
Allgemeiner Teil

1. Flug

Nach Sevilla gibt es von vielen Städten in Deutschland Flüge. Ich habe mich für den Flug mit Ryanair von Frankfurt (Main) entschieden. Dieser war trotz allem nicht wirklich günstig, da ich in den Ferienmonaten geflogen bin und bei dieser Airline Gepäck immer extra kostet. Ein Visum oder ein Reisepass ist innerhalb der EU nicht notwendig. Am Flughafen in Sevilla gibt es einen Bus (EA) der einen für 4€ zu verschiedenen wichtigen Stationen in der Innenstadt bringt.

2. Unterkunft

Nachdem ich erfahren habe, dass Studentenwohnheime nur Semesterweise vermieten und gut 500€/Monat kosten, habe ich nach Alternativen gesucht. Ich habe dann schließlich über Aluni.net ein Zimmer in einer WG für 244€/Monat gemietet, welches Taggenau abgerechnet wurde. Allerdings kamen noch 70€ Vertragsgebühr und eine Vorauszahlung von 25€/Monat für Gas und Wasser hinzu. Da ich außerhalb der Büroöffnungszeiten in Sevilla ankam, musste ich eine „besondere Ankunft“ organisieren, was 25€ kostet. Das war allerdings sehr einfach und ich wurde von einer freundlichen Mitarbeiterin in der Wohnung begrüßt. Alles in allem habe ich für 6 Wochen 450-500€ bezahlt.

Aluni.net organisiert die Vermietung privater Wohnungen an Studierende. Um den studierenden Status zu überprüfen muss man auch Dokumente ins Portal hochladen. Die Unterlagen vom DAAD reichten hierfür aus. Zudem gibt es einen Standard, den jede Wohnung erfüllen muss. Hierzu zählt vor allem die Ausstattung vom Bügeleisen bis zum Teelöffel. Alle Wohnungen sind gut beschrieben auf der Webseite, mit vielen Fotos und so kann man sich vorab einen guten Eindruck machen.

3. Sprache

Die Sevillianos haben ihren ganz eigenen spanischen Akzent. Mir ist es zu Beginn schwer gefallen alles zu verstehen, jedoch war das schon nach zwei Wochen viel besser. Da wenige Menschen wirklich englisch Sprechen, würde ich sagen, dass es ganz ohne Spanischkenntnisse nicht geht. Selbst im Labor haben wir Spanisch gesprochen, da auch hier kaum jemand sicher in Englisch war.

4. Bus, Bahn und Fahrrad

Es gibt Monatstickets (35€) für die man ein Passfoto und eine Kopie des Ausweises braucht. Dann muss man an der Verkaufsstelle Prado de San Sebastian ein Formularausfüllen und bekommt sein Ticket. Die Alternative ist eine Karte, die man für einen Euro bei allen Tabakläden kaufen und auch aufladen kann. So zahlt man etwa 0.70€ für jede Fahrt. Es ist auf jeden Fall ratsam irgendeine Karte zu besorgen, da eine Fahrt 1.40€ kostet, wenn man in bar bezahlt.

Fahrradfahren ist in Sevilla auch sehr gut möglich, denn es gibt viele Radwege. Für 40€ kann man Städtische Leihfahräder ein Jahr lang nutzen. Achtung bei eigenen Fahrrädern – Sevilla ist bekannt dafür, dass Fahrräder geklaut werden, weshalb die Sevillianos ihre Fahrräder einfach mit in die Bar bringen.

5. Sehenswertes in Sevilla

Sevilla ist eine absolut sehenswerte Stadt und viele Touristen kommen hier her. Ich habe mir aus der deutschen Bücherei einen Reiseführer ausgeliehen und hatte so direkt einen Überblick über die Highlights. Neben den bekannten Dingen möchte ich gerne ein paar Tipps geben:

Im Sommer (Juni - Anfang September) gibt es die „Noches en los Jardines del Real Alcázar“. Das sind Konzerte, meist klassische Musik, aber auch Jazz und anderes, die im wunderschönen Garten des Palastes stattfinden. Eine Karte kostet 6€. Beginn 22.30. Allein für das Ambiente lohnt es sich da mal vorbei zu schauen. Es gibt auch andere Veranstaltungen am Abend.

Den Sonnenuntergang vom „Metropol Parasol“ aus ansehen. Von hier hat man eine tolle Sicht über die Stadt und den Sonnenuntergang. Es ist zu empfehlen etwa eine Stunde vorher anzukommen, da häufig eine Warteschlange am Eingang ist und der Sonnenuntergang nicht wartet. Auch die nächtlichen Lichter der Stadt sind schön zu beobachten. Die paar Euro, die der Eintritt kostet, kann man gegen ein Getränk in einigen Bars in der Nähe einlösen.

Montags sind viele der Sehenswürdigkeiten gratis. Eine Liste welche es sind und zu welchen Uhrzeiten der Einlass gratis ist, bekommt man an der Touristeninformation. Für Studenten bis einschließlich 25 Jahren lohnt sich der Eintritt für Alcazar jedoch mehr, wenn ein Studententicket online gebucht wird. Das ist ebenfalls recht günstig, aber man hat mehr Zeit für die Besichtigung als am Montag. Außerdem erspart man sich dadurch das Warten an der Kasse.

1. Hintergrund

Zu Nanopartikeln (NP) wurde in den letzten Jahrzehnten sehr viel geforscht, da sie uns durch ihre geringe Größe von etwa 100-300 nm neue Möglichkeiten bieten. Ein Forschungsfeld ist die Nanomedizin. Der Gedanke ist der, dass diese kleinen Partikel durch modifizierte Oberflächen zielgenau mit bestimmten Strukturen interagieren und so ein Medikament nur Lokal freigesetzt wird. Hierdurch könnte dann viel genauer therapiert und Nebenwirkungen reduziert werden (Danhier *et al.*, 2012).

NPs können aus verschiedenen Polymeren hergestellt werden. Der bekannteste, der auch von der FDA (Food and Drugs Authority) für die Applikation am Menschen zugelassen wurde, ist PLGA (Anderson and Shive, 1997). PLGA steht für Poly(lactic-co-glycolic acid) und zeichnet sich besonders durch seine gute Biokompatibilität aus. Der Polyester wird im Körper hydrolysiert und die daraus entstehenden Monomere, Laktat und Glykolat, werden im Krebszyklus verstoffwechselt, wodurch kaum Toxizität besteht (Sadat Tabatabaei Mirakabad *et al.*, 2014).

2. Projektablauf/Methodik

Die Arbeitsgruppe der Fakultät für Pharmazie der Universität für Sevilla in der ich gearbeitet habe möchte den Effekt von der simultanen Applikation zweier Thrombose Medikamente, die in unterschiedliche NPs eingeschlossen sind, untersuchen. Um dies zu können bedarf es zuerst einer genauen Charakterisierung der beiden NPs und einer Perfektionierung der Methodik.

Meine Aufgabe bestand darin NPs, die das Medikament Actilyse enthalten herzustellen, zu charakterisieren und durch das Peptid CREKA zu funktionalisieren. Dieses Peptid interagiert mit Fibrin und erhöht nachweislich die Penetrationsfähigkeit von NPs (Zhao *et al.*, 2015). Zudem habe ich die

Stabilität der NPs während der Lagerung in unterschiedlichen Konzentration in Trehaloselösung untersucht, denn es wurde gezeigt, dass ein optimales Zucker : Polymer Verhältnis die Stabilität der NPs gewährleistet, dies jedoch abhängig vom jeweiligen NP ist. Die Zucker bilden ein Netz um die NPs und schützen so vor Eiskristallen während des Gefrierprozesses (Abdelwahed *et al.*, 2006).

2.1 Synthese von NPs

Ich habe für die Herstellung die bekannte Methode der „double emulsion solvent evaporation“ angewandt (Astete and Sabliov, 2006; Ramalho and Pereira, 2016). Zunächst wurde die organische Phase, die aus Polymer und Lösungsmittel besteht hergestellt. In diese Phase wurde dann die erste wässrige Phase gegeben, die das Medikament enthielt. Im Ultraschallbad entstand aus diesen beiden Phasen die erste Emulsion. Diese wurde anschließend in eine zweite wässrige Lösung gegeben und mithilfe eines Dispersions-Aggregats wurde die zweite Emulsion hergestellt. Nach verdampfen des Lösungsmittels konnten die NPs durch zentrifugieren und waschen gewonnen werden.

Es wurden auch NPs ohne Medikament hergestellt. Hierfür wurde die erste wässrige Phase ohne Medikamenten Zugabe hergestellt.

2.2 Physiochemische Charakterisierung

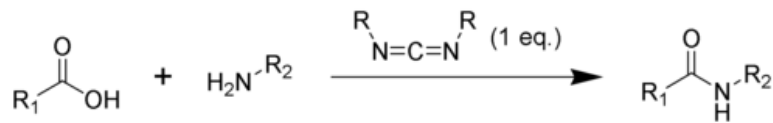
Die Partikelgröße wurde mit dem Malvern Zetasizer photometrisch gemessen. Mit dem selben Gerät wurde auch das Zeta Potential ermittelt. Dieses spiegelt das elektrokinetische Potential zwischen der Lösung und der Schicht um den Partikel herum wieder. Es gibt Auskunft über die Ladung auf der Partikel Oberfläche und wird genutzt um die Stabilität der Lösung zu definieren.

2.3 Bestimmung der Medikamenten Konzentration in NPs

Durch einen einfachen Assay zur Proteinkonzentrationsbestimmung (MicroBCA und BCA) wurde die Konzentration des Medikaments im Überstand nach der Zentrifugation bestimmt. So sollte rückgeschlossen werden wie viel Medikament in den NPs war.

2.4 Funktionalisierung der Oberfläche mit Peptid

Die Konjugation mit dem Peptid CREKA erfolgte durch die carbodiimide crosslinking Reaktion unter Einfluss von NHS, welches die Effizienz erhöht. Zunächst wurden die NPs mit EDC und NHS 4h inkubiert. So konnte in der anschließenden Inkubation über Nacht mit CREKA die eigentliche Konjugationsreaktion stattfinden. Hierbei reagiert die Carboxylgruppe des NPs mit der Aminogruppe des Peptids.



2.5 Stabilität der NPs während der Lagerung

Hergestellte NPs wurden charakterisiert und in verschiedenen konzentrierten Trehaloselösungen eingefroren. Anschließend wurde wieder eine Charakterisierung durchgeführt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Synthese von NPs

Die Herstellung der NPs funktionierte erwartungsgemäß. Insgesamt wurden fünf Chargen von NPs ohne Medikament (Blank) und vier Chargen von NPs mit Actilyse hergestellt (Actilyse).

3.2. Physiochemische Charakterisierung

Die NPs wiesen eine Größe von etwa 250 nm auf. Dabei ist auffällig, dass Blank NPs im Schnitt größere Durchmesser hatten als jene mit Actilyse (261.79 nm \pm 13.63 nm und 237.03 nm \pm 13.08 nm).

Das Zeta Potential war bei Blanks ähnlich wie bei NPs mit Actilyse (-15.23 mV \pm 5.55 mV und -16.13 mV \pm 2.31 mV).

3.3. Bestimmung der Medikamenten Konzentration in NPs

Die Medikamenten Konzentration im Überstand konnte nicht eindeutig bestimmt werden, obwohl der Protein Assay mehrfach mit verschiedenen Konzentrationen durchgeführt wurde. Bislang konnte keine optimale Methode ermittelt werden um die Konzentration korrekt zu bestimmen, da die Menge von Actilyse im Überstand sehr gering ist und so bereits kleine Messungenauigkeiten einen großen Einfluss auf die Genauigkeit haben.

3.4. Funktionalisierung der Oberfläche mit Peptid

Um die Funktionalisierungseffektivität genau zu bestimmen wird in der Regel mittels HPLC genau die Konzentration des Peptids bestimmt. Hierzu blieb mir allerdings während des kurzen Praktikums keine Zeit mehr. Trotzdem kann anhand der Größe der NPs und des Zeta Potentials erkannt werden, ob es zu einer Konjugationsreaktion kam. Die Partikel waren nach der Konjugation etwa 20 nm größer als zuvor und das Zeta Potential war um etwa 7 mV positiver (279.9 nm \pm 4.2 nm und 300.0 nm \pm 1.6 nm ; -14.1 mV \pm 0.4 mV und -7.8 mV \pm 0.04 mV).

Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass es eine erfolgreiche Konjugation gab, denn die NPs werden durch das Anheften eines Peptids größer und das Zeta Potential wird aufgrund weniger freier Carboxylgruppen positiver.

3.5. Stabilität der NPs während der Lagerung

Die NPs, die mit Trehalose im Verhältnis 1:3 (Trehalose : Polymer) eingefroren waren, hatten am ehesten die zuvor ermittelte Größe (Abb. 1). Die anderen, höheren Trehalose Konzentrationen, führten zu einer Verringerung der NPs Größe, während NPs ohne Trehalose deutlich größer waren.

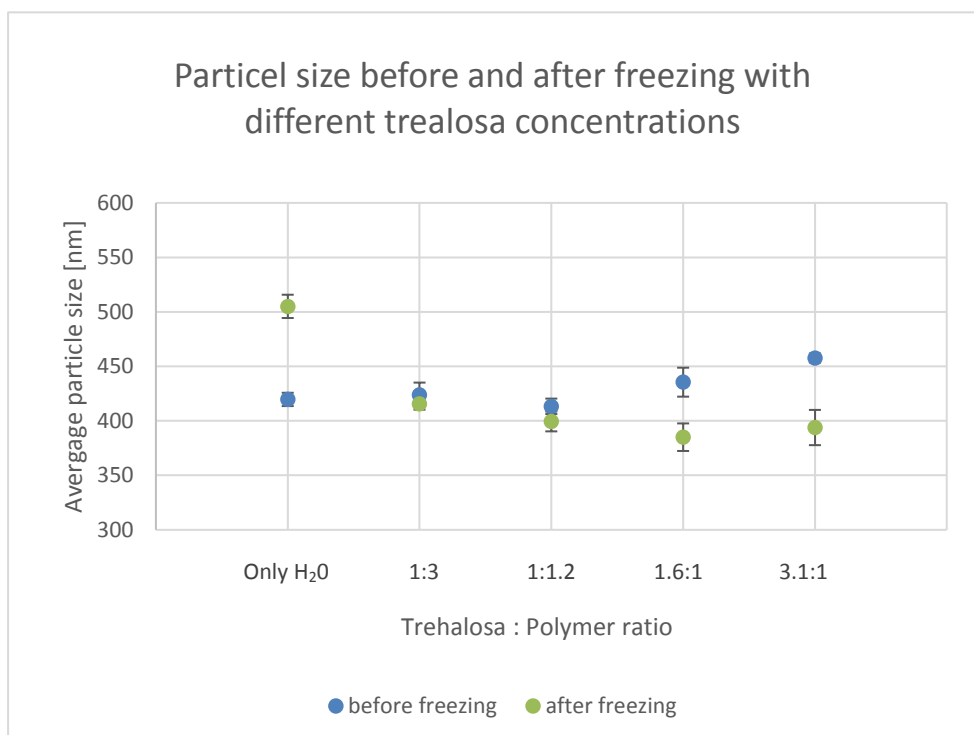


Abbildung 1: Partikel Größe vor und nach dem Gefrieren in verschiedenen Trehalose Konzentrationen

3. Referenzen

Abdelwahed, W. *et al.* (2006) 'Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations', *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier, 58(15), pp. 1688–1713. doi: 10.1016/J.ADDR.2006.09.017.

Anderson, J. M. and Shive, M. S. (1997) 'Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres', *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier, 28(1), pp. 5–24. doi: 10.1016/S0169-409X(97)00048-3.

Astete, C. E. and Sabliov, C. M. (2006) 'Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles', *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. Taylor & Francis Group, 17(3), pp. 247–289. doi: 10.1163/156856206775997322.

Danhier, F. *et al.* (2012) 'PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications', *Journal of Controlled Release*. Elsevier, 161(2), pp. 505–522. doi: 10.1016/J.JCONREL.2012.01.043.

Ramalho, M. J. and Pereira, M. C. (2016) 'Preparation and Characterization of Polymeric Nanoparticles: An Interdisciplinary Experiment', *Journal of Chemical Education*. American Chemical Society and Division of Chemical Education, Inc., 93(8), pp. 1446–1451. doi: 10.1021/acs.jchemed.5b00837.

Sadat Tabatabaei Mirakabad, F. *et al.* (2014) 'PLGA-based nanoparticles as cancer drug delivery systems.', *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 15(2), pp. 517–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24568455> (Accessed: 27 August 2018).

Zhao, J. *et al.* (2015) 'CREKA peptide-conjugated dendrimer nanoparticles for glioblastoma multiforme delivery', *Journal of Colloid and Interface Science*. Academic Press, 450, pp. 396–403. doi: 10.1016/J.JCIS.2015.03.019.