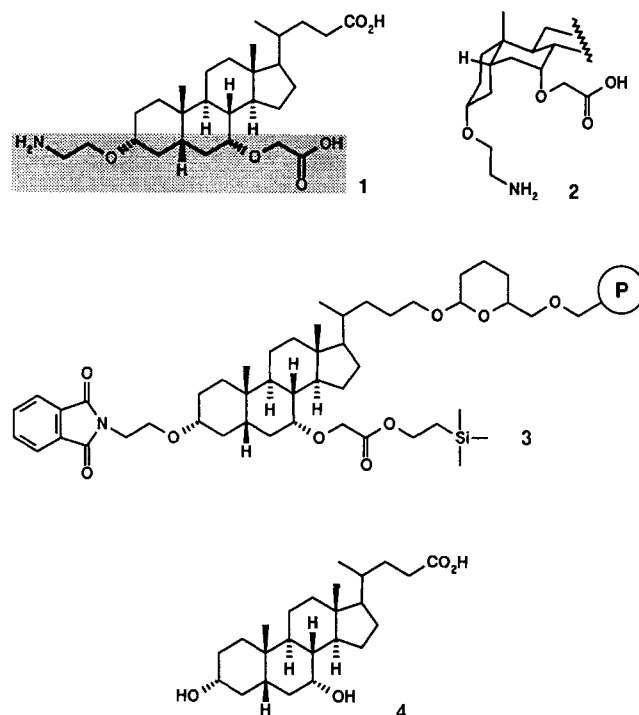


Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter den Hinterlegungsnummern CSD-405068 (**2a**), CSD-405069 (**2b**), CSD-405470 (**3**), CSD-405070 (**4**) und CSD-405071 (**5**) angefordert werden.

- [8] W. F. de Jong, *Z. Kristallogr.* **1926**, 63, 466.
 [9] *Lundolt-Börnstein, Gruppe III, Kristall- und Festkörperphysik, Bd. 17, Halbleiter* (Hrsg.: O. Madelung), Springer, Berlin, **1982**, S. 236.
 [10] V. M. Goldschmidt, *Geochemische Verteilungsgesetze der Elemente, Bd. 8, Untersuchungen über Bau und Eigenschaften von Krystallen* (Hrsg.: J. Dybwad), Oslo, **1927**.
 [11] a) R. Juza, K. Bär, *Z. Anorg. Allgem. Chem.* **1956**, 283, 230; b) H. Krebs, K.-H. Müller, G. Zürn, *ibid.* **1956**, 285, 15; c) M. von Stackelberg, R. Paulus, *Z. Phys. Chem. B* **1935**, 28, 427.
 [12] a) M. K. Chaled, Dissertation, Universität Bonn, **1975**; b) P. C. Donohue, *J. Solid State Chem.* **1972**, 5, 71.



Design und Synthese eines Gerüsts aus Gallensäure für die kombinatorische Chemie

Günther Wess*, Klaus Bock, Horst Kleine, Michael Kurz, Wolfgang Guba, Horst Hemmerle, Eloisa Lopez-Calle, Karl-Heinz Baringhaus, Heiner Glombik, Alfons Enhsen und Werner Kramer

Die kombinatorische Chemie eröffnet der Arzneimittelforschung neue Möglichkeiten bei der Suche nach Leitstrukturen und deren rascher Optimierung^[1]. Zwar markieren bereits viele Peptide diesbezüglich einen ersten Meilenstein, doch ist die Optimierung einer für die kombinatorische Chemie tauglichen Synthesesequenz noch immer weit mehr als eine rein handwerkliche Aufgabe^[2]. Die Synthesestrategie muß der Kompatibilität und dem Zusammenspiel von Harz und Gerüst verbindenden Linker sowie von Schutzgruppen und Derivatisierungsreaktionen Rechnung tragen. Zahl, Diversität und Verfügbarkeit nicht-peptidischer Gerüste sind gegenwärtig noch außerordentlich begrenzt. Das Design neuer, hinsichtlich ihrer Strukturen möglichst diverser nichtpeptidischer Gerüste ist aber eine Voraussetzung, vielfältigste Strukturen abzudecken^[3]. Sowohl für die Herstellung von Verbindungsbibliotheken als auch zur gezielten Leitstrukturoptimierung durch Parallelsynthese sind wir an vielseitig verwendbaren, konformativ fixierten Aminosäurebausteinen interessiert. Insbesondere sollen diese Strukturelemente Peptidsequenzen ersetzen und/oder pharmakophore Gruppen oder andere Reste präorganisieren^[4,6].

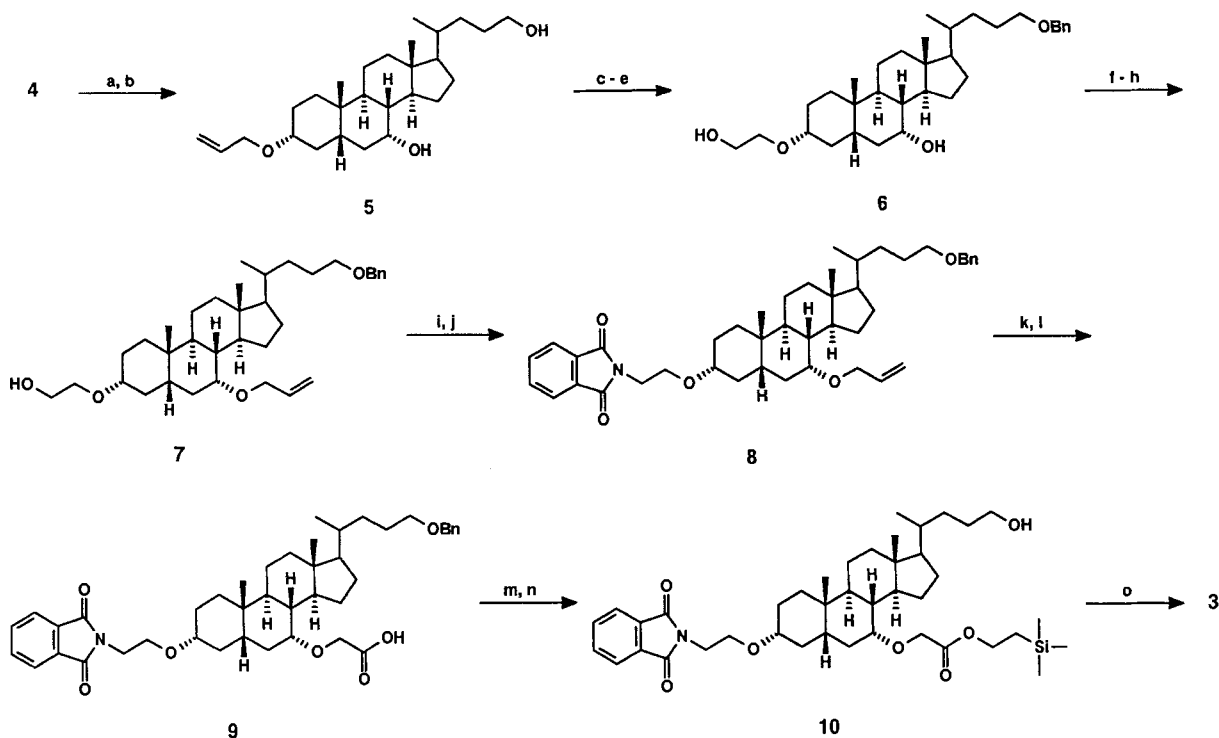
Wir berichten hier über das Aminosäureäquivalent **1**, das die *cis*-Dekalin-Teilstruktur (**2**) in einem Gallensäuregerüst aufweist und formal ein Tetrapeptidmimetikum ist. Als Derivat **3** sollte es sich für kombinatorische Synthesen hervorragend eignen. In **1** nutzt man die beiden *cis*-ständigen OH-Funktionen der α -Seite von Chenodesoxycholsäure **4**, wobei, jeweils über einen Spacer, C-7 die Carboxygruppe und C-3 die Aminogruppe trägt. In bisherigen Arbeiten mit Gallensäuren^[5] waren die Funktionalitäten an C-3 und C-7 gleich: Man nutzte entweder beide OH-Gruppen in Form der Ester oder zwei Aminogruppen als Amide. Im Unterschied dazu verwenden wir unterschiedliche, über Spacer gebundene funktionelle Gruppen an C-3 und C-7 sowie eine OH-Gruppe an C-24.

In **3** liegen sowohl die Amino- als auch die Carboxygruppe geschützt vor, können aber jederzeit selektiv unter sehr milden Bedingungen am festen Träger freigesetzt werden. Zur Verknüpfung mit dem polymeren Träger diente die säurelabile Tetrahydropyranyleinheit^[7]. Nach der Freisetzung vom Harz unter sehr milden Bedingungen erhält man den C-24-Alkohol, der sich bequem reinigen und derivatisieren läßt. Die Synthese von **3** ist in Schema 1 dargestellt. Selektive Allylierungen an den Hydroxygruppen von Gallensäuren und Gallensäureestern waren bislang ein präparatives Problem^[8]. Die Verwendung von Allylbromid/Diisopropylethylamin lieferte nur in wenigen Fällen das allylierte Produkt in befriedigender Ausbeute. Selektive Monoalkylierungen der 3-OH-Gruppe erforderten immer Schutzgruppen an 7-OH und 12-OH. Zur Allylierung von 7-OH und 12-OH waren darüber hinaus zunächst der Schutz der anderen Funktionen und dann sehr lange Reaktionszeiten erforderlich. Wir stellten nun fest, daß in Allylbromid/DMF (1/1) mit gepulvertem Kaliumhydroxid und unter Temperaturkontrolle (10–20 °C, 8 h) selektiv 3-Allylchenodesoxycholsäureallylester gebildet wird. Dessen Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid liefert den Alkohol **5**, der mit Benzylbromid/DMF/KOH selektiv benzyliert werden kann. Danach wurde entsprechend an 7-OH allyliert.

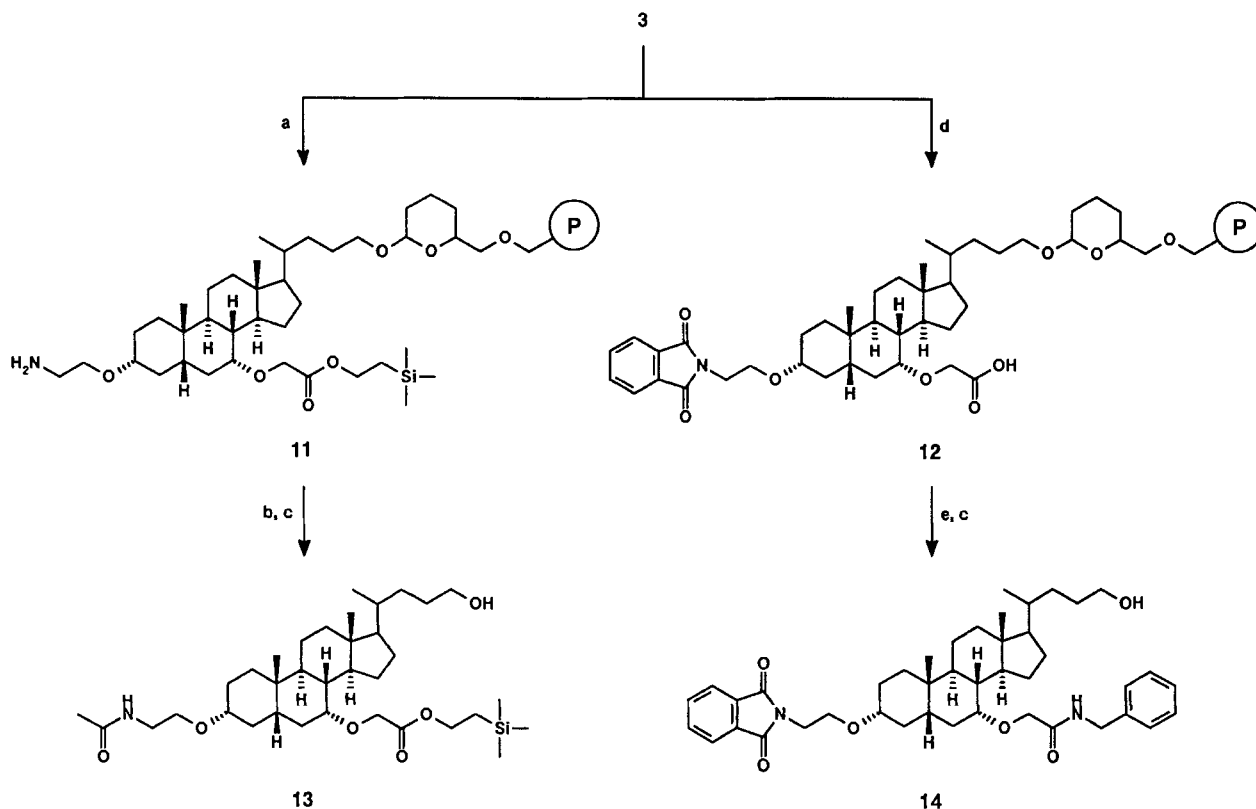
Da die Phthalimidgruppe als Aminschutzgruppe stabil gegenüber vielen Reagentien ist, wählten wir die Gabriel-Synthese^[9] zur Einführung der Aminfunktion. Die Verknüpfung von **10** mit dem polymeren Träger gelang nach dem von Ellman beschriebenen Verfahren^[7]. Zur Verknüpfung in Dichlorethan mit Pyridinium-*p*-toluolsulfonat (PPTS; 18 h Rückfluß) wurden 1.5 g polymerer Träger eingesetzt (<2.25 mmol) und daraus 2.65 g Verknüpfungsprodukt erhalten. Der Chlorgehalt lag nach Aufschluß und argentometrischer Bestimmung unter 0.76%.

Bei der Untersuchung der sauren Bedingungen für die Abspaltung vom polymeren Träger erwies sich die Trimethylsilyl-ethylgruppe als sehr empfindlich. Überraschenderweise gelingt die Abspaltung glatt und zersetzungsfrei in THF mit Salzsäure in Diethylether (4 h, Raumtemperatur; Schema 2). Zur Optimierung der Reaktionsbedingungen wurden die Produkte vom

[*] Dr. G. Wess, K. Bock, H. Kleine, Dr. M. Kurz, Dr. W. Guba, Dr. H. Hemmerle, Dr. E. Lopez-Calle, Dr. K.-H. Baringhaus, Dr. H. Glombik, Dr. A. Enhsen, Dr. W. Kramer
 Zentrale Pharma-Forschung, Hoechst AG
 D-65926 Frankfurt
 Telefax: Int. +69/331399



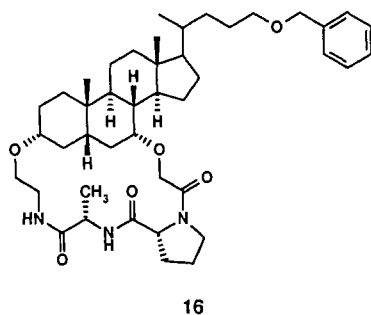
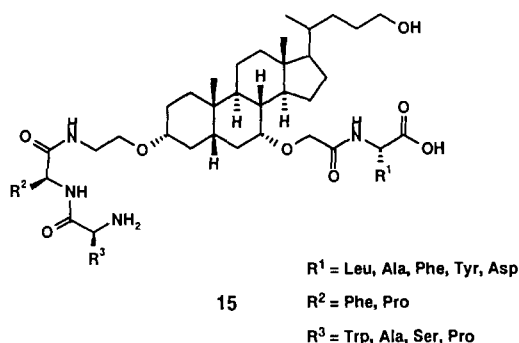
Schema 1. Synthese von 10 und Anbindung an die Festphase. a) Allylbromid/DMF (1/1), KOH pulv., 10–20 °C, 8 h (81%); b) LiAlH₄, THF 50 °C, 1 h (98%); c) PhCH₂Br/DM (175), KOH pulv., –10 °C → 0 °C, 3 h (85%); d) OsO₄/NaIO₄, Et₂O/H₂O (1/1), Raumtemperatur, 4 h (roh. quant.); e) NaBH₄, Et₂O/EtOH (3/1), Raumtemperatur, 1 h (83%); f) /BuMe₂SiCl, 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP), CH₂Cl₂, Raumtemperatur, 4 h (95%); g) Allylbromid/DMF (1/1), KOH pulv., 0 °C, 3 h (94%); h) Bu₄NF, THF, Raumtemperatur, 3 h (roh. quant.); i) CH₃SO₂Cl, Pyridin, 0 °C → Raumtemperatur, 2 h (95%); j) Phthalimid-Kaliumsalz, DMF, 70 °C, 3 h (97%); k) OsO₄/NaIO₄, Et₂O/H₂O (1/1), Raumtemperatur, 8 h (roh. quant.); l) Pyridiniumdichromat, DMF, Raumtemperatur, 5 h (79%); m) HOBT, DCC, DMAP, CH₂Cl₂, Raumtemperatur, 15 min, dann Me₃SiCH₂CH₂OH, Raumtemperatur, 2 h (91%); n) H₂, Pd/C 10%, Essigsäureethylester, Normaldruck und Raumtemperatur, 4 h (87%); o) Spacer-Polymer [7b], PPTS, ClCH₂CH₂Cl, Rückfluß, 18 h.



Schema 2. Festphasenreaktionen und Freisetzung. a) MeNHNH₂/THF/EtOH (1/6/1), Raumtemperatur, 18 h; b) (CH₃CO)₂O, Pyridin, CH₂Cl₂, Raumtemperatur, 12 h; c) HCl/Et₂O, THF, 4 h; d) Bu₄NF, DMF, Raumtemperatur, 12 h; e) HOBT, DCC, CH₂Cl₂, Raumtemperatur, 1 h, dann PhCH₂NH₂, Raumtemperatur, 4 h. (P) = polymerer Träger.

Harz abgespalten (THF; HCl/Et₂O, Raumtemperatur), chromatographiert und spektroskopisch analysiert. Die Freisetzung des Amins aus **3** zu **11** unter den klassischen Gabriel-Bedingungen (Hydrazinolyse)^[9] gelingt nicht; eine Nebenreaktion ist die Bildung des Carbonsäurehydrazids aus dem Trimethylsilylethyl-ester. Verbindung **11** bildet sich allerdings glatt bei der Umsetzung mit Methylhydrazin in THF/Ethanol bei Raumtemperatur. Sie läßt sich mühelos zu **13** acylieren. Die Carbonsäure **12** wurde aus **3** mit Tetrabutylammoniumfluorid in DMF freigesetzt. Die Derivatisierung zu Amiden gelingt mit Dicyclohexylcarbodiimid/1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol (DCC/HOBT)^[10] in Dichlormethan. Aus je 250 mg **3** wurden nach chromatographischer Reinigung 50 mg **13** und 65 mg **14** erhalten.

Auf der Basis dieser methodischen Vorarbeiten wurde eine Bibliothek aus 40 Verbindungen des Typs **15** aufgebaut^[11]. Um die Eignung von **1** als β -Turnmimeticum zu verifizieren, wurde die D-Pro-Ala enthaltende cyclische Verbindung **16**^[12] syntheti-



siert. Diese ähnelt einem cyclischen Hexapeptid, bei dem vier Aminosäuren durch das Gerüst **1** ersetzt sind. Protonenabstände für **16** wurden aus ROESY-NMR-Spektren in CDCl₃ und DMSO ermittelt. In DMSO liegen zwei Konformere im Gleichgewicht vor, die sich in der Konformation der Peptidbindung zwischen dem Gerüst und D-Pro unterscheiden, während in CDCl₃ ausschließlich das *trans*-Konformer vorliegt. Die experimentell bestimmten Abstände wurden für eine 3D-Strukturverfeinerung durch Distanzgeometrie und Moleküldynamik-Simulationen in DMSO sowie Chloroform verwendet. In Abbildung 1 wird die Struktur von **16** mit der eines cyclischen

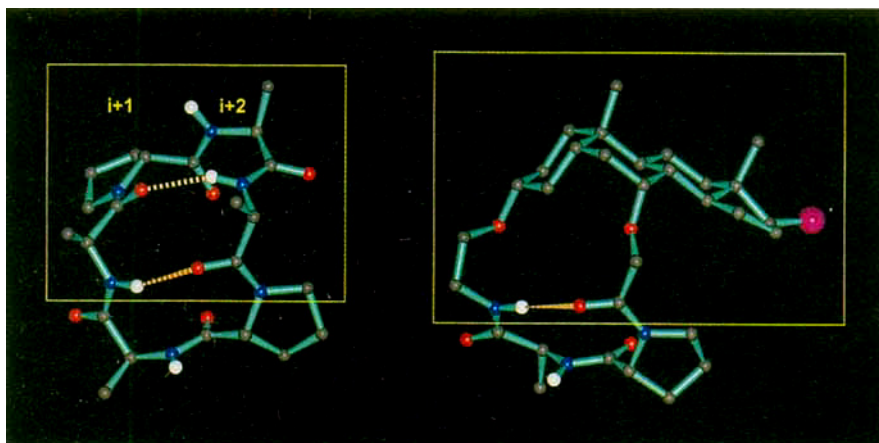


Abb. 1. Vergleich der 3D-Strukturen von **16** (rechts) und cyclo-(D-Pro-Ala-Ala)₂ (links) [13]. Die eingerahmten Bereiche entsprechen jeweils einem β -Turn.

Hexapeptids mit zwei β -II'-Turns verglichen. Es wird ersichtlich, daß das Gallensäuretemplat die Positionen *i* bis *i* + 3 des oberen β -Turns des Hexapeptids einnimmt. Im Unterschied zu den bisher bekannten Turnmimetica, die üblicherweise die Positionen *i* + 1 und *i* + 2 einer β -Schleife ersetzen, liegt hier ein Turnmimeticum vor, das einem vollständigen β -Turn entspricht und eine Kettenverlängerung mit eindeutiger Laufrichtung in N- und C-terminaler Richtung ermöglicht. Damit steht mit **1** ein neuartiger Baustein für das Design kombinatorischer Verbindungsbibliotheken zur Verfügung, der andere Strukturen abdeckt als die bisher eingesetzten Turnmimetica. Darüber hinaus weist das Gallensäuretemplat **1** eine kompakte hydrophobe Oberfläche auf, die sich beim Einbau in Peptid-Wirkstoffe günstig auf deren pharmakokinetische Eigenschaften auswirken könnte. Gegenwärtig synthetisieren wir weitere Modellverbindungen, um die β -Faltblatt-induzierende Wirkung von **1** zu untersuchen. Verbindungsbibliotheken ausgehend von **1** werden derzeit hinsichtlich unterschiedlicher Targets biologisch geprüft.

Eingegangen am 30. Januar,
veränderte Fassung am 7. Juni 1996 [Z 8768]

Stichworte: Festphasensynthesen • Gallensäuren • Kombinatorische Chemie • Peptidmimetica

- [1] a) M. A. Gallop, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, E. M. Gordon, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1233; b) E. M. Gordon, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, M. A. Gallop, *ibid.* **1994**, 37, 1385; c) J. A. Ellman, *Chemtracts* **1995**, 8, 1; M. C. Pirrung, *ibid.* **1995**, 8, 5; A. W. Czarnik, *ibid.* **1995**, 8, 13; d) L. A. Mitscher, *ibid.* **1995**, 8, 19; e) M. C. Desai, R. N. Zuckermann, W. H. Moos, *Drug Dev. Res.* **1994**, 33, 174.
- [2] a) C. Gennari, H. P. Nestler, B. Solom, W. C. Still, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1892; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1763; b) G. T. Wang, S. Li, N. Wideburg, G. A. Krafft, D. J. Kempf, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2995.
- [3] E. J. Martin, J. M. Blaney, M. A. Siani, D. C. Spellmeyer, A. K. Wong, W. H. Moos, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1431.
- [4] a) A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1303; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1244; b) D. P. Fairlie, G. Abbenante, D. R. March, *Curr. Med. Chem.* **1995**, 2, 654; c) R. M. J. Liskamp, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 661; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 633.
- [5] a) M. Lebl, V. Krchnak, N. F. Sepetor, B. Seligman, P. Strob, S. Felder, K. S. Lam, *Peptide Sci.* **1995**, 37, 177; b) R. Boyce, G. Li, H. P. Nestler, T. Suenaga, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 7955.
- [6] a) R. Hirschmann, P. A. Sprengeler, I. Kawasaki, J. W. Leahy, W. C. Shakespear, A. B. Smith, *Tetrahedron* **1993**, 49, 3665; b) H. Diaz, J. W. Kelly, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 5725; c) J. B. Ball, R. A. Hughes, P. F. Alewood, P. R. Andrews, *Tetrahedron* **1993**, 49, 3567.
- [7] a) E. K. Kick, J. A. Ellman, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 1427; b) L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 9333.

- [8] a) G. Wess, W. Kramer, S. Bartmann, A. Enhsen, H. Glombik, S. Müllner, K. Bock, A. Dries, H. Kleine, W. Schmitt, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 195; b) A. P. Davis, P. J. Dorgan, E. R. Mageean, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 492.
- [9] M. S. Gibson, R. W. Bradshaw, *Angew. Chem.* **1968**, 80, 986; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, 7, 919.
- [10] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788.
- [11] Aus **3** wurde die Carbonsäurefunktion freigesetzt und mit jeweils einer von fünf unterschiedlichen *tert*-Butyl-geschützten Aminosäuren verknüpft (HOBT, DCC, CH_2Cl_2). Nach Freisetzung der Aminogruppe aus dem Phthalimid (MeNHNH_2) wurde mit 9-Fluorenylmethoxycarbonyl(Fmoc)-geschützten Aminosäuren [$\text{O}-\{(\text{Ethoxycarbonyl})\text{cyanmethylenamino}\}-N,N,N',N'$ -tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TOTU), DMF] gekuppelt. Schließlich wurde die Fmoc-Gruppe abgespalten (Piperidin) und mit weiteren Aminosäuren umgesetzt (Fmoc-Derivate, TOTU). Man erhielt nach Freisetzung vom Harz und Entschützen (Trifluoressigsäure (TFA), CH_2Cl_2 , Et_3SiH) die Produkte in Form der Trifluoroacetate. Filtration durch Aluminiumoxid (EtOAc , MeOH , H_2O , HOAc) lieferte die freien Verbindungen **15** in Ausbeuten von 50–90% mit Reinheiten von 50–90% (HPLC).
- [12] Verbindung **9** wurde mit *D*-Prolin-*tert*-butylester-Hydrochlorid (HOBT, DCC, $\text{Et}_3\text{N}/\text{Pr}_2$) umgesetzt und anschließend mit Trifluoressigsäure/Wasser (98/2) entschützt. Umsetzung der freien Säure mit *L*-Alanin-*tert*-butylester-Hydrochlorid (HOBT, DCC, $\text{Et}_3\text{N}/\text{Pr}_2$), Freisetzung der Säure mit Trifluoressigsäure/Wasser (98/2), Phthalimid-Spaltung mit $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{NNH}_2$ und anschließende Cyclisierung mit Pentafluorphenol, (DCC, CH_2Cl_2 , hohe Verdünnung) lieferten **16** in sehr guter Ausbeute (92%).
- [13] M. Kurz, Dissertation, Technische Universität München, **1991**.

Zum Mechanismus der metallabhängigen Aldolasen der Klasse II**

Wolf-Dieter Fessner*, Achim Schneider, Heike Held, Gudrun Sinerius, Christiane Walter, Mark Hixon und John V. Schloss*

Professor Horst Prinzbach zum 65. Geburtstag gewidmet

Die vier Dihydroxyacetonphosphat(DHAP)-abhängigen Aldolasen^[1,2] erfreuen sich eines wachsenden Interesses in der präparativen asymmetrischen Synthese wegen ihrer Fähigkeit, zwei neue Stereozentren mit hoher chiraler Induktion aufzubauen^[3]. Während alle DHAP-Aldolasen eine sehr breite Substrattoleranz für die Aldol-Acceptorsubstrate aufweisen, scheinen sie eine hohe Substratspezifität für DHAP als Aldol-Donor zu haben, wobei nur ein isosterer Ersatz der Phosphatestergruppe in engen Grenzen tolerierbar ist^[4]. In manchen Fällen kann die Diastereoselektivität durch mangelhafte Kontrolle über das Stereozentrum an C-4 eingeschränkt sein, was auf eine gelegentliche inverse Bindung der Aldehyd-Carbonylgruppe hinweist^[2c]. Um die Ergebnisse der Methode noch besser prognostizieren zu können, wäre ein detailliertes Verständnis der individuellen Beiträge von Aminosäureresten des aktiven Zentrums zur Substraterkennung und zum Katalyseverlauf wünschenswert.

[*] Prof. Dr. W.-D. Fessner, Dr. A. Schneider, Dipl.-Chem. H. Held, Dr. G. Sinerius, Dr. C. Walter
Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule
Professor-Pirlet-Straße 1, D-52056 Aachen
Telefax: Int. + 241/8888 385
E-mail: fessner@rwth-aachen.de
Prof. Dr. J. V. Schloss, M. Hixon
Department of Medicinal Chemistry, University of Kansas
Lawrence, KS 66045 (USA)
Telefax: Int. + 913/864 4503
E-mail: schloss@kuhub.cc.ukans.edu

[**] Enzyme in der Organischen Synthese, 12. Mitteilung. Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Fe 244/6-1 und SFB380/B25, W. D. F.) und durch die National Institutes of Health (Grants GM48568 und GM07775, J. V. S.) gefördert. Wir danken Prof. Dr. G. E. Schulz und Dr. M. Dreyer (Universität Freiburg) für unpublizierte Daten aus Röntgenstrukturanalysen (siehe Lit. [11b]). – 11. Mitteilung: [4b].

Aldolasen werden nach Art der Donor-Aktivierung in zwei Klassen unterteilt^[5]: Aldolasen der Klasse I bewirken eine stereospezifische Deprotonierung des Substrats nach dessen kovalenter Bindung an Lysinreste des aktiven Zentrums (Imin/Enamin-Bildung), während Aldolasen der Klasse II Übergangsmetalle (gewöhnlich Zn^{2+}) als essentielle Lewis-Säure-Cofaktoren verwenden, um die Deprotonierung zu erleichtern (Abb. 1). Für die FruA^[2] der Klasse I entwickelt sich trotz An-

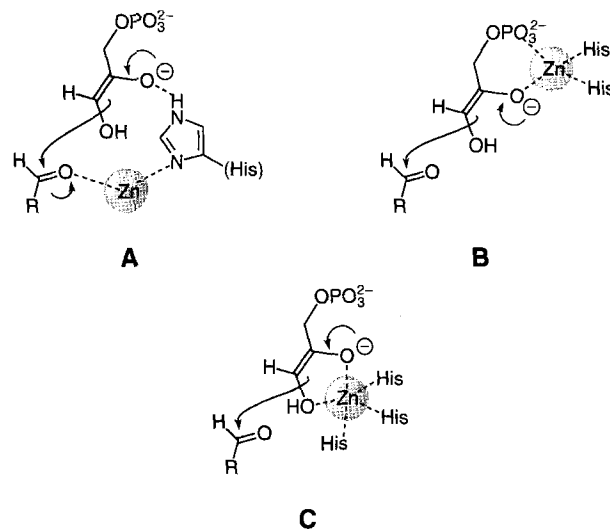


Abb. 1. Hypothesen zum Mechanismus der Katalyse durch Aldolasen der Klasse II. A: Enolat-Stabilisierung durch Protonen-Relais [9] und Aldehydaktivierung durch Zn^{2+} [10]. B: Enolat-Stabilisierung durch Koordination von Carbonyl- und Phosphatgruppe an Zn^{2+} [8]. C: Endiolat-Stabilisierung durch Chelatkoordination an Zn^{2+} .

wendung moderner Methoden der Enzymologie, der ortsgerechten Mutagenese und der Proteinkristallographie^[6] nur sehr langsam ein schlüssiges Modell, das die Funktion von Resten des aktiven Zentrums individuellen Katalyseschritten zuordnet^[7]. Bisher ist hier noch keine Proteinstruktur mit gebundenen Substraten oder Inhibitoren bekannt.

Auf der Basis von Untersuchungen an der FruA aus Hefe (Klasse II) wurden Hypothesen zum Mechanismus Zn -abhängiger Aldolasen aufgestellt. Aus ESR-Messungen und NMR-Relaxationszeitbestimmungen am Mn^{2+} -substituierten Holoenzym wurde abgeleitet, daß DHAP über seine Phosphatgruppe bindet^[8] und eine Polarisierung der Carbonylgruppe durch Zn^{2+} über einen Imidazolring übertragen wird (Abb. 1, A)^[9]. Die Ergebnisse späterer FT-IR- und Deuteriumaustausch-Studien mit nativer Hefe-Aldolase^[10] zeigten, daß eine Aktivierung des Aldehyds durch zusätzliche direkte Koordination der Carbonylgruppe an Zn^{2+} bewirkt wird (Abb. 1, B). Vor kurzem gelang Dreyer und Schulz^[11a] die Röntgenstrukturanalyse der FruA (mit 2.13 Å Auflösung) als der ersten Aldolase der Klasse II. Danach ist das katalytisch aktive Zn^{2+} -Ion im aktiven Zentrum, das an der Grenzfläche zweier Untereinheiten des Homotetramers lokalisiert ist, fest durch drei N^ϵ -Atome von Histidinresten (His92, His94 und His155) koordiniert (Abb. 1, C). Unter Berücksichtigung der sterischen Gegebenheiten am Zn^{2+} -Ion müssen damit alle bisherigen mechanistischen Hypothesen verworfen werden, da die Koordination von mehr als einem Substrat unmöglich ist und die Histidinliganden nicht als Protonen-Relais zwischen gebundenen Substraten fungieren können.

Unter den leicht alkalischen Bedingungen, die für die Kristallisation der FruA nötig sind, kann zur Röntgenstrukturanalyse des Enzyms mit einem gebundenen Liganden nicht das natür-