₅₀-Wert des niedermolekularen Reaktionsproduktes aus der Umsetzung des Octyliniators und DDA (OP-DDA), also des Verknüpfungsproduktes der Satelliten- und bioziden Endgruppe, wurde zu 81 µg mL⁻¹ bestimmt, was einer 60-mal höheren Hämoloskopabilität als jener von OP-PMOx₃₀-DDA entspricht. Damit ist OP-DDA nicht nur sechsmal weniger aktiv gegen *S. aureus*, sondern auch deutlich zytotoxischer. Zusätzlich steigt der HC₅₀-Wert des hydrolysierten OP-PMOx₃₀-DDA auf einen Wert von 21 000 µg mL⁻¹. Dies bedeutet, dass die Hydrolyse der Satellitengruppe sowohl die antimikrobielle Aktivität gegen prokaryotische als auch die Zytotoxinität gegen eukaryotische Zellen herabsetzt.

Sowohl die Kontrolle der antimikrobiellen Aktivität als auch der Zytotoxinität eines Polymers sind mit einer bioschaltbaren Satellitengruppe möglich. Die enzymatisch katalysierte Hydrolyse einer einzelnen Esterfunktion von OP-PMOx₃₀-DDA mithilfe von Lipase überführt nach der Definition von Fortuniak et al.^[16] ein sehr gut wirksames in ein

sehr schwach wirksames biozides Polymer. Wir glauben, dass dieses Konzept auch auf weitere Biozide, wie Antibiotika oder auch andere bioaktive Wirkstoffe, anwendbar sein könnte.

Eingegangen am 23. Dezember 2013,
veränderte Fassung am 21. Januar
2014
Online veröffentlicht am 5. März 2014

Stichwörter: Antimikrobielle Substanzen · Bioabbaubarkeit · Biozide · Hämoloskopität · Polymere

- [1] a) J. Davies, D. Davies, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2010**, *74*, 417–433; b) H. F. Chambers, F. R. DeLeo, *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, *7*, 629–641; c) S. Viazis, F. Diez-Gonzalez, *Adv. Agron.* **2011**, *111*, 1–50.
- [2] M. P. Shaffer, D. V. Belsito, *Contact Dermatitis* **2000**, *43*, 150–156.
- [3] a) A. J. McBain, A. H. Rickard, P. Gilbert, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *29*, 326–330; b) P. Gilbert, L. E. Moore, *J. Appl. Microbiol.* **2005**, *99*, 703–715; c) J. S. Chapman, *Int. Biodegrad. Biodegrad.* **1998**, *41*, 241–245; d) E. Emmanuel, G. Keck, J.-M. Blanchard, P. Vermante, Y. Perrodin, *Environ. Int.* **2004**, *30*, 891–900.
- [4] a) P. S. Guiamet, S. G. Gómez De Saravia, *Lat. Am. Appl. Res.* **2005**, *35*, 295–300; b) B. N. Barman, *Lubr. Eng.* **1994**, *50*, 351–355; c) R. Neihof, C. Bailey, C. Patouillet, P. J. Hannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1979**, *8*, 355–368.
- [5] a) J. C. Tiller, *Adv. Polym. Sci.* **2011**, *240*, 193–217; b) A. M. Klibanov, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 2479; c) L. Timofeeva, N. Kleshcheva, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *89*, 475–492; d) E.-R. Kenawy, S. D. Worley, R. Broughton, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 1359–1384.
- [6] F. Siedenbiedel, J. C. Tiller, *Polymers (Basel Switz.)* **2012**, *4*, 46–71.
- [7] a) K. Kuroda, G. Caputo, *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* **2013**, *5*, 49–66; b) L. E. Rosenberg, L. Carbone, U. Römling, K. E. Uhrich, M. L. Chikindas, *Lett. Appl. Microbiol.* **2008**, *46*, 593–599; c) G. L. Woo, M. W. Mittelman, J. P. Santerre, *Biomaterials* **2000**, *21*, 1235–1246; d) G. Baier, A. Cavallaro, K. Vasilev, V. Mailänder, A. Musyanovich, K. Landfester, *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 1103–1112; e) F. Nederberg, Y. Zhang, J. P. K. Tan, K. Xu, H. Wang, Y. Chuan, S. Gao, X. D. Gou, K. Fukushima, L. Li, et al., *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 409–414; f) L. P. O’Malley, A. N. Collins, G. F. White, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, *33*, 677–684; g) L. C. Paslay, B. Abel, T. D. Brown, V. Koul, V. Choudhary, C. L. McCormick, S. E. Morgan, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 2472–2482; h) H. B. Kocer, I. Cerkez, S. D. Worley, R. M. Broughton, T. S. Huang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 3189–3194.
- [8] a) C. J. Waschinski, V. Herdes, F. Schueler, J. C. Tiller, *Macromol. Biosci.* **2005**, *5*, 149–156; b) C. P. Fik, C. Krumm, C. Muenning, T. I. Baur, U. Salz, T. Bock, J. C. Tiller, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 165–172; c) J. Lin, J. C. Tiller, S. B. Lee,

- K. Lewis, A. M. Klibanov, *Biotechnol. Lett.* **2002**, *24*, 801–805; d) R. Horvath, B. Kobzi, H. Keul, M. Moeller, E. Kiss, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 9722–9736; e) C. Mattheis, H. Wang, C. Meister, S. Agarwal, *Macromol. Biosci.* **2013**, *13*, 242–255.
- [9] a) Y. Qiao, C. Yang, D. J. Coady, Z. Y. Ong, J. L. Hedrick, Y.-Y. Yang, *Biomaterials* **2012**, *33*, 1146–1153; b) G. Cheng, H. Xite, Z. Zhang, S. F. Chen, S. Y. Jiang, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8963–8966; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8831–8834.
- [10] M. Mizutani, E. F. Palermo, L. M. Thoma, K. Satoh, M. Kamigaito, K. Kuroda, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 1554–1563.
- [11] C. J. Waschinski, S. Barnert, A. Theobald, R. Schubert, F. Kleinschmidt, A. Hoffmann, K. Saalwachter, J. C. Tiller, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1764–1771.
- [12] G. Bartoli, J. Boeglin, M. Bosco, M. Locatelli, M. Massaccesi, P. Melchiorre, L. Sambri, *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 33–38.
- [13] C. J. Waschinski, J. C. Tiller, *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 235–243.
- [14] K. Lienkamp, G. N. Tew, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11784–11800.
- [15] a) K. Lienkamp, A. E. Madkour, A. Musante, C. F. Nelson, K. Nüsslein, G. N. Tew, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9836–9843; b) Y. Ishitsuka, L. Arnt, J. Majewski, S. Frey, M. Ratajczek, K. Kjaer, G. N. Tew, K. Y. C. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13123–13129; c) E. F. Palermo, K. Kuroda, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 1416–1428; d) G. J. Gabriel, A. E. Madkour, J. M. Dabkowski, C. F. Nelson, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2980–2983.
- [16] W. Fortuniak, U. Mizerska, J. Chojnowski, T. Basinska, S. Slomkowski, M. M. Chehimi, A. Konopacka, K. Turecka, W. Werel, *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* **2011**, *21*, 576–589.