

- Soc.* **1961**, 83, 3096–3113, zit. Lit.; b) J. R. Turner, D. S. Tarbell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1962**, 48, 733–735.
- [4] N. J. McCorkindale, J. G. Sime, *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 331.
- [5] Frühe Versuche zur Synthese von Fumagillin: a) S. T. Young, J. R. Turner, D. S. Tarbell, *J. Org. Chem.* **1963**, 28, 928–932; b) G. Büchi, J. E. Powell, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 3126–3133.
- [6] a) E. J. Corey, B. B. Snider, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 2549–2550; b) B. B. Snider, Dissertation, Harvard University, **1973**.
- [7] Eine 26stufige Synthese von (–)-Fumagillol: D. Kim, S. K. Ahn, H. Bae, W. J. Choi, H. S. Kim, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 4437–4440.
- [8] D. Ingber, T. Fujita, S. Kishimoto, K. Sudo, T. Kanamaru, H. Brem, J. Folkman, *Nature* **1990**, 348, 555–557.
- [9] a) J. Folkman, *New Engl. J. Med.* **1971**, 285, 1182–1186; b) J. Folkman, *New Engl. J. Med.* **1995**, 333, 1757–1763; c) J. Folkman, *Nat. Med.* **1995**, 1, 27–31; d) A. Giannis, F. Rübsam, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 606–609; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 588–590; e) J. Taunton, *Chem. Biol.* **1997**, 4, 493–496.
- [10] N. Sin, L. Meng, M. Q. W. Wang, J. J. Wen, W. G. Bornmann, C. M. Crews, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, 94, 6099–6103.
- [11] E. C. Griffith, Z. Su, B. E. Turk, S. Chen, Y.-H. Chang, Z. Wu, K. Biemann, J. O. Liu, *Chem. Biol.* **1997**, 4, 461–471.
- [12] Erst kürzlich berichteten Clardy und Mitarbeiter über eine Röntgenstrukturanalyse von Fumagillin, das kovalent an humanes MetAP-2 gebunden war: S. Liu, J. Widom, C. W. Kemp, C. M. Crews, J. Clardy, *Science* **1998**, 282, 1324–1327; siehe auch: W. T. Lowther, D. A. McMillen, A. M. Orville, B. W. Matthews, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 12153–12157.
- [13] T. Yoshida, Y. Kaneko, A. Tsukamoto, K. Han, M. Ichinose, S. Kimura, *Cancer Res.* **1998**, 58, 3751–3756.
- [14] Neuere Übersicht zur Myristoylierung von Proteinen: J. A. Boutin, *Cell Signalling* **1997**, 9, 15–25.
- [15] Übersicht über substratsteuerbare chemische Reaktionen: A. H. Hoveyda, D. A. Evans, G. C. Fu, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1307–1370.
- [16] V. Van Rhee, R. C. Kelly, D. Y. Cha, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 1973–1976.
- [17] W. Langenbeck, O. Godde, L. Weschky, R. Schaller, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1942**, 75, 232–236.
- [18] 1-Diethylamino-1,3-butadien kann in großen Mengen und in einem Schritt aus Diethylamin und Crotonaldehyd hergestellt werden: S. Hünig, H. Kahanek, *Chem. Ber.* **1957**, 90, 238–245.
- [19] Woodward bahnbrechende Synthese von Reserpin (R. B. Woodward, F. E. Bader, A. J. Frey, R. W. Kierstead, *Tetrahedron* **1958**, 2, 1–57) bietet instruktive, frühe Beispiele dieser Taktik.
- [20] Das Vinylbromid **8** wurde mit einer leicht modifizierten Eintopfmethode von Corey et al. hergestellt: E. J. Corey, J. Lee, B. E. Roberts, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8915–8918; siehe auch: E. J. Corey, J. P. Dittami, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 256–257.
- [21] Über die Verwendung von Li(2-thienyl)CuCN siehe: B. H. Lipshutz, M. Koerner, D. A. Parker, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 945–948.
- [22] Übersichten über 1,4-Additionen von Organocupraten: a) B. H. Lipshutz, S. Sengupta, *Org. React.* **1992**, 41, 135–631; b) J. A. Kozlowski in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 1 (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming, S. L. Schreiber), Pergamon, New York, **1991**, S. 169–198.
- [23] Ähnliche Ergebnisse wurden mit Chlortrimethylsilan anstelle von BF₃·OEt₂ und eine anschließende fluorinduzierte Spaltung der nicht gereinigten Silylenolether erhalten.
- [24] a) C. H. Cummins, R. M. Coates, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 2070–2076; b) R. M. Coates, C. H. Cummins, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 1383–1389.
- [25] K. B. Sharpless, R. C. Michaelson, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 6136–6137.
- [26] Noch während unserer Untersuchungen wurde eine sehr ähnliche Umwandlung beschrieben: S. Amano, N. Ogawa, M. Ohtsuka, S. Ogawa, N. Chida, *Chem. Commun.* **1998**, 1263–1264.
- [27] Dies ist eine geringfügige Modifizierung der von Corey und Snider genutzten Reaktion in ihrer Synthese von Fumagillin (siehe Lit. [6]).
- [28] Struktur **4** (E=CO₂Me) ist in optisch aktiver Form aus (–)-Chinasäure zugänglich (D. F. McComsey, B. E. Maryanoff, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 2652–2654) oder durch asymmetrische Sharpless-Dihydroxylierung und anschließende Bildung des Isopropylidenketals (Z.-M. Wang, K. Kakiuchi, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 6895–6897).

Nachweis der Liganden-induzierten Bewegung der beiden Domänen von Glucoamylase G1 aus *Aspergillus niger* durch dynamische Lichtstreuung unter Verwendung heterobifunktioneller Substratanaloga**

Nathalie Payre, Sylvain Cottaz, Claire Boisset, Redouane Borsali, Birte Svensson, Bernard Henrissat und Hugues Driguez*

Glucoamylasen (GAs) katalysieren die hydrolytische Abspaltung von β -D-Glucose am nichtreduzierenden Ende einer Stärkekette sowie aus verwandten Oligo- und Polysacchariden. Die meisten GAs haben eine Stärkebindungsdomäne (SBD), die von der Katalysedomäne (CD) durch ein glycosyliertes Linkerpeptid variabler Länge getrennt ist.^[1] Das Entfernen der SBD verringert die Aktivität der GA aus *Aspergillus niger* gegenüber unlöslicher Stärke, nicht aber gegenüber löslichen Substraten.^[2] Wir haben gezeigt, daß 6^{II}-Thiopropanose und ihre höheren Oligomere an die SBD binden und die Aktivität der GA gegenüber Stärke beeinflussen.^[3] Dies deutet auf eine Wechselwirkung zwischen der CD und der SBD von GA hin, und aufgrund dieser Befunde wurde vorgeschlagen, daß ein kooperatives Verhalten zwischen beiden Domänen für eine optimale Aktivität von ausschlaggebender Bedeutung ist.^[4] Die einzigen, niedrigaufgelösten Daten zur Struktur der gesamten GA wurden durch Raster-tunnelmikroskopie erhalten,^[5] aber eine mögliche Bewegung beider Domänen bei der Substratbindung kann mit dieser Methode nicht nachgewiesen werden. Die Struktur der CD von GA aus *Aspergillus awamori* X100 im Kristall wurde durch eine Röntgenstrukturanalyse,^[6] die der SBD von GA aus *Aspergillus niger* in Lösung NMR-spektroskopisch^[7] aufgeklärt. Die vollständige GA konnte bislang nicht kristallisiert werden, was auf die inhärente Beweglichkeit des Linkerpeptids zurückgeführt wird, das die beiden Domänen verbindet. Die Cokristallisation in Gegenwart eines Liganden, der sowohl an die CD als auch an die SBD bindet, könnte ein Konformer stabilisieren. Kürzlich ermöglichte die Verwendung eines Substratanalogons, an das eine bewegliche Schleife des Proteins band, die Kristallisation einer Cellulase.^[8]

Wir berichten hier über die Synthese von Verbindungen, die gleichzeitig mit hoher Affinität an die CD und die SBD

[*] Dr. H. Driguez, Dr. N. Payre, Dr. S. Cottaz, Dr. C. Boisset, Dr. R. Borsali
Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CERMAV-CNRS)
Angeschlossen an die Université Joseph Fourier, Grenoble
B.P. 53, F-38041 Grenoble cedex 9 (Frankreich)
Fax: (+33) 476-037-664
E-mail: hdriguez@cermav.cnrs.fr
Dr. B. Svensson
Department of Chemistry, Carlsberg Laboratory
Gamle Carlsberg Vej 10, DK-2500 Valby (Dänemark)
Dr. B. Henrissat
Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, CNRS-IFR1, 31 Chemin Joseph Aiguier
F-13402 Marseille cedex 20 (Frankreich)

[**] Diese Arbeit wurde durch das Biotechnologie-Programm der Europäischen Union unterstützt (Fördernummer BIO4-CT98-0022).

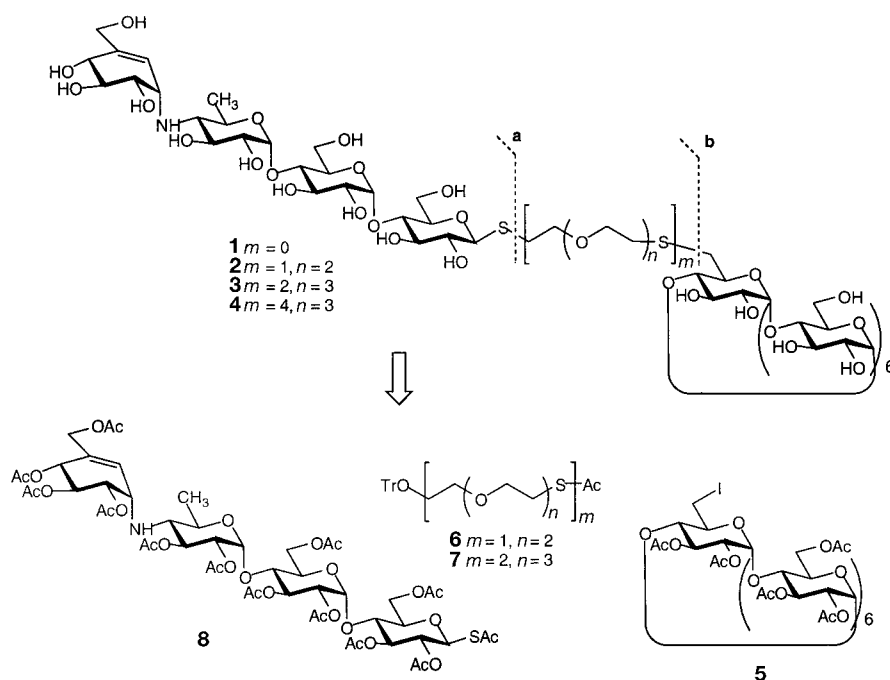
von GA binden und die wir entworfen haben, um neue Informationen zur Beziehung zwischen Struktur und Aktivität von GA zu erhalten. Die Strukturänderungen von GA beim Übergang vom freien zum Liganden-gebundenen Zustand wurden mit quasi-elastischer Lichtstreuung verfolgt, einer Technik, die bereits mit Erfolg verwendet wurde, um die hydrodynamischen Abmessungen einer aus mehreren Domänen bestehenden Cellulase zu bestimmen.^[9]

Es ist bekannt, daß Acarbose ein starker Inhibitor für GA ist und daß zwei Moleküle β -Cyclodextrin die Bindung von Amylose an zwei Positionen der SBD imitieren können, aber nicht in die Bindungstasche des aktiven Zentrums passen.^[10] Diese Befunde ließen vermuten, daß die Wechselwirkung zwischen einer Amylosekette und den beiden Domänen von GA durch ein Acarbosemolekül, das über flexible Spacer unterschiedlicher Länge an ein Cyclodextrinmolekül geknüpft ist, nachgeahmt werden kann.

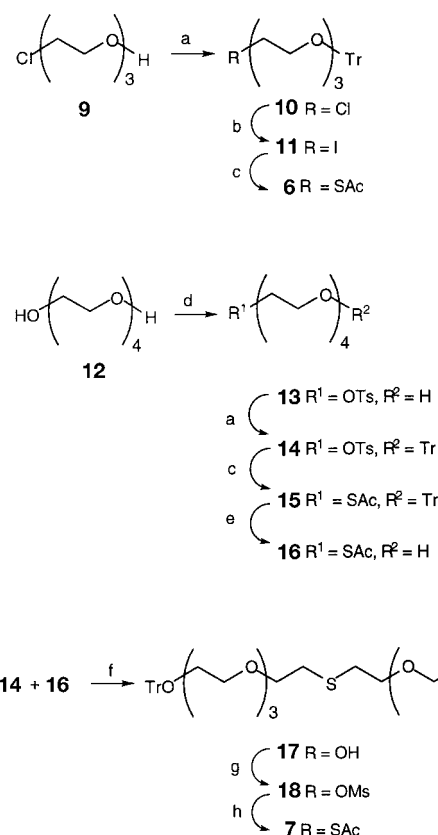
Vor einigen Jahren haben wir eine effiziente Strategie zur Synthese von verzweigten β -Cyclodextrinen entwickelt, die an einem der C6-Atome eine Thioglucosyleinheit enthalten.^[11] Die kürzlich veröffentlichte Kristallstruktur einer Cyclodextrin-Glycosyltransferase im Komplex mit einer dieser Verbindungen^[12] belegt, daß das Vorhandensein einer thioglycosidischen Verknüpfung die Bindung an das Protein nicht beeinträchtigt. Diese Ergebnisse ermutigten uns, über Schwefelbindungen Linker an Acarbose und β -Cyclodextrin zu knüpfen.

Die der Synthese zugrundeliegende retrosynthetische Analyse ist in Schema 1 gezeigt. Das Zerlegen an den eingezeichneten Bindungen führte zu den Schlüsselbausteinen 5–8 für die Synthese von 1–3. Die längste Verbindung (4) wurde am einfachsten durch Verlängerung des bereits mit β -Cyclodextrin verknüpften Linkers 7 hergestellt. Um die Kupplung mit 6-Desoxy-6-iod- β -cyclodextrin 5 zu ermöglichen, mußten die bifunktionellen Spacer 6 und 7 eine Sulfanylgruppe sowie für das Knüpfen der thioglycosidischen Bindung zu S-Acetylacarbose 8 eine geschützte Hydroxygruppe aufweisen, die leicht in eine thiophile Gruppe überführt werden konnte.

Das Schützen der Hydroxygruppen von käuflichem Monochlortriethylenglycol 9 durch Tritylierung (Trityl = Tr = Triphenylmethyl), Halogenaustausch und nucleophile Substitution des Iodatoms durch Kaliumthioacetat lieferte den Spacer 6 in 33% Gesamtausbeute (Schema 2). Tetraethylenglycol 12 wurde mit Tosylchlorid (Tosyl = Ts = Toluol-4-sulfonyl) zum Monotosylat 13 umgesetzt, dessen Tritylierung 14 lieferte. Die Substitution der Tosylatgruppe mit Thioacetat und das Abspalten der Tritylgruppe lieferten 16, das nach S-Desacetylierung mit 14 gekuppelt wurde (\rightarrow 17). Die Mesylierung (Mesyl = Ms = Methansulfonyl) von 17 lieferte



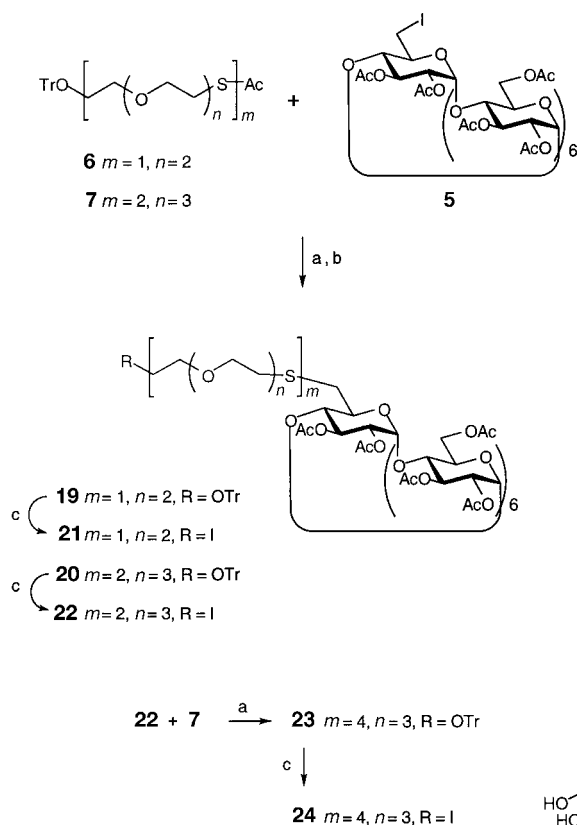
Schema 1. Retrosyntheseschema für die bifunktionellen Liganden 1–4.



Schema 2. Herstellung der bifunktionellen Spacer 6 und 7. a) Ph_3CCl , CH_2Cl_2 , 4-DMAP, NEt_3 , Raumtemperatur (RT), 20 h, 10: 70%, 14: 51%; b) NaI (1.1 Äquiv.), DMF, 100°C , 3 h, 75%; c) KSac (6 Äquiv.), DMF, 100°C , 2 h, 6: 63%, 15: 87%; d) TsCl (1 Äquiv.), Pyridin, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 12 h, 52%; e) HBF_4 in H_2O , CH_3CN , RT, 1 h, 95%; f) 1. 16, MeONa (1.3 Äquiv.), MeOH , 0°C , 2 h, Argon; 2. 14 (0.6 Äquiv.), DMF, 45°C , RT, Argon, 73%; g) MeSO_2Cl , Pyridin, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 84%; h) KSac , DMF, RT, 2 h, Argon, 87%. 4-DMAP = 4-Dimethylaminopyridin; Ms = Mesyl = Methansulfonyl.

18, und die Substitution der Mesylatgruppe mit Thioacetat führte in 22 % Gesamtausbeute (bezogen auf **12**) zum bifunktionellen Spacer **7**.

Die S-Desacetylierung der Verbindungen **6** und **7** lieferte die entsprechenden Natriumthiolate, die (ohne vorherige Charakterisierung) mit 6-Desoxy-6-iod- β -cyclodextrin **5** gekuppelt wurden, das wie zuvor beschrieben^[11] hergestellt worden war (Schema 3). Die verzweigten Cyclodextrine **19**



Schema 3. Herstellung der verzweigten Cyclodextrine **19**, **22** und **24**. a) **6**, **7**, **22**, MeONa (10 Äquiv.), 1 h, 0 °C, Argon; b) 1. DMF, RT, 12 h, Argon; 2. Ac₂O, Pyridin, 4-DMAP, 60 °C, 12 h; **19**: 76 %, **20**: 64 %, **23**: 70 %; c) 1. HBF₄ in H₂O, CH₃CN, RT, 20 min; 2. MeSO₂Cl, Pyridin, 0 °C → RT, 12 h; 3. NaI, DMF, 100 °C, 4 h; **21**: 51 %, **22**: 40 %, **24**: 43 %.

und **20** wurden in 76 bzw. 64 % Ausbeute erhalten. Detritylierung, Mesylierung und Substitution der Mesylgruppe mit Iod lieferten die entsprechenden Iodverbindungen **21** und **22** in Ausbeuten von 51 bzw. 40 %. Dieses schrittweise Vorgehen führte zu einer höheren Ausbeute als der direkte OH → I-Austausch.^[13] Durch Kuppeln des Iodderivats **22** mit dem durch S-Desacetylierung von **7** zugänglichen Thiolat (siehe oben) wurde **23** in 70 % Ausbeute erhalten. Die Überführung von **23** in **24** wurde durch die gleiche Reaktionsfolge erreicht, wie sie für die Synthese von **21** und **22** beschrieben wurde.

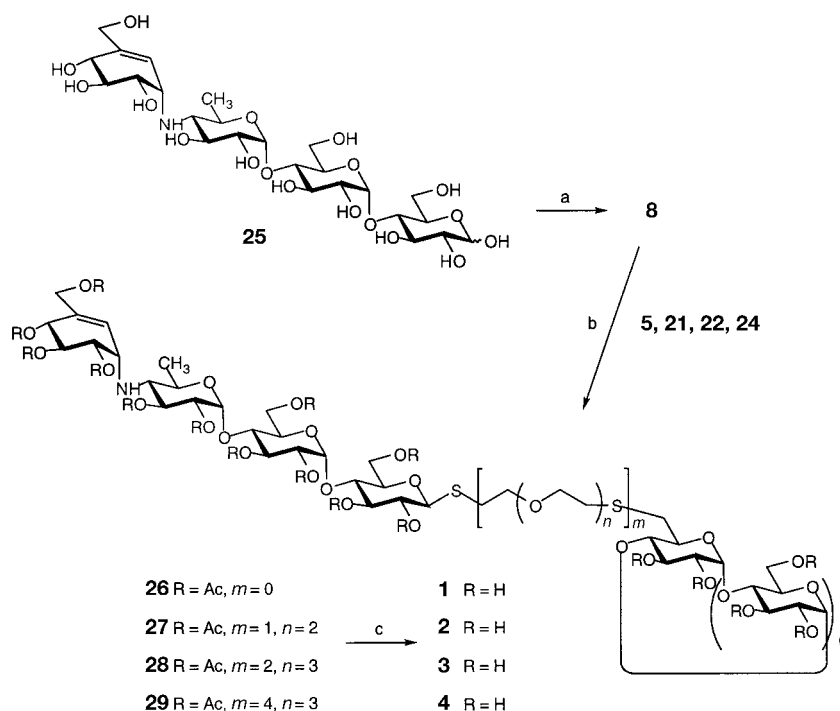
Das längste Synthon (**24**) wurde ausgehend von **22** in einer Gesamtausbeute von 43 % erhalten.

Zur Synthese des Donors **8** wurde Acarbose **25** zunächst acetyliert und dann mit HBr/AcOH^[14] zum entsprechenden Bromid umgesetzt, das dann in **8** überführt wurde (63 % Gesamtausbeute) (Schema 4).

Das Kuppeln des Acarbosederivats **8** mit den Acceptoren **5**, **21**, **22** und **24** unter den von von Itzstein et al. beschriebenen Bedingungen^[15] führte zu den acetylierten Zielverbindungen **26**–**29** in 63, 88, 83 bzw. 74 % Ausbeute. Die Endprodukte **1**–**4** wurden durch O-Desacetylieren erhalten und über eine Umkehrphasen-Chromatographie an einer C18-Säule gereinigt.

Die thermodynamischen Parameter für die Bindung der Liganden an die gesamte GA sowie an die CD und die SBD von GA sind schon früher durch isotherme Titrationskalometrie bestimmt worden.^[16] Die ΔH^0 -Werte für die Bindung der vier heterobifunktionellen Liganden entsprachen innerhalb des experimentellen Fehlerbereichs der Summe der ΔH^0 -Werte für die Bindung von Acarbose und β -Cyclodextrin an die CD bzw. die SBD. Diese Ergebnisse zeigen, daß das aktive Zentrum und die Stärkebindungsstelle von GA in Lösung dicht benachbart sind, was auf eine beträchtliche Beweglichkeit des Linkerbereichs schließen läßt.

Wir haben die hydrodynamischen Dimensionen von GA und der CD mit quasi-elastischer Lichtstreuung bestimmt. In Übereinstimmung mit ihren dreidimensionalen Strukturen wurde für die SBD und die CD jeweils Kugelgestalt angenommen, wohingegen die aus zwei Domänen bestehende, hantelförmige GA als Ellipsoid behandelt wurde, dessen kürzere Halbachse dem hydrodynamischen Radius ihres größten Einzelbestandteils, der CD, entspricht. Die Messun-



Schema 4. Herstellung der Liganden **1**–**4**. a) 1. Ac₂O, Pyridin, RT, 24 h; 2. CH₂Cl₂, HBr/AcOH, –10 → 0 °C, 1 h; 3. KSac, DMF, RT, 18 h, 63 %; b) Et₃NH, DMF, RT, 4 h; **26**: 63 %, **27**: 88 %, **28**: 83 %, **29**: 74 %; c) MeONa, MeOH, RT, 1 h, dann NH₄OH (1M), RT, 12 h; **1**: 78 %, **2**: 74 %, **3**: 91 %, **4**: 74 %.

gen wurden bei unterschiedlichen Winkeln und mehreren Proteinkonzentrationen ($0.3\text{--}1.1\text{ mg mL}^{-1}$) durchgeführt. Für alle Konzentrationen und Streuwinkel entsprach die Autokorrelationsfunktion einem exponentiellen Abfall. Bei hohen Konzentrationen wurde ein sehr kleiner Beitrag eines langsamen Prozesses festgestellt, der der Bildung kleinerer Proteinaggregate zugeschrieben werden kann. Die Relaxationszeiten wurden anhand der Korrelationsfunktionen geschätzt, und die Veränderung der Frequenzen bei konstanten Streuwinkeln ermöglichte die Bestimmung der Diffusionskoeffizienten für die Translation $D_T(c)$ bei verschiedenen Konzentrationen. Die Werte für den Diffusionskoeffizienten bei unendlicher großer Verdünnung $D_T^0 = D_T(c)_{c \rightarrow 0}$, der die Eigenschaften eines einzelnen Teilchens wiedergibt, wurden in die entsprechenden hydrodynamischen Radien umgerechnet (modifizierte Stokes-Einstein-Beziehung). Weder für GA noch für die CD wurde eine Konzentrationsabhängigkeit des Diffusionskoeffizienten festgestellt (Abbildung 1).

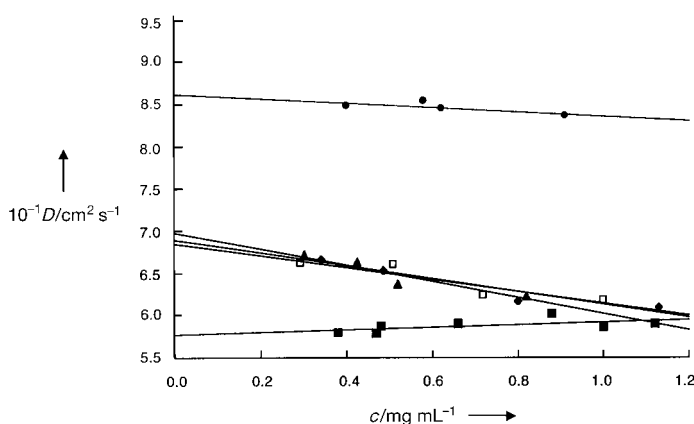


Abbildung 1. Änderung des Translations-Diffusionskoeffizienten $D_T(c)$ als Funktion der Konzentration c von GA (■), CD (●), GA + 1 (◆), GA + 2 (▲) und GA + 3 (□).

Aus den auf unendlich große Verdünnung extrapolierten Werten ergaben sich hydrodynamische Abmessungen von 78.5 Å (längere Halbachse) und 30 Å (kürzere Halbachse) für GA bzw. die CD. Diese Werte stimmen gut mit den früher ermittelten überein, die mit anderen Methoden gemessen wurden (141 Å und $60\text{--}65\text{ Å}$ für die längere bzw. kürzere Halbachse von GA).^[5,6] Bei den Messungen für GA in Gegenwart von 1–3 nehmen die Diffusionskoeffizienten mit der Konzentration ab (Abbildung 1).

Innerhalb des experimentellen Fehlerbereichs ergab sich für die drei Systeme ungefähr die gleiche Konzentrationsabhängigkeit. Die zugehörigen Diffusionskoeffizienten nehmen mit der Proteinkonzentration ab, und aus dem auf unendlich große Verdünnung extrapolierten Wert ergab sich eine hydrodynamische Größe von 62 Å (längere Halbachse). Allerdings wurde bei Verwendung der längeren Verbindung 4 ein Wert von 72.5 Å erhalten. Diese Werte liegen zwischen denen, die für CD oder GA allein gemessen werden; dies war auch zu erwarten, da der Ligand bewirken sollte, die Größe von GA auf irgendeine Weise zu verringern. Der negative Wert für die Steigung der Geraden, die bei der Auftragung von D_T gegen c erhalten wird, zeigt, daß es eine starke

Anziehung zwischen den Teilchen gibt, und spiegelt die thermodynamischen Eigenschaften des Systems wider; der Wert der Steigung ist dabei im allgemeinen vom pH-Wert abhängig. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Bindung der bifunktionellen Liganden eine kompaktere Konformation von GA stabilisiert. Wenn diese Bewegung der beiden Domänen auch bei der Bindung des natürlichen Substrats stattfindet, könnte dies die Prozessivität dieses Exoenzyms bewirken: GA würde über ihre SBD an das Polymer binden, und die Bewegung der CD würde die Abspaltung mehrerer Glucoseeinheiten vom nichtreduzierenden Ende derselben Glucankette ermöglichen, bevor das Enzym wieder abfällt. Dieses neue Konzept wird gegenwärtig durch Verwendung von Glucoamylasemutanten und Linkern unterschiedlicher Länge untersucht.

Experimentelles

Alle Verbindungen waren gemäß Elementaranalysen oder hochaufgelösten Massenspektren sowie ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren homogen.

Dynamische Lichtstreuung: Die Probenvorbereitung, die Geräte und die Datenauswertung sind in Lit. [9] beschrieben; lediglich der Natriumacetat-Puffer (50 mM , $\text{pH } 4.2$) und die Meßtemperatur von 27°C , die hier verwendet wurden, weichen davon ab. Es wurden äquimolare Mengen von Ligand und Enzym eingesetzt.

Eingegangen am 14. September 1998 [Z 12415]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 974–977

Stichwörter: Cyclodextrine • Dynamische Lichtstreuung • Enzyminhibitoren • Kohlenhydrate • Proteinstrukturen • Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

- [1] P. M. Coutinho, P. J. Reilly, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1997**, 29, 334–347.
- [2] N. J. Belshaw, G. Williamson, *FEBS Lett.* **1990**, 269, 350–353.
- [3] a) S. Cottaz, H. Driguez, B. Svensson, *Carbohydr. Res.* **1992**, 228, 299–305; b) C. Apparu, H. Driguez, G. Williamson, B. Svensson, *Carbohydr. Res.* **1995**, 277, 313–320.
- [4] B. Svensson, T. G. Pedersen, I. Svendsen, T. Sakai, M. Ottensen, *Carlsberg Res. Commun.* **1982**, 47, 55–69.
- [5] A. P. Gunning, V. J. Morris, G. Williamson, N. J. Belshaw, G. F. H. Kramer, M. W. Kanning, *Analyst* **1994**, 119, 1939–1942, zit. Lit.
- [6] A. E. Aleshin, B. B. Stoffer, L. M. Firsov, B. Svensson, R. B. Honzatko, *Biochemistry* **1996**, 35, 8319–8328, zit. Lit.
- [7] K. Sorimachi, A. J. Jacks, M.-F. Le Gal-Coëffet, G. Williamson, D. B. Archer, M. P. Williamson, *Mol. Biol.* **1996**, 259, 970–987, zit. Lit.
- [8] C. Reverbel-Leroy, G. Parsiegla, V. Moreau, M. Juy, C. Tardif, H. Driguez, J. P. Belaich, R. Haser, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1998**, 54, 114–118.
- [9] C. Boisset, R. Borsali, M. Schülein, B. Henrissat, *FEBS Lett.* **1995**, 376, 49–52.
- [10] B. W. Sigurskjöld, B. Svensson, G. Williamson, H. Driguez, *Eur. J. Biochem.* **1994**, 225, 133–141.
- [11] S. Cottaz, H. Driguez, *Synthesis* **1989**, 755–757.
- [12] A. K. Schmidt, S. Cottaz, H. Driguez, G. E. Schulz, *Biochemistry* **1998**, 37, 5909–5915.
- [13] B. Classon, Z. Liu, B. Samuelsson, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 6126–6130, zit. Lit.
- [14] B. Junge, H. Böshagen, J. Stoltefuss, L. Miller in *Enzyme Inhibitors* (Hrsg.: U. Brodbeck), VCH, Basel, **1980**, S. 123.
- [15] S. Bennet, M. von Itzstein, M. J. Kiefel, *Carbohydr. Res.* **1994**, 259, 293–299.
- [16] B. W. Sigurskjöld, T. Christensen, N. Payre, S. Cottaz, H. Driguez, B. Svensson, *Biochemistry* **1998**, 37, 10446–10452.