

Auflösung von Amyloidaggregaten durch einen kontrolliert induzierten Übergang von einer β -Faltblatt- in eine α -Helix-Struktur: eine Anwendung des Schalterkonzepts**

Richard Mimna, Marie-Stéphanie Camus, Adrian Schmid, Gabriele Tuchscherer, Hilal A. Lashuel* und Manfred Mutter*

β -Faltblatt-Aggregate stehen aufgrund der engen Beziehung zu einer Vielzahl von Krankheiten sowie möglichen Anwendungen in verschiedenen Forschungsdisziplinen, von der Biotechnologie bis hin zu den Materialwissenschaften, im Mittelpunkt des Interesses.^[1] Die Fehlfaltung und Selbstaggregation von Proteinen in geordnete β -Faltblatt-reiche Ansammlungen, so genannte Amyloidfibrillen, sind charakteristisch für eine wachsende Klasse von systemischen und neurodegenerativen Erkrankungen, zu denen unter anderem die Alzheimer-, Parkinson- und die Huntington-Krankheit, senile systemische Amyloidose und Typ-II-Diabetes zählen.^[2] Obwohl es deutliche Hinweise gibt, dass die Amyloidbildung eine wichtige Rolle in der Pathogenese dieser Krankheiten spielt, sind der genaue Mechanismus der Bildung und Auflösung in vivo sowie die strukturelle Grundlage für die Toxizität von Amyloid bislang unbekannt. Ursprünglich entstand diese Wissenslücke durch einen Mangel an geeigneten Techniken, um die anfänglichen Strukturübergänge, die mit Fehlfaltung, Amyloidbildung und -auflösung einhergehen, zu verfolgen und/oder zu steuern. Peptid- und Protein-Modellsysteme, die sich zu amyloidähnlichen Faserstrukturen zusammenlagern, sind von großer Bedeutung für die Untersuchung der Amyloidbildung ebenso wie für die Entwicklung von Materialien mit interessanten physikalischen Eigenschaften. Trotzdem ist die mechanische und strukturelle Dy-

namik in einer β -Faltblatt-Ansammlung, wie sie in einer Amyloidfibrille vorliegt, noch sehr schlecht verstanden. Anfangs wurde vermutet, dass β -Faltblatt-Ansammlungen, und damit auch Amyloidfibrillen, ein globales Minimum der Energiehyperfläche besetzen, das niedriger liegt als das des nativen Zustands.^[3] Diese Annahme trug eher zum besseren Verständnis der Amyloidbildung und der Inhibierung dieses Prozesses bei als zum Verständnis der Dissoziation und Auflösung. Trotz der extremen Stabilität von β -Faltblatt-reichen Amyloidfibrillen gegen Proteasen, Säuren und chemische Denaturierungsmittel deuten neuere Human-^[4] und In-vitro-Untersuchungen darauf hin, dass der Amyloidfibrille eine dynamische Struktur zugrundeliegt und die Reversibilität des Amyloidbildungsprozesses auch zur Auflösung einer Fibrille führen kann.^[5a,b] Diese Beobachtungen und die Tatsache, dass Strategien, die auf eine Destabilisierung und/oder schnelle Auflösung von Amyloid zielen, eine Umkehr des Phänotyps^[6,7] der Erkrankung auslösen können, sollte ein detailliertes Wissen über die Stabilität und das dynamische Verhalten einer Amyloidfibrille entscheidend zur künftigen Entwicklung von Therapieansätzen für Amyloiderkrankungen beitragen.

Unsere Arbeitsgruppe hat vor kurzem gezeigt,^[8–10] dass durch den Einbau von Schaltelementen, die auf einer intramolekularen O \rightarrow N-Acylwanderung^[11] in situ beruhen, Sekundärstrukturübergänge^[12a–c] in Polypeptidketten, die zur Selbstaggregation neigen, kontrolliert induziert oder sogar umgekehrt werden können. In dieser Zuschrift beschreiben wir Switch-Peptide, die entworfen wurden, um amyloidähnliche β -Faltblatt-Ansammlungen durch einen kontrolliert induzierten Übergang von einer β -Faltblatt- zu einer α -Helix-Struktur aufzubrechen (Abbildung 1). Die experimentellen Daten demonstrieren das große Potenzial der Switch-Peptide zur Aufklärung der Strukturmechanik von Amyloidfibrillen, der strukturellen Grundlage der Amyloidtoxizität und der Steuerung der Peptidselbstaggregation. Darüber hinaus deuten sie auf die mögliche Entwicklung neuer Peptidbiomaterialien für Medizin und Biotechnologie hin.


Um zu testen, ob die Amyloidbildung durch einen induzierten Übergang von einer β -Faltblatt- in eine α -Helix-Struktur unterbrochen oder umgekehrt werden kann, haben wir ein Switch-Peptid entworfen, das aus der amyloidbildenden Sequenz HQKLVFFAEDVG (A β (14–25)) und einem helixinduzierenden N-cap^[13] (σ) besteht, der über ein von Serin abgeleitetes Schaltelement (S) mit dem Peptid verknüpft ist (Peptid I, Abbildung 1). Das Peptid A β (14–25) umfasst die Aminosäuren 16–20, die bei der Fibrillenbildung

[*] Dr. A. Schmid, Prof. H. A. Lashuel
Brain Mind Institute (BMI)
Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL)
1015 Lausanne (Schweiz)
Fax: (+41) 21-693-1780
E-Mail: hilal.lashuel@epfl.ch

Dr. R. Mimna,^[+] Dipl.-Chem. M.-S. Camus,^[+]
Priv.-Doz. Dr. G. Tuchscherer, Prof. M. Mutter
Institute of Chemical Sciences and Engineering (ISIC)
Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL)
1015 Lausanne (Schweiz)
Fax: (+41) 21-693-9355
E-Mail: manfred.mutter@epfl.ch

[+] R. M. und M.-S. C. haben zu gleichen Teilen zu dieser Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken M. Adrian, Laboratoire d'Analyse Ultrastructurale, Universität Lausanne, für die EM-Aufnahmen. Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und von Debiopharm SA, Lausanne, unterstützt.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

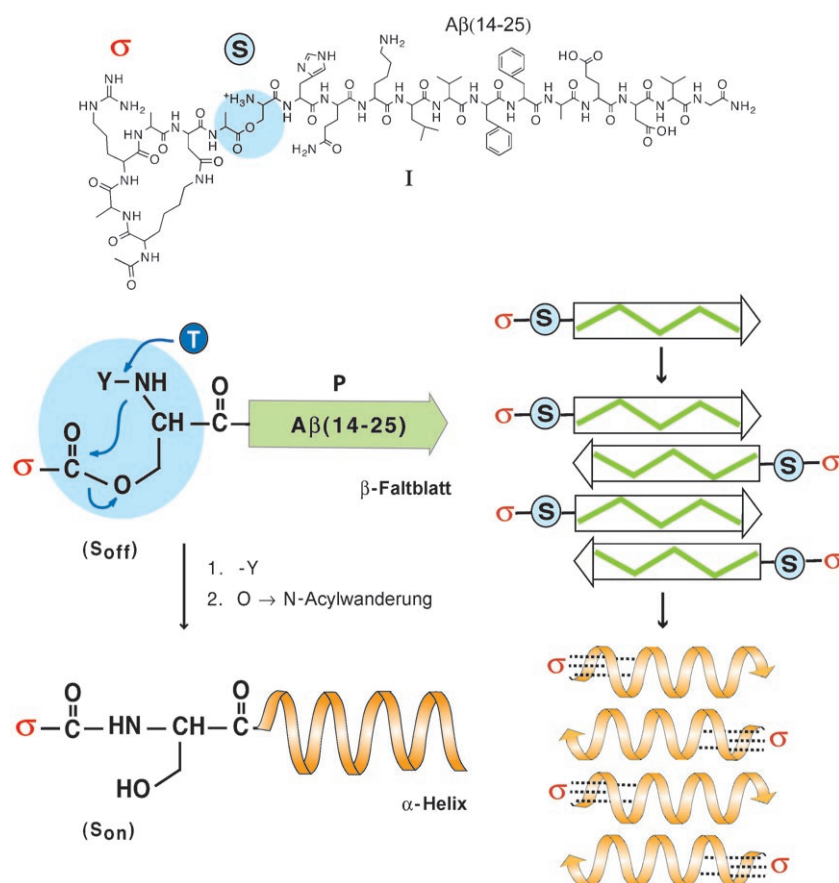


Abbildung 1. Das Switch-Peptid I: Aβ(14–25) ist über ein von Serin abgeleitetes Schaltelement **S** (O-Acyl-Isopeptideinheit, S_{off} -Zustand) mit dem helixinduzierenden Templat **σ** (N-cap = Ac-[cyclo-1–5]-KARAD) verknüpft. Wird die N-Schutzgruppe Y abgespalten, aktiviert die spontane O → N-Acylwanderung den helixinduzierenden Effekt **σ**, und die Helixstruktur bildet sich (links). Durch Aktivieren von **σ** (rechts) wird ein Konformationsübergang von einer selbstassoziierten β-Faltblatt-Struktur (Schritt 1) in eine α-Helix-Struktur (Schritt 2) induziert.

von nativem Amyloid-β-Peptid eine wichtige Rolle spielen und auch in vitro Fibrillen bilden.^[14] Das cyclische Penta-peptid Ac-(cyclo-1–5)-KARAD mit einer Lactambrücke zwischen Lys und Asp in den Positionen *i* und *i* + 4^[13] dient als N-cap. Diese Lactambrücke zwingt die Aminosäurebausteine in eine α-helikale Anordnung und verstärkt als Bestandteil eines größeren Peptids dessen Gesamthelizität deutlich.^[15]

Zur Untersuchung der Eigenschaften von Peptid **I** in Lösung im S_{off} - und S_{on} -Zustand (Abbildung 1) wurden die Sekundärstruktur und der Aggregationszustand durch Zirkulardichroismus-Messungen (CD) und Elektronenmikroskopie (EM) bestimmt. Im S_{off} -Zustand (pH 4.5, 50 mM Acetat, 150 mM NaCl) bei Konzentrationen zwischen 10–100 μM zeigt das CD-Spektrum von Peptid **I** den für eine β-Faltblatt-Struktur typischen Cotton-Effekt (Kurve 1 in Abbildung 2 A). Die Aktivierung des helixinduzierenden N-caps (S_{on}) durch eine pH-induzierte O → N-Acylwanderung^[9,11] reicht nicht aus, um die Bildung einer β-Faltblatt-Struktur durch Aβ(14–24) außer Kraft zu setzen, wie identisch verlaufende CD-Spektren belegen. Dagegen konnte in Gegenwart von 25 % 2,2,2-Trifluorethanol (TFE), das die Bildung

einer α-Helix fördert, innerhalb von fünf Minuten bei Raumtemperatur (Halbwertszeit 150 s, Einschub in Abbildung 2 A) erstmalig ein Übergang von einer überwiegenden β-Faltblatt- im S_{off} -Zustand (Kurven 1, 2) zu einer überwiegenden α-Helix-Struktur im S_{on} -Zustand (Kurve 3) beobachtet werden. Hier muss betont werden, dass Peptid **I** selbst in reinem TFE im S_{off} -Zustand überwiegend β-Faltblatt-reiche fibrilläre Aggregate bildet (siehe Hintergrundinformationen).

Elektronenmikroskopische Studien belegen, dass der Übergang von der β-Faltblatt- zur α-Helix-Struktur von einer deutlichen Änderung der Fibrillenmorphologie und der nachfolgenden Dissoziation begleitet wird. Abbildung 3 zeigt negativ anfärbte elektronenmikroskopische Aufnahmen von Peptid **I** vor (S_{off} , A) und nach (S_{on} , B und C) Aktivieren des Schaltelements in Gegenwart von 25 % TFE. Im S_{off} -Zustand selbstassoziiert Peptid **I** in lange (> 2 μm) unverzweigte Fibrillen mit durchschnittlich 3.3 nm Durchmesser (Abbildung 3 A, Einschub: a). Das seitliche Zusammenlagern dieser dünnen Fibrillen führt zu gedrehten Amyloid-ähnlichen Fibrillen mit durchschnittlich 7.7, 11 und 20 nm Durchmesser. Die 3.3-nm-Untereinheit bildet somit das Protofilament der breiteren Fibrillen (Abbildung 3 A). Diese Fibrillenmorphologien binden amyloidspezifische Färbereagentien wie Kongorot (KR) und Thioflavin T (ThT; siehe Hintergrundinformationen). Interessanterweise lassen sich nach Induktion der O → N-Acylwanderung vorüber-

gehend kurze Bandstrukturen beobachten, die sich jedoch schnell auflösen und damit auf überwiegend α-helikale, lösliche Strukturen des Peptids **I** hindeuten. Filtriert man eine Lösung des Peptids **I** im S_{off} -Zustand über eine 0.22-μm-Membran, bleiben 80 % des Peptids im Filter zurück, und die β-Faltblatt-Struktur lässt sich im Filtrat nicht mehr nachweisen (siehe Hintergrundinformationen). Im S_{on} -Zustand dagegen befinden sich mehr als 80 % des Peptids **I** im Filtrat. Dies bestätigt den Übergang von einer aggregierten β-Faltblatt- zu einer löslichen α-Helix-Struktur (CD) – ein Phänomen, das sich schon durch das Verschwinden der Fibrillensammlungen (Abbildung 3 C) und der ThT-Fluoreszenz nach Induktion der O → N-Acylwanderung angedeutet hatte (siehe Hintergrundinformationen).

Wir haben zur besseren Aufklärung der strukturellen Eigenschaften die Stabilität von Peptid **I** im S_{on} - und S_{off} -Zustand im Hinblick auf wärmeinduzierte Dissoziation/Denaturierung untersucht. Dazu wurden die Peptidlösungen langsam erwärmt, und die Peptidkonformation wurde mithilfe von CD aufgezeichnet (Abbildung 2 B). Nach Erhitzen auf 95 °C zeigt Peptid **I** im S_{off} -Zustand (pH 4.5, 25 °C, Kurve

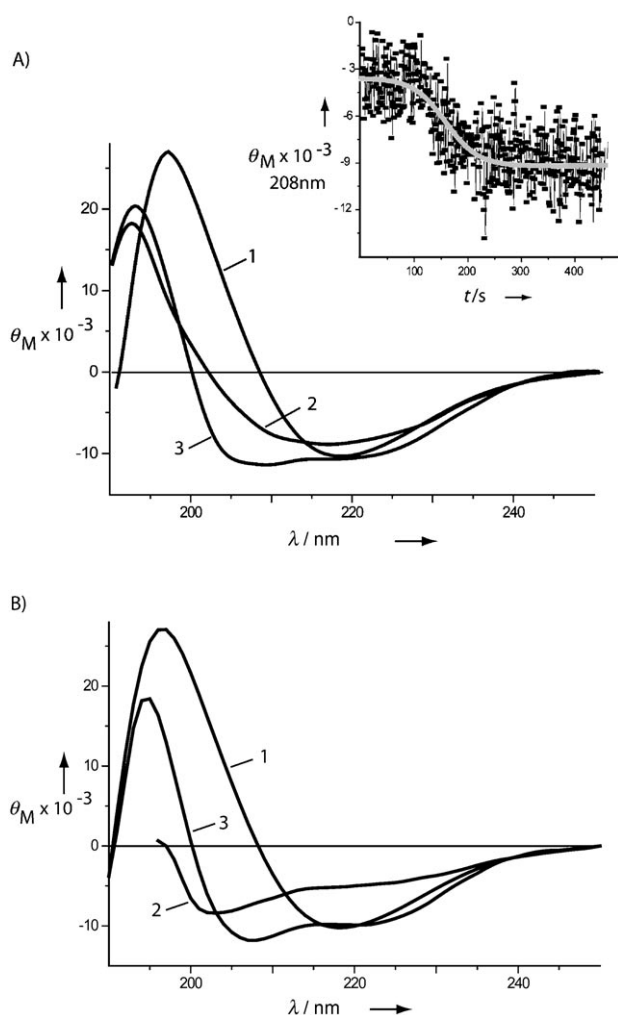


Abbildung 2. Konformationsübergänge des Peptids I (siehe Abbildung 1) im CD-Spektrum ($c = 5 \times 10^{-5}$ M, $T = 25^\circ\text{C}$): A) Kurve 1: pH-4.5-Puffer (S_{off}); Kurve 2: pH-4.5-Puffer/TFE (75:25) (S_{off}); Kurve 3: pH-7.0-Puffer/TFE (75:25) (S_{on}). B) pH-4.5-Puffer, Kurve 1: $T = 25^\circ\text{C}$, Kurve 2: $T = 95^\circ\text{C}$, Kurve 3: Abkühlen auf $T = 25^\circ\text{C}$. Einschub: Zeitlicher Verlauf des Übergangs von der β -Faltblatt- (S_{off}) zur α -Helix-Struktur (S_{on}) wie im CD beobachtet.

1) einen Übergang von einer β -Faltblatt- in eine überwiegend ungeordnete Struktur (Kurve 2). Lässt man die Probe anschließend auf 25°C abkühlen, nimmt das Peptid interessanterweise nicht wieder die ursprüngliche β -Faltblatt-Struktur ein, sondern es entsteht eine α -Helix (Kurve 3). Dies deutet darauf hin, dass bei hoher Temperatur durch die temperaturinduzierte O \rightarrow N-Acywanderung und der damit verbundenen Aktivierung des N-caps der helixinduzierende Effekt in Kraft tritt. Sobald die β -Faltblatt-Struktur bei hoher Temperatur destabilisiert ist, wird der helixinduzierende Effekt des N-caps stark genug, die intrinsische Neigung zur Bildung einer β -Faltblatt-Struktur zu überwinden. Folgerichtig lässt sich ein N-cap-induzierter Übergang von einer ungeordneten (bei 95°C) in eine α -Helix-Struktur (bei 25°C) beobachten.

Wir konnten auch das Potenzial von Peptid I testen, die Amyloidbildung durch kontrollierte Induktion eines Übergangs von β -Faltblatt- zu α -Helix-Struktur innerhalb der

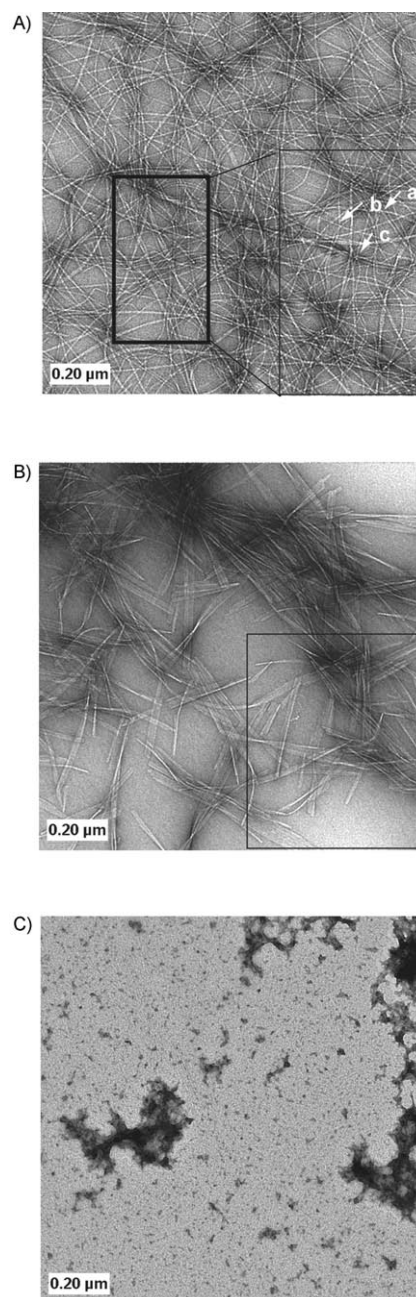


Abbildung 3. Negativ angefärbte elektronenmikroskopische Aufnahmen von Peptid I ($c = 5 \times 10^{-5}$ M) im S_{off} (A) und S_{on} -Zustand 5 Minuten (B) bzw. 12 Stunden (C) nach Aktivieren der intramolekularen O \rightarrow N-Acywanderung.

Amyloidstruktur des selbstassoziierenden Peptids zu unterbrechen. Die experimentellen Daten geben weiteren Aufschluss über die Stabilität und die strukturellen Eigenschaften der Amyloidfibrillen. Unsere Untersuchungen stützen die Hypothese einer dynamischen Amyloidstruktur^[5] und verdeutlichen, dass signifikante strukturelle Umordnungen innerhalb der β -Faltblatt-Struktur einer Amyloidfibrille stattfinden können. Außerdem zeigen diese Studien zum ersten Mal, dass Strukturänderungen in Polypeptidregionen,^[12c] die nicht direkt an der Amyloidbildung beteiligt sind, einen er-

heblichen Einfluss auf die Stabilität und Struktur- und Dynamik von Amyloidfibrillen haben können.

Die Entwicklung von Strategien, um selbstassoziierte β -Strukturen zu unterbrechen und/oder umzukehren, trägt nicht nur zum Verständnis der Mechanismen von Proteinaggregation und -auflösung in vivo bei, sondern auch zur Entwicklung therapeutischer Maßnahmen, die auf die Auflösung oder Umkehr der Amyloidbildung zielen. Wir interessieren uns daher zurzeit für die Ausweitung der Anwendungsmöglichkeiten von Switch-Peptiden zur Untersuchung der Stabilität, Struktur- und Dynamik und Toxizität der Fibrillen sowie der frühen Zwischenstufen („Protofibrillen“), die bei der Bildung von Amyloid durchlaufen werden und an den damit verbundenen Erkrankungen beteiligt sind. Die Fähigkeit, die Struktur und Morphologie der Aggregate des Peptids **1** zu steuern, lässt vermuten, dass der Einbau spezifischer Schaltelemente und/oder strukturinduzierender Motive in amyloidbildende Proteine und Peptide einen Ausgangspunkt bilden könnte, um unterschiedliche Amyloidstrukturen und -morphologien mit ihrer Toxizität zu korrelieren. Außerdem bietet der flexible Einbau mehrerer, orthogonal geschützter Schaltelemente, die selektiv und unabhängig voneinander durch chemische, enzymatische und/oder photolytische Prozesse^[8–10] aktiviert werden können, interessante Möglichkeiten beim Aufbau von Proteinen sowie beim Entwurf von „intelligenten“ Materialien mit maßgeschneiderten strukturellen, funktionellen und physikochemischen Eigenschaften.

Experimentelles

Peptid 1: Das fibrillenbildende Peptid A β (14–25), HQKLFFFAEDVG, wurde gemäß Standardvorschriften für die Synthese von Peptiden an fester Phase nach der 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl(Fmoc)-Strategie am Rink-Amidharz aufgebaut.^[16] Das Schaltelement wurde durch Kupplung des geschützten Depsipeptids Fmoc-Ala-(Boc)Ser-OH^[17] eingebaut (Boc = *tert*-Butoxycarbonyl), wie bei Coin et al. beschrieben.^[11b] Anschließend wurde die N-cap-Einheit als geschützter Baustein Fmoc-(cyclo-1–5)-KAR-(Pbf)AD-OH^[12] gekuppelt (Pbf = 2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl). Nach Abspaltung vom Harz und Reinigung durch semipräparative Umkehrphasen-HPLC wurde Peptid **1**, Ac-[(cyclo-1–5)-KARAD]A-S₁-HQKLFFFAEDVG-NH₂ (S₁ = (+H)Ser)^[17] als weißes Pulver erhalten und mit analytischer HPLC (Reinheit > 95 %) und ESI-MS (*m/z*: 1056.86 [*M*+2H/2]⁺, 704.81 [*M*+3H/3]⁺, 529.31 [*M*+4H/4]⁺) charakterisiert.

Eingegangen am 8. September 2006,
veränderte Fassung am 7. Dezember 2006
Online veröffentlicht am 2. März 2007

Stichwörter: Amyloidfibrillen · Degenerative Erkrankungen · Fibrillenauflösung · Konformationsübergänge · Switch-Peptide

- [1] a) T. Scheibel, A. S. Kowal, J. D. Bloom, S. L. Lindquist, *Curr. Biol.* **2001**, *11*, 366–369; b) K. Rajagopal, J. P. Schneider, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2004**, *14*, 480–486; c) M. Reches, E. Gazit, *Science* **2003**, *300*, 625–627; d) M. Reches, E. Gazit, *Phys. Biol.* **2006**, *3*, S10–S19; e) H. A. Lashuel, S. R. LaBrenz, L. Woo, L. C. Serpell, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5262.
- [2] a) M. Stefani, C. M. Dobson, *J. Mol. Med.* **2003**, *81*, 678–699; b) C. Soto, L. Estrada, J. Castilla, *Trends Biochem. Sci.* **2006**, *31*, 150–155.
- [3] M. Jager, H. Nguyen, J. C. Crane, J. W. Kelly, M. Gruebele, *J. Mol. Biol.* **2001**, *311*, 373–393.
- [4] J. D. Gillmore, A. J. Stangou, G. A. Tennent, D. R. Booth, J. O'Grady, M. Rela, N. D. Heaton, C. A. Wall, J. A. Keogh, P. N. Hawkins, *Transplantation* **2001**, *71*, 986–992.
- [5] a) N. Carulla, G. L. Caddy, D. R. Hall, J. Zurdo, M. Gairi, M. Feliz, E. Giralt, C. V. Robinson, C. M. Dobson, *Nature* **2005**, *436*, 554–558; b) I. Kheterpal, H. Lashuel, D. Hartley, T. Walz, P. Lansbury, Jr., R. Wetzel, *Biochemistry* **2003**, *42*, 14092–14098; c) G. Plakoutsi, F. Bemporad, M. Calamai, N. Taddei, C. M. Dobson, F. Chiti, *J. Mol. Biol.* **2005**, *351*, 910–922.
- [6] M. B. Pepys, J. Herbert, W. L. Hutchinson, G. A. Tennent, H. J. Lachmann, J. R. Gallimore, L. B. Lovat, T. Bartfai, A. Alanine, C. Hertel, T. Hoffmann, R. Jakob-Roetne, R. D. Norcross, J. A. Kemp, K. Yamamura, M. Suzuki, G. W. Taylor, S. Murray, D. Thompson, A. Purvis, S. Kolstoe, S. P. Wood, P. N. Hawkins, *Nature* **2002**, *417*, 254–259.
- [7] a) C. Janus, M. A. Chishti, D. Westaway, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1502*, 63–75; b) D. Morgan, D. M. Diamond, P. E. Gottschall, K. E. Ugen, C. Dickey, J. Hardy, K. Duff, P. Jantzen, G. DiCarlo, D. Wilcock, K. Connor, J. Hatcher, C. Hope, M. Gordon, G. W. Arendash, *Nature* **2000**, *408*, 982–985.
- [8] S. Dos Santos, A. Chandravarkar, B. Mandal, R. Mimna, K. Murat, L. Saucedo, P. Tella, G. Tuchscherer, M. Mutter, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11888–11889.
- [9] M. Mutter, A. Chandravarkar, C. Boyat, J. Lopez, S. Dos Santos, B. Mandal, R. Mimna, K. Murat, L. Patiny, L. Saucedo, G. Tuchscherer, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4267–4273; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4172–4178.
- [10] L. Saucedo, S. Dos Santos, C. Arunan, B. Mandal, R. Mimna, K. Murat, M.-S. Camus, J. Bérard, E. Grouzmann, M. Adrian, J. Dubochet, J. Lopez, H. Lashuel, G. Tuchscherer, M. Mutter, *Chimia* **2006**, *60*, 199–202.
- [11] a) L. A. Carpino, E. Krause, C. D. Sferdean, M. Schuemann, H. Fabian, M. Bienert, M. Beyer mann, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 7519–7523; b) I. Coin, R. Dolling, E. Krause, M. Bienert, M. Beyer mann, C. D. Sferdean, L. A. Carpino, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6171–6177; c) Y. Sohma, Y. Hayashi, M. Skwarczynski, Y. Hamada, M. Sasaki, T. Kimura, Y. Kiso, *Biopolymers* **2004**, *76*, 344–356; d) A. Taniguchi, Y. Sohma, M. Kimura, T. Okada, K. Ikeda, Y. Hayashi, T. Kimura, S. Hirota, K. Matsuzaki, Y. Kiso, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 696–697.
- [12] a) M. Mutter, R. Hersperger, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 195–197; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 185–187; b) M. Mutter, R. Gassmann, U. Buttkus, K.-H. Altmann, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1504–1506; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1514–1516; c) K. Pagel, T. Vagt, B. Koksche, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3843–3850.
- [13] R. Mimna, M. Mutter, *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2007**, im Druck.
- [14] a) E. M. Castano, F. Prelli, T. Wisniewski, A. Golabek, R. A. Kumar, C. Soto, B. Frangione, *Biochem. J.* **1995**, *306*, 599–604; b) L. O. Tjernberg, A. Tjernberg, N. Bark, Y. Shi, B. P. Ruzsicska, Z. Bu, J. Thyberg, D. J. Callaway, *Biochem. J.* **2002**, *366*, 343–351.
- [15] a) A. M. Felix, E. P. Heimer, C. T. Wang, T. J. Lambros, A. Fournier, T. F. Mowles, S. Maines, R. M. Campbell, B. B. Wegrzynski, V. Toome, D. Fry, S. V. Madison, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1988**, *32*, 441–454; b) N. E. Shepherd, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2741–2744; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2687–2690.
- [16] W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis—A Practical Approach*, Oxford University Press, New York, **2000**.
- [17] Wir folgen dem Nomenklaturvorschlag für Depsipeptide aus S. V. Filip, F. Cavelier, *J. Pept. Sci.* **2004**, *10*, 115–118.