

Zürcher Hochschule
für Angewandte Wissenschaften

zhaw

**Life Sciences und
Facility Management**

**ICBO Institut für Chemie
und Biologische Chemie**

**Bachelorarbeiten
2015**

Chemie



« Sie haben Freude
am Verbinden von
Theorie und Praxis.
Wir vermitteln Ihnen
das Verständnis für
die Entwicklung
und Analyse von
Substanzen und
Verfahren. »

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	5	Schirmer Willi	35
Die Diplomandinnen und Diplomanden		Schöb Larissa	36
Anderhub Alexander	6	Sigg Jérôme	37
Andres Luca	7	Spescha Tino	38
Bachmann Dominik	8	Stoob Lukas	39
Breitler Stefan	9	Süess Benjamin Elias	40
Fahrni Jonas	10	von Gunten Cédric Laurent	41
Fazzolari Sandro	11	Wenger Andreas	42
Fellmann Michael	12	Zambail Roman	43
Früh Patrick	13		
Galati Vanessa Maria	14	Institut für Chemie und Biologische Chemie	45
Gall Flavio	15	Perspektiven	46
Greber Luca	16	Porträt Masterabsolventin	48
Hofer Kevin	17	The Science and Art of Coffee (CAS)	50
Hutter Albert	18	Forschung und Entwicklung am ICBC	52
Iten Didier	19	Kompetenzzentrum TEDD	54
Kittelmann Tobias	20	Natural Products Drug Discovery	55
Kohli Nicole	21		
Kubli Stephan	22		
Lindenmann Urs	23		
Lüthy David	24		
Mehli Flavio	25		
Meister Manuela	26		
Moll Lorena	27		
Moll Tobias	28		
Mühlemann Samuel	29		
Niklaus Michel	30		
Pezzetta Louis	31		
Picenoni Armin	32		
Pölterl Alexander	33		
Rieder Simon Raphael	34		



Die Absolventinnen und Absolventen des Bachelorjahrgangs CH 12

Vorwort

Wädenswil, September 2015

Liebe Diplomandinnen, liebe Diplomanden

Es freut mich, Ihnen dieses Booklet mit Ihren gesammelten Bachelorarbeiten überreichen zu dürfen. Sie haben es geschafft! Mit Ihrer Bachelorarbeit haben Sie Ihr Chemiestudium erfolgreich abgeschlossen. Dazu gratuliere ich Ihnen ganz herzlich.

Während Ihres Chemiestudiums haben wir Ihnen in Wädenswil eine moderne Chemie vermittelt und Ihren Werkzeugkoffer mit zahlreichen und wertvollen Werkzeugen gefüllt. Zu unserer Freude haben Sie in Ihren Bachelorarbeiten davon auch regen Gebrauch gemacht, um konkrete Fragestellungen in Zusammenarbeit mit der chemischen Industrie zu beantworten.

Auch dieses Jahr bin ich wieder beeindruckt über die Vielfalt der Themen, die Sie bearbeitet haben – von biologischen bis zu industriell chemischen Fragestellungen ist alles abgedeckt. Auf den folgenden Seiten können Sie nun die Werke Ihrer Mitstudierenden entdecken.

Wir sind gespannt, welche Lebenswege Sie in dieser chemischen Landschaft einschlagen werden und wünschen Ihnen dabei alles Gute und viel Glück!

Über erneute Begegnungen und Zusammenarbeiten mit uns und unserem Institut freuen wir uns sehr.

Achim Ecker



Prof. Dr. Achim Ecker,
Studiengangleiter
Institut für Chemie und Biologische Chemie

Analyse der Konformationsenergien von Liganden in Protein-Ligand-Cokristallen



Diplomand	Alexander Anderhub
Korrektoren ZHAW	Dr. Stefan Höck, Prof. Dr. Rainer Riedl
Korrektor extern	Dr. Samuel Derrer, Eawag

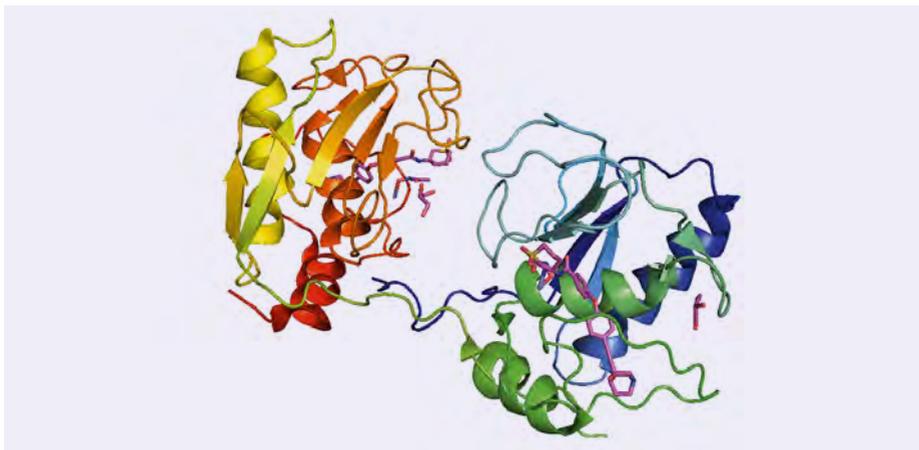
Mit der Proteindatenbank (PDB) und der daraus hervorgegangenen Ligandendatenbank MSDchem steht eine umfangreiche Datenquelle zur Verfügung, die im Rahmen dieser Arbeit genutzt werden sollte, um gezielt neue Inhibitoren für medizinisch relevante Enzyme zu designen.

Dazu wurden Ligandendaten mithilfe von Cheminformatik Toolkits analysiert. Die Energie der Konformation des Liganden im Protein-Komplex wurde berechnet und mit der energetisch günstigsten Konformation des freien Liganden verglichen. Somit sollten Liganden gefunden werden, die im Protein eine energetisch ungünstige Konformation einnehmen. Dieser ganze Prozess wurde im Rahmen eines Skripts automatisiert, um grosse Datenmengen bewältigen zu können.

Aus den generierten Daten wurden anschliessend Liganden ausgewählt, die an medizinisch interessante Proteine binden. Durch gezielte strukturelle Modifikation dieser Liganden sollte dann die Konformation, die im Protein vorliegt, begünstigt werden, um damit eine Steigerung der Affinität des Liganden zum Protein zu erreichen und eventuell auch die Selektivität zu verbessern.

Es konnten durch dieses Vorgehen letztendlich einige Strukturvorschläge für Liganden generiert werden, die zumindest in silico sehr vielversprechend wirken. Als «Proof of Concept» sollen nun einige dieser Liganden synthetisiert und am jeweiligen Protein getestet werden.

Visualisierung der PDB-Strukturdatei 4A7B, ein Protein mit verschiedenen kleineren organischen Liganden (violett eingefärbt).



Online Monitoring von Gasen in Bioprocessen



Diplomand	Luca Andres
Korrektor ZHAW	Dr. Christian Adlhart
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, EMPA

In dieser Arbeit wurde eine Membran Inlet Massenspektrometrie (MIMS) Applikation mit einer Teflon AF-2400® Membran für das Online Monitoring der Prozessgase einer biokatalytischen Methanisierung erstellt.

Unter Verwendung eines Membraninlets als Einlasssystem für das MS, bei welchem das Membranmaterial hochpermeabel für niedermolekulare (polare) Gase ist, sollte es ermöglicht werden, die Prozessgaskonzentrationen unter erschwerten Bedingungen (hohe Feuchtigkeit, Wassertropfen, umherfliegende Partikel) in einem Bioreaktor kontinuierlich zu bestimmen. Mit Hilfe des Teflon AF-2400® Membranmaterials (Abb. 1) wurden verschiedene Sondenkonstruktionen erstellt, welche bezüglich ihres Gasdurchlasses charakterisiert wurden. Durch den Einsatz des Membranmaterials tritt eine Selektion der hindurch permeierenden Matrixkomponenten auf. Grundlegende Eigenschaften des erstellten MIMS Messsystems wie Gasverbrauch, Nachweisgrenzen, Empfindlichkeit und Linearität des Messsignals wurden dabei aufgezeigt. Um eine Quantifizierung der Prozessgase mittels einer externen Kalibration

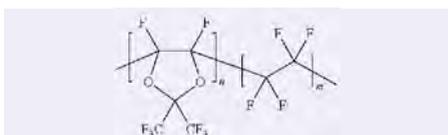


Abb. 1: Monomereinheit einer Teflon AF-2400® Membran mit $n = 0.9$ und $m = 0.1$; Membranmaterial der Membraninletsonde [1].

zu erreichen, mussten die Reaktionsbedingungen (Druck, Gaszusammensetzung) exakt simuliert werden.

Die Gegenüberstellung der Inletsonde mit einem offenen Kapillareinlass des MS-Systems zeigte das charakteristische Gasdurchlassverhalten des Membranmaterials auf. Die Bestimmung der Signalansprechzeiten über die Membranapplikation zeigte, dass eine Echtzeitüberwachung der Prozessgase mit einer Verzögerungszeit von ca. 20–40 s gewährleistet werden kann. Der Einsatz des erstellten Messsystems in einer Methanogenese (Batch, Labormassstab) deutete auf technische Probleme hin, welche bis zu einer Implementierung in einem (Pilot-)Reaktor verbessert werden müssen (Abb. 2 und 3).

[1] A.Yu. Alentiev, Yu. P. Yampolski, V.P. Shantarovic, S.M. Nemser, N.A. Platé. High transport parameters and free volume of perfluorodioxole copolymers; Journal of Membrane Science Vol. 126; p. 123-133; 1997



Abb. 2: Kontinuierliche Messung einer Methanogenese (Batch) mit einem MIMS System bei 55 °C.

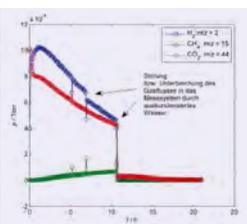


Abb. 3: MID Profil für H₂, CH₄ und CO₂ der Messung einer Methanogenese (Batch) mit einem Membraninlet und SEM Detektion.

Alternative Wege zur Synthese von Polyetheraminen



Diplomand	Dominik Bachmann
Korrektor ZHAW	Dr. Marc Bornand
Korrektor extern	Dr. Lukas Scherer, Radiometer Basel AG

Diese Arbeit befasste sich mit der Synthese von Polyetheraminen. Es mussten alternative Reaktionswege zur reduktiven Aminierung, welche im Allgemeinen unter hohen Drücken und Temperaturen durchgeführt werden, gesucht werden. Erfolgreich getestet wurde die Veresterung eines Polyethers mit einer Aminosäure und anschliessender Reduktion des Esters zum Ether mit einem Gesamtumsatz von 70.7 % (oben in Abb. 1). Zudem wurde der Polyether erfolgreich tosyliert (93.4 % Ausbeute im 100 g Ansatz), um anschliessend diverse nukleophile Substitutionen mit aminogenen Salzen durchzuführen (unten in Abb. 1).

Die besten Resultate wurden mit Natriumazid und Ethylendiamin erzielt. Das Azid konnte erfolgreich zum Amin reduziert werden, dabei wurde ein Gesamtumsatz von 71.2 % erzielt. Bei der Substitution mit Ethylendiamin wurde eine Ausbeute von 88.7 % erhalten (ohne Dimere), beziehungsweise 90.5 % (mit Dimeren). Durch die Substitutionen mit Natriumnitrit sowie Natriumcyanid konnten keine Umsätze zum Polyetheramin über 30 % erreicht werden.

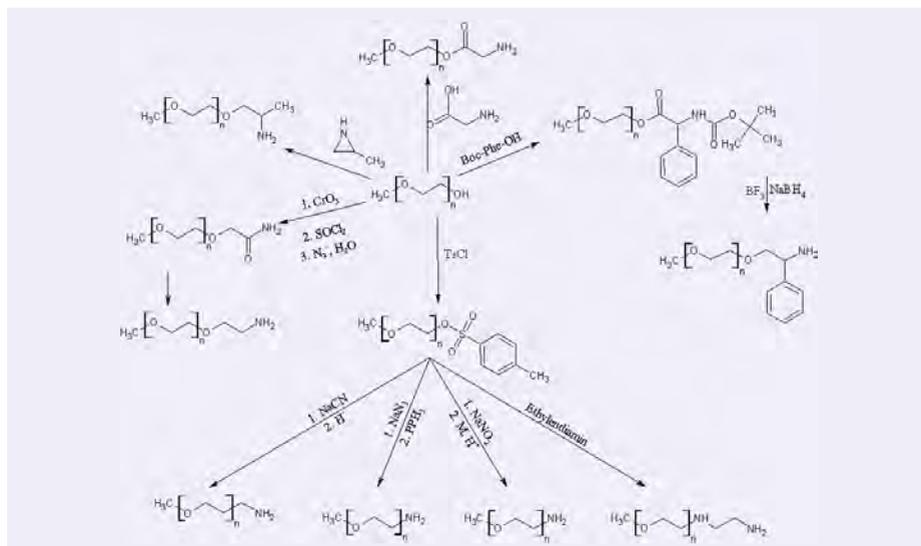


Abb. 1: Reaktionsübersicht.

Biotransformation von bromierten Flammschutzmitteln



Diplomand	Stefan Breitler
Korrektor ZHAW	Dr. Peter Lienemann
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, Metrohm AG
Betreuer extern	Dr. Norbert Heeb, EMPA

Um ein Entzünden von Kunststoffen zu hemmen, werden bei deren Herstellung Flammschutzmittel zugesetzt. Im Fall von Polystyrol waren Hexabromcyclododecane (HBCDs) gängige Additive. Bis zu 28000 t HBCDs wurden jährlich hergestellt, als 2013 dessen Produktion und Verwendung durch die Stockholmer Konvention untersagt wurde. HBCDs gelten heute als ubiquitär sowie bioakkumulativ und zählen zu den persistenten organischen Schadstoffen (POPs), welche durch grossräumige Verfrachtung weltweit auch in den entlegensten Gebieten nachweisbar sind. Sie können in Luft, Sedimenten, Tieren und sogar in menschlicher Muttermilch gefunden werden. Mit 6 Stereozentren und somit 16 Stereoisomeren zeigen sie eine komplexe Stereochemie

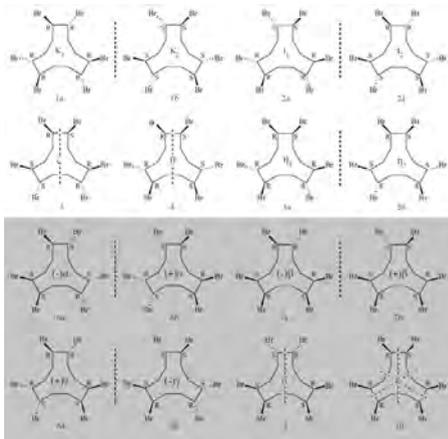


Abb. 1: Die 16 Stereoisomere der HBCDs. In technischen Produkten können nur 8 Isomere nachgewiesen werden (grau), 3 Enantiomerenpaare und zwei meso-Formen.

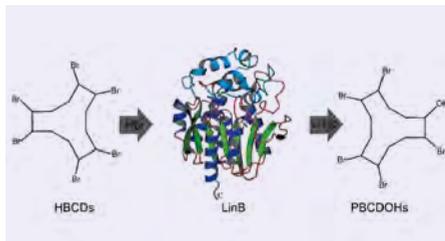


Abb. 2: Das Enzym LinB katalysiert die Substitution eines Halogenatoms, in diesem Fall Brom, durch eine Hydroxylgruppe.

(Abb. 1). Bei der Herstellung, aber auch nach deren Freisetzung, können sich HBCDs durch biotische und abiotische Einflüsse in eine Vielzahl von Abbauprodukten umwandeln. Solche Abbauprozesse wurden in dieser Arbeit mit LC-MS/MS untersucht. Da es sich bei HBCDs um ein Stereoisomeren-Gemisch handelt, erwies sich die Analytik infolge der Koelution und der isobaren Molekülmasse als komplex. Hauptthema waren Biotransformationsversuche mit dem Enzym LinB. Dieses Enzym, eine Haloalkan Dehalogenase aus dem Bakterium *Spingobium indicum* B90, katalysiert die Substitution von Halogenatomen durch Hydroxylgruppen (Abb.2). Zusätzlich wurden mit dem thermisch induzierten Abbau auch abiotische Transformationen untersucht.

Mesoporöses Silica für die Analyse der Kristallisation von Wasser in der Atmosphäre



Diplomand	Jonas Fahrni
Korrektor ZHAW	PD Dr. Dominik Brühwiler
Korrektorin extern	Susanne Widmer, Amt für Umwelt und Energie des Kantons St. Gallen

Das Ziel dieser Arbeit war es, monodisperses, sphärisches, mesoporöses Silica für meteorologische Untersuchungen zu synthetisieren (Projekt des Schweizerischen Nationalfonds Nr. 156581: Elucidating Ice Nucleation Mechanisms Relevant to the Atmosphere: Is deposition nucleation really immersion freezing in pores?). Die Partikel sollten einen Durchmesser von $0.5 \mu\text{m}$ und eine möglichst definierte Porengrösse (d_{PFT}) von 2.5, 3.5 oder 4.5 nm aufweisen. Die Synthese der «Mobil Composition of Matter 41» (MCM-41) Partikel wurde als Ausgangspunkt verwendet.

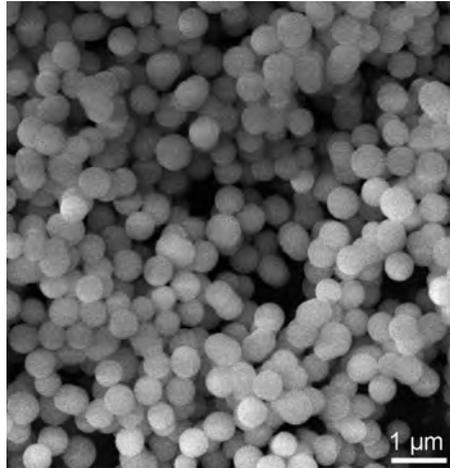


Abb. 1: Mesoporöses Silica mit $d_{\text{part}} = 0.53 \mu\text{m}$ und $d_{\text{PFT}} = 2.8 \text{ nm}$.

Tetraethylorthosilikat (TEOS), Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB, als struktur-dirigierendes Agens, SDA), Ammoniak (25 %), Ethanol und Wasser wurden für die Synthese verwendet. Dazu wurden folgende Parameter untersucht: Reaktionstemperatur, Alterung bei erhöhter Temperatur, Einfluss verschiedener SDA, Lösemittelsystem und TEOS-Menge. Bei tiefen Temperaturen und tiefer TEOS-Konzentration, $c(\text{TEOS}) = 16 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, wurden Partikeldurchmesser von $\approx 0.55 \mu\text{m}$ erhalten. Der Porendurchmesser von 2.5 nm konnte mit einer Erhöhung der TEOS-Konzentration erreicht werden. Mit der Methode, die MCM-41 Partikel bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ für 48 h altern zu lassen, konnte der Porendurchmesser zudem auf 3.4 nm erhöht werden. Die Produkte wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie und Stickstoffsorption analysiert.

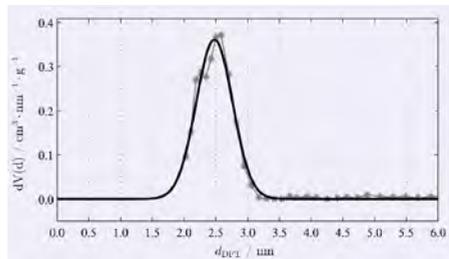


Abb. 2: Porengrössenverteilung mit $d_{\text{PFT}} = 2.5 \text{ nm}$.

Herstellung von Osteosarkom-Mikrogeweben in verschiedenen, gerüstfreien 3D-Zellkultur-Systemen



Diplomand	Sandro Fazzolari
Korrektor/-in ZHAW	Prof. Dr. Ursula Graf-Hausner, Dr. Markus Rimann
Korrektor extern	Prof. Dr. Roman Muff, Universitätsspital Balgrist

Das Osteosarkom (OS) ist der am häufigsten auftretende Knochentumor. Jugendliche und junge Erwachsene sind davon am stärksten betroffen. Momentane Therapiemassnahmen beinhalten die operative Entfernung des Primärtumors und prä- und postoperative Chemotherapie. Leider haben diese Therapiemassnahmen die Überlebensrate von Patienten mit Metastasen in den letzten 20 Jahren nicht grundlegend verbessert. Dies liegt auch daran, dass es keine passenden, zellbasierten, in vitro OS-Modelle gibt, um neue Medikamente zu evaluieren. In vitro hergestellte, multizelluläre 3D-Sphäroide weisen gewisse Ähnlichkeiten zu Tumoren auf. Es gibt verschiedene Methoden, solche 3D-Sphäroide herzustellen. Zurzeit wird die gerüstfreie Hanging-Drop Methode am häufigsten verwendet. Künstlich hergestellte Sphäroide können für die Evaluierung der Effektivität von (neuen) Medikamenten und Chemotherapeutika verwendet werden. Die Hanging-Drop Methode ist eine einfache Methode, um 3D-Sphäroide zu produzieren. Die Zellkulturen werden als

Suspensionstropfen in einer speziellen Wellplatte ausgesät. Durch das Fehlen einer Oberfläche oder eines Gerüsts formieren sich durch die Schwerkraft kleine Sphäroide in den Tropfen. Das Handling mit den Tropfen kann teilweise zu Problemen und zum Verlust von Sphäroiden führen. Deshalb wurden im Rahmen dieser Bachelorarbeit weitere Methoden evaluiert, um gerüstfreie Mikrogewebe mit zwei etablierten OS-Zelllinien herzustellen. Die Zellen wurden in drei verschiedenen, kommerziell erhältlichen, antiadhäsiven Wellplatten ausgesät, zwei Wochen lang kultiviert und zu verschiedenen Zeitpunkten charakterisiert.

In allen drei Wellplatten konnte reproduzierbar OS-Mikrogewebe hergestellt werden (Abb. 1). Zur Charakterisierung wurden Mikrogewebedurchmesser und ATP-Konzentration über die Zeit bestimmt. Während der Arbeit wurden Anfangszellzahl und das genaue Vorgehen beim Zellkulturmediumwechsel optimiert. Die Hanging-Drop Methode diente dabei als Kontrolle.



Abb. 1: 3D-Sphäroide einer MG-63 Zelllinie: zweiwöchige Kultivierung in einer nichtadhäsiven Wellplatte. Bilder von den Kultivierungstagen: 7 (A), 12 (B) und 14 (C); Massstab = 500 µm.

Nanopartikel basierte Label für die Raman-Spektroskopie



Diplomand	Michael Fellmann
Korrektor ZHAW	Dr. Christian Adlhart
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, Metrohm AG

Eine Möglichkeit, Tumorzellen in lebendem Gewebe zu markieren und zu detektieren, besteht in der Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS). Dazu werden Antikörper an Raman-aktive Nanopartikel gebunden, aufgrund derer Tumorzellen erkannt und spezifisch gebunden werden. Bei der SERS-Messung werden Raman-aktive Moleküle an der Oberfläche metallischer Nanopartikel mit einem Laser angeregt, was zur Emission von charakteristischem Streulicht führt. Dieses dient dann als Nachweis von Tumorzellen.

Die Bachelorarbeit beinhaltete die Entwicklung von Raman-aktiven Nanopartikeln, deren SERS-Aktivität spektroskopisch bestimmt wurde. Dazu wurden verschiedene Methoden für die Synthese von Gold- und Silber-Nanopartikeln erprobt. Es wurde untersucht, wie die Synthese der Nanopartikel kontrolliert werden kann (Abb. 1). Für die Herstellung von stabilen und monodispersen Nanopartikeln ist es wichtig, dass Temperatur, Rührgeschwindigkeit und die Zugabe von Reaktanden immer konstant gehalten werden. Zudem konnte gezeigt werden, dass Grösse und Form der Nanopar-

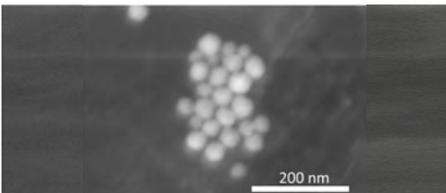


Abb. 1: Gold-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 41 nm.

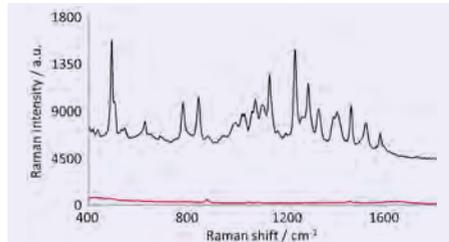


Abb. 2: SERS-Signal einer 3.1×10^{-8} M Lösung von DTTC in Ethanol mit Silber-Nanopartikeln (schwarz) und Raman Spektrum der Lösung ohne Nanopartikel (rot).

tikel einen Einfluss auf die spektroskopischen Eigenschaften haben. Anschliessend wurden die Farbstoffe Rhodamin 6G (R6G), Kristallviolett (KV) oder 3,3'-diethylthiatricarbocyanin Iodid (DTTC) an die Oberfläche der Nanopartikel gekoppelt und deren SERS-Aktivität untersucht. Für die Anregung der Proben standen Laser der Wellenlänge 532 und 785 nm zur Verfügung. Damit konnte die Verstärkung demonstriert werden, die durch die Wechselwirkung von Licht mit den auf der Nanopartikel-Oberfläche haftenden Farbstoffmolekülen entsteht. Die grösste Verstärkung wurde bei R6G mit Gold-Nanopartikeln gemessen mit einem Oberflächenverstärkungsfaktor von 4.1×10^2 . Zudem konnte bei KV und bei DTTC eine Verstärkung mit Silber-Nanopartikeln beobachtet werden (Abb. 2).

Die SERS-Aktivität der einzelnen Farbstoffe konnte anhand der durchgeführten Experimente dargelegt werden. Zudem konnte aufgezeigt werden, dass verschiedene Nanopartikel einen Einfluss auf den SERS-Effekt haben.

Bestimmung flüchtiger Verbindungen im Abgas eines Kaffeerösters mittels TDU-GC/MS



Diplomand	Patrick Früh
Korrektor/-in ZHAW	Dr. Alexia Glöss, Prof. Dr. Chahan Yeretzian
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, Metrohm AG

Die Röstung von Kaffee ist einer der wichtigsten Veredelungsschritte in der Kaffeeherstellung. Die noch grüne Kaffeebohne wird durch trockenes Erhitzen geröstet und verändert dabei ihre Grösse und Farbe. Parallel werden in zahlreichen chemischen Reaktionen die wohlriechenden Aromen des Kaffees gebildet. Zur Untersuchung von Abgasen aus diesen Röstprozessen, die in industriellen Röstern stattfinden, wurde eine thermale Desorptions Einheit Gaschromatograph Massenspektrometer (TDU GC/MS)-Methode optimiert. Leichtflüchtige organische Komponenten, die sich im Abgas befanden, wurden

in Tenax TA Röhrchen aufkonzentriert. Eine hierzu notwendige Probensammelapparatur wurde entwickelt und in Proberöstungen an einem Laborröster (Probatino) auf ihre Tauglichkeit getestet. Anschliessend wurde die Probensammelapparatur zum Industriepartner Probat, in Emmerich am Rhein, Deutschland, transportiert, um das Abgas eines industriellen Kaffeerösters (Jupiter 500 Hybrid) vor und nach der katalytischen Aufreinigung zu untersuchen. Die gesammelten Proben wurden mit der zuvor optimierten TDU GC/MS-Methode analysiert und die vor und nach dem Katalysator nachweisbaren Verbindungen bestimmt.



Abb. 1: Aussenansicht des Industrierösters Jupiter 500 Hybrid.

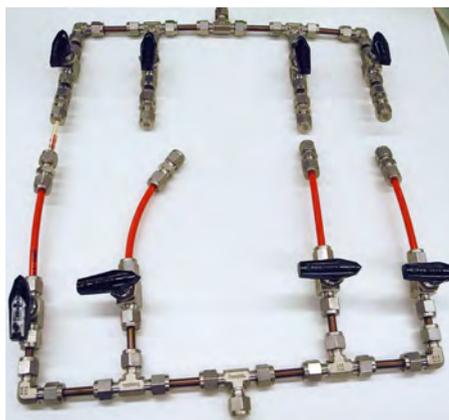


Abb. 2: Probensammler.

Synthese und enantioselektive Trennung kleiner chiraler Moleküle mittels fraktionierter Kristallisation



Diplomandin	Vanessa Maria Galati
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Jürgen Stohner
Korrektor extern	Dr. Hans Hollenstein, ETHZ

Kleine chirale Moleküle (z.B. Halomethane) sind für die Bestimmung der absoluten Konfiguration [1], sowie für das Verständnis der molekularen Paritätsverletzung [2] von grosser Bedeutung. Die absolute Konfiguration wird üblicherweise mittels Röntgenstrukturanalyse bestimmt [3]. Für diese Analysemethode werden Einkristalle benötigt. Die Einkristalle sind bei kleinen flüchtigen Molekülen schwer zu züchten. Ein neues Verfahren ist die laserionisationsinduzierte Coulomb Explosion: Dabei wird beispielsweise CRXYZ fünffach ionisiert; infolge der Coulombabstossung zerfällt das Produkt in die Bestandteile $C^+ + R^+ + X^+ + Y^+ + Z^+$. Bei der Methode wird dieser Fragmentierungsprozess zeit- und orts aufgelöst untersucht, woraus die absolute Konfiguration vor der Fragmentierung bestimmt werden kann (COLTRIMS, Cold target recoil ion momentum spectroscopy). Es werden hierbei zwar keine Einkristalle benötigt, jedoch sind in der gegenwärtigen Anordnung mit Molekülstrahl grössere Substanzmengen erforderlich. Dies stellt somit eine besondere Herausforderung, sowohl für die Synthese als auch für die Enantiomertrennung dar.

Ziel dieser Bachelorarbeit war es, enantiomerenangereichertes Bromchlorfluormethan (CHBrClF) für diese Konfigurationsbestimmung herzustellen. Aufgrund der physikalischen und chemischen Ähnlichkeiten der Enantiomere ist deren Trennung schwierig. Eine mögliche Trennmethode stellt die *fraktionierte Kristalli-*

sation dar. Dabei wird mit einer racemischen Säure und einer enantiomerenreinen Base ein kristallines, diastereomeres Salz gebildet. Anschliessend wird durch fraktionierte Kristallisation ein Diastereomer angereichert. Das Salz soll durch anschliessende Decarboxylierung zum enantiomerenangereicherten Halomethan CHBrClF umgesetzt werden.

Während dieser Arbeit wurde mit racemischer Bromchlorfluoressigsäure und mit verschiedenen enantiomerenreinen Basen gearbeitet. Mit einer der getesteten Basen konnte durch fraktionierte Kristallisation aus einem Lösungsmittelgemisch eine Salzfraktion mit einer Diastereomerenanreicherung von ca. 60 % erhalten und in einem Kontrollexperiment reproduziert werden. Die Analyse der Produkte erfolgte über geeignete Derivate der Säure mittels chiraler Gaschromatographie [4] und ^{19}F -NMR.

Literatur:

- [1] M. Pitzer, M. Kunitski, A. S. Johnson, T. Jahnke, H. Sann, F. Sturm, L. Ph. H. Schmidt, H. Schmidt-Böcking, R. Dörner, J. Stohner, J. Kiedrowski, M. Reggelin, S. Marquardt, A. Schiesser, R. Berger, M. S. Schöffler. Direct Determination of Absolute Molecular Stereochemistry in Gas Phase by Coulomb Explosion Imaging. *Science*, 341:1096–1100, 2013.
- [2] M. Quack; J. Stohner. Parity violation in chiral molecules. *CHIMIA*, 59:530–538, 2005.
- [3] S. Allenmark, J. Gawronski. Determination of absolute configuration – an overview related to this special issue. *Chirality*, 20:606–608, 2008
- [4] B. Spenger, MSc Arbeit ZHAW, Wädenswil, 2013; B. Spenger, J. Stohner, Veröffentlichung in Vorbereitung.

Design und Synthese von zyklischen Metalloprotease-Inhibitoren



Diplomand	Flavio Gall
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Rainer Riedl
Korrektor extern	Dr. Samuel Derrer, Eawag

Das beschriebene Projekt beschäftigt sich mit cyclischen Peptiden als Inhibitoren für Matrix-Metalloproteasen. Das Interesse an Peptiden und Proteinen als Arzneistoffe hat in der Medizinalchemie in den letzten Jahren stark zugenommen. Sie binden meist hoch affin und spezifisch an ihr Zielmolekül. Im Vergleich zu kleinen, organischen Molekülen sind sie jedoch weniger stabil und weisen eine geringere Bioverfügbarkeit auf. Cyclische Peptide besitzen das Potential, die Vorteile von Biomolekülen mit denen der kleinen organischen Moleküle zu vereinen und durch die Cyclisierung werden die Peptide stabiler gegen klassische Proteasen. Gleichzeitig werden die Ladungen an beiden Termini eliminiert und das Peptid dadurch unpolarer. Ein bekannter Vertreter von Cyclopeptiden ist Cyclosporin A, welches aus Schlauchpilzen gewonnen und als Immunsuppressivum bei Organtransplantationen eingesetzt wird. Für Peptide untypisch ist die orale Verfügbarkeit von Cyclosporin A. Die Cyclisierung erhöht die Stabilität im Verdauungstrakt, zudem wird

durch eine mehrfache N-Methylierung und Cyclisierung Membranpermeabilität erreicht.

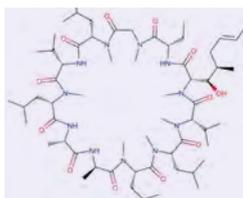


Abb. 1: Das Peptid Cyclosporin A hat viele hydrophobe Seitenketten und ist mehrfach N-methyliert. Deshalb hat es eine hohe Membranpermeabilität und ist oral verfügbar.

Die Aminosäuresequenzen von Inhibitoren der Matrix-Metalloproteasen wurden durch den Entwurf und das Docking einer speziell entworfenen Datenbank mit cyclischen Peptiden ermittelt. Die Synthese wurde mit der On-resin Cyclisierung durchgeführt. Dazu wurde die erste Aminosäure über die Seitenkette am Resin immobilisiert. Der Aufbau der linearen Sequenz erfolgte mit klassischer Festphasen-Peptidsynthese. Der C-Terminus des Peptids blieb bis zur Cyclisierung geschützt und konnte gezielt vor der Cyclisierung entschützt werden. Mit dieser Methode gelang die Herstellung von mehreren Cyclopeptiden, die speziell für MMP-13 designt wurden.

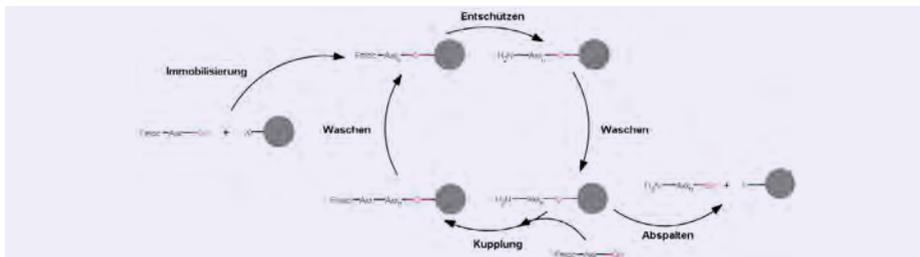
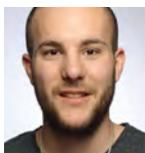


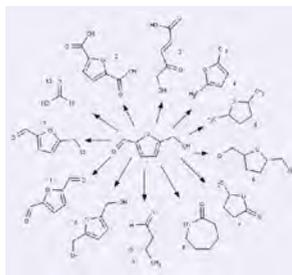
Abb. 2: Prinzip der Festphasen-Peptidsynthese (SPPS).

Analytische und prozesstechnische Untersuchung mit Kaffeeextrakt



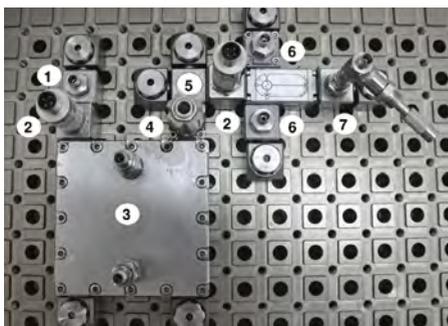
Diplomand	Luca Greber
Korrektor ZHAW	Dr.-Ing. Peter Riedlberger
Korrektorin extern	Dipl. Chem. Ing. Franziska Morganti, BMG Engineering AG

Täglich fallen Tonnen von Kaffeesatz bei der industriellen Herstellung von Instant Kaffee an. Heutzutage wird dieser Abfall meist in der Kehrlichtverbrennungsanlage entsorgt. Daher wäre es sinnvoll, diese enormen Mengen an biologisch hochwertigem Abfall als erneuerbare Ressource zu nutzen. Deshalb wurden in dieser Arbeit aus Kaffeesatz durch saure Hydrolyse, Polysaccharide in Form von Mono-sacchariden extrahiert. Damit konnten 0.156 g Mannose, 0.129 g Glucose und 0.016 g Galactose aus 1 g Kaffeesatz gewonnen werden. Ausgehend von diesem Extrakt sollte die Möglichkeit einer Synthese von 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) im Mikroreaktor überprüft werden. Dies, weil HMF eine Plattform Chemikalie mit enormem Potential ist und bis heute keine kommerziell nutzbare Synthese eruiert werden konnte. Versuche haben gezeigt, dass die Synthese von HMF



Plattform Chemikalie HMF (1) und einige der wichtigsten Folgeprodukte, z. B. Caprolactam (8) zur Herstellung von Nylon 6

im Mikroreaktor realisierbar ist. Die geringe Ausbeute von 3,4 % war auf eine kurze Verweilzeit zurückzuführen. Da die Gegenstromchromatographie (CCC: counter current chromatography) in den letzten Jahren grosse Fortschritte gemacht hat und besonders im Bereich der Naturstoffe eine ergänzende Methode zur herkömmlichen Chromatographie ist, wurde die Eignung zur Aufarbeitung von Kaffeeextrakt eruiert. Hierbei wurden organisch-wässrige Zwei-Phasen-Systeme untersucht. Mit dem Lösungsmittelsystem Ethylacetat (3): Octanol (2): Wasser (5) konnte eine Trennung von Coffein und einer weiteren Chlorogensäure-haltigen Fraktion erreicht werden. Ausserdem sollte die Robustheit eines CCC-Geräts gegenüber Einflüssen wie der Temperatur und Umdrehungsgeschwindigkeit bestimmt werden. Es konnte aufgezeigt werden, dass je höher die Temperatur und je höher die Umdrehungsgeschwindigkeit ist, der Anteil an stationärer Phase in der Säule steigt und dadurch die Trennung verbessert werden kann.



Aufbau Mikroreaktor: 1. Probeneinlass, 2. Drucksensor, 3. Temperierbarer Manderreaktor, 4. Temperatursensor 5. 90° Verbindungsmodul 6. Ein- und Auslass für Kühlwasser 7. Auslass mit Nadelventil zur Druckregulierung

Hochdichtekultur von *Iodobacter* auf definiertem Medium mittels Fed-Batch



Diplomand	Kevin Hofer
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Bernhard Sonnleitner
Korrektor extern	Dr. Peter Röthlisberger, Lipoid Kosmetik AG

Ständig werden neue Mikroorganismen entdeckt, welche ein grosses marktwirtschaftliches Potential aufweisen. Solch ein Kandidat könnte der neu von der Mibelle AG aus einem Gletscher isolierte, psychrotolerante Mikroorganismus sein, der den Namen *Iodobacter* trägt. Ein mögliches Produkt dieses Mikroorganismus ist bereits die Biomasse an sich; er produziert aber auch extrazelluläre Polysaccharide (EPS) und /oder ein violettes Pigment. Von wesentlichem Interesse ist eine angemessene Produktivität, ein umfangreiches Prozessverständnis (Produktbildung, Kultivationsbedingungen usw.) und eine hohe Reproduzierbarkeit der Kultivierung.

Im Laufe dieser Arbeit wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem ein Medium im Schüttelkolben



mit einer Kryokultur beimpft und anschliessend als Inokulum in einen Reaktor übertragen wurde. Nach einem erfolgreichen Batch wurde versucht, die Biomasse mit einem

Glasreaktor mit 7 L Volumen im Einsatz bei der Kultivierung des *Iodobacter* mittels Fed-Batch.

Zulaufverfahren (Fed-Batch) weiter zu steigern. Alle Schritte sollten nach Möglichkeit in definiertem Medium stattfinden. Ein bereits von der Mibelle AG eruiertes, definiertes Medium wurde so optimiert, dass eine hohe Biomasse erreicht werden konnte und so wenig Kohlenstoff wie möglich für die Bildung von EPS abgezweigt wurde. Durch eine Medienoptimierung, die auf eine Erhöhung von Stickstoff und Spurenelementen abzielte, konnte die Polysaccharidproduktion grösstenteils unterbunden werden. Es konnte im Verlauf dieser Arbeit erstmals Pigmentbildung auf definiertem Medium beobachtet werden, allerdings nur im Schüttelkolben. Der *Iodobacter* wurde erfolgreich auf optimiertem, definiertem Medium kultiviert. Im Batch auf definiertem Medium wurden rund $9-11 \text{ g} \times \text{L}^{-1}$ Zellen produziert, mittels Fed Batch konnte die Biomassekonzentration auf $14-19 \text{ g} \times \text{L}^{-1}$ gesteigert werden. Beim Überimpfen vom Schüttelkolben in den Reaktor wurden allerdings noch lange Adaptionsphasen (6 h) festgestellt.



Iodobacter auf Agar. Die Bildung des violetten Pigments lässt sich mit dem Auge erkennen.

Etablierung eines Scaffold-basierten, 3D-hepatischen Systems für die zelltherapeutische Behandlung von Leberinsuffizienz

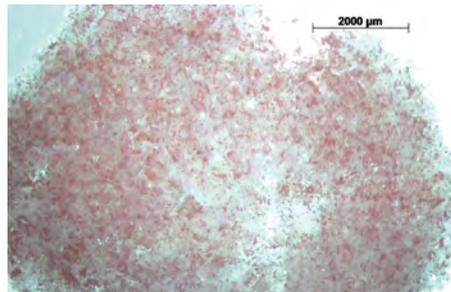


Diplomand	Albert Hutter
Korrektorin ZHAW	Dr. Stephanie Mathes
Korrektor extern	Prof. Dr. Hans Baer, Bearmed

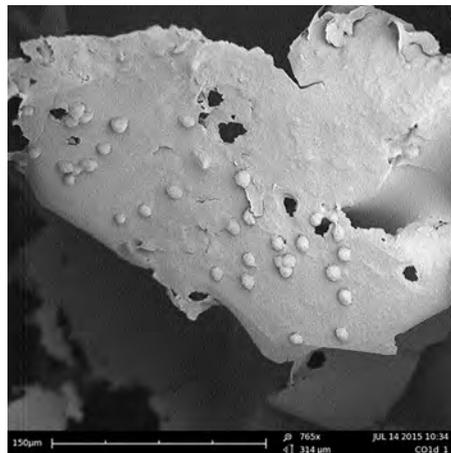
Die Leber führt die wichtigsten Stoffwechselreaktionen im Körper durch. Sie besitzt somit die grösste metabolische Aktivität für den Intermediärstoffwechsel. Durch Viren, Leberzellgifte oder Alkoholkonsum kann die Leber schwere Schäden davontragen, von denen sie sich nur bis zu einem gewissen Stadium erholen kann. Die bekannteste Form von Leberversagen ist die Leberzirrhose. Dabei ist oft eine Lebertransplantation die letzte Hoffnung der Patienten. Die Zahl der Patienten, die auf ein Spenderorgan warten, steigt stetig an. Jedoch gibt es zu wenig Spender, um den Bedarf an Organen zu decken. Aus diesem Grund werden neuartige Methoden benötigt, welche die Patienten mit Leberkrankheiten unterstützen, bis sie ein geeignetes Spenderorgan erhalten.

In dieser Arbeit wurde das Material für eine Leberersatztherapie untersucht. Dazu entwickelte Prof. Baer Scaffolds auf Basis von Poly-L-Milchsäure (PLLA). Die Wände der Matrizen wurden in einem weiteren Verfahren mit Kollagen beschichtet. Therapeutisch sollen die Scaffolds zukünftig mit Patienteneigenen Leberzellen *in vitro* besiedelt und anschliessend dem Patienten implantiert werden, wo die Zellen wieder aktiv werden und so der Allgemeinzustand des Patienten stabilisiert werden soll. Um die Verwendbarkeit dieser neu entwickelten Scaffolds nachzuweisen, wurden verschiedene zellbiologische Analysen unter statischen und dynamischen

Kultivierungsbedingungen durchgeführt. Die Vitalität und die metabolische Aktivität der Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten galten als Messgrössen. Es konnte gezeigt werden, dass über 70 % der eingesetzten Zellen an den Matrizen adhärten und über einen Zeitraum von 72 h metabolisch aktiv waren.



MTT-Färbung von Zellen auf PLLA Scaffolds.



REM-Aufnahme von Zellen auf PLLA Scaffolds.

NIR-Spektroskopie zur Charakterisierung von Polyurethanschäumen



Diplomand	Didier Iten
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Achim Ecker
Korrektor extern	Dr. Denis Planchenault, Motorex AG

Die Firma FoamPartner in Wolfhausen produziert Polyurethanschäume (PU-Schäume), die unter anderem in der Matratzen-, Kissen- und Polstermöbelindustrie Anwendung finden. Für die Herstellung dieser PU-Schäume werden mehr als 180 unterschiedliche Rezepturen verwendet. Bei den Fertigprodukten werden bisweilen grosse Qualitätsschwankungen festgestellt und im schlimmsten Fall müssen die produzierten PU-Schäume entsorgt werden. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Qualität des Schaumstoffes möglichst in Echtzeit zu bestimmen, um auftretende Probleme möglichst unmittelbar beim Schäumungsprozess feststellen zu können und so Fehlchargen zu vermeiden. Es stellte sich die Frage, ob die Nahinfrarot-Spektroskopie (NIR) für eine solche Aufgabe geeignet ist und ob der Schäumungsprozess online verfolgt werden kann oder ob eine at-line Charakterisierung von frisch hergestellten Schaumstofftypen ausreicht.

Um diese Fragen zu beantworten, wurden im Rahmen der Bachelorarbeit verschiedene

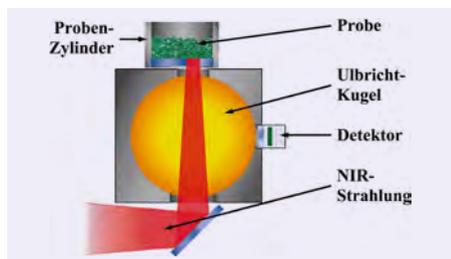


Abb. 1: Ulbricht-Kugel des NIR-Spektrometers von Bruker.

weiche bis mittelweiche PU-Rückstellmuster untersucht. Dabei wurden verschiedene physikalische Eigenschaften wie Dichte, Druckspannung, Permeabilität, Zugspannung und Bruchdehnung ermittelt. Zudem wurden NIR-Spektren aller PU-Muster aufgenommen (Abb. 1). Anschliessend wurden chemometrische Analysen durchgeführt, um Korrelationen mit den physikalischen Eigenschaften festzustellen. Dafür wurden Hauptkomponentenanalysen (PCA), Hauptkomponentenregressionen (PCR) und Partial Least Square Regression (PLS) durchgeführt.

Die Schaumstoffmuster konnten mit der PCA sehr gut nach Typen gruppiert werden. Die PCR- und PLS-Modelle zeigten bei einem Muster zum Teil gute Korrelationen (Abb. 2). Allerdings funktionierten diese Modelle bei anderen Schaumstoffmustern nicht. Es konnten bislang keine robusten Kalibrationen für verschiedene Schaumtypen erstellt werden.

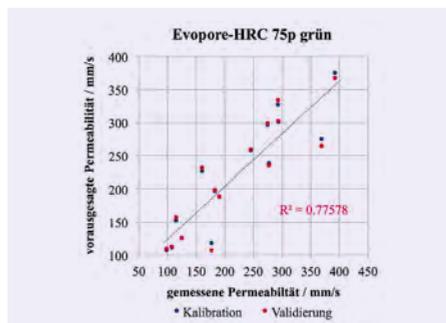


Abb. 2: PLS-Spektren (10000 – 3700 cm⁻¹), SNV-Permeabilität.

Synthese von 2,6-substituierten Aminopyridinen mit S_NAr und Pd-Katalysator

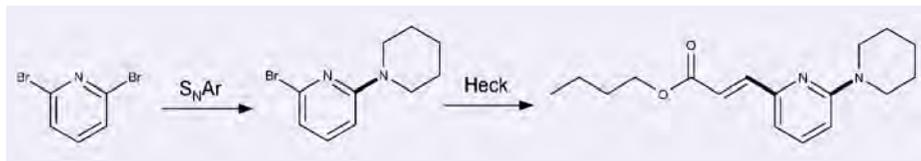


Diplomand	Tobias Kittelmann
Korrektor ZHAW	PD Dr. Christian Frech
Korrektor extern	Dr. Roland Gerber, AZAD Pharmaceutical Ingredients AG

Pyridinderivate sind stickstoffhaltige Heterocyclen, die von grosser Bedeutung sind. So sind sie beispielsweise in den Coenzymen I und II (NAD und NADP) für die Übertragung von Wasserstoffatomen in biochemischen Reaktionen unerlässlich. Ein weiteres Beispiel aus der Natur sind Insektengifte wie Nikotin oder Anabasin, die u. a. in Tabak-Pflanzen vorkommen, um diese vor Fressfeinden zu schützen. Aminopyridine sind auch in der Pharmazie von grosser Bedeutung. Bei der Behandlung von Morbus Parkinson muss z. B. das Enzym Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS) gehemmt werden. Gewisse Inhibitoren für dieses Enzym sind aus einem zweifach substituierten Aminopyridin aufgebaut. Ein anderes Beispiel eines Aminopyridin-Derivats aus der Medizin ist ein Antagonist des Serotonin-Rezeptors. Dieser Rezeptor wird bei der Behandlung von neuronalen Erkrankungen wie Depressionen und Angststörungen durch ein 6-substituiertes 2-Aminopyridin aktiviert.

In dieser Bachelorarbeit wurden verschiedene 2,6-substituierte Aminopyridine mithilfe verschiedener Reaktionen synthetisiert. Dabei wurde als Ausgangssubstanz immer 2,6-Dibrompyridin verwendet. Dieses wurde in einem ersten Reaktionsschritt mit verschiedenen Aminen und Phenolen an Position 2 nucleophil substituiert. So wurden verschiedene 2-substituierte 6-Brompyridine dargestellt. Diese wurden in einem zweiten Schritt für Palladium-katalysierte Suzuki- oder Heck-Kreuzkupplungen eingesetzt.

Diese verschiedenen Reaktionen ermöglichen, ausgehend vom 2,6-Dibrompyridin, die Synthese einer grossen Anzahl verschiedener Aminopyridine. Durch die breiten Anwendungsmöglichkeiten dieser Verbindungen ist die Entwicklung neuer Synthesesequenzen sowohl für die chemische Industrie wie auch für die Forschung von Bedeutung.



Darstellung eines 2,6-substituierten Aminopyridins mittels einer nucleophilen aromatischen Substitution (S_NAr) und einer Heck-Kreuzkupplung.

Statische und dynamische Systeme zur Suszeptibilitätsbestimmung von Biofilmen



Diplomandin	Nicole Kohli
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Walter Krebs
Korrektor extern	Prof. Dr. Helmut Brandl, Universität Zürich

Biofilme sind eine Ansammlung von Mikroorganismen, die mit einer Oberfläche assoziiert und in einer Matrix aus extrazellulären, polymeren Substanzen eingeschlossen sind. Bakterien können in solchen Biofilmen bis zu 1000 Mal toleranter gegenüber antimikrobiellen Stoffen sein als ihre planktonischen Artgenossen. Die Standardmethoden zur Suszeptibilitätsbestimmung beruhen auf Techniken der Exponierung von planktonischen Zellen gegenüber Bioziden. Die Erkenntnisse, welche aus diesen Testmethoden gewonnen werden, können deshalb nicht direkt auf Biofilme angewendet werden. Für die Untersuchung der Suszeptibilität von Biofilmen müssen diese zuerst gebildet werden. Dies kann in einem statischen (96-well Platten) oder dynamischen (Flusszelle) System stattfinden.



Das Vented Multipath Biofilm (VMB) Device ist ein wiederverwendbares Device, das mit herkömmlichen 96-well Platten kompatibel ist. Der Biofilm bildet sich an den Stiften des Devices. Das VMB Device wurde in der Bachelorarbeit von Marc Tautschnig (2014) in Anlehnung an das Calgary Biofilm Device entwickelt.

In der Bachelorarbeit wurden drei verschiedene 96-well Plattenformate (herkömmliche 96-well Platten, VMB Device und Transferplatte TSP nunc) bezüglich Plattenverbrauch, Zeitaufwand, Handling und Reproduzierbarkeit verglichen. Dazu wurde die Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC) und Minimum biofilm eradication concentration (MBEC) von Kanamycin gegenüber einem Biofilm aus *Pseudomonas putida* mittels des MBEC Assay™ bestimmt. Über alle Faktoren betrachtet, konnte kein Plattenformat als deutlich besser beschrieben werden.

Des Weiteren wurden Biofilme in einer Flusszelle unter verschiedenen antibiotischen Bedingungen gebildet und die Biofilmbildung mittels Lichtmikroskop und Flowcytometrie beobachtet. Mit dem Lichtmikroskop konnte erst ein Unterschied beobachtet werden, wenn das Antibiotikum bereits zum Zeitpunkt der Inokulierung im System war. Durch die Kombination mit der Flowcytometrie konnte eine deutliche Abnahme der Zellzahl auch bei einer späteren Antibiotikazugabe beobachtet werden, was mit dem Lichtmikroskop allein nicht deutlich sichtbar war.

Scale-up der Synthese eines Fluoreszenzfarbstoffes für lumineszente Solarkonzentratoren LSCs



Diplomand	Stephan Kubli
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Achim Ecker
Korrektor extern	Dr. Denis Planchenault, Motorex AG

Zusammen mit der Firma Optical Additives wird aktuell intensiv an lumineszenten Solarkonzentratoren geforscht. Dabei stehen Systeme im Fokus, in denen tb-DXP als einer von zwei Fluoreszenzfarbstoffen in Zeolith L interkaliert ist. Ein solches Lichtsammelsystem ist ZeoFRET®. Im Gegensatz zu Hostasol Rot, dem zweiten Farbstoff, ist tb-DXP nicht kommerziell erhältlich.

Ziel der Bachelorarbeit war es, ein Scale-up der Synthese von tb-DXP durchzuführen, um grössere Mengen des Farbstoffes für weitere Versuche herstellen zu können.

Ausgehend von einer Laborvorschrift im Grammmassstab, die von Prof. Belser von der Universität Fribourg zur Verfügung gestellt wurde, wurden verschiedene Syntheserouten untersucht, welche nach Kriterien wie Produktqualität, Synthesedauer und Materialkosten bewertet wurden. Resultat war eine dreistufige Syntheseroute, die anschliessend bezüglich Ausbeute, Lösungsmittelverbrauch, Prozesstemperatur und weiteren Parametern optimiert wurde.

Von der optimierten Syntheseroute wurden mit einem EasyMax HFCal Reaktionskalorimeter von Mettler Toledo die Reaktionsenthalpien und die Wärmekapazitäten der Reaktionsgemische gemessen. Daraus wurden die adiabatischen Temperaturerhöhungen und die maximalen Temperaturen der Synthesereak-

tionen berechnet. So konnten die aus Sicht der thermischen Prozesssicherheit kritischen Prozessschritte identifiziert werden.

Rückblickend ist es gelungen, eine solide Basis für ein Scale-up der Synthese von tb-DXP zu schaffen.

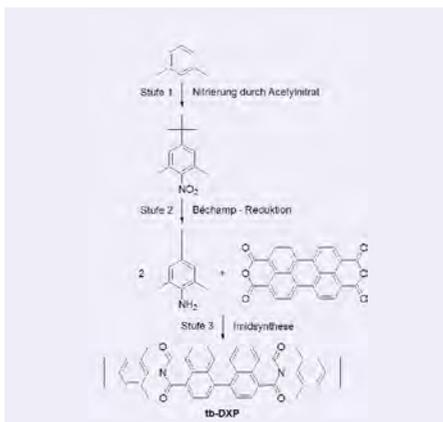


Abb. 1: Synthese des Perylenfarbstoffes tb-DXP aus 1-(tert-Butyl)-3,5-dimethylbenzol und Perylen-3,4,9,10-tetracarboxydianhydrid in drei Stufen.

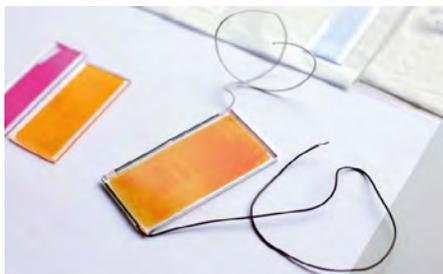


Abb. 2: Lumineszenter Solarkonzentrator mit an den Rändern angebrachten Solarzellen.

In silico Design und Synthese von Sentrin-spezifischen Protease 1 Inhibitoren

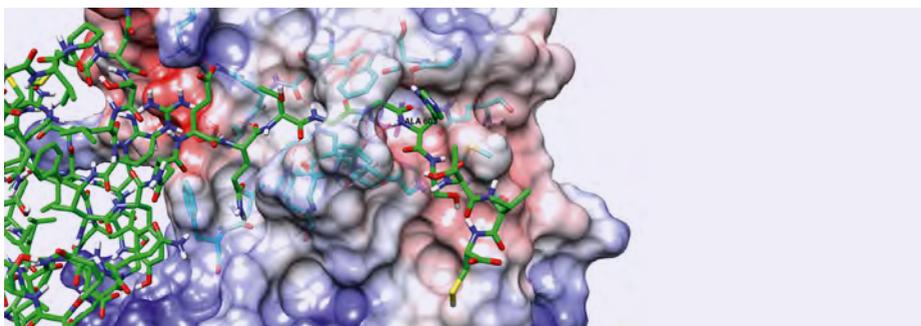


Diplomand	Urs Lindenmann
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Rainer Riedl
Korrektor extern	Dr. Samuel Derrer, Eawag

Die Medizinalchemie beschäftigt sich unter Anwendung verschiedenster Technologien mit dem rationalen Design neuer Wirkstoffe. Durch Fortschritte in der Kristallographie, NMR- und Computertechnik ist es heute möglich, in relativ kurzer Zeit die Struktur neuer Zielproteine zu bestimmen. Dieser Fortschritt hat dazu geführt, dass das struktur- und computergestützte Design neuer Wirkstoffe in der heutigen Arzneimittelforschung nicht mehr wegzudenken ist. Das in silico Design von Wirkstoffen ist im Vergleich zum konventionellen High Throughput Screening (HTS) eine kostengünstigere, zeit- und ressourcensparende Methode, weshalb dieser Ansatz auch stark im akademischen Bereich verwendet wird. Mithilfe von Computerprogrammen können tausende von Molekülen am Computer modelliert und mittels Docking-Experimenten getestet werden, ohne dass Verbindungen eingekauft oder synthetisiert werden müssen.

Die Sentrin-spezifische Protease 1 (SEN1) ist in unserem Körper für die Desumoylierung von mit SUMO-modifizierten Proteinen zuständig. Aufgrund der potentiellen Rolle der Sentrin-spezifischen Protease 1 in der Entwicklung von Prostata-Krebs, ist dieses Enzym in den Fokus der Krebswissenschaftler und Medizinalchemiker geraten. Das Fehlen von hoch affinen Inhibitoren gegen dieses Enzym, macht es zu einem interessanten Target für ein structure-based drug design von neuen SEN1-Inhibitoren.

Durch ein de novo Design mit Naturprodukt-abgeleiteten Fragmenten konnten neue, nicht-kovalente Inhibitoren in silico modelliert werden. Von diesen modellierten Molekülen konnten die ersten potentiellen Inhibitoren und Zwischenstufen erfolgreich synthetisiert werden.



SEN1-SUMO1 Co-Kristallstruktur (PDB: 2IY1): SENP1-Mutant = Cys603 wurde durch Alanin ersetzt; SUMO1-Protein in vollständig exprimierter Länge (Propeptid).

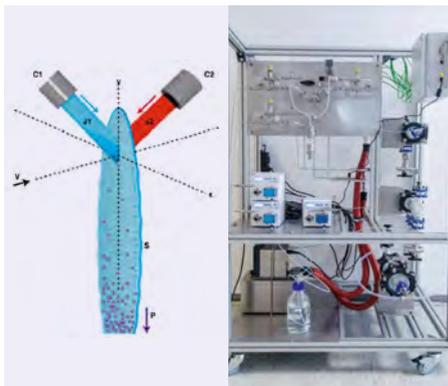
Verfahrens- und reaktionstechnische Untersuchungen miniaturisierter Prozesssysteme



Diplomand	David Lüthy
Korrektor ZHAW	Dr.-Ing. Peter Riedlberger
Korrektorin extern	Dipl. Chem. Ing. Franziska Morganti, BMG Engineering AG

Die Mikroreaktionstechnik hat in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen. Das Interesse stieg nicht nur in der Forschung, sondern auch in der Industrie kommt es vermehrt zum Einsatz von Mikroreaktoren. So werden bereits Systeme mit mehr als einer Jahrestonne für die Herstellung von Azo-Pigmenten eingesetzt oder metallorganische Reaktionen zur Herstellung von Feinchemikalien durchgeführt. Vorteile von Verfahren im Mikromassstab sind unter anderem das grosse Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis und exakt definierte Verweilzeiten. Nachteile der Mikroreaktoren zeigen sich bei Feststoffen oder bei Kristallbildung aufgrund ihrer geringen charakteristischen Abmessungen. Mit dem Prallstrahlmischer steht ein Mischer zur Verfügung, mit dem diese Problematik beseitigt werden sollte.

Ziel dieser Bachelorarbeit war die Charakterisierung von vier verschiedenen Mikromischern bezüglich der Mischeffizienz sowie die Methodenentwicklung von Fällungsreaktionen. Die Mischeffizienz wurde mit zwei verschiedenen kompetitiven Parallelreaktionen ermittelt. Bei diesen Reaktionen stand jeweils eine langsamere Reaktion in Konkurrenz mit einer schnelleren, wobei bei einer effizienten Durchmischung nur die schnellere Reaktion ablaufen sollte. Mithilfe des Produkts der langsameren Reaktion konnte die Mischeffizienz in Abhängigkeit der Durchflussrate quantifiziert werden. Durch die Charakterisierung konnte die Mischeffizienz der einzelnen Mischer verglichen werden. Die grösste Effizienz wies dabei der Mischer auf, der auf dem Prinzip der Multilamellen basierte. Die Quantifizierung des Produktes der langsameren Reaktion ergab bei maximaler Flussrate 10-fach tiefere Werte als beim Mischen mittels Raupenmischer. Im zweiten Teil der Bachelorarbeit wurden Methoden zur Durchführung von Fällungsreaktionen erarbeitet. Als Modellsubstanzen dienten Bariumsulfat, welches mittels Reaktionskristallisation hergestellt und L-Asparagin, das durch Verdrängungskristallisation gebildet wurde. Bariumsulfatpartikel konnten mit einer definierten Grösse zwischen 80 und 200 nm reproduzierbar hergestellt werden. Bei der Verdrängungskristallisation zeigten erste Versuche, dass ein solcher Prozess bei weiterer Methodenoptimierung zur Herstellung reproduzierbarer Partikel angewendet werden kann.



Mikrosystemanlage, mit Platz für drei Mischplätze (links), schematische Darstellung des Prallstrahlmischers (rechts).

Expression, Aufreinigung und Charakterisierung der extrazellulären Domänen des EGF Rezeptors und von ErbB-2/HER2



Diplomand	Flavio Mehli
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Christiane Zaborosch
Korrektor extern	Dr. Roger Beerli, NBE-Therapeutics AG

Die humanen Proteine EGFR (Abb.1) und HER2 sind Vertreter der epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptoren und regulieren das Zellwachstum bei gleichzeitiger Verhinderung des apoptotischen Zelltods. Diese Rezeptoren sind in verschiedenen Tumorarten stark überexprimiert und begünstigen damit das unkontrollierte Wachstum von Tumorzellen. Folglich sind beide Proteine wichtige Targetmoleküle einer gezielten Krebstherapie.

Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurden die beiden extrazellulären Domänen von EGFR und HER2 rekombinant in eukaryontischen Zellen hergestellt und zur Homogenität gereinigt. Die Charakterisierung beinhaltete die Bestimmung der Identität, Reinheit und der biologischen Funktionalität. Als bioanalytische Methoden wurden SDS-PAGE, Western Blot, isoelektrische Fokussierung, Size Exclusion Chromatography und Massenspektrometrie verwendet. Des Weiteren wurden mit den bei-

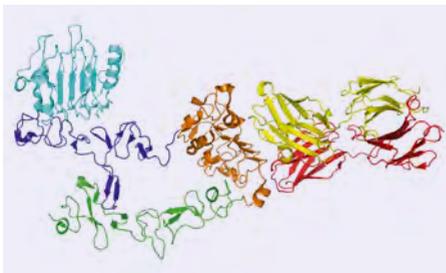


Abb. 1: Struktur der extrazellulären Domäne von EGFR und des Fab-Fragments des mAb Cetuximab (gelb und rot) (PDB 1YY9).

den isolierten Wachstumsfaktor-Rezeptoren sowohl mit kommerziellen (Cetuximab und Trastuzumab) als auch mit in der Entwicklung befindlichen Antikörpern EC50-Werte mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) und Affinitäten mittels Surface Plasmon Resonance (SPR) an einem Biacore T200 Gerät bestimmt.

Beide komplex aufgebauten, hoch-glykosylierten Proteine wurden in biologisch aktiver Form im Milligramm-Massstab mit einer Reinheit von > 95 % hergestellt.

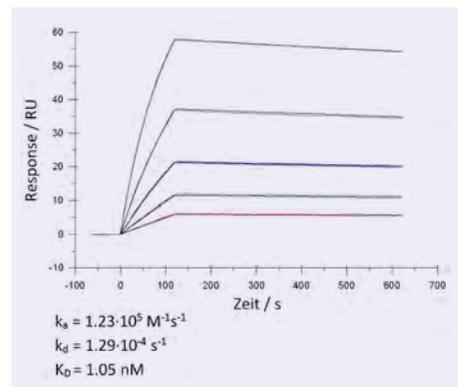


Abb.2: SPR-Sensorgramm der Bindung der extrazellulären Domäne von HER2 an den mAb Trastuzumab.

Lumineszierende Partikel als Reportersysteme



Diplomandin	Manuela Meister
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Christian Hinderling
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, Metrohm AG

Die Bachelorarbeit beinhaltete eine Machbarkeitsstudie eines universellen Markierungssystems, um die Menge und die Verteilung einer aufgetragenen Beschichtung zu bestimmen. Dazu wurden als ein mögliches Reportersystem lumineszierende Nanopartikel verwendet. Dabei handelte es sich um phosphoreszierende, wasserlösliche ZnS:Cu,Co-Nanopartikel [1]. Für die Charakterisierung der Partikel wurde neben der Partikelgrößenverteilung, die UV/VIS-Absorbanz, die Fluoreszenz-Intensität und die Abklingzeit der Phosphoreszenz untersucht.

Im Folgenden wurde die Eigenschaft der Phosphoreszenz ausgenutzt, um die in einem wässrigen Medium gelösten Partikel nach dessen Auftragung zu detektieren und zu quantifizieren. Die Wahl eines phosphoreszieren-

den Systems hat den Vorteil, die Störung der Hintergrundfluoreszenz zu umgehen. Für eine optimale Anregung der Partikel wurden selbstgebaute UV-LED-Kombinationen verwendet.

Die auf der Oberfläche aufgetragenen Partikel wurden mithilfe eines CCD-Chips einer Kamera (CCD = charge-coupled device) detektiert. Dabei wurden die aufgetragenen Partikel vorgängig für zwei Minuten mit einer Strahlungsquelle angeregt und anschliessend deren Phosphoreszenz fotografiert und ausgewertet. Durch geeignete Programmierung konnten die drei Farbenen aufsummiert und als quantitative 3D-Auswertung dargestellt werden (Abb. 1).

[1] L. Ma, W. Chen, *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115, 8940-8944

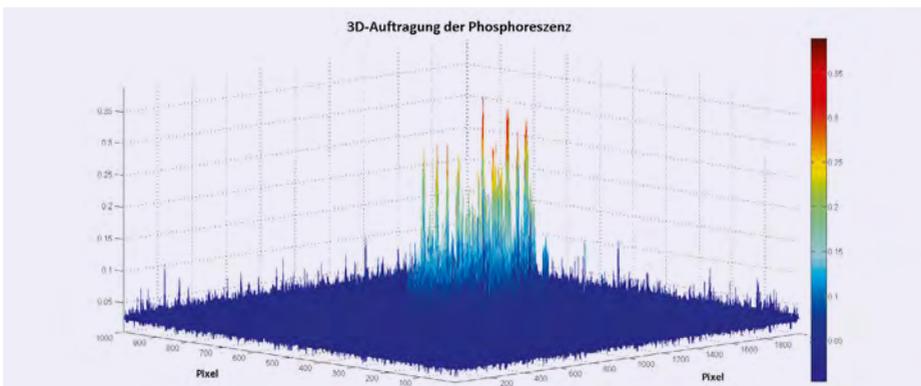


Abb. 1: 3D-Auftragung der Phosphoreszenz-Intensität der ZnS:Cu,Co-Nanopartikel. X- und Y-Achse als diskrete Abtastwerte (Pixel) für die Lokalisierung der Partikel, Z-Achse als relative Farbinformation zur Quantifizierung der Lichtintensität.

Methodenentwicklung zur Bestimmung der Oberflächenenergie und deren Komponenten



Diplomandin	Lorena Moll
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Andrei Honciuc
Korrektor extern	Dr. Ulrich Pahl, Metrohm AG

Für die Bestimmung der Oberflächenenergie und deren Komponenten wurde eine Methode entwickelt. Die Methodenentwicklung wurde mit PS-DVB-Mikropartikeln durchgeführt, die von der Firma Metrohm AG zur Verfügung gestellt wurden. Als Analysegerät diente ein Tensiometer, welches die Massenzunahme eines Lösemittels in einer Kapillare – mit Analyt befüllt – aufzeichnet (Abb. 1). Aus diesen Daten wurden die Kontaktwinkel nach Washburn bestimmt. Die Komponenten-Analyse der Oberflächenenergie (SFE) wurde nach der Methode von Owens, Wendt, Rabel und Kaelble (OWRK) durchgeführt, mit welcher die polare und die disperse Komponente der SFE bestimmt werden konnte. Die Gleichung der Software ist in Abb. 2 gegeben. Der Hauptteil der Methodenentwicklung bestand aus dem

Optimieren der Packungsparameter und der Auswahl geeigneter Lösemittel. Die entwickelte Methode besteht aus dem Vorreinigen der Probegefässe mit UV-Ozon, anschliessendem Einwiegen der Partikel und Verdichten der Schüttung mittels einer Zentrifuge mit Ausschwingrotor. Jede Probe wurde mit mindestens vier verschiedenen Lösemitteln analysiert. Für die PS-DVB-Partikel eigneten sich die Lösemittel Benzol, Chloroform, Dichlormethan, DMSO und Toluol.

Es wurden Partikel von verschiedenen Batches aus demselben Grundmaterial analysiert. Diese wurden durch verschiedene Polymerisationsverfahren hergestellt. Zusätzlich wurden zwei sulfonierte Batches vermessen. Jeder Batch wies unterschiedliche physikalische Eigenschaften auf. Mit der Methode gelang es, dieses unterschiedliche Verhalten mit Zahlenwerten (totale SFE, disperse und polare Komponente) zu beschreiben. Zum Schluss wurden Janus-Nanopartikel analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass auch auf diese Partikel diese Methode anwendbar ist, sie müsste jedoch weiter optimiert werden.

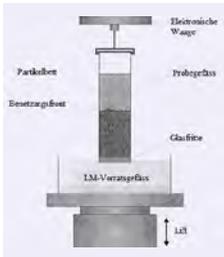


Abb. 1: Schematischer Aufbau eines Tensiometers. Probengefäss mit einer Analysenwaage gekoppelt, welche die Massenzunahme des Lösemittels aus dem Vorratsgefäss gegenüber der Zeit aufzeichnet.

$$\frac{1}{2} \cdot \frac{\sigma_L (1 + \cos \theta)}{\sqrt{\sigma_L^d}} = \underbrace{\sqrt{\sigma_S^p}}_a \cdot \underbrace{\sqrt{\frac{\sigma_L^p}{\sigma_L^d}}}_x + \underbrace{\sqrt{\sigma_S^d}}_b$$

Abb. 2: Gleichung der Software, für die Berechnung nach OWRK.

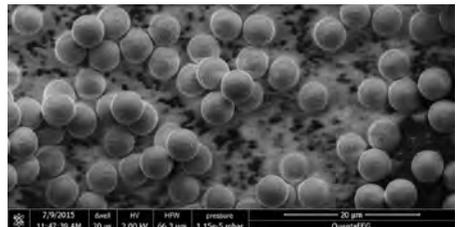


Abb. 3: SEM-Aufnahme eines PS-DVB-Partikel Batches.

Syntheseversuch von neuen Liganden für Metalloproteasen



Diplomand	Tobias Moll
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Rainer Riedl
Korrektor extern	Dr. Samuel Derrer, Eawag

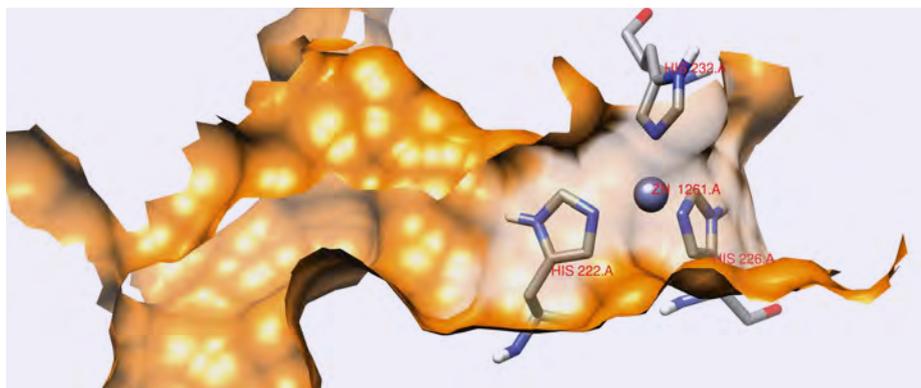
Matrix-Metalloproteasen (kurz MMP) repräsentieren eine Familie von proteolytischen Enzymen, die im aktiven Zentrum ein Metallion enthalten. Bei den Metallionen handelt es sich üblicherweise um Zinkionen. MMP's sind im menschlichen Körper zuständig für verschiedenste Funktionen, wie zum Beispiel die Wundheilung, das Wachstum von Nerven oder die pränatale Entwicklung. Jedoch sind MMP's auch für Krankheiten wie Krebs, Multiple Sklerose oder Alzheimer essentiell.

Eine Möglichkeit diese Krankheiten zu bekämpfen, ist es, gezielt MMP's zu hemmen, welche für die Krankheit essentiell sind. Mittels Computerprogrammen können Inhibitoren so entworfen werden, dass sie theoretisch passgenau in die aktive Tasche des Proteins passen und durch verschiedene Wechselwirkungen, wie hydrophobe Stellen oder Wasserstoffbrücken, an Ort und Stelle gehalten wer-

den. Zusätzlich zu diesem Teil des Inhibitors, der spezifisch für eine einzige MMP designt wurde, wurde eine Zink-bindende funktionelle Gruppe angefügt, um so die biologische Aktivität zu verbessern.

Ausgehend von am Computer designten Molekülen wurde eine Syntheseroute gewählt, um die Moleküle im Labor herzustellen. Zwar kann ein Molekül digital perfekt passen, jedoch basieren alle diese Erkenntnisse lediglich auf einem Modell und müssen somit experimentell überprüft werden. Erst biologische Testreihen können Sicherheit geben, ob ein Inhibitor tatsächlich die gewünschte Funktion erfüllen kann oder nicht.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde versucht, mehrere solcher Inhibitoren herzustellen. Durch mehrstufige, organische Synthesen konnten dabei erste Zwischenstufen erzielt werden.



ED-XRF versus WD-XRF – Methodenentwicklung für die Analyse von Sedimenten



Diplomand	Samuel Mühlemann
Korrektor ZHAW	Dr. Peter Lienemann
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, Metrohm AG

Seit der industriellen Nutzung von metallischen Werkstoffen durch den Menschen wurde der Boden zunehmend mit Schwermetallen belastet. Zur Abschätzung der Bodenkontamination, z. B. bei der Sanierung von Altlasten in Industriezonen, müssen Bodenproben analysiert und die ermittelten Werte mit Richtwerten verglichen werden. Die Röntgenfluoreszenzspektrometrie (XRF) bietet eine schnelle Methode, um qualitative und quantitative Ergebnisse zu erhalten. Die Quantifizierung mittels XRF ist jedoch bei Sedimenten aufgrund diverser Matrixeinflüsse anspruchsvoll.

In dieser Arbeit wurde eine Analysenmethode optimiert, um Übergangsmetalle und Schwermetalle in Sedimenten qualitativ und quantitativ zu erfassen. Dies wurde sowohl

mit der wellenlängendispersiven Röntgenfluoreszenzspektrometrie (WD-XRF), als auch mit der energiedispersiven Röntgenfluoreszenzspektrometrie (ED-XRF) durchgeführt. Um die beiden Messverfahren miteinander zu vergleichen und die jeweiligen Stärken und Schwächen der Röntgenspektrometer sichtbar zu machen, wurden neben diversen Boden- und Sedimentproben auch Proben aus dem Schlammsammler von zwei Autogargaren analysiert.

Es konnte gezeigt werden, dass leichtere Elemente des Periodensystems bis und mit Niob vorzugsweise mit WD-XRF analysiert werden sollten (Abb. 1). Die Auflösung der Signale mit diesem Verfahren ist deutlich besser, was die Quantifizierung von Elementen mit niedriger Ordnungszahl erleichtert. So wurden in diesem Bereich mittels WD-XRF kleinere Unsicherheiten bei der Kalibrierung erreicht als mittels ED-XRF. Für die Übergangsmetalle lagen die Nachweisgrenzen zwar bei beiden Messmethoden im gleichen Konzentrationsbereich, für Elemente ab Niob wurden aber mit der ED-XRF bessere Resultate bezüglich Unsicherheit, Auflösung und Nachweisgrenze erzielt (Abb. 2). Dies wurde in Kombination mit einer höheren Anregungsspannung bis 100 kV, einer speziellen geometrischen Anordnung der Gerätekomponenten im ED-XRF und einem entsprechenden Germanium Halbleiterdetektor ermöglicht.

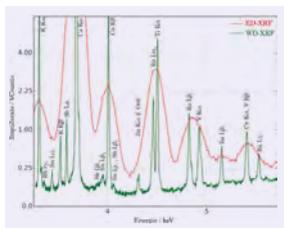


Abb. 1: Spektren der beiden Messverfahren im tiefen Energiebereich; mittels WD-XRF wurden deutlich bessere Resultate erzielt.

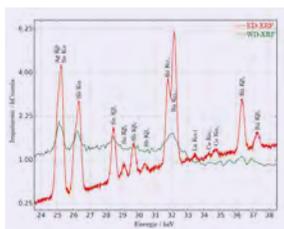


Abb. 2: Spektren der beiden Messverfahren im Bereich der Schwermetalle. In diesem Energiebereich lagen die Vorteile deutlich beim ED-XRF.

Vergleichende Analyse von getrockneten und fermentierten Tabakblättern mittels GC-MS



Diplomand	Michel Niklaus
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Chahan Yeretzian
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, Metrohm AG

Bei der Tabakverarbeitung zur Herstellung von Zigarren werden die Blätter nach der Trocknung zur Veredelung einer Fermentation unterzogen. Dazu werden die Tabakblätter in grossen Mengen für mehrere Monate übereinander gelagert, währenddessen die Fermentation abläuft. Zwischendurch werden die Stapel auseinander genommen, wieder befeuchtet und erneut gestapelt. Dieser Prozess wird so oft wiederholt, bis die gewünschte Qualität erreicht ist. Bei der Fermentation werden organische Stoffe aus den Tabakblättern von Mikroorganismen enzymatisch umgesetzt, und es entstehen u. a. qualitätsverbessernde Tabakaromen.

Die Bachelorarbeit befasste sich mit dem Einfluss dieser Fermentation auf die Tabak-inhaltsstoffe mittels Headspace-Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (HS-GC-MS, Abb. 1). Dazu wurden getrocknete Tabakblätter mit fermentierten Tabakblättern aus jeweils drei Chargen verglichen. Ziel war die Identifizierung möglichst vieler Inhaltsstoffe, um die durch die Fermentation hervorgerufenen Unterschiede herauszuarbeiten.

Von im Schnitt ca. 90 detektierten Substanzen konnten jeweils 60 % sicher identifiziert werden. Zur Identifikation wurden zum einen die MS-Spektren per Datenbankabgleich und zum anderen, die für jede Verbindung errechneten Kovats-Indices herangezogen.

Hierbei zeigte sich, dass sich der Grossteil der Inhaltstoffe in ihren Konzentrationen nicht unterschied und somit nicht von der Fermentation beeinflusst wird. Jedoch konnte bei wichtigen Tabakaromen ein positiver Einfluss der Fermentation nachgewiesen werden. Dies war vor allem bei Tabak mit der besten Qualität (2014/15) der Fall, wo beispielsweise der Gehalt an Solanon im fermentierten Tabak viel höher war als beim getrockneten (nicht fermentiertem) Tabak (Abb. 2). Andererseits wurden auch Vorläufer-Substanzen gefunden, die durch die Fermentation vermutlich zu Tabakaromen abgebaut werden.

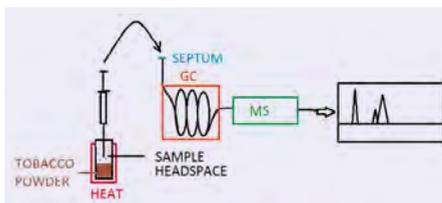


Abb. 1: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung des Headspace-GC-MS.

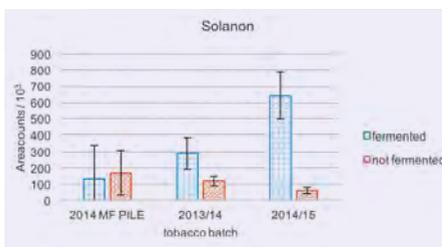


Abb. 2: Vergleich von Solanon in fermentiertem und nicht fermentiertem Tabak: durchschnittliche Qualität: 2014 MF PILE & 2013/14 und beste Qualität: 2014/15.

Monitoring von Wirt-Gast-Wechselwirkungen in mesoporösem Silica



Diplomand	Louis Pezzetta
Korrektor ZHAW	PD Dr. Dominik Brühwiler
Korrektorin extern	Susanne Widmer, Amt für Umwelt und Energie des Kantons St. Gallen

Bei Arrays of Silica Nanochannels (ASNCs) handelt es sich um längliche mesoporöse Silicapartikel mit einer hexagonalen Querschnittsfläche und parallel ausgerichteten Nanokanälen. ASNCs sind ideale Wirtsmaterialien zur supramolekularen Organisation von Gastmolekülen. Deshalb sollte in dieser Arbeit die Wechselwirkung zwischen ASNCs und einem Gastmolekül untersucht werden, um diese Wechselwirkungen besser zu verstehen. Insbesondere wurde die Geschwindigkeit bestimmt, mit welcher das Molekül mit funktionellen Gruppen an der Partikelaußenseite oder an der Porenoberfläche reagiert.

Zu diesem Zweck wurde die Oberfläche der ASNCs mit zwei verschiedenen Aminoorganosilanen funktionalisiert. Die am Silica gebundenen Amino-Gruppen konnten mittels Fluorescamin mit einer Fluoreszenz Turn-On Methode quantifiziert werden (Abb. 1). Die zwei verwendeten Aminoorganosilane (3-Aminopropyl-triethoxysilan und 3-Aminopropyl-trimethoxyethoxyethoxysilan) führten zu einer unterschiedlichen Verteilung der Amino-Gruppen auf der Oberfläche (Abb. 2). Basierend auf dem Verlauf der Reaktion von Fluorescamin mit den Amino-Gruppen wurden Rückschlüsse über die Reaktionsgeschwindigkeit an der Partikelaußenseite und an der Porenoberfläche gezogen.

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die Reaktion deutlich schneller an der Porenoberfläche verläuft als an der Partikelaußenseite. Dies widersprach der ursprünglichen Annahme, dass die Amino-Gruppen an der Aussenseite durch Diffusion begünstigt werden und somit schneller reagieren als die Amino-Gruppen an der Porenoberfläche, welche für das Fluorescamin schlechter erreichbar sind.

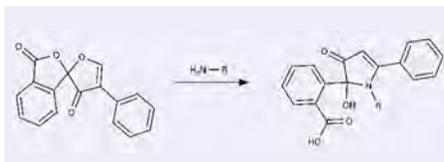
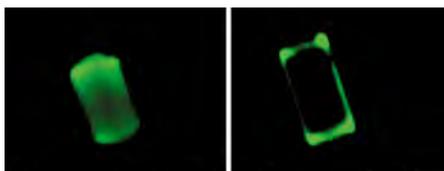


Abb. 1: Reaktion von Fluorescamin mit einem primären Amin. Das gebundene Fluorescamin wird dabei zu einem Fluorophor.



3-Aminopropyl-triethoxysilan 3-Aminopropyl-trimethoxyethoxyethoxysilan

Abb. 2: Das CLSM Bild zeigt die unterschiedliche Verteilung der Amino-Gruppen auf den ASNCs. Die Amino-Gruppen wurden mit Fluoresceinisothiocyanat markiert.

Immobilisierung und Analyse von Lipase in mesoporösem Silica



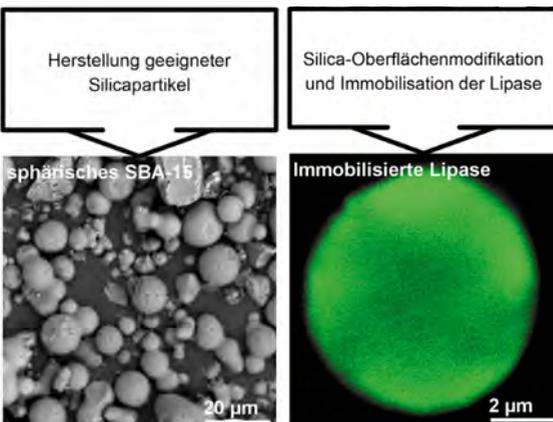
Diplomand	Armin Picononi
Korrektor ZHAW	PD Dr. Dominik Brühwiler
Korrektorin extern	Susanne Widmer, Amt für Umwelt und Energie des Kantons St. Gallen

Die Industrie setzt immer häufiger auf die Effizienz, Chemo- und Enantioselektivität, gegenseitige Kompatibilität und Umweltverträglichkeit von Enzymen. Diese können jedoch empfindlich auf hohe Temperaturen, untypische pH-Werte und hohe Konzentrationen an Salzen, Lösungsmitteln, Tensiden u. ä. reagieren, was zum Verlust der nativen Proteinstruktur oder zur Inhibition des katalytischen Zentrums führen kann. Daher ist es sinnvoll, Enzyme durch optimierte Umgebungen zu schützen, zu stabilisieren und gezielt zu beeinflussen.

Für die Immobilisation der Lipase von *Rhizomucor miehei*, wurden sphärische SBA-15 Silicapartikel hergestellt und verschiedene

Parameter für eine verbesserte Sphärenbildung, Porengrösse und Partikelgrösse angepasst. Um den Einfluss unterschiedlicher Oberflächeneigenschaften auf die Aktivität und das Herauslösen der immobilisierten Lipase zu untersuchen, wurden verschiedene Funktionalisierungen der Silicaoberfläche durchgeführt. Um die Lipase am Herauslösen zu hindern, wurden Postmodifikationen mit 3-Aminopropyltris(methoxyethoxyethoxy)silan (APTMEES) für die Verengung der Poreneingänge, sowie 3-(Ethyliminomethylidenamino)-N, N-dimethyl-propan-1-amin (EDC) für die kovalente Bindung zwischen der Lipase und der Silicaoberfläche eingesetzt. Für die Aktivitätsbestimmung der immobilisierten Lipase wurde 4-Nitrophenolacetat verwendet und die immobilisierte Enzymmenge wurde indirekt über die Absorbanz bei 280 nm ermittelt. Die Verteilung des

Rasterelektronenmikroskop-Aufnahme der eingesetzten Silicapartikel (links) und konfokale Laser-Scanning-Mikroskopaufnahme einer Silicasphäre mit optischem Schnitt in der Mitte der Sphäre, welche mit fluoreszenz-markierter Lipase beladen wurde (rechts).



mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC) angefärbten Enzyms im mesoporösen Silica wurde mittels konfokaler Laser-Scanning Mikroskopie untersucht (siehe Abb.). Es zeigte sich, dass die mit 3-Aminopropyltriethoxysilan (APTES) und 3-Aminopropyl-diisopropylethoxysilan (APDI-PES) funktionalisierten Proben vor allem in Kombination mit EDC die besten Eigenschaften für die Immobilisation aufweisen. Mit APTMEES konnten die Poreneingänge nachweislich verengt werden.

Herstellung und Charakterisierung von Fab-Fragmenten eines Interleukin-17A-spezifischen monoklonalen Antikörpers (mAb)



Diplomand	Alexander Pölterl
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Christiane Zaborosch
Korrektor extern	Dr. Philippe Saudan, Cytos Biotechnology AG

Surface Plasmon Resonance (SPR) ist eine etablierte Methode zur markierfreien Echtzeitmessung von Ligand-Analyt-Interaktionen. Diese kann sowohl zur Bestimmung von Assoziations- und Dissoziationsgeschwindigkeitskonstanten und somit der Affinität, als auch zur Bestimmung von Konzentrationen verwendet werden. IL-17A ist ein homodimeres proinflammatorisches Zytokin (Abb. 1), das von einer Untergruppe von T-Zellen sekretiert wird. Erhöhte IL-17A Konzentrationen gehen mit verschiedenen Autoimmunerkrankheiten einher, weshalb verschiedene Pharmafirmen Antikörper gegen IL-17A entwickeln. Da IL-17A als Homodimer vorliegt und mAb zwei Bindungsstellen aufweisen, treten bei Affinitätsbestimmungen mittels SPR Aviditätseffekte auf, die die Messung von korrekten K_D -Werten stören. Mit Fab-Fragmenten können die Messungen ohne Aviditätseffekte durchgeführt werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Fab-Fragmente eines IL-17A-spezifischen mAb, der die gleiche Sequenz wie ein in klinischer Entwick-

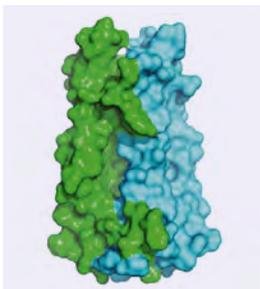


Abb. 1: Struktur des Homodimers IL-17A mit den beiden Monomeren in hellgrün und türkis (PDB 4HR9).

lung befindlicher mAb von Eli Lilly aufweist, durch Proteolyse mit der Cysteinprotease Papain hergestellt und mittels Affinitätschromatographie mit Protein A aufgereinigt. Nach Aktivierung der Protease mit L-Cystein entstehen die Fab-Fragmente durch Hydrolyse der Peptidbindung zwischen den Aminosäuren Histidin und Threonin in der Hinge-Region des mAb (Abb. 2). Die hergestellten Fab-Fragmente, der intakte mAb und das IL-17A wurden mittels SDS-PAGE, Size-Exclusion Chromatography und Massenspektrometrie (Abb. 3) charakterisiert.

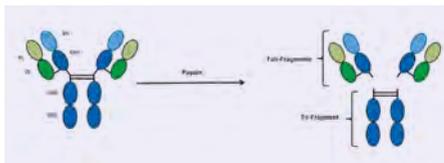


Abb. 2: Proteolyse eines IgG1 mit Papain.

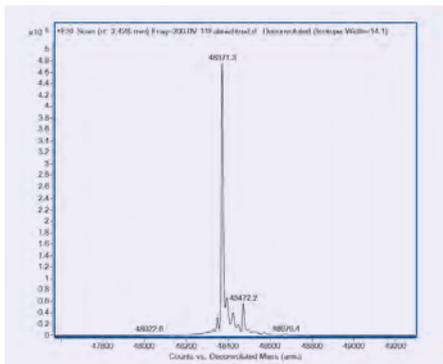


Abb. 3: Massenspektrum des Fab-Fragments des IL-17A-spezifischen mAb.

Entwicklung eines Sulfatierungsprozesses im Labormassstab



Diplomand	Simon Raphael Rieder
Korrektor ZHAW	Dr. Marc Bornand
Korrektor extern	Dr. Dominique Huber, Pöyry AG

Sulfatierungen werden grosstechnisch in Fallfilmreaktoren durchgeführt. Fallfilmreaktoren bestehen aus einem oder mehreren Rohren, in denen eine organische Flüssigkeit an der Innenwand dünn aufgetragen wird und langsam herunter fließt. Dieser Film absorbiert Schwefeltrioxid aus einem Gasstrom, der durch die Rohrmitte verläuft. Im Flüssigkeitsfilm findet anschliessend die Reaktion zwischen dem organischen Edukt und Schwefeltrioxid statt.

Im Verlauf dieser Bachelorarbeit wurde eine Laboranlage für Sulfatierungen entwickelt und aufgebaut. Ausser einem Fallfilmreaktor werden für den Betrieb einer solchen Anlage Peripheriegeräte wie ein Gaswäscher zur Elimination des überschüssigen Schwefeltrioxids aus dem Abgas und diverse aufeinander abgestimmte Pumpen benötigt. Die Anlage konnte am Ende der Arbeit in Betrieb genommen werden und erste Versuche zur kontinuierlichen Sulfatierung wurden durchgeführt. Aufgrund der stark korrosiven Eigenschaften von Schwefeltrioxid mussten für die Verbindungen, Ventile und Transferleitungen besonders resistente Materialien verwendet werden. Ein zusätzliches Bypass-System wurde für den Fall einer schnellen Abschaltung konzipiert. Das Kernstück der Anlage war der selbst entworfene Fallfilmreaktor, wo die Auftragung des organischen Materials als Film im Reaktor besonders knifflig ist (Abb. 1). Hierfür zeigte ein Präzisionsteflon-Werkstück die

besten Resultate. Weil es im Fachhandel kein entsprechendes Bauteil zu kaufen gab, wurde das Teflonstück selbst entwickelt und auch an der ZHAW Wädenswil in der Werkstatt angefertigt. Die Resultate der Filmauftragung mit dem Teflon-Bauteil waren sehr gut und nach kurzer Einlaufzeit konnten perfekte Filme erzeugt werden. Ausserdem wurden mit einem speziellen, an der ZHAW entwickelten Gaswäscher mit einem Weithalsfass zum Reinigen der Abgase deutlich bessere Resultate erzielt als mit einem herkömmlichen Kolonnenwäscher (Abb. 2).



Abb. 1: Filmauftragung im Fallfilmreaktor.



Abb. 2: Abgas mit Schwefeltrioxid Aerosol.

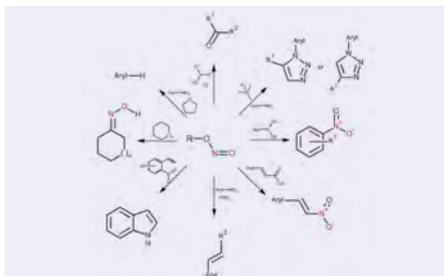
Untersuchung der Reaktivität verschiedener Alkylnitrite



Diplomand	Willi Schirmer
Korrektor ZHAW	Dr. Christian Frech
Korrektoren extern	Dr. Christoph Taeschler, Dr. Ulrich Mayerhöffer; Lonza AG

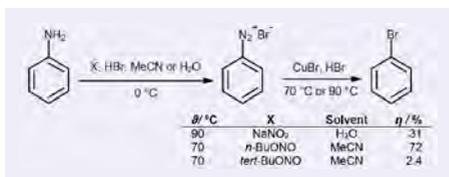
Diazotierungen und Nitrosylierungen werden in gängigen Synthesen mit sauren, wässrigen Natriumnitritlösungen durchgeführt. Diese Durchführung beschränkt sich auf Reaktanden, die gut wasserlöslich und stabil gegen stark saure Lösungen sind. Alkylnitrite zeigen ähnliche Reaktivitäten, man kann sie jedoch auch in organischen Lösemitteln oder unter neutralen und basischen Bedingungen einsetzen. Eine Literatursuche ergab, dass 89 % der mit Alkylnitriten durchgeführten Reaktionen von *tert*-Butylnitrit oder *iso*-Amylnitrit ausgehen.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass *n*-Butylnitrit in der Sandmeyer-Reaktion deutlich bessere Ausbeuten liefert als *tert*-Butylnitrit oder ein mittels Natriumnitrit diazotiertes

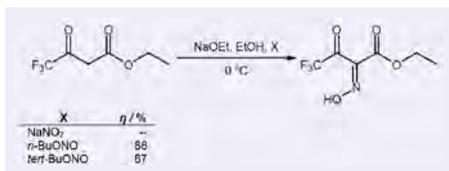


Darstellung diverser Moleküle mittels Alkylnitrite.

Amin. Eine Methode, bei der Kupfer(II)bromid als Bromierungsreagenz dient, zeigte, dass unter diesen Bedingungen *tert*-Butylnitrit als Diazotierungsmittel vorzuziehen ist. Bei der basisch durchgeführten α -Oximierung von Carbonylen konnten jedoch keine nennenswerten Unterschiede bezüglich Reaktivität von *n*-Butylnitrit und *tert*-Butylnitrit festgestellt werden. Die Ergebnisse zeigten, dass abhängig vom gewählten Verfahren ein spezifisches Alkylnitrit vorzuziehen ist, in keiner der durchgeführten Sandmeyer-Reaktionen konnte mit Natriumnitrit das beste Ergebnis erzielt werden. Durch Nitrite können Oxime und Diazoniumsalze in hohen Ausbeuten erhalten werden. Bei der Oxim- und Diazonium-Gruppe handelt es sich um reaktionsfreudige Gruppen, welche wichtig für die Organische Chemie sind, da durch sie eine Bandbreite an Molekülen synthetisiert werden kann. Es müssten auch bei anderen Reaktionen Vergleiche durchgeführt werden, um ein Diazotierungsmittel bzw. Nitrosylierungsmittel zu favorisieren.



Vergleich der Reaktivitäten von Natriumnitrit, *n*-Butylnitrit und *tert*-Butylnitrit bei der Sandmeyer-Reaktion von Anilin.



Vergleich der Reaktivitäten von *n*-Butylnitrit und *tert*-Butylnitrit bei der basischen α -Oximierung von 4,4,4-Trifluoracetessigsäureethylester.

Evaluieren und Etablieren von Analysenverfahren mittels Durchflusszytometrie zur Quantifizierung von Bakterien in komplexen Matrices



Diplomandin	Larissa Schöb
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Walter Krebs
Korrektor extern	Prof. Dr. Helmut Brandl, Universität Zürich

Durchflusszytometrie (Flow Cytometry) wird routinemässig zur klinischen Diagnose und in der Forschung von eukaryotischen Zellen und Zellsystemen schon seit einiger Zeit eingesetzt. Neue Farbstoffe mit höherer DNA-Affinität und technische Verbesserungen der Geräte haben das Arbeiten mit den Geräten vereinfacht und die Sensivität erhöht, so dass die Detektion von Prokaryoten möglich ist. Seit 2012 ist die Bestimmung der Totalzellzahl im Trinkwasser eine gesetzlich anerkannte Analysenmethode. Auch bei der Quantifizierung von Biofilmen sind zuverlässige und schnelle Methoden essentiell, da die Bildung von Biofilmen weitreichende Folgen in der Medizin sowie in industriellen Systemen haben kann. Mittels Flow Cytometry können in kurzer Zeit alle Zellen, auch die nicht kultivierbaren, gezählt werden. Die Analyse von Biofilmen erschwert sich durch die komplexe Matrix. So müssen anhaftende Biofilme von der Oberfläche abgelöst und danach in Einzelzellsuspensionen überführt werden. In dieser Bachelorarbeit wurden Methoden ent-

wickelt, um Proben mit komplexeren Matrices als Trinkwasser, wie biofilmbildende Organismen in Flüssigkultur und Biofilm mittels Flow Cytometry zu bestimmen. Es wurden Versuche zur Totalzellzahlbestimmung und zur Unterscheidung der lebenden und toten Zellen (Lebend/Tot-Bestimmung) durchgeführt. Bei der Totalzellzahlbestimmung wurde die oben genannte Methode angepasst und durch verschiedene Versuche Erkenntnisse zum Pumpenfluss, Hintergrundsignalen, Probenvorbereitung, Einfluss von Ultraschall und Tensiden gewonnen. Zur Bestimmung der Totalzellzahl von Biofilmen wurden diese in 24-well-Platten gezüchtet und mit verschiedenen Techniken abgelöst (Abschaben, Ausspülen/Abschaben, Ultraschall, Ultraschall/Abschaben, Ultraschall/Ausspülen). Zusätzlich zur Totalzellzahl wurden Lebend/Tot-Bestimmungen mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffkombinationen, SYBR Green® I und Propidiumiodid sowie Thiazol Orange und Propidiumiodid durchgeführt.

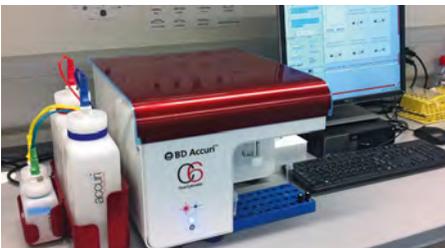


Abb. 1: Flow Cytometer BD Accuri C6™ des Herstellers BD Biosciences. Es enthält 2 Laser (488 nm und 640 nm) und 2 Streugkanäle (FSC, SSC).

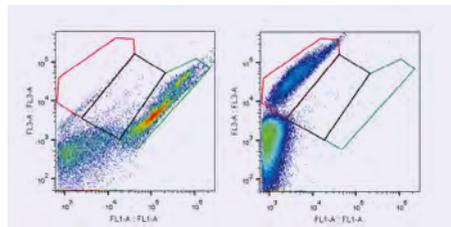


Abb. 2: Flow Cytometer Diagramme: FL1 (533 nm) gegen FL3 (> 670nm) aufgetragen. Links: lebende Zellen (grünes Gate) gefärbt mit SYBR Green® I; rechts: tote Zellen (rotes Gate) gefärbt mit SYBR Green® I und Propidiumiodid.

Automatisierte Restgas-Analyse in einem Transformatoren-Öl mittels Gaschromatographie



Diplomand	Jérôme Sigg
Korrektor ZHAW	Dr. Christian Adlhart
Korrektor extern	Dr. Markus Läubli, Metrohm AG

Damit Hochleistungstransformatoren reibungslos betrieben werden können, müssen diese regelmässig überprüft werden. Eine Möglichkeit dazu ist die Untersuchung der gelösten Gase in Transformatoren-Ölen (DGA, Dissolved Gas Analysis) mittels Gaschromatographie (GC). Für die Analyse werden meist die Gase Wasserstoff (H_2), Methan (CH_4), Kohlenstoffdioxid (CO_2), Kohlenstoffmonoxid (CO), Ethin (C_2H_2), Ethen (C_2H_4) und Ethan (C_2H_6) verwendet. Dazu wurde von der HSLU, der ZHAW und der Firma Inrag AG ein Prototyp konzipiert und gebaut, der die Gase anhand

eines Micro-GC-Moduls mit einer Mehrfachsäulenschaltung und eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors quantifizieren kann. Um die Gase mit dem GC-Modul messen zu können, wurde eine semipermeable Teflon AF-2400 Membran in den Prototypen eingebaut, durch welche die Analytgase vom Trafo-Öl extrahiert wurden. Abbildung 1 zeigt die beiden Chromatogramme einer DGA mit dem Prototypen.

In dieser Arbeit sollte der Prototyp auf seine Betriebsweise untersucht und die Nachweisgrenzen der einzelnen Analytgase bestimmt werden. Anhand von Versuchen zu den Säulendrücken des GC-Moduls, dem Trägergasdruck und der Trägergaswahl (Argon oder Helium), den Temperaturen und den Messzeiten konnte eine empfohlene Betriebsweise vorgeschlagen werden, bei denen die besten Ergebnisse zu erwarten waren. Durch eine Mittelung über 49 Injektionszyklen in der empfohlenen Betriebsweise konnten zudem die Nachweisgrenzen um einen Faktor 6 verbessert werden. Die Verbesserung der Nachweisgrenzen wird in Abbildung 2 aufgezeichnet. Die erhaltenen Nachweisgrenzen liegen bei etwa 1 ppm für H_2 und CH_4 und bei etwa 10 ppm für CO , CO_2 , C_2H_2 , C_2H_4 und C_2H_6 . Letztere erfüllen nicht die Richtlinien der ASTM, welche eine Nachweisgrenze von 1 ppm für C_2 -Gase verlangt. Die ASTM ist die American Society for Testing and Materials und entwickelt standardisierte Prüf- und Analyseverfahren.

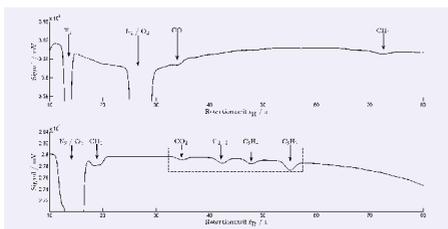


Abb. 1: Die beiden Chromatogramme einer Öl-Messung mit Argon als Trägergas. Die Analytgase sind eingezeichnet.

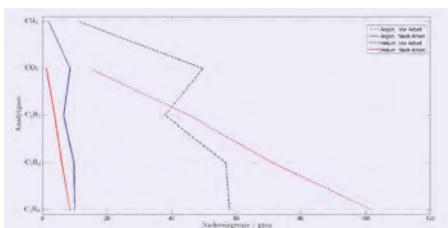


Abb. 2: Auftragung der Nachweisgrenzen c_{min} der einzelnen Analytgase. Für das Trägergas Argon konnte eine Verbesserung der Nachweisgrenze um Faktor 6, für Helium um einen Faktor von 12 erzielt werden.

Verfolgung der Proteinfaltung mittels inline-Raman-Spektroskopie



Diplomand	Tino Spescha
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Achim Ecker
Korrektor extern	Dr. Denis Planchenault, Motorex AG

Im Auftrag eines Industriepartners sollte ein Verfahren entwickelt werden, um den Rückfaltungsprozess solubilisierter Einschlusskörper prozess-analytisch zu verfolgen. Solche Einschlusskörper fallen bei der rekombinanten Proteinexpression in *E. coli* an und müssen während der Aufarbeitung in die native Form gebracht werden. Dabei stellt die Rückfaltung einen entscheidenden Schritt in der Aufarbeitung dar.

Die Solubilisierung der Einschlusskörper erfolgt meist über hohe Konzentrationen an Harnstoff oder Guanidinhydrochlorid, die das Protein über diverse Wechselwirkungen in Lösung bringen. Dabei spielt zum einen die hydrophobe Wechselwirkung des Proteins mit dem Lösungsmittel eine Rolle und zum anderen auch die direkte Interaktion zwischen Protein und Chaotrop. Durch das Zusammenspiel dieser Faktoren erfolgt eine Entfaltung des Proteins in einen denaturierten Zustand, der bereits mehr oder weniger grosse Anteile nativer Sekundär- und Tertiärstrukturelemente aufweist. Die spezifische geometrische Anordnung der Amidbindungen im entsprechenden Sekundärstrukturelement entlang des

Proteinrückgrats verursacht charakteristische Raman-Banden. Die wichtigsten Sekundärstrukturelemente, die den Raman-Banden zugeordnet werden können, sind in Abb.1 dargestellt. Dies sind α -Helices sowie β -Faltblätter. Unter stark denaturierenden Bedingungen während einer thermischen Denaturierung oder auch hohen Konzentrationen an Guanidinhydrochlorid konnte die Denaturierung eindeutig beobachtet werden. Mithilfe der Raman-Banden konnte der Einfluss auf die Sekundärstruktur beobachtet werden und mittels Aktivitätsmessungen wurde die Denaturierung bestätigt.

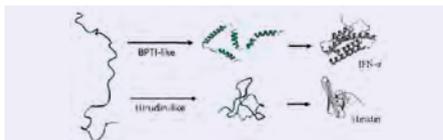


Abb. 2: Darstellung zweier Faltungsabläufe aus der Arbeit von Jui-Yoa Chang 2011 nach dem Framework-Modell (oben) und Hydrophobic collapse-Modell (unten). Komplett entfaltetes Protein (links), Faltungsintermediat (Mitte), natives Protein (rechts).

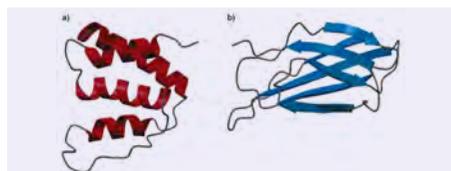


Abb. 1: a) Protein mit α -Helices (rot), b) Protein mit β -Faltblättern (blau). Dobson et al. 1993.

Deutlich schwieriger gestaltete sich die Verfolgung der Sekundärstruktur während einer Rückfaltung. Der Grund dafür könnte ein Faltungsintermediat mit nativähnlicher Sekundärstruktur sein, das sich innerhalb von Sekundenbruchteilen bildet (Abb.2 oben). Im Gegensatz zu diesem sollte die Rückfaltung anhand eines Hirudin-ähnlichen Mechanismus (Abb.2 unten) durch die fehlende Sekundärstruktur im Intermediat verfolgbar sein.

Analyse der Zellaktivität auf der Einzelzellebene



Diplomand	Lukas Stooß
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Bernhard Sonnleitner
Korrektor extern	Dr. Peter Röthlisberger, Lipoid Kosmetik AG

Kontinuierliche Prozesse gewinnen zunehmend an Bedeutung für die biochemische Industrie. Diese Prozesse zu verstehen und zu überwachen, stellt sich jedoch als schwierig dar. Bakterien oder Hefen, welche kultiviert werden, um pharmazeutische Produkte herzustellen, können aktiv oder inaktiv sein. Je höher der Anteil an aktiven Zellen, desto effizienter ein Bioprozess. Aus diesem Grund ist das Wissen über den Zustand der Mikroorganismen erstrebenswert. Die Flow Cytometrie ist in der Lage, Mikroorganismen quantitativ auf der Einzelzellebene zu analysieren und bietet somit die Grundlage für deren Analyse. Eine weitere Voraussetzung für kontinuierliche Prozessführung ist eine 24/7 Überwachung, deshalb wurde die Analyse der Zellen automatisiert. Mit der sogenannten «sequential injection flow cytometry» (SI-FCM) konnte ein Chemostat mit *S. cerevisiae* online verfolgt werden. *S. cerevisiae* besitzt die Eigenschaft, dass eine Population unter bestimmten Bedingungen spontan synchronisiert. Synchronisierte Kulturen eignen sich gut zur Untersuchung der Zellaktivität, da je nach Phase des Zellzyklus die Verfügbarkeit von Energie und somit die Zellaktivität variiert.

Die Bachelorarbeit beschäftigte sich mit dem Aufbau, der Funktionsweise einer SI-FCM Anlage und der Auswertung der Daten, die während einer Batch- und Chemostat-Kultivierung aufgezeichnet wurden. Neben der Bestimmung des «total cell count» konnte die

Aktivität der Zellen mittels Fluoreszeindiacetat (FDA) sichtbar gemacht werden (Abb. 1). Es konnten Subpopulationen mit unterschiedlichen Zellaktivitäten in einer synchronisierten Kultur über die Färbung mit FDA nachgewiesen werden (Abb. 2). Des Weiteren wurde ein Software-Sensor implementiert, um die Zellaktivität aller Zellen in einem numerischen Wert darzustellen.



Abb. 1: Fluoreszeindiacetat wird im Zytosol von *S. cerevisiae* hydrolysiert. Dabei entstehendes Fluoreszein wird mittels Flowcytometer detektiert.

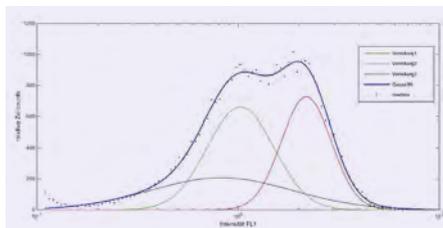


Abb. 2: Mathematisch nachbearbeitetes Fluoreszenzspektrum gemessen mittels Flowcytometer: Trennung der drei Subpopulationen.

Industrielles Verfahren zur enzymkatalysierten Synthese eines nichtionischen Tensids



Diplomand	Benjamin Elias Süess
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Achim Ecker, Dr.-Ing. Peter Riedlberger

Für die industrielle Herstellung eines nichtionischen Tensids wurde in Zusammenarbeit mit der Firma KOLB ein effizienterer und nachhaltigerer Syntheseweg gesucht. Bisher wurden dazu ein Alkohol und eine Dicarbonsäure lösungsmittelfrei mit einer Säure homogenkatalytisch bei hoher Temperatur umgesetzt.

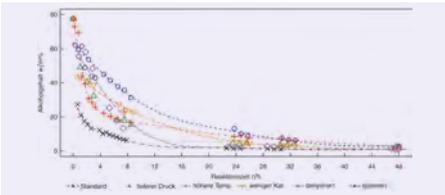


Abb. 1: Kinetik des Restalkoholgehaltes bei Variation der Standardreaktion-Parameter.

Da die Aktivität des dafür eingesetzten Enzyms bei hoher Temperatur – die nötig ist, um die Dicarbonsäure im Alkohol vollständig zu lösen – verloren geht, wurde auf die methylierte Dicarbonsäure ausgewichen. Dadurch entstand als stöchiometrisch anfallendes Koppelprodukt anstelle von Wasser enzymtoxisches Methanol. Dies verdrängte allerdings das für die aktive Tertiärstruktur des Enzyms notwendige Wasser. Durch geschickte Reaktionsführung konnte das Methanol bei der Entstehung abdestilliert und das Enzym so erfolgreich vor der Denaturierung geschützt werden. Zudem wurde durch die kontinuierliche Entfernung des Methanols aus der Reaktionsmischung das Reaktionsgleichgewicht auf die Produktseite verschoben und die Rückreaktion verhindert. Verschiedene Parameter wie

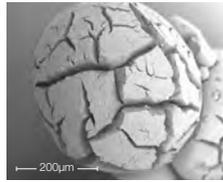


Abb. 2: REM-Aufnahme des Enzympräparates (Vergrößerung: 450 x).

Temperatur, Druck, Katalysatorkonzentration, Stöchiometrie und Wassergehalt der Substrate, sowie die Verwendung der ethylieren anstatt der methylierten Dicarbonsäure wurden untersucht. Der Reaktionsverlauf wurde anhand des Alkoholgehaltes primär gaschromatographisch, aber auch mittels in-line Infrarotspektroskopie verfolgt. Es konnte gezeigt werden, dass der Biokatalysator durch Filtration zurückgewonnen werden kann und seine Aktivität bei wiederholtem Einsatz unverändert bleibt. So konnte durch Optimierung der genannten Parameter (Abb. 1) und mithilfe eines auf einem Trägermaterial immobilisierten Enzyms (Abb. 2), die Synthesetemperatur um 100 °C gesenkt und bereits ohne nachträgliche Reinigungsschritte eine bessere Produktqualität erzielt werden. Bei gleicher Zykluszeit konnten so Material- und Energieeffizienz sowie die Arbeits- und Umweltsicherheit verbessert werden (Abb. 3).

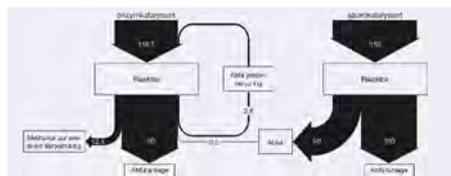


Abb. 3: Gegenüberstellung der Massenflüsse des enzymkatalysierten und des klassischen Prozesses.

Erstellen und Implementieren neuer Aromatizitätsmodelle in einer funktionalen Programmiersprache



Diplomand	Cédric Laurent von Gunten
Korrektoren ZHAW	Dr. Stefan Höck, Prof. Dr. Rainer Riedl
Korrektor extern	Dr. Samuel Derrer, Eawag

Die Aromatizität eines Moleküls gehört zu seinen wichtigsten Eigenschaften. Sie beeinflusst insbesondere die Stabilitäten, Spektren, Bindungslängen, Reaktivitäten, Tautomerien und die physikalischen Eigenschaften der Moleküle. Dennoch existiert keine einheitliche Definition der Aromatizität. Dies wirkt sich auch auf die Cheminformatik aus. Viele Aromatizitätsalgorithmen erkennen Moleküle falsch und arbeiten bei grossen Molekülen nicht mehr effizient.

Diese Bachelorarbeit diente dem Erstellen eines eigenen Aromatizitätsalgorithmus in der funktionalen Programmiersprache Haskell. Im Vergleich zu objektorientierten Programmiersprachen wie Java oder C++ weist eine funktionale Programmiersprache keine Wirkungen auf. Zudem erleichtert der funktionale Aufbau der Sprache die Lesbarkeit und das Verständnis des Quelltexts.

Das Schreiben einer Funktion zur Erkennung der Hybridisierung eines Atoms, steigerte die Effizienz des Aromatizitätsalgorithmus, da dadurch von Anfang an Ringe mit einem sp^3 -hybridisiertem Atom ausgeschlossen werden können. Benchmarks dienen der Überprüfung der gesteigerten Effizienz. Zudem ermöglichen Testfunktionen das Validieren beider Algorithmen. Die grundlegende Vorgehensweise des Aromatizitätsalgorithmus findet sich in Abbildung 1.

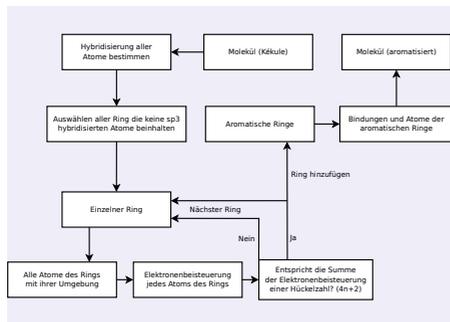


Abb. 1: Flussdiagramm des Algorithmus zur Erkennung aromatischer Ringe.

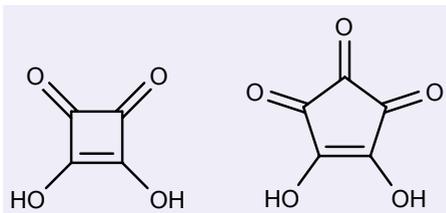


Abb. 2: Ein Grenzfall der Aromatizitätserkennung: links ist die aromatische Quadratsäure und rechts die nicht aromatische Krokonsäure abgebildet.

Um den unterschiedlichen Vorstellungen von Aromatizität gerecht zu werden, lässt sich die Aromatizitätsfunktion mit verschiedenen Parametern vom Benutzer beeinflussen. Dies ermöglicht zum Beispiel eine rekursive Auswertung der Aromatizität, eine Festlegung der maximalen Ringbasis oder eine Begrenzung der maximalen Ringgrösse. Mithilfe dieser Parameter lassen sich Spezialfälle der Aromatizität wie in Abbildung 2 unterscheiden. Zudem ist es durch die rekursive Auswertung möglich, auch grosse Ringbasen effizient zu überprüfen.

Entwicklung einer Kapillarzonelektrophorese-Methode zur Bioanalytik von Proteinen



Diplomand	Andreas Wenger
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Christiane Zaborosch
Korrektor extern	Dr. Rupert Hagg, Microsynth AG

Kapillarelektrophorese ist eine State of the Art-Methode zur Untersuchung der Homogenität und der Reinheit von Proteintherapeutika, die von regulatorischen Behörden für die Marktzulassung verlangt wird. Bei einer Kapillarzonelektrophorese werden die Analyte nach ihrer Mobilität, das heisst nach ihrer Grösse und Ladung in einem elektrischen Feld voneinander getrennt. Durch optimal gewählte Trennbedingungen können sogar Mikroheterogenitäten innerhalb eines Proteins aufgetrennt werden. Während der gesamten Dauer der Elektrophorese herrscht in der Kapillare sowohl eine konstante Feldstärke als auch ein konstanter pH-Wert, da die Kapillare mit einem einheitlichen Trennpuffer gefüllt ist. Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde eine Kapillarzonelektrophorese (CZE)-Methode entwickelt, die auf eine möglichst grosse Vielzahl von unterschiedlichen Proteinen angewendet werden sollte. Die Methode wurde zunächst mit rekombinant hergestelltem, humanem Interleukin-1 β etabliert und zum Ende der Bachelorarbeit auf andere Proteine übertragen. Alle Messungen wurden mit

einem 7100 CE System der Firma Agilent durchgeführt. Zur Trennung der Proteine wurde eine *bare-fused-silica* Kapillare verwendet. Die Optimierung der Trennbedingungen der Kapillarelektrophorese-Methode wurde durch ein Design of Experiments (DoE) realisiert. DoE ist eine statistische Versuchsplanung, bei der versucht wird, mit möglichst wenigen Experimenten die Zusammenhänge zwischen Einflussfaktoren und Zielgrössen aufzuzeigen. Dazu müssen vor einem DoE alle Einflussfaktoren und Zielgrössen eruiert werden und zum Beispiel in Form eines Ishikawa-Diagramms zusammengetragen werden. Die erhaltenen Messdaten wurden mit der Software Modde von Umetrics analysiert und ein Modell über die gefundenen Zusammenhänge erstellt. Aus dem berechneten Modell konnte ein lokales Optimum bestimmt werden, welches anschliessend verwendet wurde, um weitere Einflussfaktoren zu optimieren. Als kritische Einflussfaktoren wurden der pH-Wert und die Ionenstärke des Trennpuffers, die Kapillarlänge, die Kassettemperatur, die angelegte Spannung und die Ionenstärke der Probelösung evaluiert.

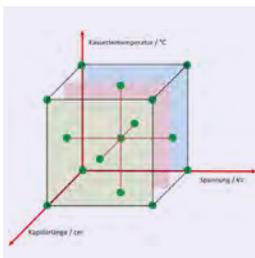


Abb. 1: Central Composite Face (CCF) Design der mittels DOE definierten Experimente. Die drei gleichzeitig untersuchten Einflussfaktoren sind auf den drei Achsen und die durchgeführten Experimente im aufgespannten Volumen als grüne Punkte dargestellt.

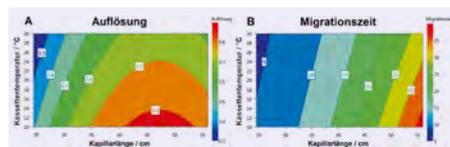


Abb. 2: Response-Surface Plot der beiden optimierten Zielgrössen Auflösung und Migrationszeit in Abhängigkeit der Einflussfaktoren.

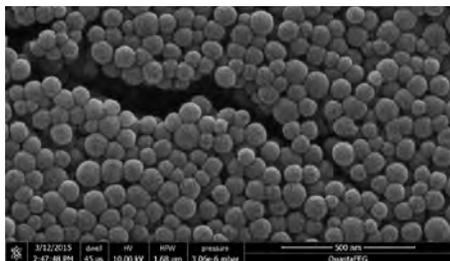
Tensid-freie Synthese von Nanopartikeln durch Emulsionspolymerisation mithilfe von Ultraschall



Diplomand	Roman Zambail
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Andrei Honciuc
Korrektor extern	Dr. Ulrich Pahl, Metrohm AG

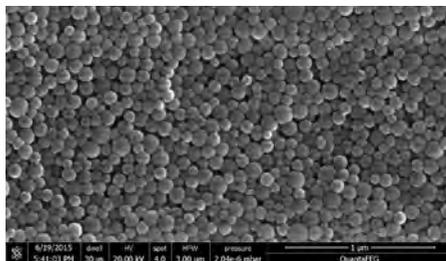
Die vorliegende Arbeit stellt eine innovative, neue Methode zur Tensid-freien Synthese von Nanopartikeln aus Polystyrol-Divinylbenzol und Polystyrol-Divinylbenzol-Vinylbenzolsulfonat mit einem Durchmesser kleiner 100 nm dar. Styrol, Divinylbenzol und Natrium-4-vinylbenzolsulfonat wurden mittels Ultraschall (20 kHz) emulgiert. In Gegenwart eines wasserlöslichen Radikalstarters wurde unter fortgesetzter Ultraschallbehandlung polymerisiert.

Es wurde der Einfluss der absoluten Monomerbeladung und -verhältnisse untersucht. Dies geschah in Bezug auf die Tropfengrösse der Emulsion nach unterschiedlicher Dauer der akustischen Emulsionierung und in Bezug auf Form und Aussehen, Grösse und Dispersität der Nanopartikel. Als weitere relevante Parameter wurden Emulsions- und Reaktionsdauer, Temperatur und Intensität der Ultraschallbehandlung sowie die Art und Konzentration des Initiators untersucht. Mit der präsentierten Methode wurden klar separierte, runde Partikel mit Dispersitäten



Mit 2-Sulfoethylmethacrylat stabilisierte Nanopartikel.

im Bereich von 1.1 – 1.4 gewonnen. Der Einsatz von Stabilisatoren und die resultierende Absenkung der Dispersität auf Werte unter 1.1 stellt eine bedeutende Verbesserung dar. Es konnte eine verminderte Aggregation festgestellt werden, welche durch den Einsatz von polymerisierbaren Stabilisatoren wie 2-Sulfoethylmethacrylat oder nicht-polymerisierbaren Stabilisatoren wie Polyvinylalkohol zusätzlich wesentlich reduziert werden konnte.



Nanopartikel mit wasserlöslichem Comonomer Natrium-4-vinylbenzolsulfonat.

Es konnte jedoch mit den zur Verfügung stehenden Messmethoden kein Beweis für eine Änderung der Polarität der synthetisierten Nanopartikel in Abhängigkeit der Natrium-4-vinylbenzolsulfonat-Beladung erbracht werden. Es liegt auf der Hand, dass neue Messmethoden identifiziert und evaluiert werden müssen, um die Polarität, der mit dieser Synthesemethode gewonnenen Nanopartikeln, zu bestimmen. Die hier vorgestellte Synthesemethode ist gut reproduzierbar und robust gegenüber Änderungen der Reaktionsbedingungen.



« Nach dem
Chemiestudium
in Wädenswil
sind Sie für
verantwortungsvolle
Aufgaben bestens
vorbereitet und
gefragt. »

Institut für Chemie und Biologische Chemie – Wo die Chemie lebt!

Ein junges, motiviertes Team von über 60 Dozierenden, wissenschaftlichen und assistierenden Mitarbeitenden prägt die dynamische Atmosphäre am Institut für Chemie und Biologische Chemie (ICBC). Hier wird eine moderne Auffassung der angewandten Chemie gelebt. Dies spiegelt sich in Aus- und Weiterbildung, in Forschung und Entwicklung, im Dienstleistungsangebot und in den nationalen und internationalen Kontakten und Kooperationen wider.

Kompetenzen

Die Fragestellungen der anwendungsorientierten Forschung und Entwicklung berühren fast immer mehr als ein Fachgebiet und werden zunehmend komplexer und interdisziplinärer. Mit einer modernen Interpretation der Chemie und seinem besonderen Profil trägt das Institut dieser Entwicklung Rechnung.

Bachelor- und Masterstudiengänge

Chemikerinnen und Chemiker befassen sich mit dem Aufbau, den Eigenschaften und der Umwandlung von Stoffen. Sie entwickeln neue Substanzen mit speziellen Eigenschaften, planen und organisieren die Produktion chemischer Erzeugnisse und überwachen deren Qualität und Sicherheit.

www.zhaw.ch/icbc/studium

Weiterbildung (Lehrgänge, Kurse) und fachlicher Austausch

Wir entwickeln kundenspezifische Kurse in Theorie und Praxis. Unser CAS in The Science and Art of Coffee ist das erste Kaffee-Weiterbildungsstudium an einer Schweizer Hochschule. Spezifische Fachtagungen, teilweise in internationalem Kontext, bieten eine zusätzliche Plattform für die Wissenserweiterung und den fachlichen Austausch.

www.zhaw.ch/icbc/weiterbildung

Forschung und Dienstleistung

Unser Institut bringt Fachwissen und Kompetenzen aus den Bereichen der organischen Chemie, der analytischen Chemie, der Biochemie, der Nano- und Materialwissenschaften, dem Ingenieurwesen sowie der Mikro- und Zellbiologie in eine fruchtbare Wechselwirkung. Damit sind wir auch für die Bearbeitung von fachgebietsübergreifenden Fragen, wie sie gerade in der angewandten Forschung typisch sind, bestens vorbereitet. Bei Fragestellungen aus Medizin, Diagnostik, Ökologie, Energie, Grüne Chemie sind wir für KMU, Industrie und öffentliche Hand ein innovativer Partner in Forschung und Entwicklung. Das Departement Life Sciences und Facility Management unterstützt Industrieunternehmen, Gewerbe- und Dienstleistungsbetriebe als kompetenter Partner bei der Einführung neuer Produkte, bei mangelndem Know-how oder fehlender Infrastruktur.

www.zhaw.ch/icbc

Perspektiven: Master und Weiterbildung

Master

Nach erfolgreichem Abschluss Ihres Bachelorstudiums können Sie an der ZHAW in Wädenswil einen forschungsbasierten und praxisorientierten Master of Science in Life Sciences absolvieren. Als Vertiefungsrichtung wird an der ZHAW Life Sciences und Facility Management Chemistry for the Life Sciences angeboten.

www.zhaw.ch/icbc/master

Mit einem Masterabschluss übernehmen Sie eine breite Verantwortung in den Bereichen Labor, Betrieb, Technik, Führung und Management, wie zum Beispiel in der Industrie und Produktion, der Forschung und Entwicklung oder in der Beratung und in Kantons- und Bundesstellen.

Weiterbildung

Selbstverständlich können Sie auch praxisbezogene Weiterbildungskurse oder Weiterbildungsstudiengänge (MAS, DAS, CAS) an einer Fachhochschule oder Universität besuchen. Auch die Teilnahme an Fachtagungen, z. B. am Institut für Chemie und Biologische Chemie, bietet Ihnen neues Wissen und fachliche Vernetzung.

www.zhaw.ch/icbc/weiterbildung

Anmeldung:

Machen Sie den nächsten Schritt in Ihrer akademischen Karriere und melden Sie sich für das Studium an.







Marina

Absolventin Chemistry for the Life Sciences

Durch mein akademisches Berufsumfeld merkte ich, dass ich mein Wissen vertiefen will. Ein Master-Studium ist anwendungsorientiert und somit nützlich für meine Berufstätigkeit. Zudem eröffnet es neue Möglichkeiten, falls ich ins Ausland gehen oder ein Doktorat beginnen möchte.

Porträt Masterabsolventin: Marina Simeunovic

Marina Simeunovic gehört zu den ersten Absolvierenden des Master-Studiengangs in Life Sciences. Sie hat im Juni 2011 ihr Studium in Teilzeit an der ZHAW in Wädenswil abgeschlossen.

Warum haben Sie sich für ein Master-Studium entschieden?

Ich sehe mehr Chancen in der Berufswelt. Zudem wollte ich einen international anerkannten Abschluss, um im Ausland die gleichen Möglichkeiten zu haben wie die anderen Bewerber.

Welcher Mehrwert hat für Sie der Master-Titel gegenüber dem Bachelor?

Der grösste Mehrwert ist sicherlich das vertiefte Wissen, vor allem weil dieses anwendungsorientiert ist und ich so einen Bezug zur «realen» Arbeitswelt habe.

Was hat Ihnen an diesem Studium besonders gut gefallen?

Besonders gut hat mir der Aufbau der Vertiefungsmodule gefallen. Aus deren Inhalten werde ich sicherlich profitieren können.

Welches Thema haben Sie für Ihre Master-Arbeit gewählt und wie ist es dazu gekommen?

Ich wollte mich im Gebiet der organischen Synthese vertiefen, da mich dieser Bereich am meisten interessiert. Das Institut gibt eine Auswahl an Themen vor und die Wahl wird mit dem Dozenten besprochen. Mein Thema lautet «Design und Synthese von neuen

Inhibitorgrundgerüsten für medizinalchemisch relevante Proteintargets».

Waren Sie mit der Unterstützung durch das Institut zufrieden?

Ja. Das vorgängige Treffen mit dem Dozenten und einem Master-Studenten war sehr hilfreich. Die Erfahrungen des Master-Studenten waren eigentlich die wichtigsten Infos für mich und ausschlaggebend für meine Anmeldung.

Welche beruflichen Pläne haben Sie?

Mein nächstes Ziel ist es, die Master-Arbeit erfolgreich zu beenden. Ich möchte danach eine interessante und abwechslungsreiche Arbeitsstelle finden. Da das Gebiet der Chemie so vielfältig ist, kann ich momentan noch nicht konkret sagen, in welche Richtung mein Weg gehen wird.

Welche Empfehlung geben Sie angehenden Master-Studierenden?

Ich habe nach meinem ersten Studium zwei Jahre gearbeitet und erst dann mit dem Master-Studium begonnen. Für mich war es die richtige Entscheidung. Ich kann schon Arbeitserfahrung vorweisen und weiss auch in etwa, was auf mich zukommt nach dem Master-Studium.

Man lernt Personen aus anderen Fachgebieten oder Kulturen kennen, was den Horizont öffnet und eine Bereicherung ist. Das Studium erfordert natürlich einen gewissen Grad an Disziplin und Organisation. Ich arbeite während dem Studium 30 Prozent und muss die Zeit zum Lernen auch miteinbeziehen. Ich bin gut ausgelastet, habe aber das Glück, einen flexiblen Arbeitgeber bzw. verständnisvollen Vorgesetzten zu haben. Die Arbeit bietet mir aber auch einen Ausgleich zum Schulstoff und fordert mich auf eine andere Weise. Ich würde es wieder so machen und jedem empfehlen.

-
- 2000** Lehre als Chemielaborantin mit BMS
 - 2004** Diplomstudium Chemie, ZHAW in Winterthur (Vollzeit)
 - 2008** Chemikerin org. Synthese, EMPA
 - 2010** Chemikerin für NMR-Dienstleistungsmessungen (Teilzeit), EMPA
 - 2011** Master-Studium Life Sciences in Chemistry for the Life Sciences

The Science and Art of Coffee

Certificate of Advanced Studies (CAS)

Kaffee-Kompetenzen

Die ZHAW Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften in Wädenswil ist ein Kompetenzzentrum für Life Sciences und Facility Management. Es verfügt über einen umfassenden Wissens- und Erfahrungspool im Bereich Kaffee, mit ausgewiesenen Fachkräften und Infrastruktur. So stehen modernste Analysetechnologien zur Untersuchung von Koffeinhaltstoffen, insbesondere von Kaffeearoma, ein akkreditiertes Sensoriklabor, Extraktions- und Röstanlagen sowie Know-how in Nachhaltigkeit und natürlichen Ressourcen und im Hospitality Management zur Verfügung.

Ziele und Perspektiven

Die Teilnehmenden erwerben ein vertieftes Wissen und eine umfassende Übersicht über die Wissenschaft des Kaffees. Sie verstehen die gesamte Wertschöpfungskette und erfahren mehr über historische, soziale und ethische Aspekte zum Thema Kaffee. Erfolgreiche Absolvierende sind in der Lage, sich an Tatsachen orientierend kritisch mit allen Aspekten des Themas Kaffee auseinanderzusetzen. Die Erweiterung des Beziehungsnetzes innerhalb der Schweizer Kaffeebranche und Kontakte zu Experten sind ein wesentlicher Nutzen dieser Weiterbildung.

Einzigartiger Lehrgang

Der CAS in «The Science and Art of Coffee» der ZHAW ist das erste Kaffee-Weiterbildungsstudium an einer Schweizer Hochschule. Der Lehrgang wurde in enger Zusammenarbeit mit dem Swiss Chapter der SCAE (Specialty Coffee Association of Europe) sowie Exponenten der Schweizer Kaffeebranche entwickelt.

Kontakt:

Prof. Dr. Chahan Yeretzian

Kursleiter

Tel. 058 934 55 26

chahan.yeretzian@zhaw.ch

www.zhaw.ch/icbc/science/icbc/coffee



Forschung und Entwicklung am ICBC

Die Fragestellungen der anwendungsorientierten Forschung und Entwicklung berühren meist mehr als ein Fachgebiet und werden zunehmend komplexer und interdisziplinärer. Mit einer modernen Interpretation der Chemie und seinem besonderen Profil trägt das Institut dieser Entwicklung Rechnung. Neben den traditionell wichtigen Disziplinen der Synthese und der Analytik nehmen Aktivitäten aus Biochemie, Mikrobiologie, Zellbiologie und der Nanotechnologie einen festen und wichtigen Platz ein. Viel Gewicht liegt auf der Bearbeitung von fachgebietsübergreifenden Fragen unserer Industrie- und Forschungspartner, beispielsweise in der Biomaterial-, Nano- oder Oberflächentechnik. Unsere 8 Fachgruppen sind eng vernetzt und ermöglichen somit eine ganzheitliche Bearbeitung komplexer Fragestellungen für chemische, biologische, technologische und medizinische Anwendungen.

Fachgruppen: Langjährige Erfahrung in F&E, professionelles Projektmanagement und erfolgreich abgeschlossene Projekte zeichnen die Spezialistinnen und Spezialisten in unserem Institut aus. Die Fachgruppen stellen folgende Kompetenzen zur Verfügung:

- Analytische und Physikalische Chemie
- Biochemie
- Chemical and Biochemical Engineering
- Funktionelle Materialien und Nanotechnologie
- Grundlagenchemie und Didaktik
- Industrielle Chemie
- Mikro- und Zellbiologie
- Organische Chemie

Formen der Zusammenarbeit



Zusammenarbeit: Auf Ihre Fragestellungen, Bedürfnisse und Möglichkeiten gehen wir individuell ein. Je nach Komplexität und finanziellen Mitteln stehen Ihnen verschiedene Formen der Kollaboration zur Verfügung:

- Dienstleistungen und Beratung
- Semester-, Bachelor- und Masterarbeiten für klar definierte, zeitlich begrenzte Projekte
- Bilaterale Projekte mit einem unserer F&E-Teams für anspruchsvolle Projekte von grösserem Umfang
- Projekte mit einem Aufwand von über 100 000 CHF und einer Zeitdauer von mehr als einem Jahr, die von Bundesmitteln gefördert werden wie z. B. KTI-Projekte.

Nationale Grossunternehmen und KMU sind wesentliche Auftraggeber des ICBC. Dank aktiver Mitarbeit in nationalen Konsortien und etablierten Kollaborationen innerhalb der ZHAW, aber auch mit anderen Hochschulen, können Projekte vernetzt und Lösungen gemeinsam erarbeitet werden. Das macht das ICBC zum idealen Partner auch für Ihre F&E.

Mehr dazu finden Sie unter
www.zhaw.ch/icbc

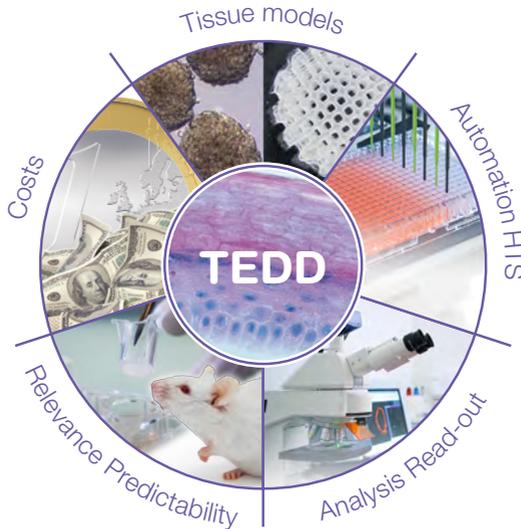


Kompetenzzentrum TEDD

Tissue Engineering for Drug Delivery

Ziel des Kompetenzzentrums TEDD ist es, die Entwicklung von organähnlichen Gewebemodellen voranzutreiben, um diese für die Medikamentenentwicklung und Wirkstoffprüfung nutzen zu können. Die Funktion des TEDD-Netzwerks liegt darin, Wissen und Technologien zu bündeln und zu transferieren. Dies geschieht einerseits durch konkrete Forschungsprojekte zwischen Partnern verschiedener Interessensgruppen und andererseits durch die Organisation von Fachtagungen, spezifischen Workshops und Firmenbesuchen.

TEDD wurde Anfang 2011 durch die ZHAW und InSphero AG gegründet und von der Gebert RUF Stiftung anschubfinanziert. Das Projekt ist eines der Gewinner der Jahresauszeichnung 2010 «BREF – Brückenschläge mit Erfolg». Inzwischen zählt TEDD zahlreiche Mitglieder aus dem In- und Ausland und konnte sich durch gelungene Tagungen und erfolgreiche Forschungsprojekte international gut positionieren. Ein 5-köpfiger Lenkungsausschuss steuert das Netzwerk zuversichtlich in die nächsten 5 Jahre.



Kontakt:

Prof. Dr. Ursula Graf-Hausner
Leiterin TEDD
Tel. 058 934 55 18
ursula.graf@zhaw.ch
www.zhaw.ch/icbc/tedd

Natural Products Drug Discovery

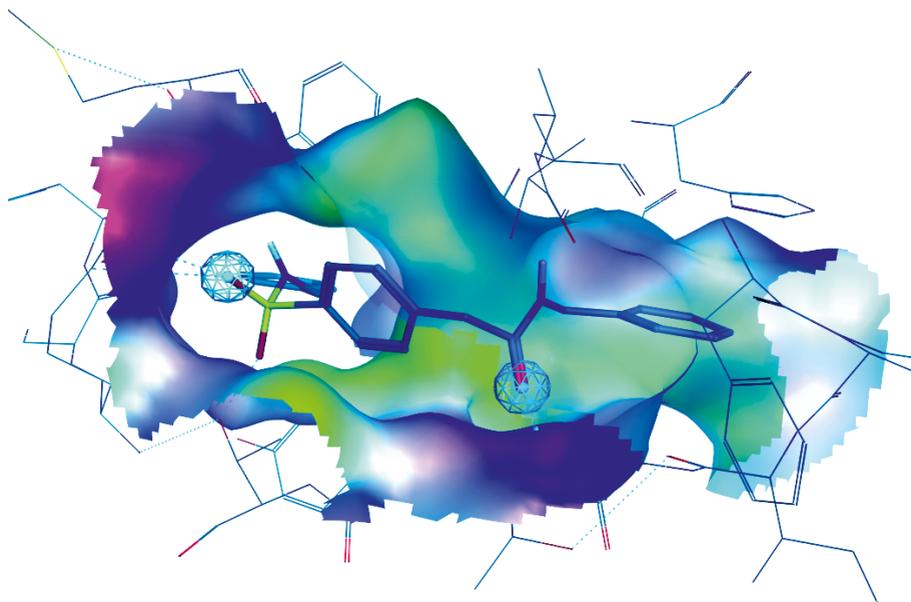
A Project from the Institute of Chemistry and
Chemical Biology and Institute of Biotechnology

Objective

The aim of this project is drug discovery. A robust bioassay platform has been developed, which guides the isolation of small molecules from the Culture Collection of Switzerland (CCOS) library of Actinobacteria, aquatic cyanobacteria and environmental isolates.

Collaborations

We offer a multitude of possible R & D collaborations. Long term CTI funded research projects are possible as well as mid-term contract research projects. For additional information regarding exciting opportunities for collaboration please contact us.



Kontakt:

Prof. Dr. Rainer Riedl
Head of Organic and Medicinal Chemistry
Project Leader
Tel. 058 934 56 18
rainer.riedl@zhaw.ch
www.zhaw.ch/icbc

ZHAW Campus Reidbach / Einsiedlerstrasse

ZHAW Campus Reidbach / Seestrasse

ZHAW Campus Grüental

Kontakt

ZHAW Zürcher Hochschule
für Angewandte Wissenschaften
Life Sciences und Facility Management
Studiengang Chemie und
Biologische Chemie
Grüental, Postfach
CH-8820 Wädenswil

www.zhaw.ch/icbc

