

# Abschlussbericht

## Roland Ernst Stiftung - Stipendium

Dimitri Eigel

**Forschungsarbeit an der Cardiff University,  
Welsh School of Pharmacy and Pharmaceutical Science (UK)**

**01.10.2018 – 31.03.2019**

## **Beschreibung und Resultate des durchgeführten Forschungsprojekts - Microscale Cryogels for Focal Therapeutic Delivery**

Biokompatible Gerüststrukturen, die durch Cryogelierung hergestellt werden, sind bereits im Fokus vieler Forschungsschwerpunkte und Forschungsarbeiten für die Anwendung im Bereich des Tissue Engineering und der regenerativen Medizin. Ihre große Oberfläche, die durch die makroporöse Struktur erzeugt wird, bietet vielseitige Möglichkeiten zur Beladung und kontrollierten Freisetzung von potenziellen therapeutisch aktiven Wirkstoffen. Um sie für minimal-invasive Anwendungen im Gehirn injizierbar zu machen, hat die Arbeitsgruppe von Dr. Ben Newland (Cardiff University) in einer früheren Studie biohybride mikroskalige Cryogelpartikel, sogenannte Microcarrier [1], auf Basis von Polyethylenglycol (PEG) und Heparin in Zusammenarbeit mit unserer Arbeitsgruppe am Leibniz Institut für Polymerforschung entwickelt. Dabei konnten der porösen Struktur durch den Einbau des Naturstoffs Heparin negativ geladene Sulfatgruppen hinzugefügt werden. Dadurch besitzen die Microcarrier die Eigenschaft, positiv geladene Moleküle, wie Wachstumsfaktoren, kontrolliert über elektrostatische Wechselwirkungen zu binden und freizusetzen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Microcarrier eine gute Biokompatibilität gegenüber Gehirngewebe aufweisen, sodass keine lokalen Nekrosen oder verstärkte Immunreaktionen verursacht wurden. Jedoch besitzt diese Art von Microcarrier eine hohe Polydispersität, die die Freisetzungsdosis zu jedem Zeitpunkt variieren kann, da das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen schwankt. Zusätzlich ist die Verwendung von tierischem Heparin kritisch zu betrachten, da die Zusammensetzung innerhalb jeder verwendeten Charge variiert, womit hohe Qualitätsunterschiede bei der resultierenden Mikrostruktur der Microcarrier nicht auszuschließen sind. Diese Erkenntnisse verdeutlichen die Notwendigkeit eine verbesserte Variante von Microcarriern zu entwickeln, die einheitliche Materialeigenschaften aufweisen. Das Ziel der Forschungsarbeit war es vollständig synthetische, mikroskalige und makroporöse Microcarrier auf Basis von PEG zuzüglich einer negativ geladenen Komponente (3-Sulfopropylacrylate (SPA)) zu entwickeln und kontrolliert herzustellen. Dabei wurde die Methode der tropfenbasierten Mikrofluidik an der Cardiff University in der Arbeitsgruppe von Dr. Ben Newland erlernt und angewendet. Bei dieser Methode wurde eine monomerhaltige Precursor-Lösung, ein sogenanntes Mikrogel-Vorstufenfluid, in einem Mikrokanal durch Flussfokussierung mit einer Trägerflüssigkeit, der kontinuierlichen Phase (Tensid und wasserunlösliches Medium), in monodisperse Tropfen dispergiert [2]. Die Flussfokussierung wurde durch Parameter wie Flussgeschwindigkeit, Viskosität und Grenzflächenspannung der Fluide bestimmt und konnte gut kontrolliert werden. Damit war es möglich monodisperse Precursor-Tropfen (PEG, SPA und Photoinitiator) mit genau einstellbaren Größen und Formen zu generieren. Anschließend wurden die Precursor-Lösung beinhaltenden Tropfen mittels radikalischer Photopolymerisation im eingefrorenen Zustand cryogeliert. Dies ermöglichte die Herstellung von porösen und sphärischen Netzwerken bei gleichzeitiger Beibehaltung ihrer Uniformität. Hieraus resultierend konnte eine hohe Reproduzierbarkeit und Qualität dieser neuartigen mikroskaligen Polymernetzwerke eingestellt werden. Eine Charakterisierung dieser Microcarrier hinsichtlich Größe, Form, Porengröße und Struktur erfolgte mittels Lichtmikroskopie, Rasterelektronenmikroskopie und konfokaler Laser Scanning Mikroskopie an fluoreszenzmarkierten Proben. Die neue Mikrostruktur der Microcarrier und damit Inkorporation der negativ geladenen Komponente SPA zur PEG Basisstruktur wurde mittels Raman Spektroskopie und FTIR-Spektroskopie untersucht und qualitativ bestätigt. Erste relevante Ergebnisse von Beladungs- und Freisetzungsversuchen, die innerhalb einer Modell-

Studie mit dem Zytostatikum Doxorubicin gesammelt wurden, zeigen, dass diese neuartigen Microcarrier den Wirkstoff in hohen Konzentrationen binden und über einen langen Zeitraum von über 14 Tagen freisetzen können. Weitere Beladungs- und Freisetzungsstudien bei denen Wachstumsfaktoren wie PDGF (Platelet-derived growth factor) oder SDF-1 (Stromal cell-derived factor 1) verwendet werden, um diese in applikationsrelevanten Bereichen wie der Verbesserung von Krankheitsmodellen von neurologischen Erkrankungen wie Multiple Sklerose zu nutzen, werden derzeit getestet und charakterisiert. Eine mögliche Publikation der bisher erwähnten Ergebnisse wird derzeit erarbeitet.

## **Allgemeiner Verlauf des Forschungsaufenthalts**

Von Oktober 2018 bis März 2019 konnte ich mit Hilfe des Stipendiums der Roland Ernst Stiftung sechs Monate lang an der Welsh School of Pharmacy and Pharmaceutical Science der Cardiff University in Großbritannien ein Forschungsprojekt in der Arbeitsgruppe von Dr. Ben Newland verfolgen und optimieren. Die Erfahrungen bei der Durchführung des Projekts und die Ergebnisse, die ich dabei gesammelt habe, sind für den weiteren Verlauf und die finale Erarbeitung meiner Dissertation essentiell. Während des Aufenthalts war es mir möglich, aus der Erfahrung von Dr. Newland hinsichtlich der Anwendung und Herstellung von synthetischen Polymeren und der Methodik der Mikrofluidik zu lernen und sogenannte Mikrogele herzustellen. Dabei konnte ich zusätzlich das Cryogelierungsverfahren, als Expertise aus unserer Arbeitsgruppe am Institut für Polymerforschung in Dresden in die Herstellung der Mikrogele einbinden. Außerdem wurde ich durch Dr. Ben Newland zusätzlich im Labor direkt bei der Durchführung und Optimierung von Beladungs- und Freisetzungsexperimenten von Wirkstoffen unterstützt. Die Ergebnisse wurden dann täglich persönlich mit ihm diskutiert, im Gegensatz zu den nur wöchentlich über die Ferne durchgeführten Videokonferenzen. Auch wurde ich von der gesamten Arbeitsgruppe von Dr. Newland und anderen Kollegen sehr freundlich begrüßt und mit sehr viel Hilfsbereitschaft in das neue Labor eingearbeitet. Dabei konnte ich auch einige Freundschaften schließen. Zusätzlich war ich während des Forschungsaufenthalts an der Cardiff University Direktstudent. Dies machte es mir möglich an speziellen Vorlesungsveranstaltungen für Doktoranden teilzunehmen. Zusätzlich befähigte der Studentenstatus an der aktiven Teilnahme in den viele verschiedenen Sport Clubs der Cardiff University Students' Union, was vor allem für den Ausgleich nach der Arbeit im Labor gesorgt hat. Weiterhin gibt es rund um die Universität Vereine und Clubs für nahezu jedes denkbare Hobby, die jegliche Art von Ausflügen organisieren (Wanderungen, Kletterausflug etc.). Innerhalb der Stadt Cardiff wohnte ich in einer Wohngemeinschaft, die ich einige Monate zuvor organisieren konnte. Die Miete und die dazugehörigen Lebenshaltungskosten waren deutlich höher als in Deutschland. Nach der Rückkehr nach Deutschland und der Präsentation meiner in Cardiff gesammelten Ergebnisse konnte ich viele neue Kooperationen innerhalb anderer Arbeitsgruppen und auf Konferenzen gewinnen, die mir bei der Etablierung neuer Anwendungsverfahren helfen. Ich bin sehr dankbar, dass ich die Chance erhalten habe viele neue Erfahrung in einer neuen Arbeitsgruppe zu sammeln und damit zeitgleich mein eigenes Projekt durch die enge Zusammenarbeit einer Kooperation voranzubringen.

Dimitri Eigel



## Referenzen

- 1.) Newland, B., et al., Tackling cell transplantation anoikis: an injectable, shape memory cryogel microcarrier platform material for stem cell and neuronal cell growth. *Small*, **2015**. 11 (38): p.5047-5053.
- 2.) Thiele, J., et al., DNA-functionalized hydrogels for confined membrane-free in vitro transcription/translation. *Lab on a Chip*, **2014**. 14 (15): p. 2651-2656.