

Organozinn(IV)-beladenes mesoporöses SiO₂ als biokompatible Strategie bei der Krebstherapie**

Mirna Z. Bulatović, Danijela Maksimović-Ivanić, Christian Bensing, Santiago Gómez-Ruiz, Dirk Steinborn, Harry Schmidt, Marija Mojić, Aleksandra Korać, Igor Golić, Damian Pérez-Quintanilla, Miljana Momčilović, Sanja Mijatović und Goran N. Kaluderović*

Abstract: Das große therapeutische Potenzial eines Organozinn(IV)-beladenen nanostrukturierten SiO₂ (SBA-15pSn) wird am Beispiel der Rückbildung eines durch B16-Zellen induzierten Melanoms bei syngen C57BL/6-Mäusen demonstriert. Neben Apoptose als grundlegendem Mechanismus der Antitumorwirkung einer Vielzahl von Chemotherapeutika ist der entscheidende Vorteil dieses mesoporösen zinnhaltigen Materials das Auslösen der Zelldifferenzierung – ein Effekt, der weder für metallbasierte Zytostatika noch für mesoporöse Materialien alleine bisher beobachtet wurde. Dieser nichtaggressive Wirkungsmechanismus ist hochwirksam gegen Tumorzellen aber im gewählten Konzentrationsbereich nicht-toxisch für normales Gewebe. JNK-unabhängige Apoptose (JNK: Jun amino-terminal kinase), begleitet von der Bildung des melanozytenartigen nichtproliferativen Phänotyps der überlebenden Zellen demonstriert das außergewöhnliche Potenzial von SBA-15pSn zur Unterdrückung von Tumorzellwachstum ohne eine unerwünschte kompensatorische Proliferation der erkrankten Zellen als Antwort auf den Zelltod in ihrer Nachbarschaft.

Cisplatin ist eines der effektivsten Chemotherapeutika zur Behandlung verschiedenster Krebserkrankungen.^[1] Ungeachtet dieses großen therapeutischen Erfolges erwerben verschiedene Krebszelltypen relativ schnell eine Resistenz oder sind intrinsisch gegen Cisplatin resistent, was zu Rezidiven und therapeutischen Fehlschlägen führt.^[2] Es konnte gezeigt werden, dass eine Hochdosischemotherapie mit Cisplatin bei aggressivsten Krebserkrankungen wie Cisplatin-resistenten

Melanomen^[3] selbst bei Patienten mit weit fortgeschrittener Erkrankung wirksam ist, allerdings wird dieser Erfolg mit unakzeptablen Nebeneffekten erkaufte.^[4] Ein wesentliches Ziel bei der Entwicklung neuartiger metallbasierter Krebstherapeutika ist es daher, die Parameter, die den Einsatz von Cisplatin einschränken, wie die geringe therapeutische Breite, die Entwicklung von Resistenzen und die hohe Toxizität zu verbessern.^[5]


Die Induktion der Apoptose ist der grundlegende Mechanismus der Antitumoraktivität vieler Chemotherapeutika. Alternativ dazu ist anzustreben, dass das Auslösen der Zelldifferenzierung als entgegengesetzter Prozess zur krankhaften Entartung eine wichtige Rolle spielt. Es gibt zahlreiche Naturstoffe und auch synthetische Pharmaka, deren Wirksamkeit auf einem derartigen Mechanismus beruht,^[6] metallbasierte Verbindungen mit diesen Eigenschaften sind bislang nicht untersucht worden. Die Induktion der Zelldifferenzierung als vielversprechende therapeutische Strategie ist bislang wenig verfolgt worden, sodass das Auslösen der Apoptose weiterhin als der Hauptmechanismus in der Krebstherapie angesehen wird, obwohl der damit verbundene Zelltod die Vermehrung der umgebenden anaplastischen Zellen auslöst. Dieses Phänomen, das als kompensatorische Proliferation bekannt ist, geht mit einer verstärkten JNK-Aktivierung einher.^[7]

In den letzten Jahren wurden Nanomaterialien in der Medizin für die Bereitstellung und Langzeitdeponierung von Arzneimitteln, in Abbildungsverfahren und für weitere therapeutische und diagnostische Verfahren eingesetzt.^[8] Die

[*] C. Bensing, Prof. D. Steinborn, Dr. H. Schmidt, Prof. G. N. Kaluderović
Institut für Chemie
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Kurt-Mothes-Straße 2, 06120 Halle (Deutschland)
E-Mail: goran.kaluderovic@chemie.uni-halle.de
Prof. G. N. Kaluderović
Abteilung Bioorganische Chemie
Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie
Weinberg 3, 06120 Halle (Deutschland)
M. Z. Bulatović, Dr. D. Maksimović-Ivanić, Dr. M. Mojić, Dr. M. Momčilović, Dr. S. Mijatović
Institute for Biological Research „Sinisa Stankovic“
Universität Belgrad
Bulevar despota Stefana 142, 11060 Belgrad (Serbien)
Prof. S. Gómez-Ruiz, Dr. D. Pérez-Quintanilla
Departamento de Química Inorgánica y Analítica
E.S.C.E.T., Universidad Rey Juan Carlos
28933 Móstoles, Madrid (Spanien)

Prof. A. Korać, I. Golić
Center for Electron Microscopy, Faculty of Biology
Universität Belgrad
Studentski trg 16, 11000 Belgrad (Serbien)

[**] Wir danken dem serbischen Ministerium für Bildung, Wissenschaft und technologische Entwicklung (Grant no. 173013) und dem spanischen Ministerio de Economía y Competitividad (Fördernummer CTQ2012-30762) für finanzielle Unterstützung sowie Dr. T. Müller, Forschungslabor der Klinik für Innere Medizin IV, Onkologie/Hämatologie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, für die Durchsicht des Manuskriptes.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (Materialien, Synthese von Ph₃Sn(CH₂)₆OH, SBA-15p und SBA-15pSn, Zelllinien, Tiere und angewendete Methoden) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201400763> zu finden.

Entwicklung verschiedener Nanopartikel hatte dabei zum Ziel, Krankheiten auf zellulärer Ebene zu behandeln und auch Chemotherapeutika einzuführen, die auf malignes Gewebe einwirken.^[9] Viele dieser Nanomaterialien erfordern komplexere Synthesemethoden und den Einbau von Funktionsmolekülen, lichtempfindlichen molekularen Schaltern oder von Zielrezeptoren.^[10]

Nanostrukturierte Siliciumdioxid-basierte Materialien sind bereits als vielversprechende Kandidaten in der Therapie und Medizindiagnostik eingeführt worden, in der Krebstherapie sind aber bislang nur wenige entsprechende Untersuchungen durchgeführt worden.^[11] Diese für Humanzellen nichttoxischen Materialien^[12] sind durch eine große äußere Oberfläche und poröse Kerne gekennzeichnet und können mit kleineren Molekülen funktionalisiert werden und damit prinzipiell Pharmaka binden und als Arzneimitteltransporter oder -speicher fungieren.^[13] Trotzdem ist über die In-vivo-Antitumorwirksamkeit von nanostrukturiertem SiO₂, das mit Metallverbindungen beladen ist, nichts bekannt.

In einer früheren Publikation haben einige von uns berichtet, dass die Beladung von biologisch indifferenten mesoporenen Nanomaterialien mit zytostatischen Titanocenderivaten zur Verstärkung der Zytotoxizität gegen Tumorzellen führt.^[14] In der vorliegenden Studie wurde das mesoporene SiO₂ SBA-15 wegen seiner zuvor beobachteten größeren Zytotoxizität nach Ti-Behandlung (verglichen mit dem in gleicher Weise behandelten Nanomaterial MCM-41)^[14] als Transport- bzw. Speichervehikel ausgewählt. Weil Triphenylzinn(IV)-Verbindungen deutlich stärker zytotoxisch sind als Titanocenderivate oder Cisplatin,^[14,15] präsentieren wir hier das hohe therapeutische Potenzial von Organozinn(IV)-beladenem nanostrukturierten SBA-15.

SBA-15 wurde über ein Sol-Gel-Verfahren mit anschließender Kalzinierung hergestellt (siehe die Hintergrundinformationen).^[14] Die Oberflächenfunktionalisierung zum 3-

Chlorpropylsilyl-Derivat SBA-15p erfolgte durch Reaktion von SBA-15 mit 3-Chlorpropyltriethoxysilan (CPTS). Der Grad der Funktionalisierung mit $\equiv\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{Cl}$ -Baupruppen wurde aus dem Cl-Wert (durch XRF) zu 0.76 mmol Cl pro g SiO₂ ermittelt. Der Gehalt an Kohlenstoff ist größer als aus dem Cl-Wert erwartet wird und weist auf eine unvollständige Substitution der Ethoxygruppen bei der Reaktion von CPTS mit SBA-15 hin. Das wird auch durch ¹³C-CP-MAS- und ²⁹Si-MAS-NMR-spektroskopische Untersuchungen bestätigt. Neben der Funktionalisierung der äußeren Oberfläche des Nanomaterials erfolgte auch eine Funktionalisierung der inneren Oberfläche, was durch Abnahme von Porengröße und BET-Oberfläche sowie durch Zunahme der Wandstärke von SBA-15p verglichen mit SBA-15 belegt ist (Tabelle S1). Aus der Kalzinierungstemperatur des SBA-15 (500 °C) lässt sich abschätzen, dass ein Gemisch von ein- und zweifach oberflächengebundenen Pfropfmolekülen vorliegt.^[16] SEM- und TEM-Aufnahmen (Abbildung 1) von SBA-15p zeigten keine merklichen Unterschiede zu den Aufnahmen von SBA-15, was darauf hinweist, dass die Morphologie des Nanomaterials beim Funktionalisieren mit CPTS keine merklichen Veränderungen erfahren hat.

Die Behandlung von SBA-15p mit 6-Triphenylstannylhexan-1-ol zu SBA-15pSn führt zu einer Beladung von 0.324 mmol Sn pro g SiO₂ (bestimmt über XRF). Wie zu erwarten, ist die Porengröße in SBA-15pSn (4.80 nm) kleiner als in SBA-15p (4.88 nm) und SBA-15 (4.97 nm). Ein geringer Teil des Ph₃Sn(CH₂)₆OH wird an der externen Oberfläche des SBA-15 gebunden, was an der Schrumpfung der Oberfläche erkennbar wird. Die Organozinnbeladung wird auch in den Festkörper-NMR-Spektren von SBA-15pSn bestätigt. Neben dem Resonanzmuster (¹³C-CP-MAS) der 3-Chlorpropylgruppen werden zusätzliche Resonanzen im Aromaten- und Methylenbereich von Ph₃Sn(CH₂)₆OH beobachtet. Im ¹¹⁹Sn-MAS-NMR-Spektrum zeigt sich eine Resonanz bei

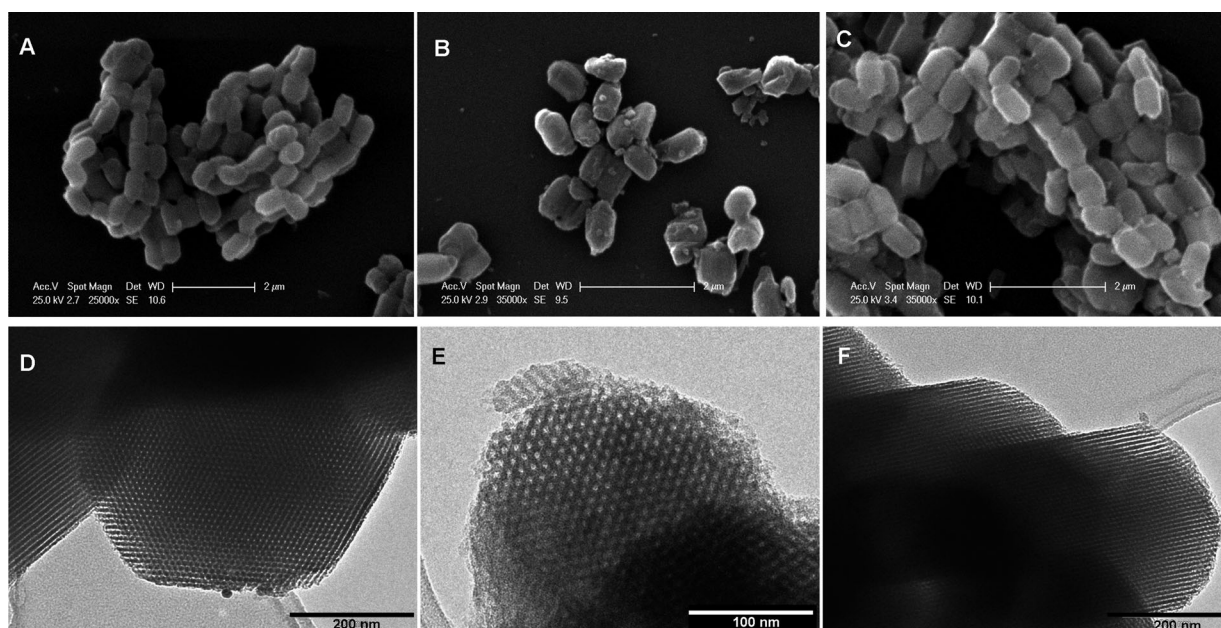


Abbildung 1. SEM-Aufnahmen: A) SBA-15, B) SBA-15p, C) SBA-15pSn; TEM-Aufnahmen: D) SBA-15, E) SBA-15p, F) SBA-15pSn.

–106 ppm für $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ (siehe auch die Hintergrundinformationen). SEM- und TEM-Aufnahmen von SBA-15pSn (Abbildung 1) zeigen eine einheitliche Morphologie (stäbchenförmig; Partikelgröße ca. 720×460 nm, berechnet aus den SEM-Daten) und Porengröße (hexagonale Form).

Für die Untersuchungen zur In-vitro-Aktivität wurden B16-Tumorzellen in einem weiten Dosisbereich an $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$, SBA-15pSn bzw. dem Trägermaterial SBA-15p kultiviert. Die Viabilität der Zellen wurde mittels MTT und CV nach 48 und 72 Stunden ermittelt. Die Behandlung der Zellen mit $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ ergab eine dosisabhängige Inhibierung der Lebensfähigkeit der Zellen (Abbildung S7). Interessanterweise war der IC_{50} -Wert, der aus den MTT-Experimenten abgeleitet wurde ($\text{IC}_{50} = 20 \mu\text{M}$), um den Faktor zwei niedriger als der aus den Ergebnissen des CV-Tests abgeleitete Wert ($\text{IC}_{50} = 40 \mu\text{M}$). Die Diskrepanz in den Ergebnissen dieser Tests liegt in der Tatsache begründet, dass die Störung der mitochondrialen Atmung als Konsequenz des toxischen Reizes die zelluläre Lebensfähigkeit verringert (Abbildung S7 A und B, links).

Die Behandlung der Zellen mit SBA-15pSn (3.85 % Sn) ergab eine beträchtliche Abnahme der Lebensfähigkeit der Zellen ($M_{50} = 2 \mu\text{g mL}^{-1}$ (MTT) und $2.6 \mu\text{g mL}^{-1}$ (CV)). Der Vorteil des hier beschriebenen neuartigen SBA-15pSn gegenüber dem aktivsten Ti-beladenen mesoporösen Material (SBA-15 beladen mit $[\text{Ti}\{\text{Me}_2\text{Si}(\eta^5\text{-C}_5\text{Me}_4)(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Cl}_2\}_2]$, $M_{50} = (309 \pm 42) \mu\text{g mL}^{-1}$) aus früheren Untersuchungen^[14] liegt in der mehr als 150-mal höheren In-vitro-Aktivität.

Die Menge an $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ im beladenen Material SBA-15pSn ist bei dieser M_{50} -Konzentration ca. 60-mal niedriger als die IC_{50} -Dosis von freiem $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$. In dieser niedrigen Konzentration beeinflusst freies $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ die Lebensfähigkeit der Tumorzellen nicht. Darüber hinaus zeigte auch das Trägermaterial SBA-15p alleine keine entsprechenden Effekte (Abbildung S7 A und B). Des Weiteren zeigten die übereinstimmenden Ergebnisse von MTT- und CV-Tests, dass im Unterschied zum freien $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ die mitochondriale Atmung durch SBA-15pSn nicht beeinträchtigt wird. Daher ist die beobachtete Abnahme der Zellatmung eindeutig auf die Abnahme der Zahl an lebenden Zellen zurückzuführen (Abbildung S7 A und B, rechts).

Um Aussagen zur in-vivo-Effektivität der getesteten Pharmaka zu gewinnen, wurden B16-Zellen in syngene C57BL/6-Mäuse implantiert, die intraperitoneale Behandlung wurde am 10. Tag begonnen, als die Tumore zu ertasten waren. Am 28. Tag, an dem vier von fünf Tieren der Kontrollgruppe das maximal erlaubte Tumolvolumen erreicht hatten, wurden die Tiere geopfert. Während in der Cisplatin-Gruppe zum selben Zeitpunkt zwei Tiere gestorben waren, entwickelten zwei der verbleibenden Tiere das maximal erlaubte Tumolvolumen (Abbildung 2). Das Tumorstadium bei den Tieren, die mit SBA-15p behandelt wurden, war vergleichbar mit dem der Kontrollgruppe. Während der Tumor in Gegenwart von $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ alleine zwar langsamer wächst, führte die Anwendung von SBA-15pSn zur fast vollständigen Rückbildung des Tumorgewebes. Die biochemische Analyse des Urins zeigte, dass ausschließlich die Tiere, die mit Cisplatin behandelt worden waren, deutliche

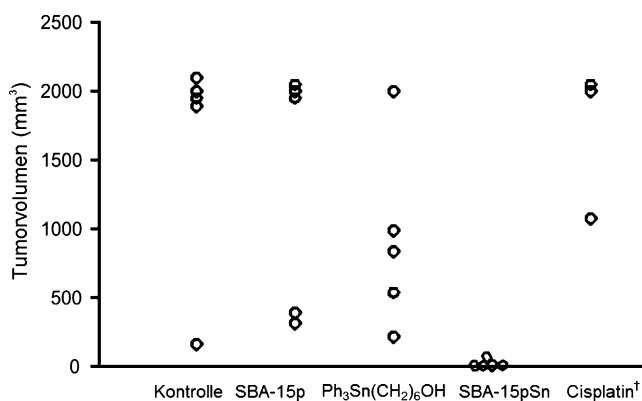


Abbildung 2. Wirksamkeit von SBA-15p, $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$, SBA-15pSn und Cisplatin zum Vergleich gegen Maus-Melanom *in vivo*. C57BL/6-Mäuse ($n=5$ pro Gruppe) wurden mit B16-Zellen (1×10^5) beimpft. Das Tumorumfassen nach 28 Tagen ist dargestellt. [†] Zwei Tiere verstarben.

Hinweise von Nephrotoxizität aufweisen, erkennbar an der Anwesenheit von Erythrozyten und Leukozyten im Urin sowie an einem erhöhten Proteinniveau. Aus der Abwesenheit von sichtbaren Hinweisen auf Toxizität und Nephrotoxizität im Vergleich zur Cisplatin-Gruppe kann geschlossen werden, dass SBA-15pSn sehr gut vom Organismus toleriert wird.

Zur Aufklärung des Antimelanom-Mechanismus von sowohl $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ als auch SBA-15pSn wurden Zellen, die ein In-vitro-Screening über 72 Stunden durchlaufen hatten, $\text{IC}_{50}/\text{M}_{50}$ -Dosen ausgesetzt und Zellzyklus-Verteilung, Zellteilung und der Typ des Zelltodes mittels Durchflusszytometrie ermittelt. Die Vital-Fluoreszenz-Doppelfärbung (Ann/PI) ergab eine merkliche Präsenz früher Apoptose-Zellen (Ann^+/PI^-), während nachfolgende DNA-Fragmentierung zusätzlich durch Akkumulation der Zellen der subG-Phase des Zellzyklus bestätigt wurde. Der Apoptose-Prozess, begleitet von Caspase-Aktivierung bei $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ - und SBA-15pSn-behandelten Kulturen war nur dominant in den Zellen, die dem freien $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ ausgesetzt waren (Abbildung S8C).

Interessanterweise führte die Einwirkung von SBA-15pSn zu einer starken Autophagie, die sich in einer vermehrten Anwesenheit von Autophagosomen im Zytoplasma offenbarte (Abbildung S8D). Die Neutralisation dieses Prozesses durch den spezifischen 3-MA-Inhibitor zeigte deutlich, dass Autophagie nicht zur Abnahme der Lebensfähigkeit der Zellen beitrug (Abbildung S8E). Darüber hinaus wurde mittels CFSE in Kulturen, die SBA-15pSn ausgesetzt waren, eine starke Blockade des proliferativen Potenzials der Zellteilung ermittelt, was an einer beachtlichen Zahl an ungeteilten Zellen zu erkennen ist (Abbildung 3A). Im Einklang mit dieser Aussage wurde eine verstärkte Granularität von SBA-15pSn-exponierten Zellen gefunden (Abbildung 3B). Verglichen mit den unbehandelten Zellen mit runder Morphologie wiesen die mit $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ oder SBA-15pSn behandelten Zellen eine flache Form und eine Zunahme des Zytoplasma-Volumens sowie Verästelungen des Membranwachstums auf (Abbildung S9). Mikroskopische Untersu-

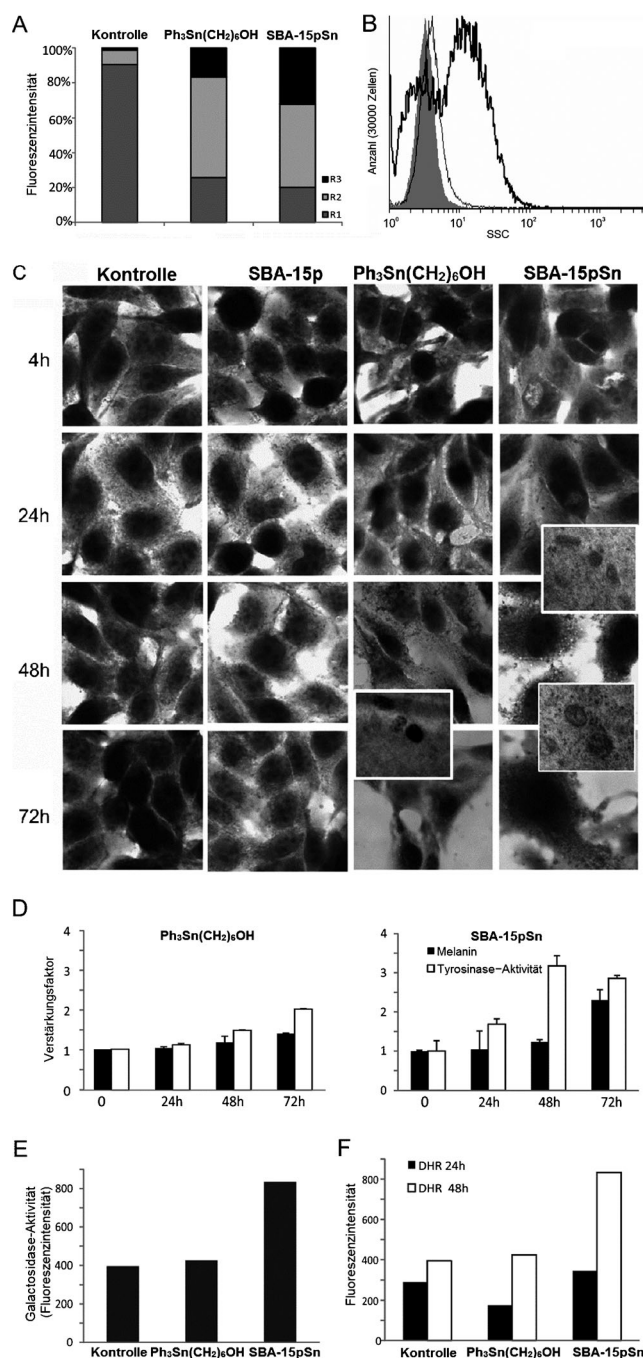


Abbildung 3. Differenzierung der Melanomzellen: Zelluläre Proliferation (A; R1 und R2 stehen für die erste bzw. zweite Teilung, R3 für ungeteilte Zellen), Granularität des Zytoplasmas (B), Mayers Hämatoxylin-gefärbte Zellen (C), Melanin-Synthese und Tyrosinase-Aktivität (D), Galactosidase-Einfärbung (E), ROS/RNS-Produktion (F).

chungen von Hematoxylin-gefärbten Melanomzellen, die den Testsubstanzen für 4, 24, 48 und 72 Stunden ausgesetzt worden waren, zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Kulturen, die mit SBA-15pSn bzw. mit freiem $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ behandelt worden waren (Abbildung 3C). Während $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ hauptsächlich Apoptose mit all seinen typischen morphologischen Merkmalen auslöste, differenzierten sich Melanomzellen nach Einwirkung von SBA-15pSn

zu Melanozyten, was durch die Anwesenheit von primären und sekundären Melanosomen^[6a] in elektronenmikroskopischen Untersuchungen belegt wurde (Abbildung S10). In Übereinstimmung damit stehen die Messungen der Tyrosinase-Aktivität und des Melaningehaltes (Abbildung 3D).

SBA-15p- und SAB-15pSn-Partikel wurden bereits vier Stunden nach Inkubation eindeutig innerhalb des Cytosols der B16-Zellen nachgewiesen. Dies steht in Einklang mit den Ergebnissen früherer Studien mit mesoporensen SBA-15- und MCM-41-Partikeln, die ebenfalls effektiv von den Zellen aufgenommen wurden.^[17] Hervorzuheben ist dabei, dass die Anwesenheit der Nanopartikel in den Zellen keine sichtbare Schädigung der Organellen zur Folge hatte (Abbildung S10).

Des Weiteren fällt der Verlust der malignen Eigenschaften mit einer Zunahme der Galactosidase-Aktivität zusammen, was den Zustand der Zellseneszenz belegt (Abbildung 3E). Die beobachtete Normogenese kann durch reaktive Sauerstoff- oder Stickstoffspezies (ROS/RNS) ausgelöst werden.^[18] Im Anbetracht dessen wurde das intrazelluläre Niveau an ROS/RNS untersucht und eine intensive Produktion freier Radikale in Kulturen, die mit SBA-15pSn behandelt worden waren, nachgewiesen (Abbildung 3F). Dieses Phänomen könnte in einem direkten Zusammenhang mit der Melanomzellreife, die nach Behandlung mit SBA-15pSn gefunden wurde, stehen.

Der Wirkmechanismus von $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ und SBA-15pSn auf den Hauptsignalweg von B16-Melanomzellen wurde untersucht. Die Western-Blot-Analyse zeigte deutlich die synchronisierte Regulierung von Akt und nachgelagerter p70S6-Kinase in $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ - und SBA-15pSn-behandelten Zellen. Nach einem ersten Anstieg der Akt-Phosphorylierung an Ser473 und einer Phosphorylierung von Thr389 an der p70S6k-Position, die wesentlich für die Enzymaktivierung ist, wurde dieser Signalweg stillgelegt. Sein Herunterfahren ist auch durch eine zunehmende Inhibierung der Phosphorylierung an der Position Thr421/Ser424, welche für die Erhaltung der aktiven p70S6K-Konformation erforderlich ist, belegt. Dieses Resultat steht in Zusammenhang mit der vorher beschriebenen Abnahme des proliferativen Potenzials in Zellkulturen, die mit SBA-15pSn behandelt wurden. Ferner wurde als Antwort auf die $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ -Einwirkung die ERK1/2-Phosphorylierung dauerhaft verringert, während durch SBA-15pSn [IC_{50} berechnet aus M_{50} von SBA-15pSn/ IC_{50} von $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ = 1/60] die ERK1/2-Inhibierung stärker aber nur zeitweilig abgeschaltet wurde (Abbildung 4). Vergleichbare Muster der Akt- und ERK-Aktivität wurden zuvor für B16-Melanomzellen als Reaktion auf den NO-modifizierten HIV-Proteaseinhibitor Saquinavir, welcher die dauerhafte Transdifferenzierung dieser Zellen zum Schwann-artigen Phänotyp induziert, beschrieben.^[6b] Des Weiteren wurde bereits über eine Differenzierung von Melanomen zum Glialphänotyp, die mit einer Myelin-Genexpression verbunden ist, berichtet.^[19]

Interessanterweise wurde in der MAP-Familie lediglich p38 durch freies und auf Nanomaterial gebundenes $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ unterschiedlich beeinflusst. Während freies $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ die p39-Phosphorylierung dauerhaft inhibierte, aktivierte SBA-15pSn dieses Protein beträchtlich (Abbildung 4). Über einen ähnlichen Befund, der für eine

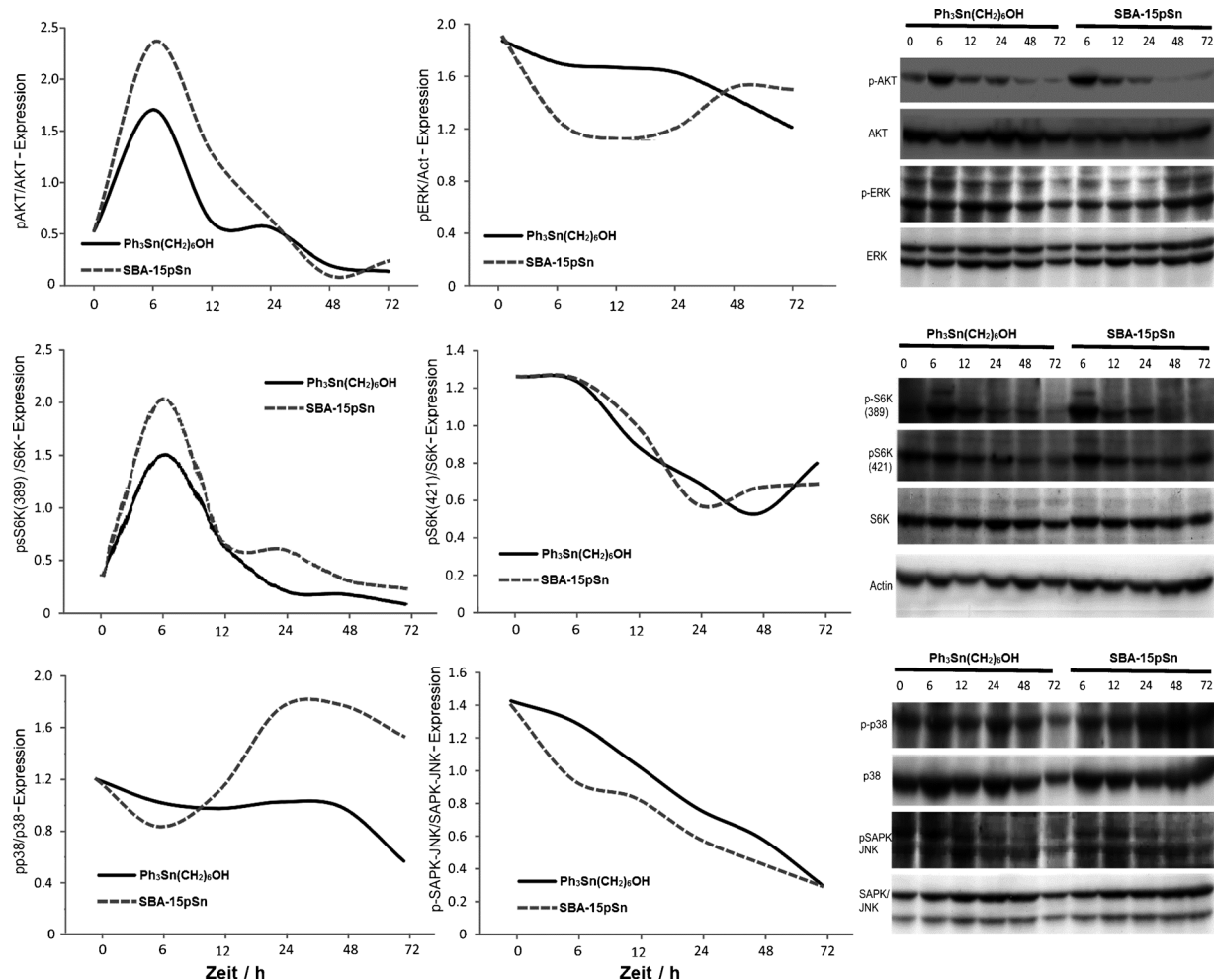


Abbildung 4. Differenzierung der Melanomzellen: Intrazellulärer Signalweg. Western-Blot-Analyse der Signalmolekül-Expression.

B16-Differenzierung verantwortlich gemacht wird, ist kürzlich berichtet worden.^[20] Abschließend ist zu vermerken, dass das letzte repräsentative Mitglied der MAP-Familie, das SAPK/JNK, durch $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{CH}_2)_6\text{OH}$ und noch stärker von SBA-15pSn inhibiert wurde. Die Herunterregulierung der JNK-Aktivität ist besonders wichtig für die Umgehung einer kompensatorischen Proliferation der Zellen in apoptotischer Zellumgebung. Das Auslösen der Apoptose in der Krebstherapie anaplastischer Tumore ist ein „zweischneidiges Schwert“, weil die sterbenden Zellen die Proliferation der Nachbarzellen fördern.^[21] Dieses Phänomen wurde durch die JNK-abhängige Produktion des Mitogen-Mediators, welcher JAK/STAT- aber auch Wnt- und Notch-Signalfade beinhaltet, erklärt.^[7] Außerdem wurde nachgewiesen, dass die JNK-Inhibierung durch SP600125 die L-Threonin-induzierte Expression des Stammzellenmarkers OCT4 und verschiedener zellproliferativer Moleküle (wie Cyclin D1, Cyclin E und c-Myc) blockiert.^[22]

Abschließend ist zu konstatieren, dass hier das beachtliche therapeutische Potenzial von einem Organozinn(IV)-beladenen nanostrukturiertem SiO_2 (SBA15-pSn) beschrieben wird, das durch B16-Zellen ausgelöste Tumoren bei syngenen C57BL/6-Mäusen nahezu vollständig zurückbildet

lässt. Stärker als der Wirkstoff und das Transportmaterial alleine, zeigte SBA-15pSn eine drastisch erhöhte – weit über einer additiven Wirkung liegende – Antitumoraktivität. Unter den gewählten Bedingungen wirken nichttoxische Dosen des Wirkstoffs hoch effektiv gegen Melanomzellen. Im Unterschied zur üblichen Herangehensweise in der Krebstherapie (Auslösen der Apoptose), induziert SBA-15pSn eine JNK-unabhängige Apoptose, assoziiert mit der Induktion des nichtproliferierenden melanozytenartigen Phänotyps der überlebenden Zellen. Dieses Wirkungsmuster führt zu einer nichtaggressiven Unterdrückung des Tumorwachstums bei einer für normales Gewebe – bis jetzt – nicht erkennbaren Toxizität.

Eingegangen am 24. Januar 2014

Online veröffentlicht am 14. Mai 2014

Stichwörter: Cisplatin · Melanome · Nanostrukturen · Wirkstoff-Verabreichung · Zelldifferenzierung

[1] L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer* **2007**, 7, 573–584.

- [2] a) L. Galluzzi, L. Senovilla, I. Vitale, J. Michels, I. Martins, O. Kepp, M. Castedo, G. Kroemer, *Oncogene* **2012**, *31*, 1869–1883; b) E. L. Mamenta, E. E. Poma, W. K. Kaufmann, D. A. Delmastro, H. L. Grady, S. G. Chaney, *Cancer Res.* **1994**, *54*, 3500–3505; c) B. Köberle, J. R. W. Masters, J. A. Hartley, R. D. Wood, *Curr. Biol.* **1999**, *9*, 273–276; d) J. Y. Djeu, S. Wei, *Adv. Cancer Res.* **2009**, *105*, 77–92.
- [3] J. Poland, D. Schadendorf, H. Lage, M. Schnölzer, J. E. Celis, P. Sinha, *Clin. Chem. Lab. Med.* **2002**, *40*, 221–234.
- [4] K. Güven, H. Kittler, K. Wolff, H. Pehamberger, *Melanoma Res.* **2001**, *11*, 411–415.
- [5] a) D. Wang, S. J. Lippard, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 307–320; b) C.-H. Zhou, Y.-Y. Zhang, C.-Y. Yan, K. Wan, L.-L. Gan, Y. Shi, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2010**, *10*, 371–395; c) J. Zhang, F. Zhang, H. Li, C. Liu, J. Xia, L. Ma, W. Chu, Z. Zhang, C. Chen, S. Li, S. Wang, *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 2957–2975.
- [6] a) J. Radovic, D. Maksimovic-Ivanic, G. Timotijevic, S. Popadic, Z. Ramic, V. Trajkovic, D. Miljkovic, S. Stosic-Grujicic, S. Mijatovic, *Food Chem. Toxicol.* **2012**, *50*, 3181–3189; b) D. Maksimovic-Ivanic, S. Mijatovic, D. Miljkovic, L. Harhaji-Trajkovic, G. Timotijevic, M. Mojic, D. Dabideen, K. F. Cheng, J. A. McCubrey, K. Mangano, Y. Al-Abed, M. Libra, G. Garotta, S. Stosic-Grujicic, F. Nicoletti, *Mol. Cancer Ther.* **2009**, *8*, 1169–1178; c) S. Mijatovic, D. Maksimovic-Ivanic, J. Radovic, D. Miljkovic, Lj. Harhaji, O. Vuckovic, S. Stosic-Grujicic, M. Mostarica-Stojkovic, V. Trajkovic, *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, *62*, 589–598.
- [7] F. Chen, *Cancer Res.* **2012**, *72*, 379–386.
- [8] a) S. K. Murthy, *Int. J. Nanomed.* **2007**, *2*, 129–141; b) D. Peer, J. M. Karp, S. Hong, O. C. Farokhzad, R. Margalit, R. Langer, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 751–760; c) J. D. Rocca, R. C. Huxford, E. Comstock-Duggan, W. Lin, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 10514–10518; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 10330–10334; d) C. Wang, Z. Li, D. Cao, Y.-L. Zhao, J. W. Gaines, O. A. Bozdemir, M. W. Ambrogio, M. Frascioni, Y. Y. Botros, J. I. Zink, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 5556–5561; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 5460–5465.
- [9] a) H. Summers, *Nat. Nanotechnol.* **2012**, *7*, 9–10; b) L. Ma, M. Kohli, A. Smith, *ACS Nano* **2013**, *7*, 9518–9525; c) Y. Yan, M. Björnmalm, F. Caruso, *ACS Nano* **2013**, *7*, 9512–9517.
- [10] a) R. Liu, Y. Zhang, X. Zhao, A. Agarwal, L. J. Mueller, P. Feng, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 1500–1501; b) C. Y. Lai, B. G. Trewyn, D. M. Jeftinija, K. Jeftinija, S. Xu, S. Jeftinija, V. S. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4451–4459; c) N. K. Mal, M. Fujiwara, Y. Tanaka, *Nature* **2003**, *421*, 350–353.
- [11] a) L. Li, F. Tang, H. Liu, T. Liu, N. Hao, D. Chen, X. Teng, J. He, *ACS Nano* **2010**, *4*, 6874–6882; b) L. A. DeLouise, *J. Invest. Dermatol.* **2012**, *132*, 964–975; c) X. Xue, M. D. Hall, Q. Zhang, P. C. Wang, M. M. Gottesman, X.-J. Liang, *ACS Nano* **2013**, *7*, 10452–10464.
- [12] a) H. Meng, M. Xue, T. Xia, Y.-L. Zhao, F. Tamanoi, J. F. Stoddart, J. I. Zink, A. E. Nel, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12690–12697; b) J. M. Rosenholm, A. Meinander, E. Peuhu, R. Niemi, J. E. Eriksson, C. Sahlgren, M. Linden, *ACS Nano* **2009**, *3*, 197–206; c) M. Liong, J. Lu, M. Kovochich, T. Xia, S. G. Ruehm, A. E. Nel, F. Tamanoi, J. I. Zink, *ACS Nano* **2008**, *2*, 889–896.
- [13] a) G. N. Kaluderović, D. Pérez-Quintanilla, I. Sierra, S. Prashar, I. Hierro, Ž. Žižak, Z. D. Juranić, M. Fajardo, S. Gómez-Ruiz, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 806–814; b) G. N. Kaluderović, D. Pérez-Quintanilla, Ž. Žižak, Z. D. Juranić, S. Gómez-Ruiz, *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 2597–2608; c) S. Sanchez-Munoz, S. Gómez-Ruiz, D. Perez-Quintanilla, S. Morante-Zarcero, I. Sierra, S. Prashar, R. Paschke, G. N. Kaluderović, *ChemMedChem* **2012**, *7*, 670–679.
- [14] D. Pérez-Quintanilla, S. Gómez-Ruiz, Ž. Žižak, I. Sierra, S. Prashar, I. Hierro, M. Fajardo, Z. D. Juranić, G. N. Kaluderović, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 5588–5597.
- [15] Beispiel: a) G. N. Kaluderović, H. Kommera, E. Hey-Hawkins, R. Paschke, S. Gómez-Ruiz, *Metallomics* **2010**, *2*, 419–428; b) S. Gómez-Ruiz, G. N. Kaluderović, S. Prashar, E. Hey-Hawkins, A. Erić, Ž. Žižak, Z. D. Juranić, *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102*, 2087–2096.
- [16] C. Copéret, M. Chabanas, R. P. Saint-Arroman, J.-M. Basset, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 164–191; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 156–181.
- [17] Z. Tao, B. Toms, J. Goodisman, T. Asefa, *ACS Nano* **2010**, *4*, 789–794.
- [18] a) D. Trachootham, J. Alexandre, P. Huang, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2009**, *8*, 579–591; b) A. R. Ji, S. Y. Ku, M. S. Cho, Y. Y. Kim, Y. J. Kim, S. K. Oh, S. H. Kim, S. Y. Moon, Y. M. Choi, *Exp. Mol. Med.* **2010**, *42*, 175–186; c) L. A. Sena, N. S. Chandel, *Mol. Cell* **2012**, *48*, 158–167; d) Y. Dong, H. Wang, J. Cao, J. Ren, R. Fan, X. He, G. W. Smith, C. Dong, *Mol. Cell. Biochem.* **2011**, *352*, 255–260.
- [19] S. G. Slutsky, A. K. Kamaraju, A. M. Levy, J. Chebath, M. Revel, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 8960–8968.
- [20] K. Hata, T. Mukaiyama, N. Tsujimura, Y. Sato, Y. Kosaka, K. Sakamoto, K. Hori, *Cytotechnology* **2006**, *52*, 151–158.
- [21] C. D. Gregory, J. D. Pound, *Apoptosis* **2010**, *15*, 1029–1049.
- [22] J. M. Ryu, H. J. Han, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 23667–23678.