

Tentamen Biomoleculaire Chemie

Vrijdag 3 juli 2015, 14:00 - 17:00

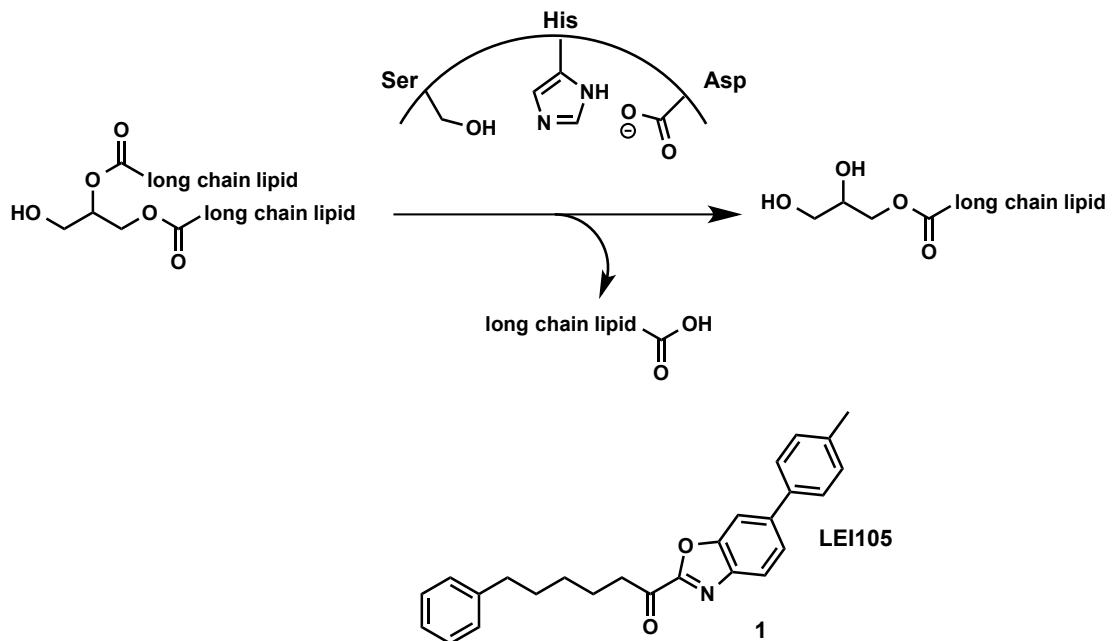
Vermeld op ieder antwoordvel je naam en studentnummer

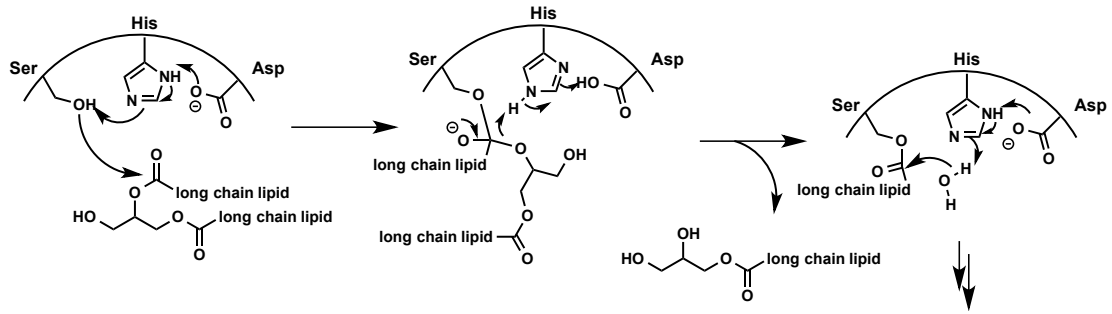
Zie voor de structuren van de gebruikte co-factoren de bijgevoegde appendix

Opgave 1 (20 punten)

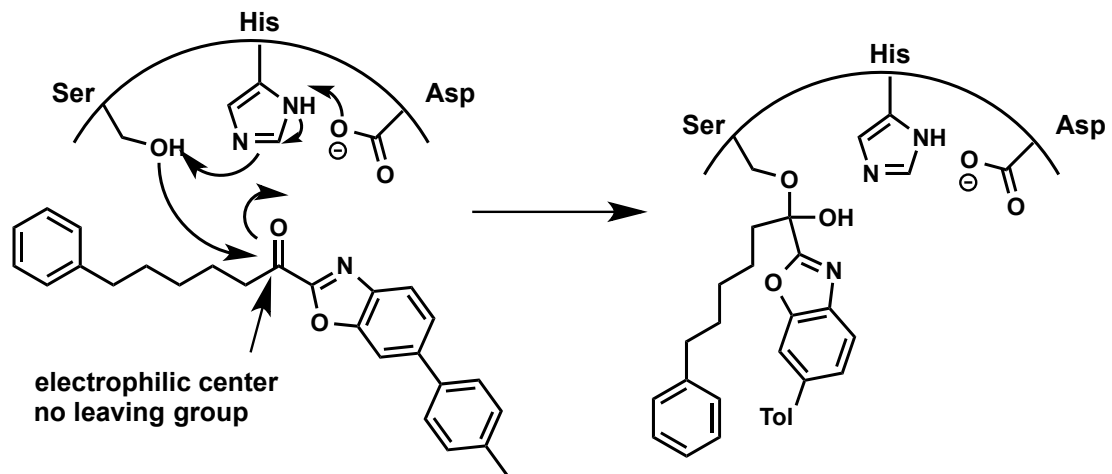
DAG lipases knippen vetstaarten van diacylglycerol. Deze enzymen hebben in hun active site een Serine-Histidine-Aspartaat (Ser-His-Asp) triade. Ze kunnen geremd worden met de recent ontdekte alpha-ketoheterocycle LEI105 (**1**).

- Geef het mechanisme waarmee DAG lipases vetstaarten van diacylglycerol knippen.
- LEI105 is een zogenaamde covalente reversibele inhibitor. Geef het mechanisme waarmee DAG lipases worden geremd door LEI105 en leg kort de werking van een covalente reversibele inhibitor uit.





For a detailed mechanism see Dictaat



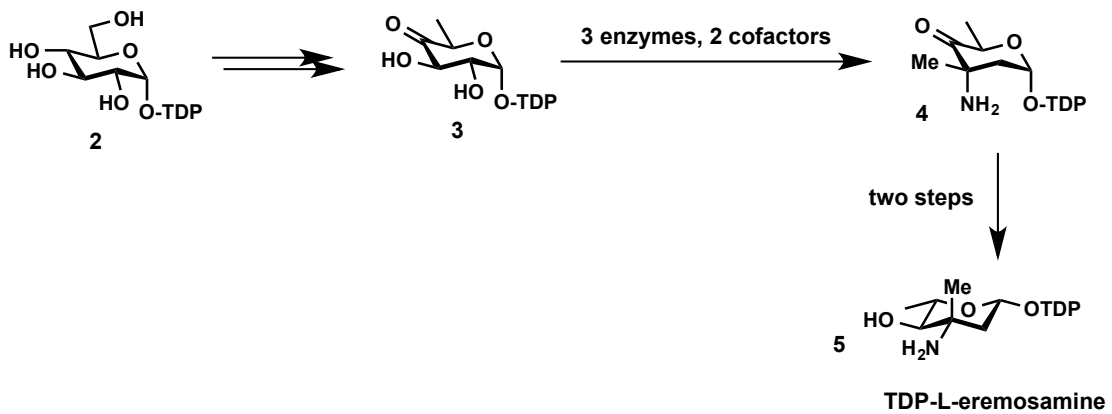
Het keton in LEI105 is een goed elektrofiel dat kan reageren met de nucleofiele serine. NB: de imidaat functie (O-C=N) is niet elektrofiel omdat het een onderdeel is van een aromatisch systeem, hier zal geen nucleofiele aanval op plaatsvinden). Aanval van de serine leidt tot een enigszins stabiele hemiacetaal: het enzym wordt covalent geremd. Echter de reactie is reversibel en het covalente adduct kan weer uit elkaar vallen tot het actieve enzym en de inhibitor.

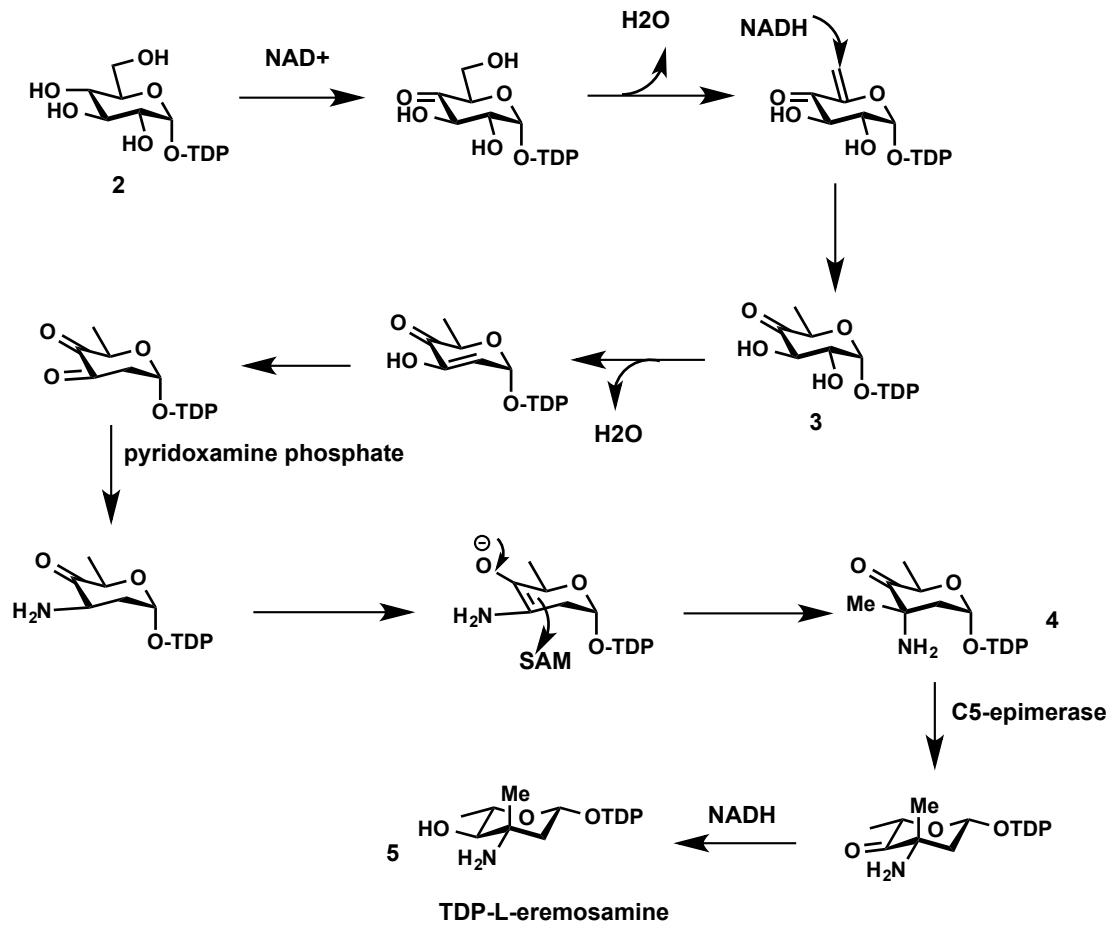
Opgave 2 (30 punten)

TDP-L-eremosamine (**5**) is een thymidine-diphosphate donor die gebruikt wordt om vancomycine antibiotica te glycosyleren. De biosynthese van TDP-L-eremosamine staat hier beneden weergegeven.

Vanuit TDP-D-glucose (**2**) wordt verbinding **3** gemaakt met behulp van een enzym dat een NAD^+/NADH koppel gebruikt. Vervolgens wordt ketosuiker **3** met behulp van 3 enzymen en 2 cofactoren omgezet in TDP-suiker **4**. Vervolgens wordt deze suiker in twee stappen omgezet in TDP-L-eremosamine (**5**).

- Geeft de mechanismen van de reacties die gebruikt worden om TDP-D-glucose om te zetten in keto suiker **3**.
- Geeft de mechanismen van de drie reacties die gebruikt worden om keto suiker **3** om te zetten in TDP-suiker **4**. Twee van deze stappen gebruiken een co-factor, te weten SAM en pyridoxamine phosphate.
- Geef de mechanismen van de laatste twee stappen in de biosynthese van TDP-L-eremosamine **5**, waarbij NADH wordt gebruikt als co-factor.





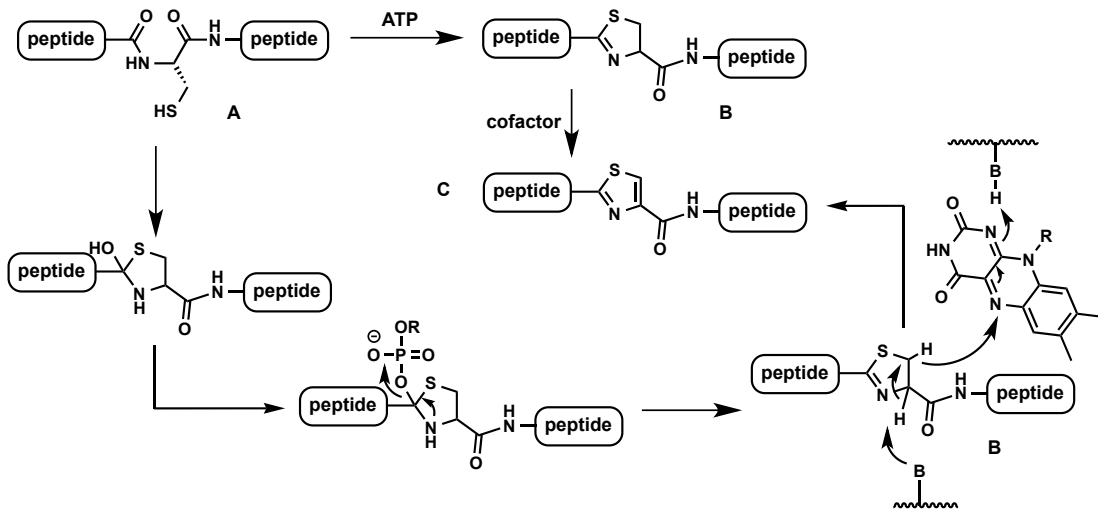
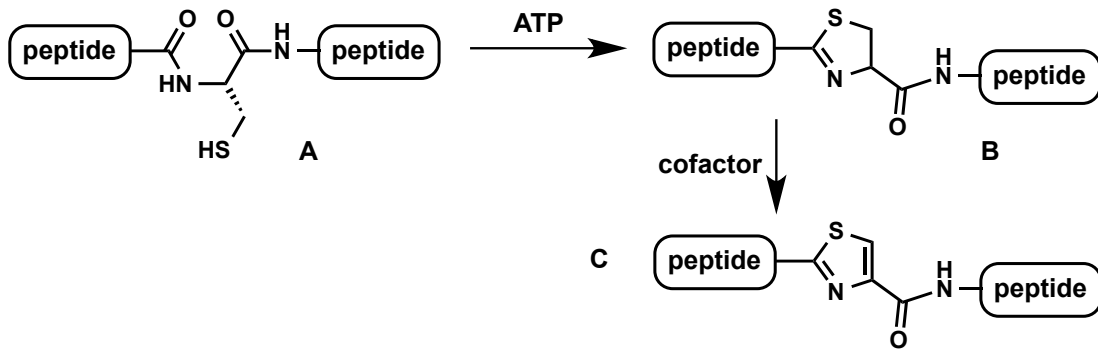
Voor gedetailleerde mechanismen: zie dictaat.

NB: de PLP en SAM stap kunnen gecombineerd worden. In plaats van protonering van het PLP-suiker imine deelt er dan een methylering op.

Opgave 3 (20 punten)

De **Thiazole/oxazole-modified microcins (TOMMs)** zijn natuurproducten, die een onderdeel vormen van de **Ribosomaal gesynthetiseerde posttranslationeel gemodificeerde peptides (RIPPs)**, een groep natuurproducten met uiteenlopende structuren en biologische activiteiten. Hier beneden staat schematisch weergegeven hoe een thiazole eenheid gemaakt wordt vanuit een cysteine bevattend peptide.

- A) In de eerste stap van de azole biosynthese wordt peptide **A** omgezet in cyclische verbinding **B**. Bij dit proces wordt ATP verbruikt. Geef een plausible mechanisme voor deze transformatie.
- B) In de tweede stap wordt een oxidatie reactie uitgevoerd om de azole eenheid te vormen. Welke cofactor wordt daar waarschijnlijk bij gebruikt? Geef het mechanisme van deze reactie. Wat is een belangrijke drijvende kracht achter deze reactie?



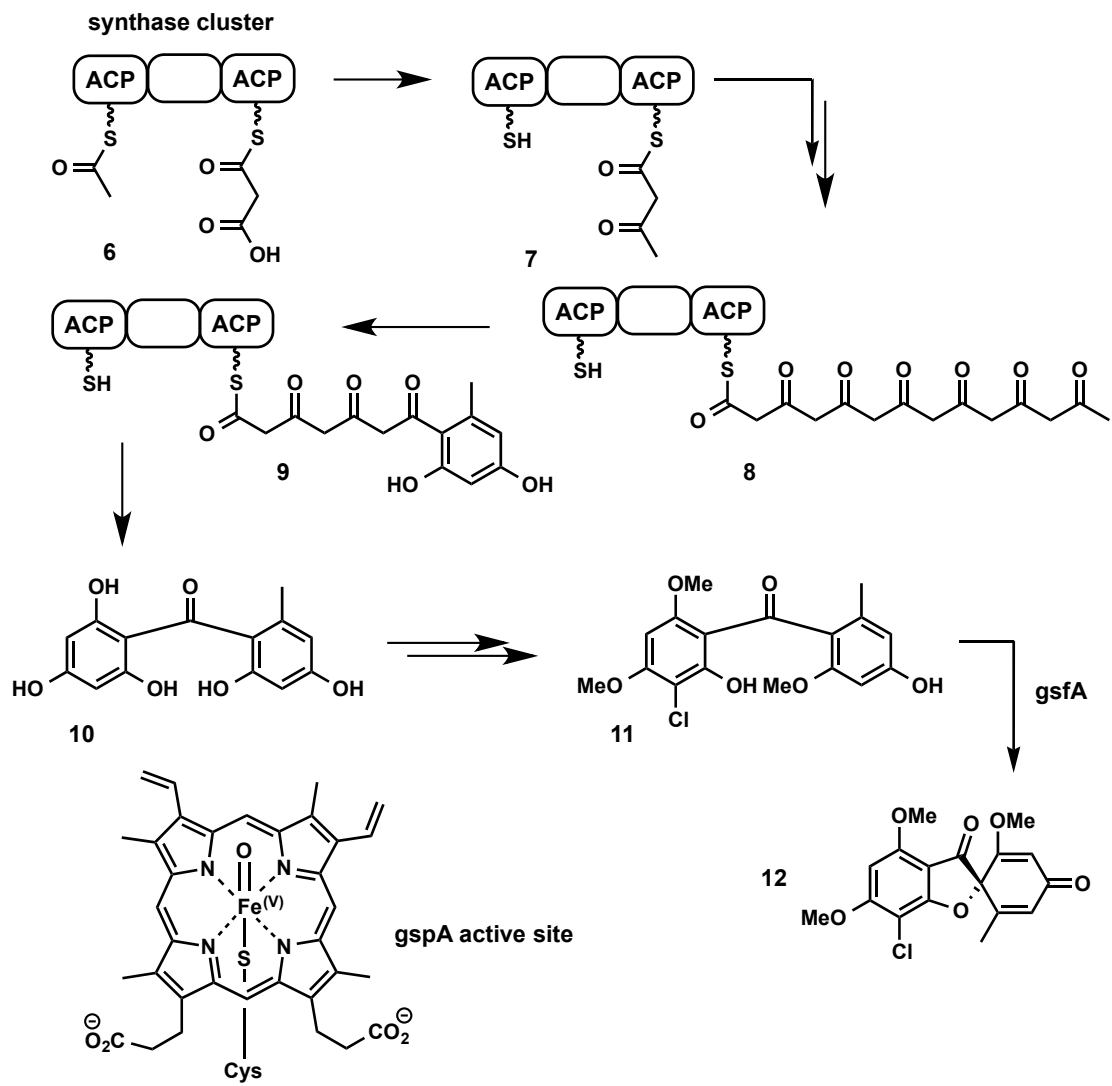
Voor gedetailleerde mechanismen: zie dictaat.

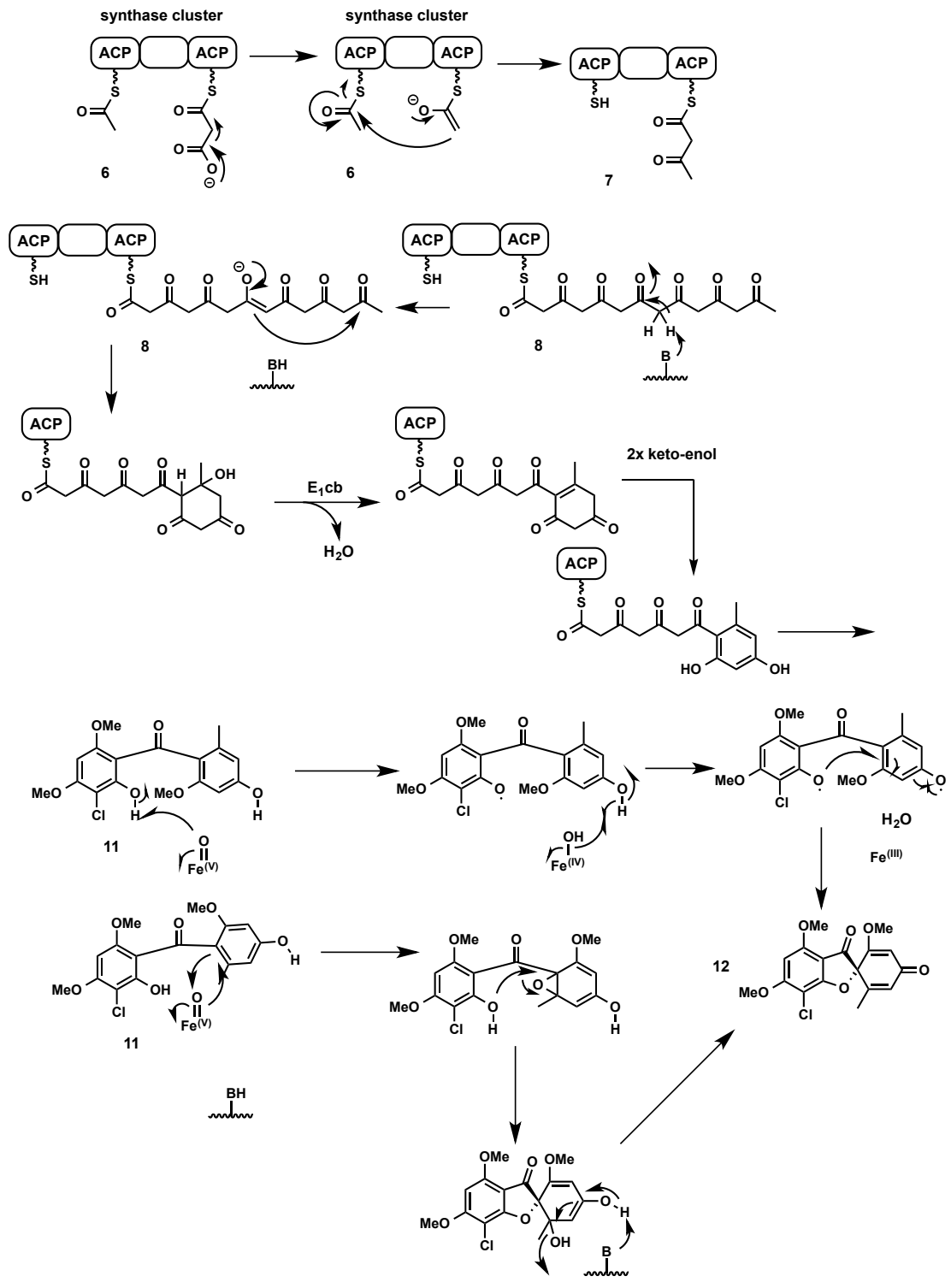
Opgave 4 (30 punten)

Griseofulvine (**12**) is een spirocyclisch natuurproduct, dat gebruikt kan worden tegen schimmelinfecties van de huid. Deze verbinding wordt gesynthetiseerd middels een polyketide synthese cascade zoals schematisch staat weergegeven in het schema hier beneden.

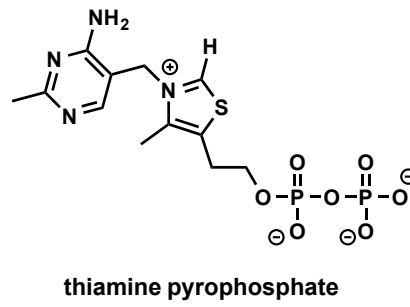
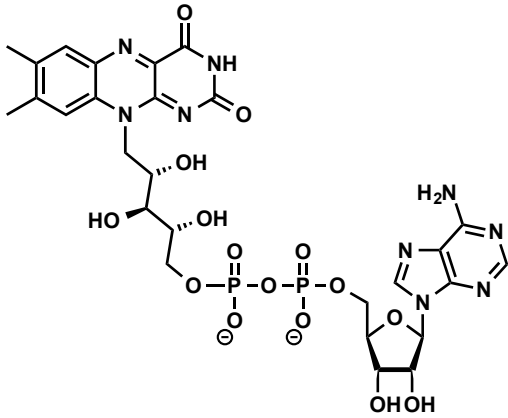
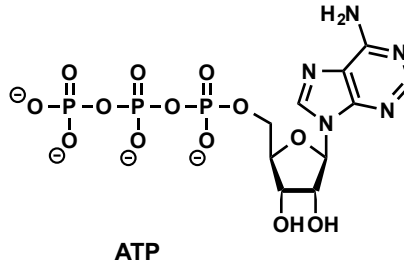
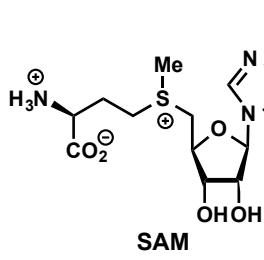
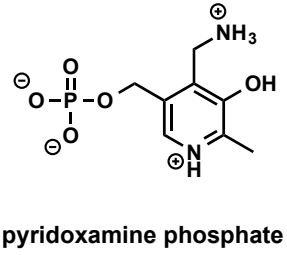
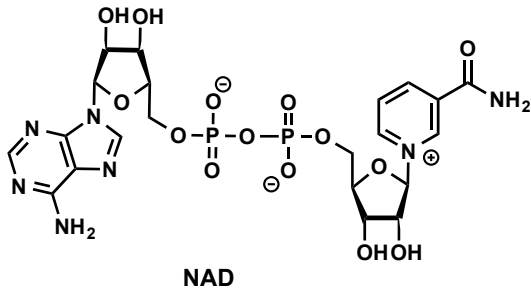
Eerst wordt er een benzophenon precursor (**10** en **11**) gemaakt met behulp van Acetyl-CoA en malonyl-CoA bouwstenen. Vervolgens treed er een oxidatieve spiroring vorming op. Deze reactie wordt gekatalyseerd door een enzyme, gsfa, dat een ijzer(V)-heme complex in zijn active site heeft.

- A) Geef het mechanisme waarmee polyketide synthases de polyketide verlenging uitvoeren door gebruik te maken van malonyl-CoA (bv. **6** naar **7**).
- B) Geef een plausibel mechanisme waarmee de eerste aromatische ring van de benzophenon structuur gevormd kan worden (**8** naar **9**).
- C) Na een paar modificaties (methylering, chloor additie) cycliseert het enzym gsfa benzophenon **11** tot spirocyle **12**. Er zijn twee mechanismen voorgesteld voor de de vorming van dit product. Het eerste mechanisme gebruikt een biradicaal als reactief intermediair. Het tweede mechanisme maakt eerst een epoxide intermediair. Laat de twee mechanismen zien en let daarbij op de (formele) oxidatie toestand van het ijzer atom van gsfa.





Appendix



Flavin adenine dinucleotide (FAD)

