



Selektive Bildgebung der angiogenetisch relevanten Integrine $\alpha 5 \beta 1$ und $\alpha v \beta 3$ **

Stefanie Neubauer, Florian Rechenmacher, Ambros J. Beer, Flavio Curnis, Karolin Pohle, Calogero D'Alessandria, Hans-Jürgen Wester, Ute Reuning, Angelo Corti, Markus Schwaiger und Horst Kessler*

Die Bindung der Integrine $\alpha v \beta 3$ und $\alpha 5 \beta 1$ an Proteine der extrazellulären Matrix (EZM) ist für viele biologische Prozesse, einschließlich der Tumorangiogenese und der Tumorentwicklung, von wesentlicher Bedeutung.^[1] Derzeit gibt es in der Literatur unterschiedliche Auffassungen, wie und in welchem Ausmaß diese RGD-bindenden^[2] Integrine ihre Funktionen in der normalen und pathologischen Angiogenese ausüben.^[3] Zudem ist nicht geklärt, wie die Inhibierung von bestimmten Integrinen das Tumorwachstum beeinflusst. Wir beschreiben hier selektive RGD-basierte Peptidmimetika für eine spezifische Adressierung und Blockade der Integrine $\alpha 5 \beta 1$ oder $\alpha v \beta 3$ in vivo. Die niedermolekularen Verbindungen wurden für die molekulare Bildgebung mithilfe der Positronenemissionstomographie (PET) funktionalisiert, um die Integrine in vivo spezifisch zu adressieren. Wir stellen hier die erste $\alpha 5 \beta 1$ -basierte PET-Bildgebung durch die Verwendung dieser unterschiedlichen Peptidmimetika vor und liefern einen eindeutigen Nachweis ihrer Selektivität bezüglich eines Integrinsubtyps, indem sie zwischen zwei Tumortypen mit unterschiedlichen Expressionsmustern von $\alpha 5 \beta 1$ und $\alpha v \beta 3$ differenzieren. Des Weiteren demonstrieren wir, dass bFGF- und VEGF-stimulierte Angiogenese in Ratten-aortaringtests (RAR-Assay) durch $\alpha 5 \beta 1$ - oder $\alpha v \beta 3$ -selektive Inhibierung der Blutgefäßsprossung mit diesen Integrinliganden spezifisch blockiert wird. Außerdem weisen beide Liganden in einem Fibrosarkom-Mausmodell ein deutliches Antitumorpotenzial in vivo auf.

Die Bedeutung der Integrine für die Tumorangiogenese und -entwicklung ist gut dokumentiert.^[4] Dies wird auch durch die unterschiedlichen Expressionsmuster der Integrine im normalen Gewebe und in Tumorgewebe sowie in den verschiedenen Stadien der Tumorprogression untermauert.^[5] Obwohl die Funktionen der Integrine während der Entwicklung und postnatalen Hämostase ausgiebig untersucht worden sind, muss die exakte Rolle dieser Integrinsubtypen bei der Tumorangiogenese, beim Wachstum und bei der Verbreitung von Tumorzellen noch vollständig geklärt werden. Die hohe Expression des $\alpha v \beta 3$ -Integrins auf Tumorbloodgefäßen lieferte die Motivation für die Entwicklung von inhibitorischen Antikörpern^[6] und niedermolekularen Verbindungen für die Antitumorthérapie.^[7] Während das RGD-Peptid Cilengitid^[7] Tumorangiogenese und -wachstum in bestimmten präklinischen Modellen verringert, führt die genetische Ablation von $\alpha v \beta 3$ oder von $\alpha v \beta 3$ und $\alpha v \beta 5$ in Mäusen zu verstärkter Tumorangiogenese, was auf eine komplexe Rolle dieser Integrine in dem Zusammenhang schließen lässt.^[8] Eine mögliche Erklärung für diesen augenscheinlichen Widerspruch könnte eine Dosisabhängigkeit der Integrininhibitoren sein, die entweder Stimulation oder Blockade der Angiogenese verursacht.^[3b,c] Außerdem zeigten bestimmte Integrin-gerichtete Antikörper eine verstärkte Clusterbildung der Integrine und damit auch der Tumorangiogenese.^[9] Zudem könnte die Spezifität der Antikörper nicht ausreichend sein, da diese häufig nicht die Bindungstasche selbst adressieren, sondern andere Integrindomänen.

[*] Dr. S. Neubauer,^[+] Dr. F. Rechenmacher,^[+] Prof. Dr. H. Kessler

Institute for Advanced Study am Department Chemie
Technische Universität München
Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching (Deutschland)
E-Mail: Kessler@tum.de

Homepage: <http://www.org.chemie.tu-muenchen.de>

Prof. Dr. H. Kessler

Chemistry Department, Faculty of Science

King Abdulaziz University

P.O. Box 80203, Jeddah 21589 (Saudi Arabien)

Dr. A. J. Beer, K. Pohle, Dr. C. D'Alessandria, Prof. Dr. H.-J. Wester,

Prof. Dr. M. Schwaiger

Nuklearmedizinische Klinik und Poliklinik, Klinikum rechts der Isar,
TU München (Deutschland)

Dr. F. Curnis, Prof. Dr. A. Corti

Tumor Biology and Vascular Targeting Unit, Division of Molecular
Oncology, San Raffaele Scientific Institute, and (Italien)

Prof. Dr. H.-J. Wester

Lehrstuhl für Radiopharmazie, Department Chemie
TU München (Deutschland)

Prof. Dr. U. Reuning

Klinische Forschergruppe der Frauenklinik, TU München
(Deutschland)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken der IGSSE (International Graduate School of Science and Engineering), dem Bund der Freunde der TU München e.V. und ComPlnt (Materials Science of Complex Interfaces) des Elitenetzwerks Bayern für Förderung sowie dem IAS (Institute for Advanced Study) der TU München, dem SFB 824, CIPSM (Center for Integrated Protein Science Munich), AIRC (Italian Association for Cancer Research, IG11692 und IG9180) und KAU (Saudi-Arabien) für finanzielle Unterstützung. S.N. dankt der Max-Planck-Gesellschaft für finanzielle Unterstützung. Wir danken M. De Simone für die Durchführung des Festphasen-Integrinbindungsassays und Philipp Ganther für die Erstellung des Rücktitelbildes.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201306376> zu finden.

Die Rolle von $\alpha 5 \beta 1$ in der Angiogenese ist ebenfalls nicht vollständig bekannt. Seine Fähigkeit, mit dem Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) zusammen aufzutreten, lässt auf eine Tumor-unterstützende Rolle schließen.^[10] Andere Arbeiten weisen auf eine Kontext-abhängige Funktion mit einer fördernden Rolle in einigen Tumoren und einer inhibierenden in anderen hin. Daher würden niedermolekulare Verbindungen, die die unterschiedlichen Integrinsubtypen in vitro wie auch in vivo selektiv erkennen, eine Untersuchung der verschiedenen Integrinfunktionen ermöglichen.

Kürzlich haben wir RGD-basierte Integrinantagonisten entwickelt, die spezifisch entweder $\alpha 5 \beta 1$ oder $\alpha \nu \beta 3$ adressieren, während keine Aktivität gegenüber dem Blutplättchenintegrin $\alpha \text{IIb} \beta 3$ vorliegt.^[11] Diese Peptidmimetika (**1** und **2**) wurden mit 1-((1,3-Dicarboxy)propyl)-4,7-(carboxymethyl)-1,4,7-triazacyclononan (NODAGA), einem weitver-

Tabelle 1: Strukturen und Selektivitätsprofile der $\alpha 5 \beta 1$ - und $\alpha \nu \beta 3$ -selektiven Antagonisten (**1** und **2**) sowie der funktionalisierten Derivate (**3** und **4**) für die PET-Bildgebung. Alle IC_{50} -Werte sind auf Cilengitid referenziert.

Verbindung	$\text{IC}_{50}(\alpha \nu \beta 3)$ [nM]	$\text{IC}_{50}(\alpha 5 \beta 1)$ [nM]
1 ^[a]	> 1000	2.3 ± 0.02
2 ^[a]	0.55 ± 0.07	120 ± 27
3	> 1000	1.3 ± 0.08
4	1.5 ± 0.6	118 ± 7.1
Cilengitid ^[a]	0.20 ± 0.07	11 ± 1.2

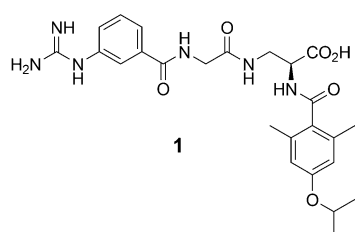
[a] Diese Werte wurden kürzlich publiziert.^[11c]

des NODAGA-Chelators ohne Beeinflussung der Aktivität und Selektivität im Vergleich zu den Werten für den freien Liganden gelungen ist (Tabelle 1). Daher konnten **3** und **4** zur Überprüfung der Subtypselektivität in vivo und zur Einschätzung ihres Potenzials als Marker für die PET-Bildgebung nach Markierung mit $^{68}\text{Ga}^{3+}$ verwendet werden.

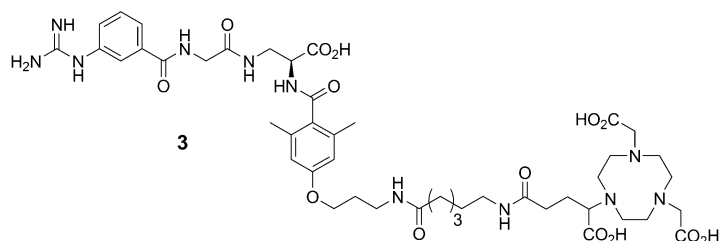
Um die selektive Tumoraufnahme der Verbindungen zu überprüfen, haben wir die ^{68}Ga -markierten Integrinantagonisten **3** und **4** in PET-Bildgebungsexperimenten im Kleintier untersucht (Abbildung 1). Zu diesem Zweck wurde weiblichen BALB/c-Nacktmäusen ein $\alpha 5 \beta 1$ -hochexprimierendes Tumorpheterotransplantat (menschliches Dickdarmkarzinom, RKO) in die rechte Schulter und ein $\alpha \nu \beta 3$ -hochexprimierendes Tumorpheterotransplantat (menschliches Melanom, M21) mit nur geringer endogener $\alpha 5 \beta 1$ -Expression in die linke Schulter implantiert.

Die $\alpha 5 \beta 1$ -selektive Verbindung **3** adressierte spezifisch den $\alpha 5 \beta 1$ -exprimierenden Tumor in der rechten Schulter der Maus (Abbildung 1A). Außer der hohen Aufnahme im $\alpha 5 \beta 1$ -exprimierenden Tumor beobachteten wir auch eine geringe Aufnahme im $\alpha \nu \beta 3$ -exprimierenden Tumor (linke Schulter). Dies ist die Folge einer geringen Koexpression des $\alpha 5 \beta 1$ -Integrins in dieser Zelllinie, wie wir sie auch durch die FACS-Analyse zeigen konnten (Abbildung S1 der Hintergrundinformationen). Um die Spezifität des $\alpha 5 \beta 1$ -bindenden Trägers zu verifizieren, führten wir eine Blockadestudie durch Injektion von 50 μg der nicht markierten Verbindung **3** 10 min vor Trägerinjektion durch (Abbildung 1B). Die Aufnahme von **3** im $\alpha 5 \beta 1$ -positiven Tumor wurde effizient blockiert, und die Aufnahme in allen anderen Organen war vernachlässigbar. Wegen der renalen Ausscheidung des Trägers wurde eine Anreicherung der Aktivität in den Nieren und der Blase gefunden. Im komplementären Experiment zeigte die $\alpha \nu \beta 3$ -selektive Verbindung **4** eine selektive Anreicherung im $\alpha \nu \beta 3$ -exprimierenden Tumor, der in der linken Schulter gewachsen war, und keine Aufnahme im $\alpha 5 \beta 1$ -exprimierenden Tumor (Abbildung 1C). Die höhere Aufnahme in Leber und Darm von **4** gegenüber der von **3** kann aus der Tatsache resultieren, dass **4** weniger hydrophil als der $\alpha 5 \beta 1$ -Antagonist ist. Es ist evident, dass für zukünftige Untersuchungen und die klinische Translation die pharmakokinetischen Eigenschaften dieses radioaktiven Markers durch

$\alpha 5 \beta 1$ -selektiv:

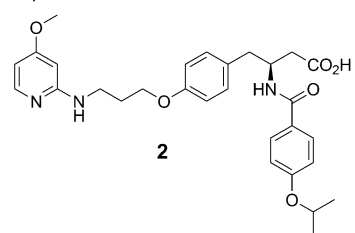


1

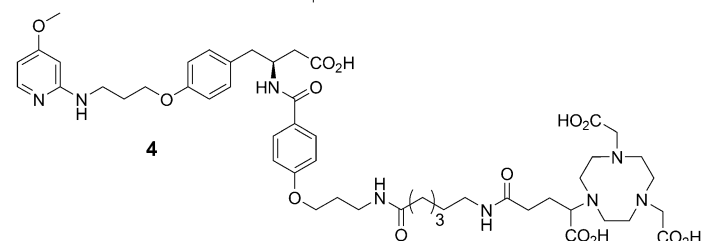


3

$\alpha \nu \beta 3$ -selektiv:



2



4

breiteten difunktionellen Chelator,^[12] funktionalisiert, wodurch die $\alpha 5 \beta 1$ -selektive Verbindung **3** und die $\alpha \nu \beta 3$ -selektive Verbindung **4** erhalten wurden (Tabelle 1). Die Bestimmung der IC_{50} -Werte in einem kürzlich beschriebenen, kompetitiven Integrinbindungsassay^[13] zeigte, dass die Einführung

nahme in Leber und Darm von **4** gegenüber der von **3** kann aus der Tatsache resultieren, dass **4** weniger hydrophil als der $\alpha 5 \beta 1$ -Antagonist ist. Es ist evident, dass für zukünftige Untersuchungen und die klinische Translation die pharmakokinetischen Eigenschaften dieses radioaktiven Markers durch

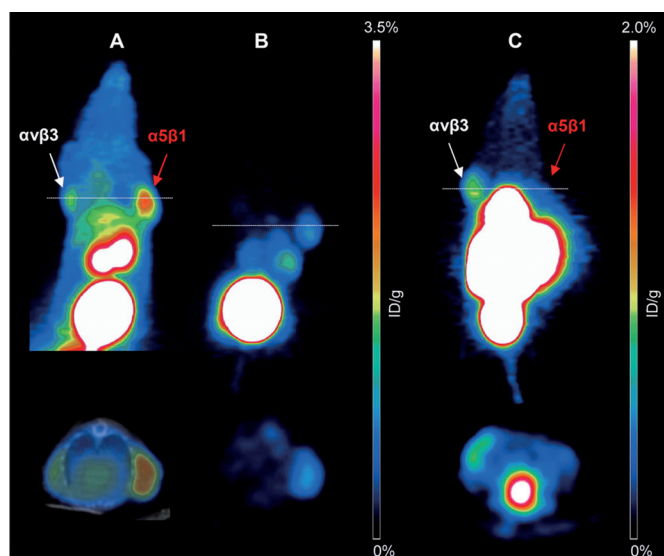


Abbildung 1. Maximumintensitätsprojektion (MIP) der microPET-Scans. Obere Reihe: Mäuse mit RKO- und M21-Tumorerheterotransplantaten in der rechten bzw. linken Schulter. Die MIP umfasst Daten, die 70–90 min nach Injektion des radioaktiven Trägers (^{68}Ga -3 oder ^{68}Ga -4) aufgenommen wurden. Weißer Pfeil: M21; Roter Pfeil: RKO. Untere Reihe: axiale Schnitte, die den weißen Linien in den MIP-Bildern der oberen Reihe entsprechen. A) Injektion von ^{68}Ga -3. B) ^{68}Ga -3-Blockade-experiment (Injektion von 50 μg (2.5 mg kg^{-1} Körpergewicht) nicht markierter Substanz 3 10 min vor Trägerinjektion). C) Injektion von ^{68}Ga -4.

zunehmende hydrophile Eigenschaften verbessert werden müssen. Zur Untersuchung des Selektivitätsprofils und zur Adressierung von bestimmten Integrinsubtypen – was im Vordergrund dieser grundlegenden Experimente steht – sind die Eigenschaften von **4** für die PET-Bildgebung jedoch vollkommen ausreichend. Die Bildgebung stimmt exakt mit den Integrinprofilen der Tumorzelllinien überein. Dies wurde durch die FACS-Analyse bestätigt, die eine hohe $\alpha 5 \beta 1$ -Expression und eine fehlende $\alpha \nu \beta 3$ -Expression in den RKO-Zellen sowie eine hohe $\alpha \nu \beta 3$ -Expression in den M21-Zellen mit einer geringen $\alpha 5 \beta 1$ -Expression zeigte (Abbildung S1 der Hintergrundinformationen). Außerdem bestätigten immunhistochemische und autoradiographische Experimente die Befunde der In-vivo-PET-Bildgebung und lieferten einen starken Beleg für die hohe Selektivität und Spezifität von **3** und **4** für die Bildgebung der Integrine $\alpha 5 \beta 1$ bzw. $\alpha \nu \beta 3$ (Abbildung S2 der Hintergrundinformationen).

Darüber hinaus untersuchten wir das anti-angiogenetische Potenzial von **1**, **2** und Cilengitid ($6 \mu\text{M}$ oder $60 \mu\text{M}$) bei der spontanen Kapillaraussprossung von frischen Rattenaortaringen, die in Kollagengel kultiviert waren. Verbindung **1**, jedoch nicht **2** oder Cilengitid, inhibierte die Kapillarbildung bei einer verabreichten Konzentration von $6 \mu\text{M}$ erheblich, während alle Verbindungen signifikant hemmende Effekte bei einer Dosis von $60 \mu\text{M}$ zeigten (Abbildung 2 A,B). Signifikant inhibierende Effekte wurden mit allen Verbindungen ($60 \mu\text{M}$) bei bFGF- oder VEGF-induzierter Kapillaraus-

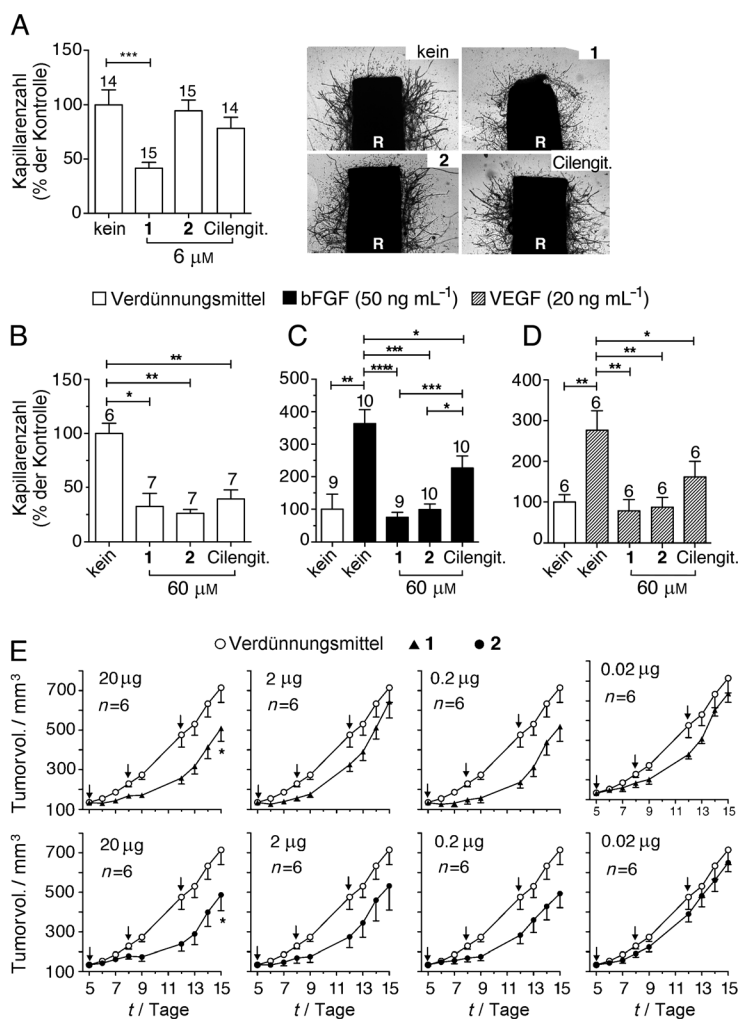


Abbildung 2. Wirkung von **1**, **2** und Cilengitid auf die spontane, bFGF- oder VEGF-induzierte Kapillaraussprossung von Rattenaortaringen, die in Kollagengel kultiviert sind. Die Rattenaortaringe werden entweder sofort nach der Entnahme aus dem Tier (frische Ringe; A und B) oder nach Inkubation in Kultiviermedium für 10–14 Tage und Waschen (dreimal pro Woche) in Kollagengel eingebettet, um die endogenen pro-angiogenetischen Faktoren zu minimieren (ruhende Ringe; C und D). Die Balken stellen die Zahl der Kapillar-ähnlichen Strukturen dar, die aus den Aortaringen nach 4–5 Tagen entstehen, wiedergegeben als Prozent der Kontrolle (Werte \pm Standardfehler). Die Zahl der verwendeten Ringe ist über jedem Balken dargestellt. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$; Mann-Whitney-Test. E) Wirkung von **1** und **2** auf das Wachstum von WEHI-164-Fibrosarkomen in Mäusen. Antitumoreigenschaften der verabreichten (i.p.) Peptidmimetika bei indizierten Dosen. Die Pfeile geben die Dauer der Behandlung an. Tumorumfang (Wert \pm Standardfehler, 6 Mäuse/Gruppe). * $p < 0.05$, doppelter t-Test.

sprossung von ruhenden Aortaringen (Abbildung 2 C,D) erhalten. In diesen Assays induzierte Cilengitid einen deutlich schwächeren anti-angiogenetischen Effekt als die Peptidmimetika **1** und **2**, wodurch das stark anti-angiogenetische Potenzial derselben deutlich wird.

Zusätzlich untersuchten wir die Auswirkungen von systemischer Verabreichung verschiedener Dosen von **1** und **2** an Mäusen mit einem Gen-identischen, subkutanen WEHI-164-Fibrosarkom. Beide Liganden führten selbst bei niedrigen Dosen (Abbildung 2 E) zu einer vergleichbaren Verzögerung

des Tumorwachstums, was darauf schließen lässt, dass eine selektive Inhibierung von $\alpha 5\beta 1$ und $\alpha \nu \beta 3$ ähnliche Antitumoreffekte hervorrufen kann. Die Antitumoreffekte waren mit denjenigen vergleichbar, die durch die Verabreichung von Cilengitid in demselben In-vivo-Modell^[14] hervorgerufen wurden, was darauf hindeutet, dass die kombinierte Blockade der Integrine keine synergistischen oder additiven Antitumoreffekte hervorruft.

Wir konnten nachweisen, dass die mit NODAGA funktionalisierten, $\alpha 5\beta 1$ - und $\alpha \nu \beta 3$ -selektiven Antagonisten **1** und **2** eindeutig Tumorzellen mit verschiedenen Integrinmustern adressieren und unterscheiden können. **3** ist der erste $\alpha 5\beta 1$ -selektive Integrinantagonist, der die spezifische molekulare Bildgebung mit PET ermöglicht. Des Weiteren war es uns möglich, die angiogenetisch relevanten Integrine $\alpha 5\beta 1$ bzw. $\alpha \nu \beta 3$ mit **1** und **2** selektiv anzusprechen und das Tumorstadium in vivo zu verzögern. Die Entwicklung dieser Integrin-selektiven Verbindungen könnte von großer medizinischer Bedeutung sein, weil mit ihnen nicht nur diagnostische Bildgebung oder die Kontrolle des Krankheitsverlaufes bei Krebspatienten, sondern auch Hinweise für therapeutische Eingriffe durch selektives Ansteuern spezifischer Integrinsubtypen (personalisierte Medizin) erhältlich sind. Dies könnte für eine Reihe von pathophysiologischen Zuständen, einschließlich Krebs, Arthritis und Herz-Kreislauf-Erkrankungen, wichtig sein.

Eingegangen am 22. Juli 2013

Online veröffentlicht am 20. September 2013

Stichwörter: Angiogenese · Integrine · Peptidmimetika · Positronenemissionstomographie · RGD

- [1] a) R. O. Hynes, *Cell* **2002**, *110*, 673–687; b) R. O. Hynes, *Nat. Med.* **2002**, *8*, 918–921; c) C. J. Avraamides, B. Garmy-Susini, J. A. Varner, *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8*, 604–617.
- [2] M. D. Pierschbacher, E. Ruoslahti, *Nature* **1984**, *309*, 30–33.
- [3] a) K. M. Hodivala-Dilke, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2008**, *20*, 514–519; b) A. R. Reynolds, I. R. Hart, A. R. Watson, J. C. Welte, R. G. Silva, S. D. Robinson, G. Da Violante, M. Gurlaouen, M. Salih, M. C. Jones, D. T. Jones, G. Saunders, V. Kostourou, F. Perron-Sierra, J. C. Norman, G. C. Tucker, K. M. Hodivala-Dilke, *Nat. Med.* **2009**, *15*, 392–400; c) M. Weller, D. Reardon, B. Nabors, R. Stupp, *Nat. Med.* **2009**, *15*, 726; d) S. M. Weis, D. A. Cheresh, *Nat. Med.* **2011**, *17*, 1359–1370; e) L. Li, J. Welser-Alves, A. van der Flier, A. Boroujerdi, R. O. Hynes, R. Milner, *Exp. Neurol.* **2012**, *237*, 46–54.
- [4] S. J. Shattil, C. Kim, M. H. Ginsberg, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2010**, *11*, 288–300.
- [5] E. Ruoslahti, *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 83–90.
- [6] D. A. Sipkins, D. A. Cheresh, M. R. Kazemi, L. M. Nevin, M. D. Bednarski, K. C. P. Li, *Nat. Med.* **1998**, *4*, 623–626.
- [7] a) M. A. Dechantreiter, E. Planker, B. Mathä, E. Lohof, G. Hölzemann, A. Jonczyk, S. L. Goodman, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3033–3040; b) C. Mas-Moruno, F. Rechenmacher, H. Kessler, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2010**, *10*, 753–768.
- [8] L. E. Reynolds, L. Wyder, J. C. Lively, D. Taverna, S. D. Robinson, X. Huang, D. Sheppard, R. O. Hynes, K. M. Hodivala-Dilke, *Nat. Med.* **2002**, *8*, 27–34.
- [9] S. De, O. Razorenova, N. P. McCabe, T. O'Toole, J. Qin, T. V. Byzova, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 7589–7594.
- [10] P. T. Caswell, M. Chan, A. J. Lindsay, M. W. McCaffrey, D. Boettiger, J. C. Norman, *J. Cell Biol.* **2008**, *183*, 143–155.
- [11] a) D. Heckmann, A. Meyer, L. Marinelli, G. Zahn, R. Stragies, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3571–3574; b) D. Heckmann, A. Meyer, B. Laufer, G. Zahn, R. Stragies, H. Kessler, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1397–1407; c) F. Rechenmacher, S. Neubauer, J. Polleux, C. Mas-Moruno, M. De Simone, E. A. Cavalcanti-Adam, J. P. Spatz, R. Fässler, H. Kessler, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 1612–1616; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 1572–1575; d) F. Rechenmacher, S. Neubauer, C. Mas-Moruno, P. M. Dorfner, J. Polleux, J. Guasch, B. Conings, H.-G. Boyen, A. Bochen, T. R. Sobahi, R. Burgkart, J. P. Spatz, R. Fässler, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 9218–9223.
- [12] a) K. P. Eisenwiener, M. I. M. Prata, I. Buschmann, H. W. Zhang, A. C. Santos, S. Wenger, J. C. Reubi, H. R. Mäcke, *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 530–541; b) C. Decristoforo, I. H. Gonzalez, J. Carlsen, M. Rupprich, M. Huisman, I. Virgolini, H.-J. Wester, R. Haubner, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2008**, *35*, 1507–1515; c) P. A. Knetsch, M. Petrik, C. M. Griessinger, C. Ranger, M. Fani, C. Kesenheimer, E. von Guggenberg, B. J. Pichler, I. Virgolini, C. Decristoforo, R. Haubner, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2011**, *38*, 1303–1312; d) R. A. Dumont, F. Deininger, R. Haubner, H. R. Mäcke, W. A. Weber, M. Fani, *J. Nucl. Med.* **2011**, *52*, 1276–1284; e) K. Pohle, J. Notni, J. Bussmer, H. Kessler, M. Schwaiger, A. J. Beer, *Nucl. Med. Biol.* **2012**, *39*, 777–784.
- [13] A. O. Frank, E. Otto, C. Mas-Moruno, H. B. Schiller, L. Marinelli, S. Cosconati, A. Bochen, D. Vossmeier, G. Zahn, R. Stragies, E. Novellino, H. Kessler, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 9465–9468; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9278–9281.
- [14] F. Curnis, A. Sacchi, R. Longhi, B. Colombo, A. Gasparri, A. Corti, *Small* **2013**, *9*, 673–678.