



**Universidad de Granada**

**Grupo de Modelización y Diseño Molecular**

Departamento de Química Orgánica

Facultad de Ciencias

**Estudio Mecanocuántico, *Docking* y Dinámica  
Molecular de Tioazúcares como Inhibidores de la  
Proteína Fucosidasa: Algoritmos para el Análisis  
Conformacional y Programa para el Cálculo de  
Constantes de Acoplamiento Vecinales  
(CAL3JHH)**

Por

**Alonso Aguirre Valderrama**

Licenciado en Química

Julio de 2009

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: Alonso Aguirre Vaderrama  
D.L.: GR. 3075-2009  
ISBN: 978-84-692-5076-1



El abajo firmante, José Antonio Dobado Jiménez (Director y Tutor), **CERTIFICA** que la presente Tesis, titulada:

**Estudio Mecanocuántico, *Docking* y Dinámica Molecular de Tioazúcares como Inhibidores de la Proteína Fucosidasa: Algoritmos para el Análisis Conformacional y Programa para el Cálculo de Constantes de Acoplamiento Vecinales (CAL3JHH)**

ha sido realizada, por Alonso Aguirre Valderrama, en el Departamento de Química Orgánica y autoriza su presentación, para su defensa pública, para optar al grado de Doctor.

Fdo.: José Antonio Dobado Jiménez



*A mi esposa: María del Carmen*

*Y a mis hijos: Carmen, Alonso, Santiago, Pablo y Julia*



---

# AGRADECIMIENTOS

Vamos por orden:

1. En primer lugar, mi agradecimiento hacia los profesores (con D. Félix, el director, a la cabeza) que ayudaron a mi formación académica en el Instituto Técnico Diego de Salinas de La Línea de la Concepción (mi pueblo). Ellos me inculcaron el gusto por aprender cosas nuevas, especialmente «el Schmolling» (creo que así se escribía), profesor de grata memoria, a quién le debo el amor que, desde bien temprano, tuve por esta ciencia llamada Química.
2. Gracias al profesor D. Fernando Hernández Mateo, quien confió en mí y me buscó un lugar adecuado para poder desarrollar una tesis doctoral: fue con Pepe (D. José Molina Molina), fundador del grupo donde he podido realizar la que ahora presento, el cual no tuvo ningún reparo en acogerme y orientar mis trabajos de investigación de forma que pudiese conciliarlos con mis actividades laborales.
3. También mi agradecimiento a Jose\*, quien, tras el inesperado fallecimiento de Pepe, se hizo cargo de la dirección de mis trabajos de investigación.
4. Muy inestimable ha sido la ayuda del Dr. Santiago Melchor; su colaboración ha sido tan amplia, variada y generosa, tanto en la crítica, como en la logística o en el apoyo moral, que sería imposible resumir en estos párrafos todo lo que a él le debe esta tesis.
5. Y que decir de Isaac, estupendo «químico-informático», que en tantas ocasiones ha ayudado a paliar mis «torpezas» informáticas.
6. Y un recuerdo especial para el resto del grupo: Lola, Ángel y Fran; siempre cordiales y atentos conmigo. Y también para Henar y Paco, que, desinteresadamente, me han ayudado en las correcciones de este documento.
7. Mi agradecimiento también a D. Francisco Santoyo, director del grupo de carbohidratos, quien me orientó en los comienzos, asesorándome sobre las estructuras que debía de estudiar, de las que me aportó mucha información. Y al profesor D. Joaquín Isac, que siempre estuvo dispuesto (con su habitual jovialidad) a echarme una mano en la interpretación de los datos de RMN.
8. Mi reconocimiento también a la Universidad de Granada, institución que nunca, en los demasiados años en los que vengo desarrollando esta tesis, me ha puesto impedimento alguno, sino que, antes bien al contrario, ha puesto a mi alcance

---

\*D. José Antonio Dobado Jiménez, mi director de tesis; aunque es más conocido por Jose (sin tilde).



todos los recursos que he necesitado, especialmente los del Centro de Servicios de Informática y Redes de Comunicaciones (CSIRC) y, por supuesto, los del Grupo de Modelización y Diseño Molecular (GMDM), del cual me siento un miembro más.

Y siempre, y por encima de todo, el mayor agradecimiento a mi esposa. En ella se cumple la Palabra del libro del Génesis, que dice: —Dijo luego Yahvé Dios: «No es bueno que el hombre esté solo. Voy a hacerle una ayuda adecuada.»—

---

# ÍNDICE GENERAL

<b>Agradecimientos</b>	<b>I</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Objetivos</b>	<b>5</b>
<b>3. Antecedentes</b>	<b>7</b>
3.1. Antecedentes históricos . . . . .	7
3.2. Tioazúcares en la naturaleza . . . . .	12
3.3. Propiedades de los tioazúcares . . . . .	15
3.3.1. Diferencias estructurales . . . . .	15
3.3.1.1. Diferencias en el reconocimiento de las proteínas uni- das a monosacáridos . . . . .	18
3.3.1.2. Diferencia en el reconocimiento de oligosacáridos por las proteínas . . . . .	19
3.3.2. Reactividad . . . . .	20
3.3.2.1. En el centro anomérico . . . . .	20
3.3.2.2. Reacciones de rotura del enlace glicosídico . . . . .	21
3.3.2.3. En posiciones diferentes del centro anomérico . . . . .	21
3.4. Actividad bioquímica . . . . .	22
3.5. Antecedentes teóricos . . . . .	24
3.6. Análisis conformacional del anillo de piranosa . . . . .	25
3.6.1. Caracterización de las formas del anillo . . . . .	25
3.6.1.1. Introducción teórica . . . . .	25
3.6.2. Generación de las diferentes formas del anillo . . . . .	37
3.7. Cálculos teóricos, mediante ecuaciones empíricas, de las constantes de acoplamiento vecinales, $^3J_{H,H}$ . . . . .	40
3.8. Antecedentes sobre la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	46
<b>4. Metodología</b>	<b>49</b>
4.1. Mecánica Molecular . . . . .	49
4.1.1. El concepto teórico . . . . .	49
4.1.2. Las funciones de potencial . . . . .	51
4.1.3. Tipos de campos de fuerza . . . . .	56
4.2. Mecánica cuántica . . . . .	57

4.2.1.	Métodos <i>ab initio</i> . . . . .	57
4.2.1.1.	Postulado fundamental de la mecánica cuántica . . . . .	57
4.2.1.2.	Aproximación de Born-Oppenheimer . . . . .	58
4.2.1.3.	Aproximación de la función de onda multielectrónica . . . . .	59
4.2.1.4.	Función de onda antisimétrica, determinante de Slater . . . . .	59
4.2.1.5.	Método Hartree-Fock-Roothan . . . . .	59
4.2.1.6.	Funciones base . . . . .	60
4.2.2.	Teoría del funcional de la densidad: Métodos DFT . . . . .	62
4.2.3.	Métodos perturbacionales . . . . .	63
4.2.4.	Métodos teóricos para el cálculo de parámetros de RMN . . . . .	64
4.2.4.1.	Método GIAO para el cálculo de desplazamientos químicos . . . . .	64
4.2.4.2.	Cálculos de las constantes de acoplamiento indirecto espín-espín . . . . .	66
4.3.	Dinámica Molecular . . . . .	67
4.3.1.	Introducción . . . . .	67
4.3.2.	Fundamento teórico . . . . .	68
4.3.2.1.	Mecánica clásica . . . . .	68
4.3.2.2.	La función de potencial . . . . .	70
4.3.2.3.	Dinámicas con restricción de los grados de libertad . . . . .	70
4.3.2.4.	Condiciones de contorno periódicas . . . . .	71
4.3.2.5.	Radio de corte . . . . .	72
4.3.2.6.	Lista de vecinos . . . . .	72
4.3.3.	Aplicación de la Mecánica Estadística . . . . .	73
4.4.	Tratamiento teórico del disolvente . . . . .	74
4.4.1.	Introducción . . . . .	74
4.4.2.	Métodos de cálculo con disolvente explícito . . . . .	74
4.4.2.1.	Implementación de disolvente explícito en los métodos de MM . . . . .	75
4.4.3.	Métodos de cálculo con disolvente implícito . . . . .	77
4.4.3.1.	Modelos mecanocuánticos del continuo . . . . .	77
4.5.	<i>Docking</i> molecular . . . . .	82
4.5.1.	Introducción . . . . .	82
4.5.2.	Algoritmos de búsqueda de mínimos (análisis conformacional) . . . . .	85
4.5.2.1.	Algoritmos que tienen en cuenta la flexibilidad del ligando . . . . .	85
4.5.2.2.	Algoritmos que tienen en cuenta la flexibilidad del receptor . . . . .	87
4.5.3.	Funciones de puntuación . . . . .	89
4.5.3.1.	Métodos rigurosos . . . . .	89
4.5.3.2.	Métodos aproximados . . . . .	91
4.5.4.	Validación de los algoritmos de <i>docking</i> . . . . .	94

<b>5. Detalles computacionales</b>	<b>97</b>
5.1. Caracterización de los tioazúcares estudiados . . . . .	97
5.1.1. Análisis conformacional y selección de estructuras . . . . .	97
5.1.2. Refinamiento de las geometrías. Moléculas aisladas . . . . .	98
5.1.3. Clasificación de los ángulos diedros . . . . .	99
5.1.4. Tratamiento del disolvente . . . . .	100
5.1.5. Cálculos de RMN . . . . .	100
5.1.6. Otros cálculos de comprobación . . . . .	100
5.2. Estudio de la actividad inhibitoria . . . . .	101
5.2.1. Simulación de la $\alpha$ -L-fucosidasa por métodos de dinámica mo- lecular . . . . .	101
5.2.1.1. Definición de la proteína . . . . .	101
5.2.1.2. Protocolo de cálculo . . . . .	102
5.2.2. Cálculos de <i>docking</i> molecular . . . . .	103
5.2.3. Dinámica molecular de los complejos . . . . .	104
5.2.4. Análisis de las dinámicas . . . . .	105
5.3. Recursos computacionales empleados . . . . .	105
<b>6. Resultados y discusión I. Algoritmos de informática química</b>	<b>107</b>
6.1. Caracterización y generación de las formas del anillo de piranosa . . . . .	107
6.1.1. Propuesta de caracterización de una forma no ideal . . . . .	107
6.1.2. Generación de las diferentes formas del anillo . . . . .	112
6.1.2.1. Implementación de un nuevo algoritmo . . . . .	112
6.2. Programa CAL3JHH . . . . .	116
6.2.1. Introducción . . . . .	116
6.2.2. Descripción del programa . . . . .	118
<b>7. Resultados y discusión II. Cálculos teóricos</b>	<b>123</b>
7.1. Consideraciones previas . . . . .	123
7.2. 5-Tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa y sus homólogos naturales . . . . .	124
7.2.1. Moléculas aisladas. Búsqueda de una metodología adecuada . . . . .	124
7.2.1.1. $\alpha,\beta$ -L-Fucopiranososa: resultados MMX y B3LYP/6- 31G* . . . . .	125
7.2.1.2. Resultados para la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa ( <b>3,4</b> ) . . . . .	130
7.2.1.3. Introducción de la función difusa . . . . .	137
7.2.2. Influencia del disolvente. Método PCM . . . . .	138
7.3. Otros monotiosacáridos: moléculas aisladas y en disolución . . . . .	144
7.3.1. 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa ( <b>5</b> ) y 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa ( <b>6</b> ) . . . . .	144
7.3.2. Tioderivados de configuración L-ido ( <b>7 al 10</b> ) . . . . .	145
7.4. Monotiosacáridos: parámetros geométricos . . . . .	149
7.5. Monotiosacáridos: propiedades espectroscópicas . . . . .	153
7.6. Modelo estructural de la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	160
7.6.1. Introducción . . . . .	160

---

7.6.2. Descripción del centro activo . . . . .	162
7.6.3. Resultados de la dinámica molecular de la proteína . . . . .	162
7.7. Resultados del <i>docking</i> . . . . .	169
7.7.1. <i>Docking</i> con los rotámeros estudiados . . . . .	169
7.7.2. Extensión de los cálculos a otros tioazúcares . . . . .	171
7.8. Dinámica molecular de los complejos . . . . .	175
<b>8. Conclusiones</b>	<b>183</b>
<b>A. Definición y nomenclatura de los tioazúcares</b>	<b>185</b>
<b>B. Tablas suplementarias</b>	<b>187</b>
<b>C. Compuestos estudiados en el docking</b>	<b>197</b>
<b>D. Artículos publicados</b>	<b>203</b>
<b>E. Referencias y Notas</b>	<b>253</b>

---

# ÍNDICE DE FIGURAS

3.1. Las 38 formas canónicas del anillo de piranosa . . . . .	26
3.2. Notación de Hendrickson para indicar la deformación del anillo . . . . .	28
3.3. Las 38 formas básicas del anillo de piranosa, representadas sobre la superficie de una esfera, generada por las coordenadas polares esféricas del método CP . . . . .	32
3.4. Vectores para el cálculo de los parámetros <i>puckering</i> de Hill y Reilly . . . . .	36
3.5. Cálculo de las coordenadas del anillo plano de referencia de 6 átomos . . . . .	39
3.6. Definición de sustituyentes «positivos»o «negativos» . . . . .	43
4.1. Interacciones más importantes que se consideran en mecánica molecular . . . . .	50
4.2. Comparación esquemática de los diferentes potenciales con la función de Morse . . . . .	52
4.3. Componentes de Fourier . . . . .	54
4.4. Ilustración de las condiciones de contorno periódicas, convención de mínima imagen y radio de corte . . . . .	71
4.5. Diferentes modelos rígidos para la molécula de agua . . . . .	76
4.6. Superficie accesible al disolvente (SAD) y superficie excluido el disolvente (SED) . . . . .	79
4.7. Uso de mapas de rejillas . . . . .	84
5.1. Criterio adoptado para la asignación de los ángulos diedros de los rotámetros . . . . .	99
6.1. Ejemplo de representación estereográfica de los parámetros <i>puckering</i> de un anillo de 6 átomos . . . . .	107
6.2. Ejemplo de una conformación <i>P</i> como combinación lineal de 4 formas canónicas adyacentes . . . . .	108
6.3. Ejemplo del método descrito para la generación de cualquier forma del anillo, a partir de otra de referencia . . . . .	112
6.4. Posición relativa de los sustituyentes en un anillo . . . . .	115
6.5. Diferentes ambientes para un acoplamiento vecinal genérico H – C <sub>sp3</sub> – C <sub>sp3</sub> – H . . . . .	117
6.6. Vista del cálculo de una única estructura (estricnina) con el programa CAL3JHH . . . . .	119

6.7. Menú « <b>Graphical viewer</b> » del programa mostrando los resultados del cálculo de la estricnina . . . . .	120
6.8. Vista del menú « <b>Compute multiple structures</b> » para los confórmeros del 1,1,2-tricloropropano . . . . .	121
6.9. Vista gráfica con los resultados para el 1,1,2-tricloropropano . . . . .	122
6.10. Proyecciones de Newman con los diferentes confórmeros del 1,1,2-tricloropropano, junto con sus energías . . . . .	122
7.1. Los cuatro primeros rotámeros de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa ( <b>3</b> ) y de la $\alpha$ -L-fucopiranososa ( <b>1</b> ) (conformación ${}^1C_4$ ) al nivel de teoría B3LYP/6-31G* . . . . .	133
7.2. Rotámeros más estables, de conformación de anillo diferente a la ${}^1C_4$ , al nivel de teoría B3LYP/6-31G*, para la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa ( <b>3</b> ) y la $\alpha$ -L-fucopiranososa ( <b>1</b> ) . . . . .	134
7.3. Los cuatro primeros rotámeros de la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa ( <b>4</b> ) y de la $\beta$ -L-fucopiranososa ( <b>2</b> ) al nivel de teoría B3LYP/6-31G* . . . . .	135
7.4. Los 4 rotámeros más estables de <b>4</b> , de conformación de anillo diferente a la ${}^1C_4$ , al nivel de teoría B3LYP/6-31G* . . . . .	136
7.5. Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa ( <b>5</b> ) y de la 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa ( <b>6</b> ), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G*) . . . . .	145
7.6. Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa ( <b>7</b> ), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G*) . . . . .	146
7.7. Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales del anillo de la 6-desoxi-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa ( <b>8</b> ), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G*) . . . . .	147
7.8. Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 3-O-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa ( <b>9</b> ), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G*) . . . . .	148
7.9. Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales del anillo de la 6-desoxi-3-O-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa ( <b>10</b> ), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G*) . . . . .	149
7.10. Distancias seleccionadas (Å) y ángulos de enlace ( $^\circ$ ) para los rotámeros más estables de cada posible orientación del OH anomérico, según el efecto exoanomérico, para la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa ( <b>3</b> ) en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G*) . . . . .	150
7.11. Distancias seleccionadas (Å) y ángulos de enlace ( $^\circ$ ) para los rotámeros más estables de cada posible orientación del OH anomérico, según el efecto exoanomérico, para la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa ( <b>4</b> ) en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G*) . . . . .	151
7.12. Representación de los datos calculados de ${}^1H$ , ${}^{13}C$ y ${}^3J_{H,H}$ , frente a los valores experimentales de los compuestos <b>3</b> al <b>10</b> . . . . .	158

7.13. Gráfico con las constantes $^3J_{H,H}$ teóricas en disolución, calculadas por el método SSCC y la ecuación de Haasnoot, representadas frente a los valores experimentales de los compuestos <b>3</b> al <b>10</b> . . . . .	159
7.14. Diagrama de cintas del dímero de la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	160
7.15. Secuencia completa de la unidad B de la $\alpha$ -L-fucosidasa (1HL9) . . . . .	161
7.16. Centro activo de la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	162
7.17. Evolución de la energía y de la temperatura en la etapa de equilibrado . . . . .	163
7.18. Evolución del rmsd durante las etapas de equilibrado y producción de la simulación de la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	163
7.19. Comparación de la estructuras . . . . .	164
7.20. Evolución del radio de giro . . . . .	165
7.21. Evolución del factor de temperatura . . . . .	165
7.22. Representación, en código de colores, de la movilidad del monómero B de la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	166
7.23. Gráficos Ramachandran de la estructura de la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	167
7.24. Evolución de la estructura secundaria de la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	168
7.25. Ejemplos de la dependencia de la $K_i$ calculada, con respecto a las formas del anillo . . . . .	171
7.26. Ilustración con las mejores posturas de la $\alpha,\beta$ -fucopiranososa y su tiode- rivado, así como del compuesto <b>28</b> , mostrando las interacciones con la proteína . . . . .	174
7.27. Fluctuaciones atómicas de los complejos y de la proteína aislada . . . . .	176
7.28. Fluctuaciones atómicas de los átomos de cada inhibidor estudiado . . . . .	177
7.29. Átomos, de los residuos del C.A., implicados en enlaces de hidrógeno . . . . .	178
7.30. Átomos, de los inhibidores, implicados en enlaces de hidrógeno . . . . .	178
7.31. Vista del inhibidor en el centro activo . . . . .	181
A.1. Ejemplos de tioazúcares . . . . .	185





---

# ÍNDICE DE ESQUEMAS

1.1. Ejemplos de miméticos de hidratos de carbono . . . . .	2
3.1. Primeros tioazúcares, sintetizados en 1961, con el S en el anillo . . . . .	8
3.2. Otras tiopiranosas sintetizadas en la década de los sesenta . . . . .	8
3.3. Tiofuranosas sintetizadas, derivadas de la 4-tio-ribosa . . . . .	9
3.4. Primeros tioazúcares cíclicos de 7 miembros sintetizados con el átomo de S en el anillo . . . . .	10
3.5. Tioderivado de la oxetanocina A . . . . .	10
3.6. Primeros disacáridos sintetizados con un átomo de S . . . . .	11
3.7. Trisacáridos conteniendo 5-tio-L-fucosa en lugar de L-fucosa . . . . .	12
3.8. Primeros tioazúcares, hallados en la naturaleza, con S en el anillo . . . . .	13
3.9. Esquema de la estructura química de la tiolactomicina . . . . .	13
3.10. Salacinol y kotalanol, potentes inhibidores naturales de $\alpha$ -glucosidasas .	14
3.11. Afrostiraxtiósidos extraídos de las semillas del <i>Afrostyrax lepidophyllus</i> Mildbr . . . . .	15
3.12. Ejemplos de tioglicósidos naturales . . . . .	15
3.13. Mutarrotación de la 5-tio-D-glucosa comparada con la de la D-glucosa .	16
3.14. Interacciones ligando-proteína . . . . .	18
3.15. Formación inusual de 1,2-transdioles del metil 5-tio-D-glucopiranosido	21
7.1. Tiopiranosas y piranosas objeto de estudio . . . . .	124



---

# ÍNDICE DE TABLAS

3.1. Parámetros empíricos para la ecuación de Haasnoot . . . . .	43
7.1. Energías relativas, calculadas para los diferentes conformaciones y rotámeros de la $\alpha$ -L-fucopiranososa ( <b>1</b> ), a distintos niveles de teoría . . . . .	126
7.2. Energías relativas <sup>a</sup> ( $\Delta E$ ), en kcal/mol, calculadas para las estructuras <b>1-4</b> , al nivel de teoría B3LYP/6-31G* . . . . .	127
7.3. Parámetros geométricos de la conformación más estable de los compuestos <b>1-4</b> , calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G* . . . . .	129
7.4. Desplazamientos químicos, <sup>13</sup> C y <sup>1</sup> H, experimentales y teóricos calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G*, para los compuestos <b>1-4</b> . . . . .	130
7.5. Constantes de acoplamiento <sup>3</sup> J <sub>H,H</sub> (Hz), experimentales y teóricas calculadas al nivel de teoría B3LYP/6-31G*, para los compuestos <b>1-4</b> . . . . .	131
7.6. Resultados comparados (sólo los diez primeros rotámeros) del análisis conformacional en fase gas, de los compuestos <b>1</b> y <b>2</b> , a los niveles de teoría B3LYP/6-31G* y B3LYP/6-31+G* . . . . .	138
7.7. Resultados comparados (sólo los diez primeros rotámeros) del análisis conformacional, en la fase gas, de los compuestos <b>3</b> y <b>4</b> , a los niveles teóricos B3LYP/6-31G* y B3LYP/6-31+G* . . . . .	139
7.8. Resultados comparados, B3LYP/6-31+G* y PCM-B3LYP/6-31+G*, para los compuestos <b>3</b> y <b>4</b> . . . . .	141
7.9. Diferencias en las longitudes de enlace C1 – O1 y C1 – S <sub>anillo</sub> , entre las diferentes orientaciones exoanoméricas . . . . .	152
7.10. Parámetros geométricos seleccionados, de los compuestos <b>3</b> al <b>10</b> , al nivel de teoría PCM-B3LYP/6-31+G* . . . . .	153
7.11. Valores teóricos calculados (en disolución) de RMN <sup>1</sup> H (método GIAO) y de <sup>3</sup> J <sub>H,H</sub> (ecuación de Haasnoot), para los compuestos <b>3</b> al <b>10</b> , al nivel de teoría PCM-B3LYP/6-31+G*. Los valores corresponden a los primeros rotámeros de cada conformación mayoritaria. . . . .	154
7.12. Resultados comparativos, entre los niveles B3LYP/6-31+G* y MP2/6-311++G**, de algunas estructuras seleccionadas, para la comprobación de los cálculos . . . . .	157
7.13. Resumen de los resultados de <i>docking</i> obtenidos para las mejores posturas de cada tioazúcar estudiado en las secciones anteriores . . . . .	169

---

7.14. Valores calculados de la constante de inhibición ( $K_i$ ), para todos los compuestos estudiados mediante <i>docking</i> . . . . .	172
7.15. Datos calculados y experimentales de la inhibición de tioazúcares hacia la $\alpha$ -L-fucosidasa . . . . .	173
7.16. Evolución de la forma del anillo de piranosa durante la simulación de los complejos estudiados . . . . .	175
7.17. Enlaces de hidrógeno, entre los inhibidores estudiados y el centro activo de la $\alpha$ -L-fucosidasa, cuando actúa como aceptor . . . . .	179
7.18. Enlaces de hidrógeno, entre los inhibidores estudiados y el centro activo de la $\alpha$ -L-fucosidasa, cuando actúa como dador . . . . .	180
7.19. Energías libres, en kcal/mol, de interacción enzima-substrato . . . . .	181
B.1. Resultados comparativos para los compuestos <b>5</b> al <b>10</b> , en fase gaseosa y en disolución, al nivel de teoría B3LYP/6-31+G* . . . . .	188

## INTRODUCCIÓN

Tanto en Oriente como en Occidente es posible distinguir un camino que, a lo largo de los siglos, ha llevado a la humanidad a encontrarse progresivamente con la verdad y a confrontarse con ella. Es un camino que se ha desarrollado —no podía ser de otro modo— dentro del horizonte de la autoconciencia personal: al hombre cuanto más conoce la realidad y el mundo y más se conoce a sí mismo en su unicidad, le resulta más urgente el interrogante sobre el sentido de las cosas y sobre su propia existencia. Todo lo que se presenta como objeto de nuestro conocimiento se convierte por ello en parte de nuestra vida.

---

JUAN PABLO II  
*Fides et ratio*

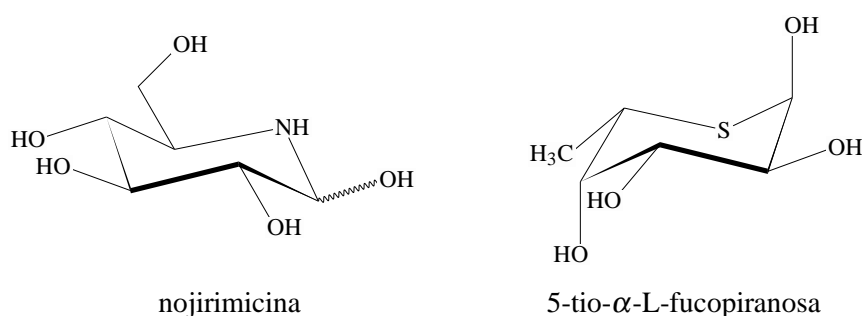
Los tioazúcares<sup>1</sup> son potenciales inhibidores de glicosidasas. Estas enzimas se encuentran implicadas en muchas enfermedades y desórdenes metabólicos tales como: diabetes, infecciones microbianas y metástasis; su inhibición es un objetivo capital en la química farmacéutica.

La fuente natural de inhibidores de estas glicosidasas son los hidratos de carbono (sacáridos), que son los homólogos naturales de dichos tioazúcares. Pero este tipo de medicamentos se degrada, en los jugos gástricos y el plasma, por las mismas glicosidasas que son abundantes en el organismo. Por tanto, los esfuerzos actuales se centran en el desarrollo de pequeñas moléculas que imiten la estructura y función de hidratos de carbono complejos, en la esperanza de que sean más activos y estables. Son los denominados miméticos de hidratos de carbono, siendo los más utilizados los azaazúcares (análogos a sacáridos, en los que el oxígeno de la piranosa se reemplaza por un átomo de nitrógeno), que tienen la ventaja de tener una mayor estabilidad y biodisponibilidad, presentando también actividad anticancerígena y antisida. Sin embargo, tienen el problema de que no son específicos, pudiendo interactuar con otras enzimas que no sean el objetivo.

---

<sup>1</sup>Para una definición de tioazúcar véase el apéndice A.

En este sentido, el uso de los 5-tioazúcares (en este caso, es el azufre quién reemplaza al oxígeno de la piranosa) presenta potenciales ventajas, ya que, ocasionalmente, presentan mayor afinidad por los receptores, debido a un aumento de las interacciones hidrofóbicas de la cara superior del anillo con la proteína<sup>2</sup> y a que el átomo de azufre participa en interacciones con dichos receptores. Además, al contrario que sus homólogos naturales, los 5-tioazúcares son resistentes a la hidrólisis por glicosidasas. Se conocen casos en los que presentan una mayor afinidad por los receptores que sus homólogos naturales, siendo un ejemplo muy representativo la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa, que inhibe fuertemente a la enzima  $\alpha$ -L-fucosidasa.



**Esquema 1.1:** Ejemplos de miméticos de hidratos de carbono.

Al igual que sus homólogos naturales, los tioazúcares son moléculas complejas multifuncionales, en los que los grupos OH se utilizan para unirse a sus receptores en diferentes posiciones. Debido a su complejidad estructural (diferentes formas del anillo, rotámeros y existencia de sustituyentes) su caracterización experimental es complicada y por lo tanto, es imprescindible tener una adecuada información teórica de los 5-tioazúcares para un diseño racional de medicamentos basados en ellos. Sin embargo, es sorprendente la falta de resultados teóricos que, de estos compuestos, existe en la bibliografía.

Por todo lo anterior, en esta memoria se ha considerado el estudio teórico de los mismos. Teniendo en cuenta que actualmente se tiende al diseño de pequeñas moléculas miméticas y que, en disolución, los 5-tioazúcares prefieren adoptar la forma de anillo de piranosa, se ha acometido el estudio teórico de varias tiopiranosas sintetizadas por el Grupo de Investigación de Carbohidratos de esta Universidad, de las cuales se tienen los suficientes datos experimentales para poder contrastar los cálculos teóricos. Como molécula patrón, para validar la metodología, se ha estudiado también la  $\alpha$ -L-fucopiranososa, homóloga natural de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa, de la que sí se tiene mucha información teórica.

La definición de una metodología adecuada ha sido un aspecto central en el desarrollo de esta memoria. En una primera fase, dada la complejidad que representa el estudio de un tiosacárido<sup>3</sup>, ha habido que establecer una metodología inicial de análisis con-

<sup>2</sup>Uno de los problemas de los sacáridos es que tienen una afinidad débil por sus receptores, debido seguramente a la falta de grupos hidrofóbicos y con carga.

<sup>3</sup>Por ejemplo, un simple anillo de piranosa puede tener 38 formas básicas y  $3^n$  rotámeros, si consideramos 3 posibles rotaciones, siendo  $n$  el número de grupos OH.

formacional. Existen diversos algoritmos, pero, con el fin de explorar el mayor espacio conformacional posible, se ha considerado necesario recurrir a la búsqueda sistemática. Para ello se ha tenido que diseñar un algoritmo propio en el que uno de los puntos más conflictivos ha sido la caracterización de cada anillo, conociendo sus coordenadas, y la generación de las diversas formas del mismo para su posterior optimización. No existen programas informáticos con algoritmos eficientes que hagan este cometido.

Dada la gran cantidad de estructuras generadas, para la optimización inicial y para ahorrar tiempo computacional, se ha recurrido a la mecánica molecular. Existen gran cantidad de campos de fuerza, algunos específicos para sacáridos, como por ejemplo Glycam, pero incluso éste, en su versión más reciente, no tiene parametrizado el átomo de azufre del anillo de piranosa. Se ha optado por el uso del campo de fuerza MMX, que es una modificación del MM2 de Allinger (que da muy buenos resultados para este tipo de compuestos) y que admite la utilización de parámetros generalizados, lo que ha permitido incluir el átomo de azufre en los cálculos.

Una segunda etapa ha consistido en el desarrollo de un algoritmo de selección de estructuras, a fin de poder elegir un conjunto representativo de estructuras para un posterior refinamiento de su geometría. Para dicho refinamiento (3ª etapa) ha habido que buscar un compromiso entre calidad (nivel teórico) de los cálculos y tiempo computacional, razón por la que se ha recurrido a los métodos DFT que incluyen la correlación electrónica, en concreto al funcional híbrido B3LYP, del cual existen numerosas referencias que indican que es una adecuada elección para el estudio de los hidratos de carbono. La base utilizada ha sido la mínima para la que se ha obtenido un buen resultado, contrastado con los datos experimentales (véase la sección de resultados), puesto que bases mayores dan lugar a un considerable aumento de los tiempos computacionales ya que el método conduce a oscilaciones muy lentas alrededor del mínimo energético.

Estos mismos datos experimentales, nos han indicado la necesidad de incluir el efecto disolvente en los cálculos. En primera instancia, se consideró el recurrir a la inclusión explícita del disolvente, mediante estudios que recurren a la mecánica estadística, con métodos semiempíricos (PM3 y AM1) que en otros tipos de moléculas dan excelentes resultados, además de ser cálculos muy rápidos. Sin embargo, si bien nos han permitido orientarnos sobre la conveniencia de incluir el disolvente, se han tenido que descartar ya que no ofrecen datos fiables respecto de las poblaciones rotaméricas y contienen errores al considerar falsas interacciones H...H, hecho este contrastado con la literatura reciente. Por esta razón se ha recurrido a los métodos del continuo (PCM) que consideran al disolvente de forma implícita. Adicionalmente, para comprobaciones puntuales de alguno de los resultados obtenidos, se han realizado cálculos a más alto nivel de teoría (MP2).

Otro aspecto a considerar es la validación de los resultados teóricos, por comparación con los datos experimentales de RMN disponibles (desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$ , y constantes de acoplamiento vecinales  $^3J_{\text{H,H}}$ ). En el caso de las constantes de acoplamiento se ha evaluado el cálculo mediante métodos *ab initio*; sin embargo, los resultados no fueron satisfactorios, reportando valores altos de las constantes y resultando mucho más precisos los derivados de la ecuación empírica de Haasnoot (tipo Karplus).



Para facilitar y automatizar estos últimos, se ha confeccionado un programa informático propio (CAL3JHH) que además proporciona los valores promedio ponderados, basados en la ecuación de Boltzmann.

Asimismo, se ha estimado conveniente el estudio de las interacciones de los monómeros estudiados con una proteína y analizar el comportamiento estructural de estos tioazúcares en los complejos formados. Para este fin, se ha recurrido a estudios de *docking*, combinados con técnicas de dinámica molecular (DM). Ambas herramientas son hoy día fundamentales en el estudio y diseño de nuevos fármacos.

La proteína elegida ha sido la  $\alpha$ -L-fucosidasa procedente de la bacteria marina *Thermotoga marítima* que presenta un 80 % de similitud con la  $\alpha$ -L-fucosidasa humana; su déficit da lugar a una enfermedad metabólica grave denominada fucosidosis. Además, precisamente uno de los ejemplos claros del mayor poder inhibitorio (en algunos casos) de los tioazúcares frente a sus homólogos naturales, es la fuerte inhibición de esta proteína por la 5-tio- $\alpha$ -L-fucosa.

---

---

## OBJETIVOS

La presente memoria tiene como objetivo principal cubrir la falta de conocimientos teóricos que, hoy día, aún se tiene sobre los 5-tioazúcares, a pesar de que son prometedores medicamentos<sup>4-6</sup>.

El estudio de sus características estructurales, influencia del átomo de azufre en el anillo, efecto del disolvente y otros aspectos serán estudiados, así como el análisis de su capacidad inhibitoria.

Se pueden desglosar los objetivos en los siguientes:

1. Establecer una metodología adecuada para el análisis conformacional y caracterización del anillo de tiopiranos, incluyendo el análisis de las poblaciones de rotámeros.
2. Diseñar algoritmos propios y aplicaciones informáticas para dicho análisis (incluyendo la caracterización de un anillo de piranos no ideal, en función de las combinaciones lineales de las formas canónicas) y para el cálculo teórico de las constantes de acoplamiento vecinales.
3. Realizar el análisis conformacional de monómeros de 5-tioazúcares y analizar las diferencias con sus homólogos naturales (influencia de la introducción del S como heteroátomo en el anillo).
4. Estudiar la influencia del disolvente en el comportamiento estructural.
5. Comparar los resultados teóricos obtenidos con los datos experimentales disponibles, a fin de validar la metodología diseñada.
6. Analizar, desde un punto de vista teórico, la capacidad inhibitoria de los 5-tioazúcares estudiados, utilizando métodos de *docking* molecular y dinámica molecular, para lo que se toma como proteína receptora la  $\alpha$ -L-fucosidasa.
7. Intentar describir el mecanismo de interacción inhibidor-fucosidasa y el papel estructural que el centro activo juega en dicha interacción.

---

<sup>4</sup>H. Yuasa y H. Hashimoto *Rev. Heteroatom. Chem.*, **1999**, *19*, 35-65.

<sup>5</sup>Z. J. Witzak y J. M. Culhane *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2005**, *69*, 237-244.

<sup>6</sup>H. Yuasa, M. Izumi y H. Hashimoto *Curr. Topics Med. Chem.*, **2009**, *9*, 76-86.



## ANTECEDENTES

### 3.1. Antecedentes históricos

El primer ejemplo observado data de hace bastante tiempo, cuando en 1825 se informó de que, al tratar la semilla de la mostaza blanca con alcohol, se producía un compuesto cristalino que contenía nitrógeno y azufre. Se trataba de un tioglicósido que denominaron sulfosinapisín<sup>7</sup>.

Se prepararon otros tioazúcares<sup>7-9</sup>, algunos existentes en la naturaleza, pero el primer tioazúcar sintetizado con un átomo de azufre en el anillo fue la D-xilotiopiranososa (5-tio- $\alpha$ -D-xilopiranososa), una tiohexosa que se obtuvo simultáneamente por dos laboratorios diferentes, con métodos de síntesis diferentes, en 1961<sup>10,11</sup>. En el segundo de estos artículos<sup>11</sup>, también se obtuvo, de estructura similar, la penta-O-acetil-5-tio-L-idopiranososa. Posteriormente, pero también casi con simultaneidad, publicado en 1962<sup>12</sup>, se sintetizó un derivado de la D-xilotiopiranososa, el metil 5-tio- $\alpha$ -D-xilopiranosido, como parte de un programa para sustituir el oxígeno del anillo por azufre o nitrógeno, en una serie de azúcares y derivados, por considerarse ya que este tipo de compuestos podrían ser de interés químico y biológico, y con utilidad en la química médica. Este mismo compuesto, junto con otros dos metil  $\beta$ -D-pentatiopiranosidos (metil  $\beta$ -D-ribotiopiranosido y metil 2-desoxi- $\beta$ -D-ribotiopiranosido), fueron sintetizados en el mismo año<sup>13</sup>.

Un año después se sintetizó un derivado de la D-glucotiopiranososa, el metil 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranosido<sup>14</sup>. Los mismos autores, en posteriores trabajos, la sintetizaron en su forma libre<sup>15,16</sup>. Otra tiopiranososa obtenida por esa época fue el metil 5-tio-L-arabinopiranosido<sup>17</sup>, derivado de la 5-tio-L-arabinopiranososa cuya homóloga natural es muy común en plantas tales como el maíz, arroz, trigo, etc.

<sup>7</sup>A. L. Raymond *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1945**, *1*, 129-145.

<sup>8</sup>S. M. Iqbal y L. N. Owen *J. Chem. Soc.*, **1960**, 1030-1036 y artículos anteriores.

<sup>9</sup>L. D. Hall, L. Hough y R. A. Pritchard *J. Chem. Soc.*, **1961**, 1534-1545.

<sup>10</sup>J. C. P. Schwarz y K. C. Yule *Proc. Chem. Soc.*, **1961**, 417.

<sup>11</sup>T. J. Adley y L. N. Owen *Proc. Chem. Soc.*, **1961**, 418.

<sup>12</sup>R. L. Whistler, M. S. Feather y D. L. Ingles *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, *84*, 122.

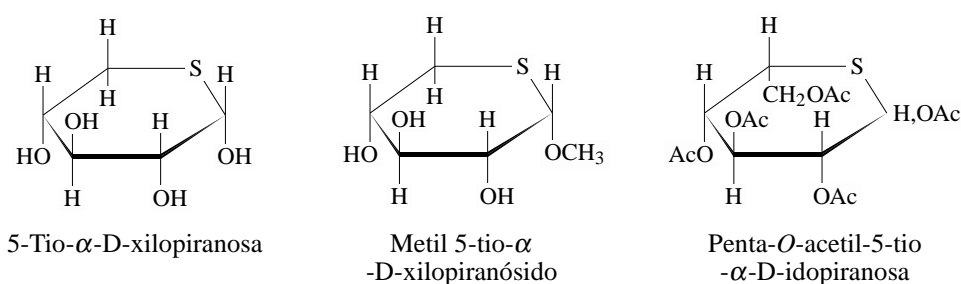
<sup>13</sup>D. L. Ingles y R. L. Whistler *J. Org. Chem.*, **1962**, *27*, 3896-3898.

<sup>14</sup>M. S. Feather y R. L. Whistler *Tetrahedron Lett.*, **1962**, *No 15*, 667-668.

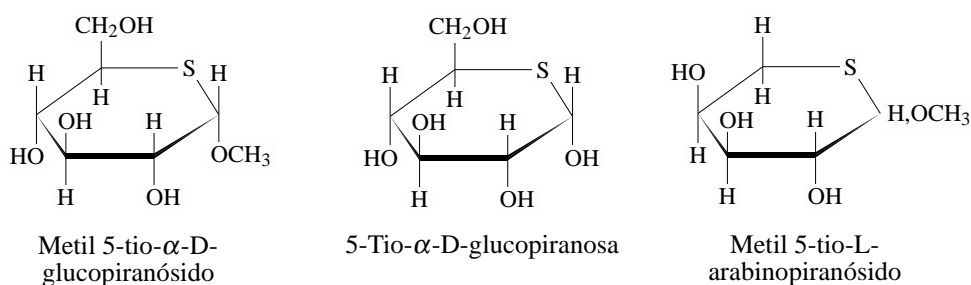
<sup>15</sup>R. M. Rowell y R. L. Whistler *J. Org. Chem.*, **1966**, *31*, 1514-1516.

<sup>16</sup>U. G. Nayak y R. L. Whistler *J. Org. Chem.*, **1969**, *34*, 97-100.

<sup>17</sup>R. L. Whistler y R. M. Rowell *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 1259-1261.



**Esquema 3.1:** Primeros tioazúcares, sintetizados en 1961, con el S en el anillo.



**Esquema 3.2:** Otras tiopiranosas sintetizadas en la década de los sesenta.

Otros tioazúcares sintetizados con azufre en el anillo de 6 miembros son la 5-tio-L-fucosa<sup>18</sup>, la 5-tio-D-galactosa<sup>19</sup>, la *N*-acetil-tioglucoamina<sup>20</sup>, la *N*-acetil-tiogalactosamina<sup>21</sup>, el ácido 6-tiosialico<sup>22</sup>, la 5-tio-L-idopiranososa y varios derivados<sup>23,24</sup>, y otros muchos<sup>25–28</sup>.

Aunque la tendencia general es a la formación de anillos de piranosas<sup>29</sup>, también pronto se sintetizaron algunas tiofuranosas consideradas de interés para la formación de ácidos nucleicos modificados. Se consideró que si los 5-tioazúcares ciclaban como anillos de 6 miembros (aunque no se tenían noticias de la formación de anillos de 7 miembros a partir de 6-tiohexosas)<sup>30</sup>, los 4-tioazúcares podrían ciclar como furanosas. Así, se sintetizaron anillos de furanosa de la 4-tio-ribose (configuración D y L) y derivados<sup>30–32</sup> (véase el esquema 3.3). A diferencia de los anteriores tioazúcares sintetizados, la 4-tio-ribofuranosa, en disolución, está en equilibrio con la forma *O*-piranososa, favorecido hacia

<sup>18</sup>H. Hashimoto, T. Fujimori y H. Yuasa *J. Carbohydr. Chem.*, **1990**, 9, 683-694.

<sup>19</sup>J. E. N. Shin y A. S. Perlin *Carbohydr. Res.*, **1979**, 76, 165-176.

<sup>20</sup>H. Akira, K. Yoshibumi, K. Hisashi y K. Makoto *Carbohydr. Res.*, **1978**, 63, 131-137.

<sup>21</sup>E. Tanahashi, M. Kiso y A. Hasegawa *J. Carbohydr. Chem.*, **1983**, 2, 129-137.

<sup>22</sup>H. Mack y R. Brossmer *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 191-194.

<sup>23</sup>N. A. Hughes, N. M. Munkombwe y N. D. Todhunter *Carbohydr. Res.*, **1991**, 216, 119-139.

<sup>24</sup>F. G. Calvo-Flores, P. García-Mendoza, F. Hernández-Mateo, J. Isac-García y F. Santoyo-González *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 3944-3961.

<sup>25</sup>C. J. Clayton y N. A. Hughes *Carbohydr. Res.*, **1967**, 4, 32-41.

<sup>26</sup>J. Harness y N. A. Hughes *J. Chem. Soc. D, Chem. Commun.*, **1971**, 811.

<sup>27</sup>M. Chmielewski, M. Chen y R. L. Whistler *Carbohydr. Res.*, **1976**, 49, 479-481.

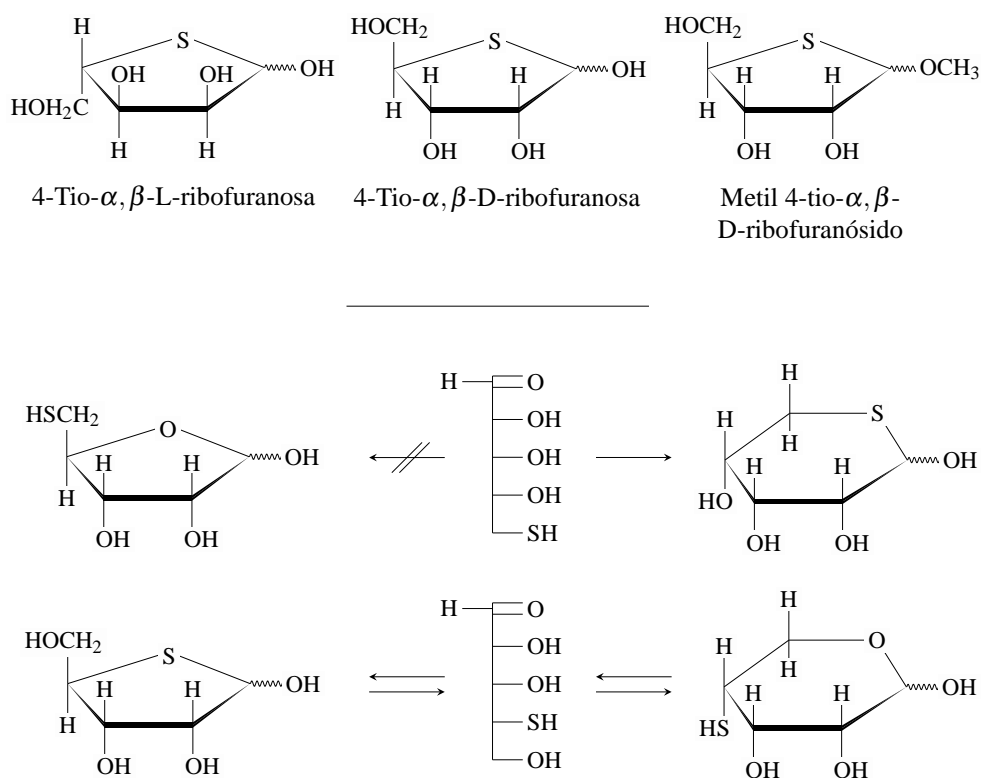
<sup>28</sup>A. K. M. Anisuzzaman y R. L. Whistler *Carbohydr. Res.*, **1977**, 55, 205-214.

<sup>29</sup>H. Paulsen y K. Todt *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1968**, 23, 115-232.

<sup>30</sup>E. J. Reist, D. E. Gueffroy y L. Goodman *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, 86, 5658-5663.

<sup>31</sup>R. L. Whistler, W. E. Dick, T. Ingle, R. M. Rowell y B. Urbas *J. Org. Chem.*, **1964**, 29, 3723-3725.

<sup>32</sup>E. J. Reist, D. E. Gueffroy y L. Goodman *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 3715.



**Esquema 3.3:** Tiofuranosas sintetizadas, derivadas de la 4-tio-ribosa. Al contrario que para los 5-tioazúcares, este 4-tioazúcar presenta un equilibrio entre el anillo de piranosa y el de furanosa.

el anillo de 5 miembros.

Estos compuestos se sintetizaron con la intención de producir tionucleósidos (4'-tionucleósidos) y explorar sus posibles aplicaciones biológicas, dadas las que habían mostrado las tiopiranosas anteriormente sintetizadas. Mostraron de hecho interesantes propiedades<sup>33-36</sup>, aunque, debido a sus elevadas citotoxicidades, no se consideró en principio su utilización, hasta el descubrimiento del primer tioazúcar natural con azufre en el anillo, el tionucleósido albomicina  $\delta_1$ ,  $\delta_2$  y  $\epsilon$ <sup>37</sup>, que es un antibiótico natural (véase sección 3.2), el cual suscitó de nuevo el interés farmacológico por este tipo de compuestos.

También, se exploró la posibilidad que tenían las 6-tioaldosas como base para la preparación de anillos de 7 miembros y, algunos, fueron pronto sintetizados. Así, el primer ejemplo se obtuvo en 1966<sup>38</sup> (Metil 6-tio- $\beta$ -D-galactoseptanósido), otro en 1967<sup>39</sup> (etil 1,6-anhidro-2,3,4,5-tetra-*O*-metil-6-tio- $\alpha$ , $\beta$ -galactoseptanósido) y posteriormente,

<sup>33</sup>M. Bobek, R. L. Whistler y A. Bloch *J. Med. Chem.*, **1970**, *13*, 411-413.

<sup>34</sup>M. Bobek, R. L. Whistler y A. Bloch *J. Med. Chem.*, **1972**, *15*, 168-171.

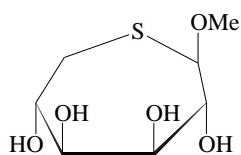
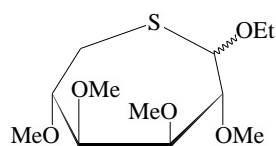
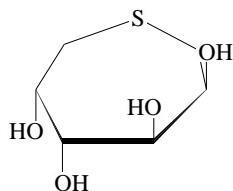
<sup>35</sup>N. Ototani y R. L. Whistler *J. Med. Chem.*, **1974**, *17*, 535-537.

<sup>36</sup>M. Bobek, A. Bloch, R. Parthasarathy y R. L. Whistler *J. Med. Chem.*, **1975**, *18*, 784-787.

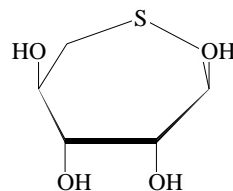
<sup>37</sup>G. Benz, T. Schröder, J. Kurz, C. Wünsche, W. Karl, G. Steffens, J. Pfitzner y D. Schmidt *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1982**, *21*, 527-528.

<sup>38</sup>R. L. Whistler y C. S. Campbell *J. Org. Chem.*, **1966**, *31*, 816-818.

<sup>39</sup>J. M. Cox y L. N. Owen *J. Chem. Soc. C*, **1967**, 1130-1134.

Metil 6-tio- $\beta$ -D-galactoseptanósidoEtil 1,6-anhidro-2,3,4,5-tetra-*O*-metil-6-tio- $\alpha,\beta$ -galactoseptanósido

1,6-tioanhidro-D-manitol

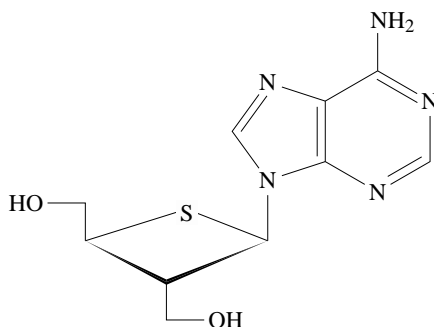


1,6-tioanhidro-galactitol

**Esquema 3.4:** Primeros tioazúcares cíclicos de 7 miembros sintetizados con el átomo de S en el anillo.

en 1975, se sintetizaron dos primeros 1,6-anhidro-hexitoles (véase el esquema 3.4)<sup>40</sup>. Más recientemente, se han preparado otros compuestos de este tipo<sup>41,42</sup>.

Por otro lado, se sintetizó un primer ejemplo de tionucleósido con el anillo de 4 miembros, aunque con un bajo rendimiento, en 1999<sup>43</sup>. Se trata del 9-[(2'*S*,3'*S*)-bis(hidroximetil)tietan-1'-ilo] adenina (véase el esquema 3.5) cuyo homólogo es la oxetanocina A, que es un medicamento efectivo contra el virus HIV y contra los virus que provocan el herpes.

9-[(2'*S*,3'*S*)-bis(hidroximetil)tietan-1'-ilo] adenina

**Esquema 3.5:** Tioderivado de la oxetanocina A.

La cantidad de monosacáridos obtenidos hasta la fecha es muy amplia y se han publicado varios artículos revisando este tipo de compuestos<sup>4,29,44,45</sup>. Por otra parte,

<sup>40</sup>M. Jarman y L. J. Griggs *Carbohydr. Res.*, **1975**, *44*, 317-320.

<sup>41</sup>M. Fuzier, Y. L. Merrer y J. Depezay *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 6443-6446.

<sup>42</sup>Y. L. Merrer, M. Fuzier, I. Dosbaa, M. Foglietti y J. Depezay *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 16731-16746.

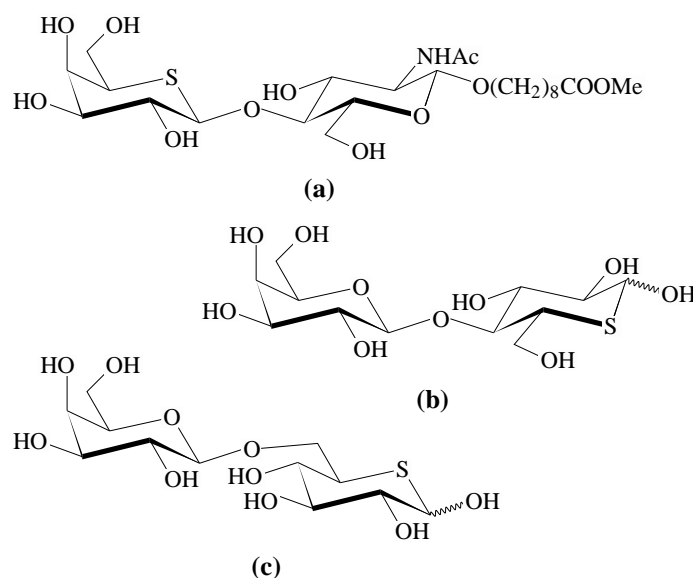
<sup>43</sup>E. Ichikawa, S. Yamamura y K. Kato *Nucleic acid and Symposium Series*, **1999**, *42*, 5-6.

<sup>44</sup>I. Robina, P. Vogel y Z. J. Witczak *Curr. Org. Chem.*, **2001**, *5*, 1177-1214.

<sup>45</sup>J. G. Fernández-Bolaños, N. A. L. Al-Masoudi e I. Maya *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **2001**, *57*, 21-98.

dado que se espera que los disacáridos y oligosacáridos sean ligandos más selectivos para enzimas y lectinas, se ha considerado siempre interesante el estudio de este tipo de compuestos conteniendo tioazúcares, sobre todo porque su hidrólisis (tanto vía catálisis ácida como vía enzimática) es más lenta que la de sus compuestos homólogos. Además, podrían también imitar la parte de azúcar de epítopes y, por lo tanto, pueden ser buenos candidatos como agentes inmunoestimulantes y anticancerígenos o como útiles herramientas para el estudio de las interacciones intercelulares y de fenómenos de adhesión celular (por ejemplo, agentes antiinflamatorios)<sup>46</sup>.

Así, los dos primeros ejemplos de disacáridos con un átomo de azufre en la unidad reductora se sintetizaron en 1991<sup>47</sup>. Poco tiempo después se sintetizó el primer ejemplo de disacárido con el azufre en la unidad no reductora, un glicósido de la 5'-tio-N-acetil-lactosamina<sup>48</sup> (véase el esquema 3.6).



**Esquema 3.6:** Primeros disacáridos sintetizados con un átomo de S: a) en la unidad no reductora y b,c) en la unidad reductora.

A partir de estos, se han sintetizado otros muchos disacáridos con actividad inhibitoria<sup>46,49</sup>. También trisacáridos; así, el grupo de Hashimoto y colaboradores, sintetizaron<sup>50</sup> análogos de antígenos de grupos sanguíneos H-tipo 2 y Lewis X (Le<sup>X</sup>), junto con otros dos compuestos derivados<sup>51</sup>, conteniendo 5-tio-L-fucosa en lugar de L-fucosa (véase el esquema 3.7). El estudio de la actividad inhibitoria de estos análogos ha permitido establecer que el anti-Le<sup>X</sup> reconoce, estrictamente, la configuración  $\alpha$  de la unidad de

<sup>46</sup>I. Robina y P. Vogel *Curr. Org. Chem.*, **2002**, *6*, 471-491.

<sup>47</sup>C. Wong, T. Kracha, C. G. Narvor, Y. Ichikawa, G. C. Look, F. Gaeta, D. Thompson y K. Nicolaou *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *32*, 4867-4876.

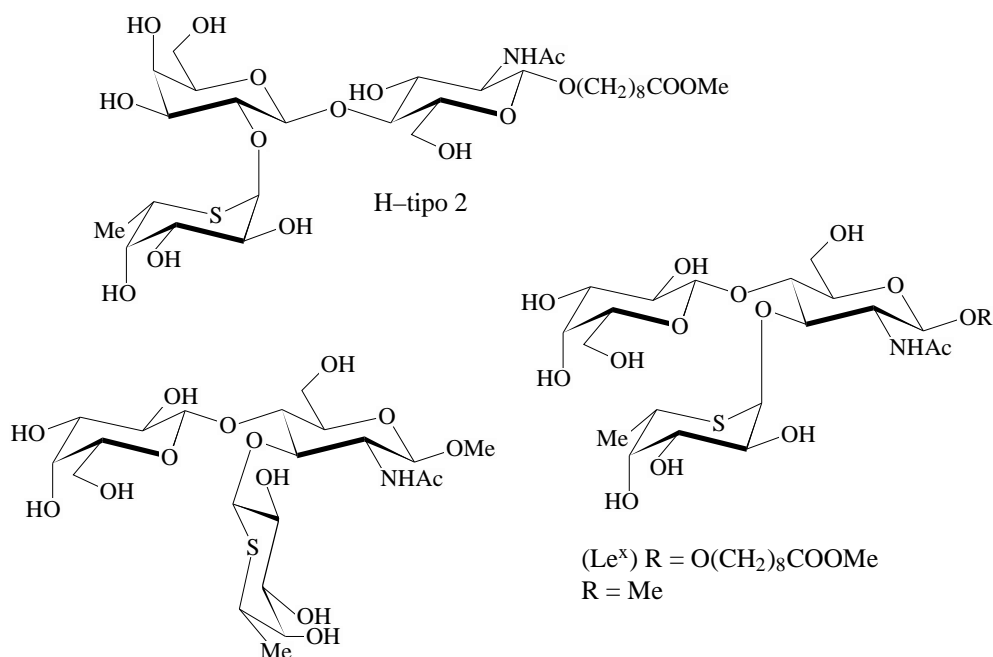
<sup>48</sup>H. Yuasa, O. Hindsgaul y M. M. Palcic *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 5891-5892.

<sup>49</sup>J. Isac-García, F. G. Calvo-Flores, F. Hernández-Mateo y F. Santoyo-González *Chem. Eur. J.*, **1999**, *5*, 1512-1525.

<sup>50</sup>M. Izumi, O. Tsuruta, H. Hashimoto y S. Yazawa *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 1809-1812.

<sup>51</sup>O. Tsuruta, H. Yuasa, H. Hashimoto, S. Kurono y S. Yazawa *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 1019-1022.





**Esquema 3.7:** Trisacáridos conteniendo 5-tio-L-fucosa en lugar de L-fucosa.

L-fucosa. El mismo grupo ha sintetizado varios análogos de trimanosa<sup>52,53</sup>.

En definitiva, una amplia panoplia de tioazúcares con el átomo de azufre en el anillo han sido preparados y estudiados ampliamente, y han demostrado tener importantes propiedades bioquímicas<sup>4,54</sup>.

### 3.2. Tioazúcares en la naturaleza

Como se ha indicado en la sección anterior, el primer ejemplo de tioazúcar identificado en la naturaleza, con azufre en el anillo, es el ácido 5-amino-5-desoxi-4-tio-L-glicero-L-ido-hepturónico que es la unidad de azúcar constituyente del antibiótico natural albomicina ( $\delta_1$ ,  $\delta_2$  y  $\epsilon$ ), aislada a partir de la bacteria *Streptomyces Spec. sp.* WS 116 (DSM1692)<sup>37</sup> (véase el esquema 3.8).

Una clase específica de tioazúcares lo constituyen el antibiótico natural tiolactomicina y sus derivados<sup>5,45</sup>. Estos compuestos contienen un azufre como heteroátomo, en una unidad lactona insaturada (véase el esquema 3.9). Fue aislado a partir de la *No-cardia sp.*<sup>55</sup> y posteriormente sintetizada, como una mezcla racémica primero<sup>56</sup> y como compuestos enantioméricamente puros más tarde<sup>57,58</sup>. El compuesto tiene propiedades

<sup>52</sup>H. Yuasa, S. Matsuura y H. Hashimoto *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, 8, 1297-1300.

<sup>53</sup>O. Tsuruta, H. Yuasa, S. Kurono y H. Hashimoto *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, 9, 807-810.

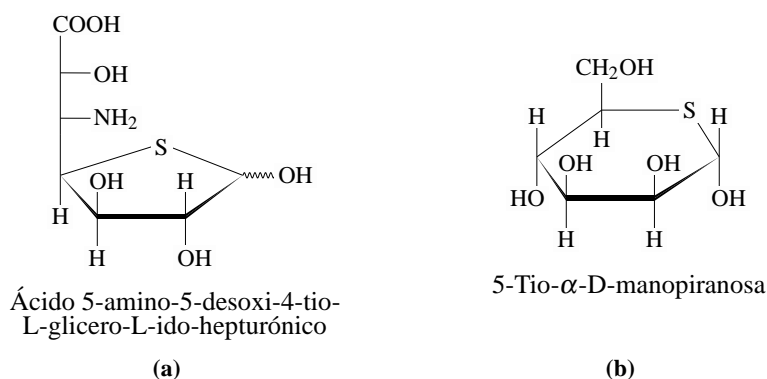
<sup>54</sup>Z. J. Witezak *Curr. Med. Chem.*, **1999**, 6, 165-178.

<sup>55</sup>H. Oishi, T. Noto, K. Suzuki, T. Hayashi, H. Okazaki, K. Ando y M. Sawada *J. Antibiotics.*, **1982**, 35, 391-395.

<sup>56</sup>M. S. Chambers y E. J. Thomas *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1989**, 23-24.

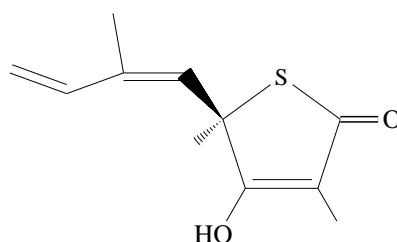
<sup>57</sup>L. Kremer, J. D. Douglas, A. R. Baulard, C. Morehouse, M. R. Guy, D. Alland, L. G. Dover, J. H. Lakey, W. R. Jacobs, Jr., P. J. Brennan, D. E. Minnikin y G. S. Besra *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 16857-16864.

<sup>58</sup>J. M. McFadden, G. L. Frehywot y C. A. Townsend *Org. Lett.*, **2002**, 4, 3859-3862.



**Esquema 3.8:** Los dos primeros tioazúcares naturales (con S en el anillo) hallados: a) es la unidad de azúcar constituyente de un nucleósido llamado albomicina ( $\delta_1$ ,  $\delta_2$  y  $\epsilon$ ), que es un antibiótico natural; b) primer tioazúcar natural extraído en su forma libre.

farmacéuticas únicas como agente antiparasitario y bacteriano. Específicamente, inhibe la enzima *fatty acid synthase* (FAS), una enzima esencial para la síntesis de ácidos grasos en las bacterias y algunos protozoos<sup>59</sup>. Es también un inhibidor selectivo de las enzimas bacterianas FabB, FabF y FabH, además de tener otras diversas propiedades farmacéuticas<sup>5</sup>.



**Esquema 3.9:** Esquema de la estructura química de la tiolactomicina.

Sin embargo, realmente, el primer tioazúcar natural aislado en su forma libre fue la 5-tio- $\alpha,\beta$ -D-manosa (véase el esquema 3.8), extraída como mezcla de anómeros en proporción 94:6 de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  del tioazúcar libre, a partir de la esponja marina *Clathria pyramida*<sup>60</sup>, representando el primer ejemplo de un 5-tioazúcar reductor en la naturaleza. Posteriormente fue también sintetizada<sup>61</sup>, por ser de interés su estudio, ya que su homóloga natural, D-manosa, está implicada en procesos bioquímicos que tienen lugar en el hígado, relacionados con glicoproteínas, y por el hecho de que la 5-tio-glucosa hubiese mostrado efecto inhibidor de algunas enzimas.

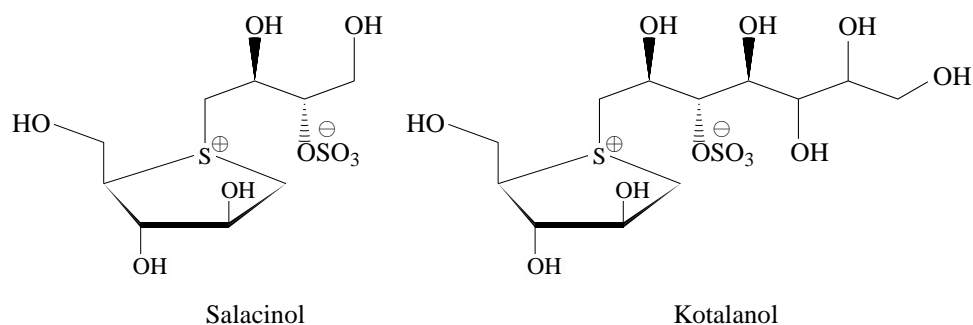
Otros dos tioazúcares naturales con importancia biológica son la S-adenosil-L-metionina, que ha sido detectada en extractos de levadura y cuyo isómero de configuración arabino fue aislado<sup>62</sup> a partir de la babosa de mar (*Doris verrucosa*), y la 2,6-didesoxi-4-

<sup>59</sup>R. A. Slayden, R. E. Lee, J. W. Armour, A. M. Cooper, I. M. Orme, P. J. Brennan y G. S. Besra *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1996**, *40*, 2813.

<sup>60</sup>R. J. Capon y J. K. MacLeod *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 1200-1201.

<sup>61</sup>H. Yuasa, Y. Izukawa y H. Hashimoto *J. Carbohydr. Chem.*, **1989**, *8*, 753-763.

<sup>62</sup>G. Cimino, A. Crispino, S. D. Stefano, M. Gavagnin y G. Sodano *Experientia*, **1986**, *42*, 1301-1302.



**Esquema 3.10:** Salacinol y kotalanol, dos potentes inhibidores naturales de  $\alpha$ -glucosidasas, aislados a partir de la hierba *Salacia reticulata* utilizada en la medicina tradicional india.

tio-D-ribo-hexopiranosas que está presente en la calicheamicina que es un potente agente antitumoral<sup>63</sup>.

Sólo dos clases más de tioazúcares se encuentran en la naturaleza<sup>5</sup>: los tioglicósidos y los 1,4-tioanhidroazúcares. Estos últimos son el salacinol<sup>64</sup> y el kotalanol<sup>65</sup> (véase el esquema 3.10), ambos potentes inhibidores de las  $\alpha$ -glucosidasas intestinales<sup>66</sup>. También se han hecho diversas síntesis de estos compuestos<sup>67-69</sup>, que son estructuras únicas que contienen un catión 1-desoxi-4-tio-D-arabinofuranosilsulfonio y un anión interno polihidroxialquil sulfato, cuyas estructuras han sido confirmadas por rayos X<sup>64,65</sup>.

En cuanto a los tioglicósidos, sí son realmente abundantes en la naturaleza, habiéndose aislado gran cantidad de ellos a partir de diferentes especies de plantas. Un ejemplo reciente son tres 1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosidos, extraídos<sup>70</sup> de las semillas de tres árboles de la especie *Afrostryax lepidophyllus*, que se utilizan en la medicina tradicional para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. El estudio y evaluación de estas propiedades antibióticas ha conducido a aislar y a elucidar, mediante espectroscopía y síntesis, a estos tres nuevos compuestos, denominados afrostraxtiósidos A, B y C (véase el esquema 3.11).

Un ejemplo clásico de antibióticos basados en tioglicósidos naturales son los derivados de la lincomicina (véase el esquema 3.12)<sup>5</sup>.

También, una clase particular de tioglicósidos naturales son los glucosinolatos, de los que se conocen 120 especies<sup>71,72</sup>. El ejemplo más representativo de esta clase de

<sup>63</sup>M. D. Lee, G. A. Ellestad y D. B. Borders *Acc. Chem. Res.*, **1991**, *24*, 235-243.

<sup>64</sup>M. Yoshikawa, T. Murakami, H. Shimada, H. Matsuda, J. Yamahara, G. Tanabe y O. Muraoka *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 8367-8370.

<sup>65</sup>M. Yoshikawa, T. Murakami, K. Yashiro y H. Matsuda *Chem. Pharm. Bull.*, **1998**, *46*, 1339-1340.

<sup>66</sup>El salacinol y el kotalanol, han sido aislados a partir de la *Salacia reticulata*, que es una hierba (llamada *Kotala himbutu* en singalés) que se cría en los bosques de Sri Lanka y la India, y que se utiliza ampliamente para el tratamiento de la diabetes en la medicina tradicional india, denominada Ayurvédica.

<sup>67</sup>H. Yuasa, J. Takada y H. Hashimoto *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 6615-6618.

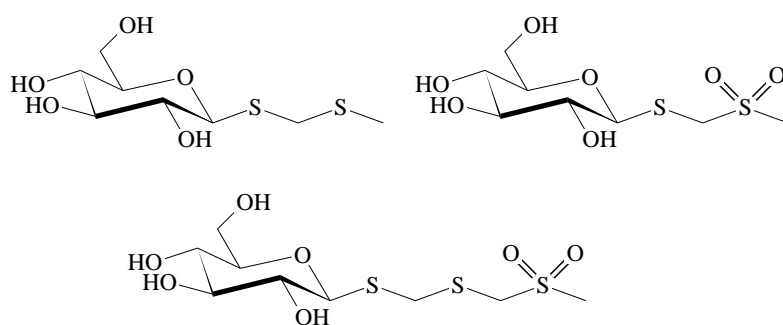
<sup>68</sup>H. Matsuda, T. Morikawa y M. Yoshikawa *Pure Appl. Chem.*, **2002**, *74*, 1301-1308.

<sup>69</sup>A. Ghavami, K. S. Sadalapure, B. D. Johnston, M. Lobera, B. B. Snider y B. Mario Pinto *Synlett*, **2003**, 1259-1262.

<sup>70</sup>A. N. Ngane, M. Lavault, D. Séraphin, A. Landreau y P. Richomme *Carbohydr. Res.*, **2006**, *341*, 2799-2802.

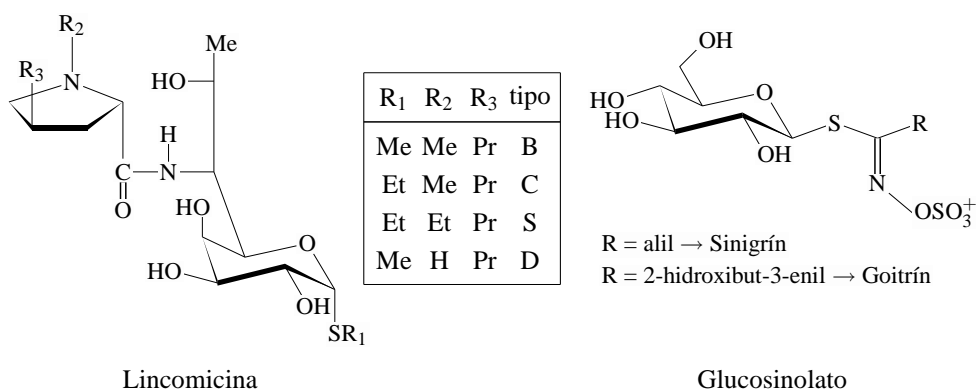
<sup>71</sup>J. W. Fahey, A. T. Zalcmann y P. Talalay *Phytochemistry*, **2001**, *56*, 5-51.

<sup>72</sup>B. A. Halkier y J. Gershenzon *Annu. Rev. Plant Biol.*, **2006**, *57*, 303-333.



**Esquema 3.11:** Afrostiraxtiósidos extraídos de las semillas del *Afrostryax lepidophyllus* Mildbr.

compuestos es el sinigrín, que se encuentra en las semillas de la mostaza negra (véase la figura 3.12). Estos glucosinolatos naturales son importantes metabolitos que generalmente se encuentran en plantas de la familia de las *Cruciferae* y son propensos a la degradación enzimática bajo la acción de las mirosinasas (tioglucosidasas)<sup>54,73</sup>. El grupo sulfato les aporta fuertes propiedades ácidas por lo que los glucosinolatos se presentan en la naturaleza como aniones neutralizados por un catión (normalmente de potasio). El efecto biológico más importante que tienen es el de aportar sabor picante a ciertos alimentos.



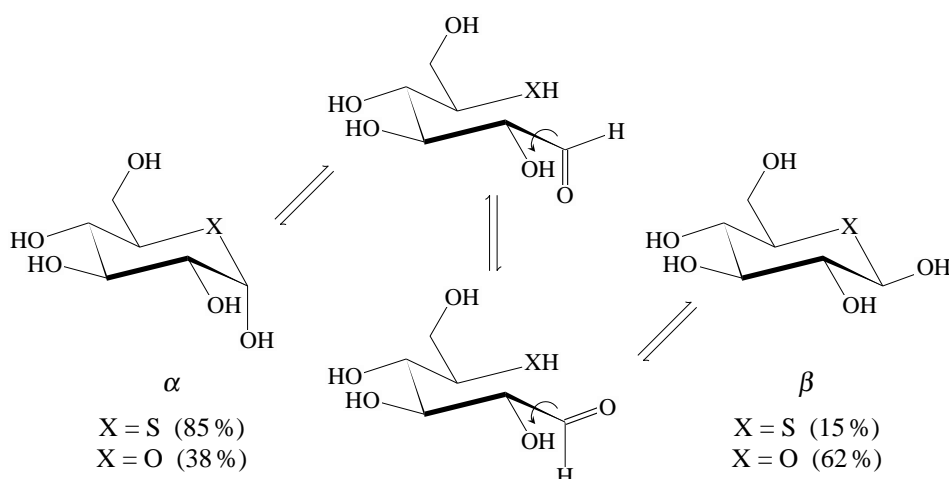
**Esquema 3.12:** Ejemplos de tioglicósidos naturales.

### 3.3. Propiedades de los tioazúcares: diferencias con sus homólogos naturales

#### 3.3.1. Diferencias estructurales

Las diferencias en las actividades biológicas entre los tioazúcares y sus análogos oxigenados dependen de las diferencias geométricas, conformacionales y de flexibilidad. También dependen de sus diferencias electrónicas, puesto que la función sulfuro es

<sup>73</sup>Las mirosinasas son enzimas capaces de hidrolizar tioglicósidos bajo condiciones extremadamente suaves.



**Esquema 3.13:** Mutarrotación de la 5-tio-D-glucosa comparada con la de la D-glucosa.

menos electronegativa y más polarizable que la función éter<sup>44</sup>.

Una de las diferencias que se producen al introducir un átomo de azufre en el anillo, y que está relacionada con el efecto anomérico<sup>74</sup>, es el aumento de la rotación óptica específica<sup>15</sup>, por lo que las diferencias estructurales más significativas entre los tioazúcares y sus homólogos naturales en piranosas es su relación  $\alpha/\beta$  en disolución.

Así por ejemplo, en agua, la 5-tioglucosa existe como un equilibrio 85 : 15 de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$ <sup>75</sup>, comparado con la D-glucosa que presenta un equilibrio 32:68 de los dos anómeros (y sólo un 0,15 % de  $\beta$ -furanosa y  $\sim$  0,002 % del aldehído abierto). La acetilación de la primera (con anhídrido acético en frío y piridina), persiste en una mezcla de 85:15, mientras que la segunda, bajo las mismas condiciones, genera sólo el peracetato de  $\alpha$ -D-glucopiranososa.

La 6-desoxi-5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa<sup>76</sup> mutarrotta más rápidamente que la homóloga natural en etanol diluido<sup>77</sup>. En contraste, la 4-tio-D-glucosa en agua prefiere la forma furanósica<sup>78</sup>.

De esta forma, las proteínas que reconocen la forma  $\alpha$  pueden por lo tanto enlazarse con tioazúcares.

El átomo de azufre afecta también al sabor del azúcar. En disolución acuosa, la 5-tio- $\alpha$ -D-glucosa tiene un sabor dulce, aunque no tanto como una cantidad equivalente de su homólogo natural<sup>15,79</sup>. En un intento para comprender este fenómeno se hicieron cálcu-

<sup>74</sup>Se llama efecto anomérico, a la tendencia del sustituyente del C1 (carbono anomérico) a situarse en disposición axial en preferencia a la ecuatorial. Se explica por la disminución de la repulsión dipolo-dipolo entre enlaces C-O en posición axial (J. T. Edward *Chem. Ind. (London)*, **1955**, 36, 1102-1104. C. B. Anderson y D. T. Sepp *Tetrahedron*, **1968**, 24, 1707-1716) y/o por la mayor estabilización hiperconjugativa de la densidad del par suelto de electrones del oxígeno del anillo de la piranososa, cuando se deslocaliza en un orbital axial vacío,  $\sigma_{CO}^*$  (C. Romers, C. Altona, H. R. Buys y E. Havinga en «Topics in Stereochemistry» E.L. Eliel y N. L. Allinger editores, Wiley: New York, **1969**, Vol. 4, 39).

<sup>75</sup>J. B. Lambert y S. M. Wharry *J. Org. Chem.*, **1981**, 46, 3193-3196.

<sup>76</sup>É. Bozó, S. Boros, J. Kuzmann y E. Gács-Baitz *Carbohydr. Res.*, **1996**, 290, 159-173.

<sup>77</sup>M. Suzuki y R. L. Whistler *Carbohydr. Res.*, **1972**, 22, 473-476.

<sup>78</sup>L. Vegh y E. Hardegger *Helv. Chim. Acta*, **1973**, 56, 2020-2025.

<sup>79</sup>Al probar el sabor de sus cristales en la punta de la lengua, inicialmente hay un efecto astringente,

los de mecánica cuántica que demostraron diferencias en la distribución de carga que podrían jugar un papel significativo en las interacciones entre el azúcar y el receptor<sup>80</sup>.

La deformación del anillo, causada por la introducción del átomo de azufre en el mismo, es también causa de diferencias estructurales importantes. Así, la estructura cristalina de la 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil-5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa indica que esta molécula tiene un anillo más deformado que la glucopiranososa, con ángulo de torsión medio, alrededor del anillo, de 58,2° comparado con los 56,8° de la glucopiranososa<sup>4</sup>, lo cual se ha confirmado también por análisis de RMN <sup>1</sup>H<sup>75</sup>. Esta deformación causa una nueva disposición de los grupos hidroxilos y puede resultar en una reducción en la afinidad por las proteínas. Además, la longitud de enlace C–S de 1,82 Å y el ángulo agudo C–S–C de 98,0° expulsa al átomo de azufre extraordinariamente fuera del plano del anillo, lo que podría interferir, con el enlace de los tioazúcares con las proteínas, por impedimento estérico.

También, comparado con los furanósidos naturales, la flexibilidad conformacional de los 4-tiohexofuranósidos está afectada por el mayor enlace C–S, el menor ángulo C–S–C y las diferencias entre los ángulos S–C–O y O–C–O debidas al efecto anomérico<sup>81</sup>.

Las diferencias electrónicas influyen también en los diferentes comportamientos. El átomo de azufre tiene una pequeña carga mientras que el oxígeno del anillo tiene una alta densidad de carga negativa<sup>82</sup>. De esta forma, como el sitio activo reconoce el oxígeno del anillo por medio de enlace de hidrógeno, el reemplazarlo por azufre podría dar lugar a una disminución de la fuerza de enlace, tal como sugiere el menor parámetro de basicidad de enlace de hidrógeno, ( $\beta^{H_2}$ ), de valor 0,29 para R<sub>2</sub>S, frente a los 0,45 de R<sub>2</sub>O<sup>4</sup>. Sin embargo, como la cara superior del anillo de piranososa interactúa con el sitio activo hidrofóbicamente, el tioazúcar puede ser un mejor ligando que su análogo oxigenado.

También se ha de tener en cuenta el efecto exoanomérico<sup>83</sup>. Para el medicamento antitrombosis, Naroparil<sup>®</sup>-[4-(4-cianobenzoil)fenil] 5-ditio- $\beta$ -D-xilopiranosido<sup>44</sup>, los datos de rayos X y RMN sugieren una falta de influencia estabilizante, debida al efecto exoanomérico, cuando está involucrada una secuencia C–S–C–S, dando así una mayor flexibilidad alrededor de la unión glicosídica exocíclica en la piranososa<sup>84</sup>.

---

como de alumbre, seguido de una sensación algo dulce.

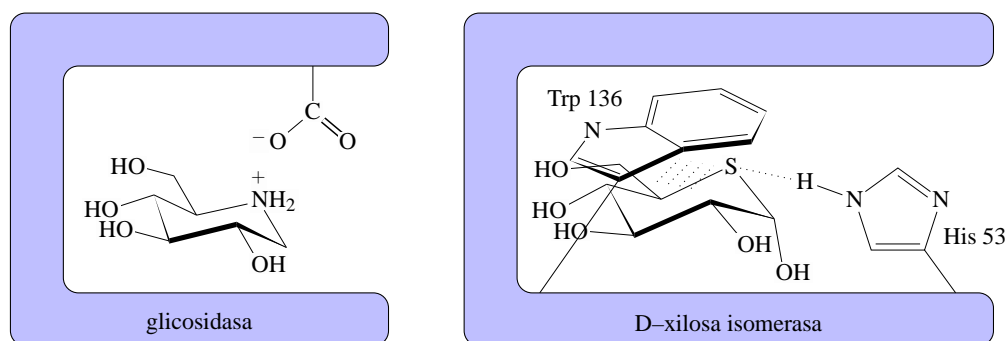
<sup>80</sup>R. J. Woods, V. H. Smith, Jr., W. A. Szarek y A. Farazdel *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 937-939.

<sup>81</sup>D. Cicero y O. Varela *Tetrahedron*, **1990**, *46*, 8019-8024.

<sup>82</sup>T. Kajimoto, K. K. Liu, R. L. Pederson, Z. Zhong, Y. Ichikawa, J. A. Porco Jr. y C. Wong *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 6187-6196.

<sup>83</sup>El efecto exoanomérico es un efecto estabilizante que ocurre cuando el par suelto de electrones del O1 exocíclico se deslocaliza en el orbital del enlace endocíclico  $\sigma_{C1-O5}^*$ . Está favorecido cuando el sustituyente del OR anomérico está en disposición gauche con respecto al oxígeno o al azufre del anillo (A. J. Kirby «The anomeric effect and related stereoelectronic effects at oxygen» Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, New York, **1983**).

<sup>84</sup>J. L. Questel, N. Mouhous-Riou y S. Pérez *Carbohydr. Res.*, **1996**, *284*, 35-49.



**Esquema 3.14:** Interacciones ligando-proteína.

### 3.3.1.1. Diferencias en el reconocimiento de las proteínas unidas a monosacáridos

La mayoría de las proteínas, incluyendo las enzimas, reconocen los homólogos naturales en preferencia a los tioazúcares. Son las hexoquinasas<sup>85-87</sup>, fosfotransferasas<sup>88</sup>, fosfoglucomutasa<sup>89</sup>, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa<sup>90</sup>, lactosa sintasa<sup>91</sup>,  $\beta$ -glucosidasa<sup>92</sup>, y proteínas que transportan hexosa<sup>93-96</sup>.

Sin embargo, algunas enzimas se enlazan fuertemente a los tioazúcares con preferencia a sus homólogos naturales. En el caso de hexoquinasa, fosforilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, probablemente están involucradas algunas interacciones favorables entre el átomo de azufre del anillo y las enzimas. Sin embargo, en otros casos donde la forma reductora del azúcar es un ligando, la composición  $\alpha/\beta$  es un factor importante. Así, por ejemplo, el mayor valor de  $K_m$  para la unión de la  $\alpha$ -D-glucosa con la D-xilosa isomerasa, comparado con el correspondiente para la 5-tio- $\alpha$ -D-glucosa, es debido a la baja concentración de  $\alpha$ -D-glucosa en disolución<sup>97</sup>. También se ha observado, en la estructura cristalina del complejo D-xilosa isomerasa-5-tioglucofuranosa, una posible interacción hidrofóbica entre Trp 136 y la cara superior del anillo del azúcar y un posible enlace de hidrógeno entre His 53 y el azufre del anillo (véase el esquema 3.14). De esta forma, la constante de disociación resulta ser del mismo orden de magnitud.

La fuerte interacción entre la  $\alpha$ -L-fucosidasa y la 5-tio- $\alpha$ ,  $\beta$ -L-fucosa, sin duda, es debido en parte a la alta concentración de  $\alpha$ -piranosa en disolución. Se ha establecido que el átomo de azufre del anillo está involucrado en interacciones hidrofóbicas y/o de van der Waals, y que el OH anomérico lo está en enlaces de hidrógeno.

<sup>85</sup>E. E. Machado de Domenech y A. Sols *FEBS Lett.*, **1980**, 119, 174-176.

<sup>86</sup>G. E. Racagni y E. E. Machado de Domenech *Mol. Biochem. Parasitol.*, **1983**, 9, 181-188.

<sup>87</sup>J. E. Wilson y V. Chung *Arch. Biochem. Biophys.*, **1989**, 269, 517-525.

<sup>88</sup>H. Hüdig y W. Hengstenberg *FEBS Lett.*, **1980**, 114, 103-106.

<sup>89</sup>M. Chen y R. L. Whistler *Arch. Biochem. Biophys.*, **1975**, 169, 392-396.

<sup>90</sup>H. R. Levy, M. Christoff, J. Ingulli y E. M. L. Ho *Arch. Biochem. Biophys.*, **1983**, 222, 473-488.

<sup>91</sup>A. A. Bushway y T. W. Keenan *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1978**, 81, 305-309.

<sup>92</sup>M. P. Dale, H. E. Ensley, K. Kern, K. A. R. Sastry y L. D. Byers *Biochemistry*, **1985**, 24, 3530-3539.

<sup>93</sup>R. L. Whistler y W. C. Lake *Biochem. J.*, **1972**, 130, 919-925.

<sup>94</sup>R. Eisenthal, S. Game y G. Holman *Biochim. Biophys. Acta*, **1989**, 985, 81-89.

<sup>95</sup>E. Tetaud, S. Chabas, C. Giroud, M. P. Barrett y T. Baltz *Biochem. J.*, **1996**, 317, 353-359.

<sup>96</sup>A. R. Walmsley, G. E. M. Martin y P. J. F. Henderson *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 17009-17019.

<sup>97</sup>A. Collyer, K. Henrick y D. M. Blow *J. Mol. Biol.*, **1990**, 212, 211-235.

### 3.3.1.2. Diferencia en el reconocimiento de oligosacáridos por las proteínas

Este caso es más difícil interpretar, ya que hay otros factores a tener en cuenta, además de los considerados para los monosacáridos. Uno de ellos es la conformación del oligosacárido, que se define por los ángulos de torsión  $\phi$  y  $\varphi$ . La conformación del disacárido 5'-tiokojibiósido en disolución se ha establecido por medidas de NOE y cálculos de mecánica molecular, concluyéndose que tiene una conformación similar al kojibiósido<sup>98</sup>. Lo mismo se puede decir para los disacáridos conteniendo 5-tioglucosa y sus homólogos naturales<sup>99</sup>. Y, aunque la búsqueda conformacional del primero indica que el ángulo  $\varphi$  es más flexible que el segundo, no hay evidencia de que el ángulo  $\phi$  de los tioazúcares difiera de los naturales, aunque puede verse influenciado por el efecto exoanomérico, debido a la presencia de un fragmento con azufre. Así, se puede asumir que los disacáridos conteniendo 5-tioazúcares tienen unas formas conformacionales similares a los disacáridos naturales.

Otro problema surge en aquellas proteínas que tienen varios subsitios activos. Así, por ejemplo, el metil  $\alpha$ -5'-tioisomaltósido se une principalmente al subsitio catalítico de la glucoamilasa del *Rhizopus niveus*, mientras que el isomaltósido se enlaza exclusivamente con el subsitio específico para carbohidratos de la misma enzima<sup>100</sup>. Estas observaciones indican que el 5-tioglucósido tiene una mayor afinidad por el subsitio catalítico que el glucósido.

Un ejemplo de la dificultad en interpretar las diferentes formas de enlace se encuentra en la unión entre la concanavalina A (ConA) y oligosacáridos que contienen 5-tiomanosa<sup>52</sup>. Todos los oligosacáridos que la contienen muestran una reducida afinidad hacia la ConA, en relación con sus análogos oxigenados. El estudio cristalográfico de rayos X del complejo ConA-trimanósido sugiere la formación de un enlace de hidrógeno entre el O del anillo de la manosa en unión 1,6 y el protón de la amida de la Leu99<sup>101</sup>. De esta forma, la disminución de 1 kcal/mol en la afinidad de los di- y trisacáridos conteniendo 5SMan con unión 1,6 se explica razonablemente por la pérdida de un enlace de hidrógeno. Sin embargo, las mayores pérdidas de afinidad de di- y trisacáridos conteniendo 5SMan con unión 1,3 son difíciles de interpretar. En estos casos, puede que los impedimentos estéricos entre un subsitio y el tioazúcar sean mucho mayores que en el caso de las enzimas unidas a monosacáridos, debido a que la unión del aglicón piranosico a otro sitio puede trabajar como una especie de anclaje que priva al tioazúcar de libertad, incluso asumiendo que las conformaciones de estos oligosacáridos fuesen las mismas que las de sus homólogos oxigenados.

El oligosacárido, conteniendo tioazúcar, más atractivo es el trisacárido tipo-H 2 con una unidad de 5-tio- $\alpha$ -L-fucosa, que se enlaza al anticuerpo monoclonal anti-H más fuertemente que su homólogo natural<sup>50</sup>. Este resultado sugiere que el anticuerpo se enlaza a la cara superior del anillo de fucosa por interacción hidrofóbica. En contraste, es

<sup>98</sup>S. Mehta, K. L. Jordan, T. Weimar, U. C. Kreis, R. J. Batchelor, F. W. B. Einstein y B. Mario Pinto *Tetrahedron: Asymmetry*, **1994**, 5, 2367-2396.

<sup>99</sup>M. Izumi, Y. Suhara y Y. Ichikawa *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 4811-4816.

<sup>100</sup>H. Hashimoto, M. Kawanishi y H. Yuasa *Chem. Eur. J.*, **1996**, 2, 556-560.

<sup>101</sup>J. H. Naismith y R. A. Field *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 972-976.



un ligando más débil de la lectina UEA-1, probablemente porque la lectina no contiene grupo aromático que reconozca la cara superior del anillo de fucosa. Ésta es la razón por la que los oligosacáridos conteniendo tioazúcares se pueden utilizar para probar la superficie hidrofóbica en los lugares de unión de proteínas con oligosacáridos.

### 3.3.2. Reactividad

#### 3.3.2.1. En el centro anomérico

La reactividad del centro anomérico está estrechamente relacionada con el efecto anomérico<sup>102</sup>. Todos los datos termodinámicos indican un mayor efecto anomérico en los tioazúcares, «por definición clásica», comparado con sus análogos oxigenados<sup>4</sup>. Sin embargo, el efecto anomérico en la estructura más generalizada R-S-C-X es contradictorio: los cálculos teóricos indican que las moléculas H-S-CH<sub>2</sub>-X muestran un efecto anomérico más débil que H-O-CH<sub>2</sub>-X debido a una menor interacción dipolo-dipolo<sup>103</sup> o menor solapamiento entre ( $n_S$ ) y ( $\sigma_{C-O}^*$ )<sup>104</sup>. En la práctica, no hay indicio del acortamiento del enlace C1-S5 en la estructura cristalina de rayos X de la per-O-acetil-5-tio- $\alpha$ -glucopiranososa<sup>4</sup>.

Esta aparente contradicción puede deberse en parte a la definición del efecto anomérico<sup>4</sup>. La definición clásica presume que la piranosa con un enlace glicosídico axial está estéricamente desfavorecida debido a las repulsiones 1,3-diaxial entre el enlace glicosídico y los átomos de hidrógeno  $\gamma$  axiales. Sin embargo, los enlaces C-S son bastante mayores que los C-C o C-O, por lo que las interacciones 1,3-diaxiales pueden ser despreciables y los tiopiranos con el enlace glicosídico axial pueden estar estéricamente menos impedidos. De esta forma, incluso con un menor efecto anomérico generalizado presente, los tioazúcares pueden parecer tener un mayor efecto anomérico según la definición clásica.

Con respecto a esto se han investigado, experimental y teóricamente, los factores que contribuyen a la mayor preferencia por el axial 2-metoxitiano, en comparación con el 2-metoxi-tetrahidropirano. La evaluación de las interacciones estéricas indicaron que el 2-metoxitiano axial esta estéricamente menos restringido que el correspondiente 2-metoxitetrahidropirano, como se ha indicado antes; pero esto no es el principal factor. Las interacciones electrostáticas que dictan la orientación axial del grupo metoxi son mayores en el 2-metoxitiano. Como consecuencia, el principal factor se atribuyó a la interacción orbital favorable entre el mayor par orbital del S y  $\sigma_{C-O}^*$ . La existencia de la interacción  $n_S - \sigma_{C-O}^*$  está soportada por estudios de la nucleofilia del azufre del anillo<sup>105</sup>, siendo el efecto bastante más fuerte que para  $n_O - \sigma_{C-O}^*$ <sup>106</sup>. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para confirmar la magnitud de esta interacción en tioazúcares.

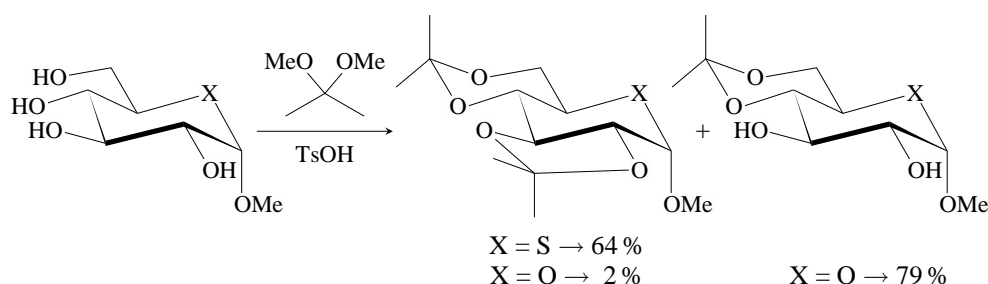
<sup>102</sup>J. Eusebio y C. Gabriel *Tetrahedron*, **1992**, *48*, 5019-5087.

<sup>103</sup>S. Vishveshwara y V. S. R. Rao *Carbohydr. Res.*, **1982**, *104*, 21-32.

<sup>104</sup>S. Wolfe, M. Whangbo y D. J. Mitchell *Carbohydr. Res.*, **1979**, *69*, 1-26.

<sup>105</sup>H. Yuasa, Y. Kamata y H. Hashimoto *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1997**, *36*, 868-870.

<sup>106</sup>M. J. Cook, T. J. Howe y A. Woodhouse *Tetrahedron Lett.*, **1988**, *29*, 471-474.



**Esquema 3.15:** Formación inusual de 1,2-transdioles del metil 5-tio-D-glucopiranosido.

### 3.3.2.2. Reacciones de rotura del enlace glicosídico

Aunque con alguna excepción, todos los resultados indican que la velocidad de hidrólisis enzimática glicosídica en tioazúcares es menor que la de sus homólogos oxigenados, siendo la barrera cinética, entre el estado fundamental y el estado de transición ión-oxocarbenio, la que determina la velocidad de reacción. Los iones intermedios de la reacción, oxocarbenio y tiocarbenio, tienen casi la misma estabilidad termodinámica y la mayor rapidez en la formación del oxocarbenio se debe a la menor barrera cinética ( $\Delta G_S^\ddagger > \Delta G_O^\ddagger$ )<sup>4</sup>.

### 3.3.2.3. Reacciones en posiciones diferentes del centro anomérico

El anillo de piranosa tiene una conformación más aplanada que la de la tiopiranosa. Esta diferencia estructural da lugar a una inusual acetilación de los 1,2-trans dioles en los tioazúcares, como se ve en el esquema 3.15, en el que el metil 5-tioglucopiranosido da lugar a la acetilación de la posición 1,2-trans diol<sup>107</sup> mientras que las mismas condiciones de reacción para el metil glucopiranosido sólo da una pequeña cantidad de 1,3-dioxolano 1,2-trans fusionado<sup>108</sup>. Esta inusual acetilación de los tioazúcares se explica por la formación de un anillo 1,3-dioxolano menos restringido, por su mayor ángulo de torsión, en comparación con el de las piranosas.

Por otra parte, el mayor par orbital del azufre (3p), comparado con el del oxígeno (2p), facilita su participación transanular en los iones  $\beta$ -carbenio<sup>109</sup>. Esta participación depende fuertemente de la distancia entre el azufre y el centro iónico. El anillo de tiopiranosa acomoda una distancia adecuada C-S mejorando las reacciones de desplazamiento en carbonos  $\beta$ . Así por ejemplo, el grado de participación transanular de la 5-tioglucopiranosa disminuye en el orden C1 > C4 > C2.

El azufre tiene una variedad de estados estables de oxidación en contraste con el único estado divalente (II) para el oxígeno en los compuestos orgánicos estables. Esta característica permite la modificación del azufre del anillo de los tiozúcares, facilitando la investigación de su nucleofilia, que está estrechamente relacionada con el efecto anomérico. Así por ejemplo, el azufre del anillo del metil 5-tio- $\alpha$ -glucopiranosido tiene una reducida nucleofilia comparado con el anómero  $\beta$ , debido a la interacción  $n_S - \sigma_{C-X}^*$ .

<sup>107</sup>N. A. L. Al-Masoudi y N. A. Hughes *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1987**, 1413-1420.

<sup>108</sup>M. E. Evans, F. W. Parrish y L. Long, Jr. *Carbohydr. Res.*, **1967**, 3, 453-462.

<sup>109</sup>S. Ikegami, T. Asai, K. Tsuneoka, S. Matsumura y S. Akaboshi *Tetrahedron*, **1974**, 30, 2087-2092.

### 3.4. Actividad bioquímica

En el caso de los 5-tioazúcares, la tioglucosa ha sido ampliamente estudiada por la gran variedad de propiedades biológicas que presenta: inhibe la liberación de la insulina<sup>110</sup> y el transporte de la glucosa, sensibiliza las células hipóxicas para la radiación<sup>111</sup>, provoca la inhibición reversible del desarrollo de células espermáticas en ratas sin producir graves toxicidades<sup>112</sup>, presenta citotoxicidad contra las células tumorales hipóxicas<sup>113</sup>, inhibición del crecimiento de las plantas<sup>114</sup> y acción bacteriostática<sup>29</sup>. Además es un importante sintón para la obtención de otros compuestos con actividad enzimática<sup>115</sup>.

La 5-tio- $\alpha$ -D-xilopiranosas, que es un medicamento antitrombótico oralmente activo<sup>116</sup>, posee una fuerte acción inhibitoria y muy específica hacia la  $\beta$ -D-xilosidasa y la xilobiasa<sup>29</sup>. También, a partir de este compuesto, se han obtenido glicosilaminas de interés biológico<sup>29</sup>. La hidrólisis de su metil derivado es de 10 a 20 veces más rápida que la de su homólogo natural, lo cual se imputa a la influencia del azufre del anillo, al estabilizar por resonancia el ión cíclico carbenio intermedio con mayor fuerza que el oxígeno.

De particular importancia es la 5-tio- $\alpha$ -L-fucosa, que tiene una específica y potente actividad inhibitoria de las  $\alpha$ -L-fucosidasas bovinas. Estudios que comparan su actividad con la de la 5-tio- $\alpha$ -D-arabinosa, demuestran que el grupo 6-metilo es crucial para el enlace con dicha proteína<sup>117</sup>. Otro estudio comparativo con la 5-tio- $\alpha$ -L-galactosa<sup>118</sup> también indica que la  $\alpha$ -L-fucosidasa reconoce el grupo metilo de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucosa y que la presencia del grupo hidroxilo en C6 impide el reconocimiento. Trisacáridos conteniendo una unidad de 5-tio- $\alpha$ , $\beta$ -L-fucosa, también han demostrado tener un poder inhibitorio superior a sus homólogos naturales, debido también a una interacción atractiva entre el átomo de azufre del anillo y la región hidrofóbica del sitio activo<sup>51</sup>.

Debido a su alta especificidad, se han estudiado derivados de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucosa para su uso como inhibidores de  $\alpha$ -L-fucosidasas<sup>119</sup>. Así, por ejemplo, el *p*-nitrofenil 1,5-ditio- $\alpha$ -L-fucopiranosido tiene un efecto inhibitorio de un orden de magnitud más fuerte que la 5-tio- $\alpha$ -L-fucosa, al ser un compuesto anfílico y resistente a las  $\alpha$ -L-fucosidasas, y por lo tanto adecuado para su uso como medicamento.

Por su parte, el nucleótido guanósín 5'-difosfo-5-tio- $\beta$ -L-fucosa, es un substrato útil en la síntesis enzimática de varios oligosacáridos de importancia<sup>120</sup>.

<sup>110</sup>B. Hellman, Åke Lernmark, J. Sehlin, I. Täljedal y R. L. Whistler *Biochem. Pharmacol.*, **1973**, 22, 29-35.

<sup>111</sup>R. L. Whistler y W. C. Lake *Biochem. J.*, **1972**, 130, 919-925.

<sup>112</sup>J. R. Zysk, A. A. Bushway, R. L. Whistler y W. W. Carlton *J. Reprod. Fertil.*, **1975**, 45, 69-72.

<sup>113</sup>J. H. Kim, S. H. Kim, E. W. Han y C. W. Song *Science*, **1978**, 200, 206-207.

<sup>114</sup>Y. Inamori, C. Muro, M. Toyoda, Y. Kato y H. Tsubijbo *Biosci. Biotech. Biochem.*, **1994**, 58, 1877-1878.

<sup>115</sup>N. A. Al-Masoudi, Y. A. Al-Soud y W. A. Al-Masoudi *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **2004**, 23, 1739-1749.

<sup>116</sup>F. Bellamy, V. Barberousse, N. Martin, P. Masson, J. Millet, S. Samreth, C. Sepulchre, J. Theveniaux y D. Horton *Eur. J. Med. Chem. Suppl., Proc. 13th Intern. Symp. Med. Chem.*, **1995**, 30, 101-105.

<sup>117</sup>M. Izumi, O. Tsuruta y H. Hashimoto *Carbohydr. Res.*, **1996**, 280, 287-302.

<sup>118</sup>H. Hironobu, K. Masashi y Y. Hideyoto *Carbohydr. Res.*, **1996**, 282, 207-221.

<sup>119</sup>O. Tsuruta, H. Yuasa y H. Hashimoto *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6, 1989-1992.

<sup>120</sup>T. Osamu, Y. Hideya, H. Hironobu, S. Keiko, O. Albin, L. Hong y M. M. Palcic *J. Org. Chem.*, **2003**,

Débiles inhibidores de glucosidasas son la desoxitionojirimicina (1-desoxi-5-tio-D-glucosa)<sup>121</sup> que inhibe las  $\alpha, \beta$ -glucosidasas y la desoxitiomanojirimicina (1-desoxi-5-tio-D-manosa) que lo es sólo de la forma  $\alpha$ .

El tio derivado del D-arabinitol<sup>122</sup> y la 2-acetamido-2-desoxi-5-tio- $\alpha$ -D-manopiranosina, también presentan interesantes actividades biológicas, al igual que otros iminoazúcares con azufre como heteroátomo del anillo<sup>123</sup>.

Por otra parte, los nucleósidos sintetizados a partir de tioazúcares, en los que el oxígeno del anillo de la unidad de furanosa se reemplaza por un átomo de azufre, presentan propiedades fisiológicas inusuales<sup>16,124-127</sup>. Así, los 4'-tionucleósidos tienen actividad antibiótica<sup>34,128</sup>, antiviral<sup>129-131</sup> y antineoplásica<sup>35,132,133</sup>. Por ejemplo, tanto los nucleósidos D- como L-2'-desoxi-4'-tiopirimidina, tienen propiedades antitumorales<sup>134,135</sup>. Los derivados sulfónicos también presentan notable actividad: la sal sulfónica bicíclica, cloruro de (1*R*,2*S*,4*S*,7*aR*)-1,2-dihidroxi-7-tia-3a-tioniaperhidropentaleno, alcaloide análogo a la pirrolizidina, es un inhibidor selectivo de las  $\alpha$ -manosidasas del hígado humano<sup>136</sup> y el sulfonio análogo a la castanospermina lo es de la  $\alpha$ -glucosidasa<sup>137</sup>.

El ácido N-acetilneuramínico (NeuAc) se encuentra en un gran número de oligosacáridos presentes en la superficie celular; tioanálogos de esta ulosa de 9 carbonos son potentes inhibidores de la sialidasa<sup>22</sup>. El anómero  $\beta$  de la 4'-tio-5-fluoridina posee una fuerte actividad antitumoral<sup>138</sup>.

Como ejemplo final de fármacos basados en tioazúcares son los anteriormente mencionados compuestos naturales: salacino<sup>64</sup> y kotalano<sup>65</sup>, ambos fuertes inhibidores de

---

68, 6400-6406.

<sup>121</sup>Y. Le Merrer, M. Fuzier, I. Dosbaa, M. J. Foglietti y J. C. Depezay *Tetrahedron*, **1997**, 53, 16731-16746.

<sup>122</sup>H. Yuasa, T. Kajimoto y C. Wong *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 8243-8246.

<sup>123</sup>H. Akira, T. Eiji, H. Yuichi y K. Makoto *Carbohydr. Res.*, **1983**, 122, 168-173.

<sup>124</sup>B. Jonas, K. Ingemar, S. S. C. T. C. Björn y S. Bertil *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4430-4432.

<sup>125</sup>B. Jonas, K. Ingemar, N. Gunilla, S. C. Svensson, C. Björn y S. Bertil *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 1783-1788.

<sup>126</sup>R. J. Young, S. Shaw-Ponter, J. B. Thomson, J. A. Miller, J. G. Cumming, A. W. Pugh y P. Rider *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5, 2599-2604.

<sup>127</sup>H. Ait-sir, N. Fahmi, G. Goethals, G. Ronco, B. Tber, P. Villa, D. F. Ewing y G. Mackenzie *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1996**, 1665-1671.

<sup>128</sup>Y. Yoshimura, K. Kitano, K. Yamada, S. Sakata, S. Miura, N. Ashida y H. Machida *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, 8, 1545-1558.

<sup>129</sup>M. R. Dyson, P. L. Coe y R. T. Walker *Carbohydr. Res.*, **1992**, 216, 237-248.

<sup>130</sup>N. A. V. Draanen, G. A. Freeman, S. A. Short, R. Harvey, R. Jansen, G. Szczech y G. W. Koszalka *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 538-542.

<sup>131</sup>S. G. Rahim, N. Trivedi, M. V. Bogunovic-Batchelor, G. W. Hardy, G. Mills, J. W. T. Selway, W. Snowden, E. Littler, P. L. Coe, I. Basnak, R. F. Whale y R. T. Walker *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 789-795.

<sup>132</sup>J. A. Secrist, K. N. Tiwari, J. M. Riordan y J. A. Montgomery *J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 2361-2366.

<sup>133</sup>L. Messini, K. N. Tiwari, J. A. Montgomery y J. A. Secrist III *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **1999**, 18, 683-685.

<sup>134</sup>L. S. Jeong, H. R. Moon, Y. J. Choi, M. W. Chun y H. O. Kim *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 4821-4825.

<sup>135</sup>J. Uenishi, K. Takahashi, M. Motoyama, H. Akashi y T. Sasaki *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **1994**, 13, 1347-1361.

<sup>136</sup>A. H. Siriwardena, A. Chiaroni, C. Riche, S. El-Daher, B. Winchester y D. S. Grierson *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 1531-1533.

<sup>137</sup>L. Svansson, B. D. Johnston, J. Gu, B. Patrick y B. Mario Pinto *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 10769-10775.

<sup>138</sup>M. A. Clement y S. H. Berger *Med. Chem. Res.*, **1992**, 2, 154-164.

$\alpha$ -glucosidasas. Estos productos imitan el estado de transición de las reacciones de rotura glicosídica de glucosidasas. Antes de su descubrimiento, se habían intentado diseñar compuestos de este tipo, teniendo en cuenta los siguientes puntos:

1. Anillos de 5 miembros que imitan la conformación de semisilla del estado de transición.
2. La gran longitud de enlace C–S y el acusado ángulo C–S–C, sitúan al azufre en la misma posición que el ión carbenio en el estado de transición.
3. La separación de carga del enlace S–N es similar al del enlace glicosídico escindido en el estado de transición.

Los iminiotioazúcares, así sintetizados, se probaron, para comprobar su actividad inhibitoria, frente a las  $\beta$ -glucosidasas de la almendra y a las  $\alpha$ -glucosidasas de la levadura de cerveza y sólo uno de ellos es un débil inhibidor de la  $\beta$ -glucosidasa ( $K_i = 1,7$  mM).

También se ha intentado la síntesis de derivados de metil sulfonio pero el intento fue fallido, tal vez porque la sal sulfonio es muy lábil<sup>4</sup>. Sin embargo, ingeniosamente, la naturaleza estabiliza el ión sulfonio al atarlo al anión sulfato contrario.

### 3.5. Antecedentes teóricos

Sorprende la escasez de trabajos teóricos sobre tioazúcares, aunque sí existen algunos estudios de análisis conformacional utilizando RMN<sup>75,139</sup>, y unos pocos que incluyen algún cálculo de tipo teórico, que se mencionan a continuación.

El primer artículo completamente teórico fue publicado en 1987<sup>80</sup>, en el que se hacen cálculos *ab initio* de la 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa y de la 6-tio- $\beta$ -D-fructopiranososa, comparándolos con los obtenidos para sus homólogos naturales, con el fin de poder explicar las diferencias en el sabor dulce de los tioanálogos<sup>140</sup>. Las estructuras de partida la toman de los datos cristalográficos de la 6-tio- $\beta$ -D-fructopiranososa y del pentaacetato de la 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa (sustituyendo en este caso los grupos acetato por hidroxilos orientados según los datos cristalográficos de la  $\alpha$ -D-glucopiranososa).

El análisis de la distribución de cargas indica que el átomo de S en ambos compuestos tiene carga parcial positiva, mientras que el C no anomérico unido al azufre presenta carga negativa. Esta última acumulación de cargas tiene efecto en el dulzor del tioazúcar, puesto que se piensa que este C adyacente al azufre es el componente hidrofóbico de la unidad del sabor<sup>141</sup>. Por otro lado, el C anomérico aparece con cargas significativamente menos positivas que en los análogos con oxígeno en el anillo. Es decir, la introducción del azufre en el anillo da lugar a una completa inversión de la distribución de cargas alrededor del heteroátomo del anillo.

Un segundo trabajo<sup>98</sup>, incluye cálculos de mecánica molecular y búsqueda conformacional, así como mapas de contorno de los ángulos glicosídicos y cálculos teóricos de valores NOE. Los compuestos estudiados son los disacáridos metil 5'-tiokojibiósido y alil 5'-tiokojibiósido. La conclusión que se obtiene es que la inclusión del azufre en el

<sup>139</sup>J. B. Lambert, R. G. Keske y D. K. Weary *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 5921-5924.

<sup>140</sup>M. G. Lindley, R. S. Shallenberger y R. L. Whistler *J. Food. Sci.*, **1976**, *41*, 575-577.

<sup>141</sup>R. S. Shallenberger y M. G. Lindley *Food. Chem.*, **1977**, *2*, 145-153.

anillo de uno de los monosacáridos no da lugar a cambios apreciables en la conformación del anillo ni en la distribución de las rotaciones de los ángulos glicosídicos.

Un artículo parecido al anterior<sup>84</sup> utiliza métodos combinados de rayos X, modelización molecular (búsqueda conformacional y mecánica molecular) y estudios de RMN para caracterizar el medicamento naroparil ([4-(4-cianobenzoil) fenil] 1,5-ditio- $\alpha$ -D-xilopiranosido). El estudio incluye mapas de contorno para el estudio del enlace glicosídico. Los autores extraen dos principales conclusiones: *i*) para que exista acuerdo entre los datos teóricos y los experimentales es necesario tener en cuenta las poblaciones de los diferentes conformeros de más baja energía y *ii*) hay una falta de influencia estabilizante procedente del efecto exoanomérico cuando en el enlace glicosídico está involucrado una secuencia C-S-C-S-C.

Recientemente, ha aparecido un trabajo<sup>142</sup> que incluye el estudio del acoplamiento (*docking*) de la 5-tio-D-glucopiranosilamina y del bromuro de 5-tio-D-glucopiranosilamidinio en el sitio activo de la enzima glucoamilasa G2. Los estudios de modelización indican que los mencionados compuestos adoptan una conformación B<sub>1,4</sub> y <sup>2</sup>H<sub>3</sub> (formas similares al del estado de transición), respectivamente, para enlazarse con el sitio activo de la proteína. Estas conformaciones son formas tensionadas del anillo que se estabilizan por la formación de varios enlaces de hidrógeno e interacciones electrostáticas entre el átomo de nitrógeno protonado y un grupo carboxilato de un residuo tiroxina de la enzima.

## 3.6. Análisis conformacional del anillo de piranosa

Los hidratos de carbono son compuestos multifuncionales con muchos grupos OH que pueden interactuar con el sitio activo de las proteínas. Pero, además, una simple piranosa puede tener 38 formas diferentes del anillo, lo que influye notablemente en su reactividad. Por lo tanto, la caracterización de la conformación del anillo y su tratamiento matemático informatizado ha sido, desde hace tiempo, objeto de estudio. En esta sección se hace una breve revisión sobre esta materia.

### 3.6.1. Caracterización de las formas del anillo

#### 3.6.1.1. Introducción teórica

En 1941 se encontró que el anillo de ciclopentano<sup>143,144</sup> y del tetrahidrofurano<sup>145</sup> presentaban una conformación no plana, debido a las tensiones generadas por la geometría tetraédrica del carbono sp<sup>3</sup>. En el caso del anillo de 6 miembros, estas tensiones dan lugar a 38 posibles formas del anillo, que se representan en la figura 3.1.

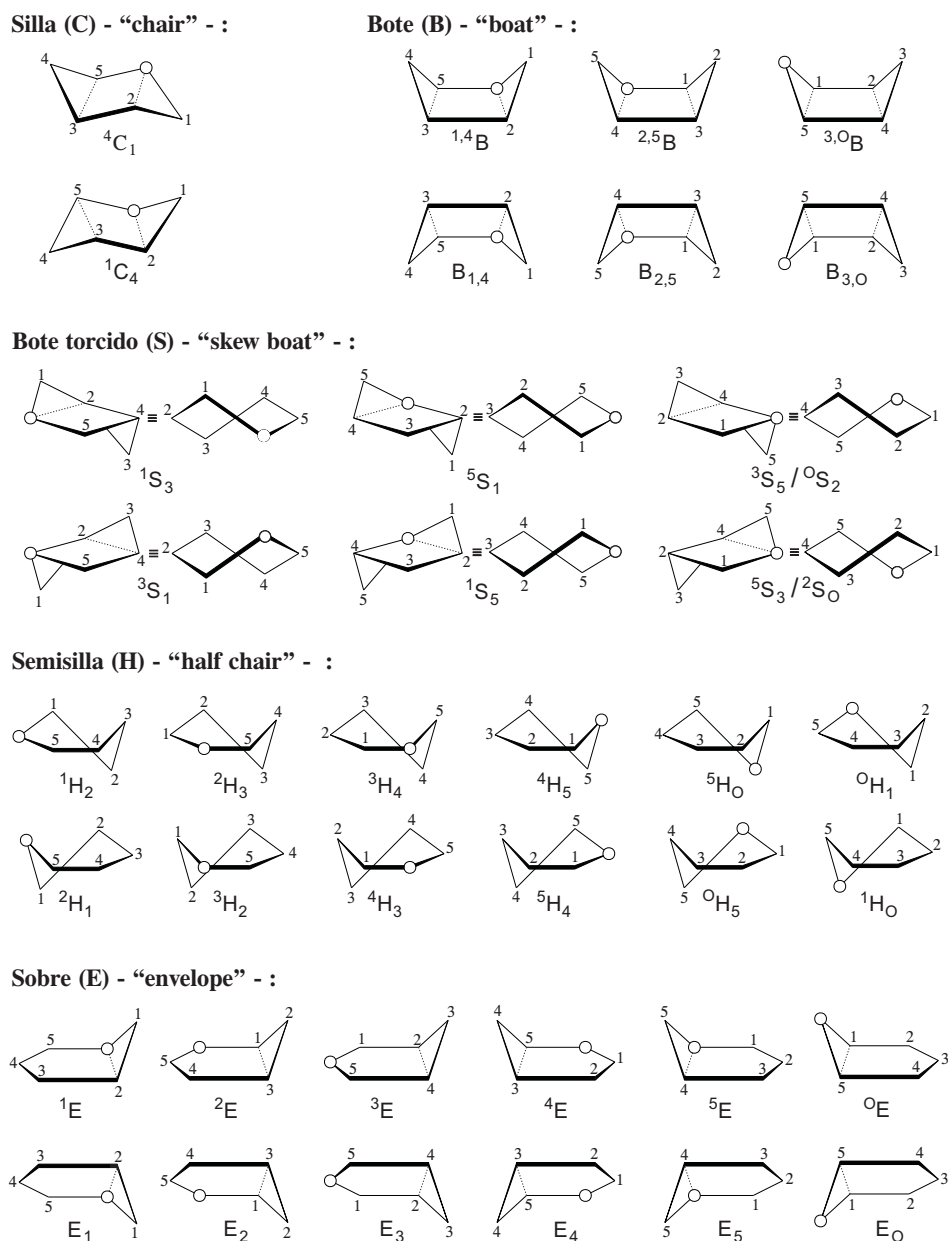
Las diferentes formas representadas son formas ideales, que corresponden a un anillo con todas sus distancias interatómicas iguales y sin alteraciones debido a ramificaciones.

<sup>142</sup>L. M. Kavlekar, D. A. Kuntz, X. Wen, B. D. Jonshton, B. Svensson, D. R. Rose y B. Mario Pinto *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 1035-1046.

<sup>143</sup>J. G. Aston, S. C. Schumann, H. L. Fink y P. M. Doty *J. Am. Chem. Soc.*, **1941**, *63*, 2029-2030.

<sup>144</sup>J. G. Aston, H. L. Fink y S. C. Schumann *J. Am. Chem. Soc.*, **1943**, *65*, 341-346.

<sup>145</sup>J. Y. Beach *J. Chem. Phys.*, **1941**, *9*, 54-55.



**Figura 3.1:** Las 38 formas básicas (canónicas) del anillo de piranosa.

Sin embargo, la introducción de un heteroátomo en el anillo conlleva alteraciones en las distancias de enlace, dando lugar a conformaciones que se alejan de las formas canónicas.

A veces es difícil decidir qué tipo de conformación presenta un determinado anillo y desde hace bastante tiempo se ha investigado la forma de encontrar una rutina que permitiera encontrar, a partir de las coordenadas cartesianas, un número de parámetros suficientes para describir una determinada forma de anillo.

Un primer modelo se desarrolló en 1947<sup>146</sup>, en la que se establece que el desplazamiento de la coordenada  $z$  para cada átomo del anillo del ciclopentano, con respecto al

<sup>146</sup>J. E. Kilpatrick, K. S. Pitzer y R. Spitzer *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, *69*, 2483-2488.

plano formado por el anillo sin deformar, se puede expresar como:

$$z_j = \sqrt{\frac{2}{5}} q \cos 2 \left( \frac{2\pi}{5} j + \varphi \right) \quad (3.1)$$

siendo  $q$  la amplitud de la deformación y  $\varphi$  el ángulo de fase de la amplitud máxima, tomando  $j$  los valores enteros del 1 al 5. Sin embargo, la limitación fundamental de la ecuación es que sólo puede aplicarse a anillos con longitudes y ángulos de enlaces iguales.

Posteriores trabajos han ido refinando este modelo, imponiendo la condición de mantener las longitudes de enlace constantes<sup>147,148</sup>, e incluso considerando heteroátomos<sup>149</sup>. Y, aunque el modelo es correcto, la aplicación a anillos de cinco miembros con las longitudes y ángulos de enlace diferentes no es sencilla: dadas las coordenadas cartesianas de los cinco átomos, la determinación de los desplazamientos  $z$ , requiere la especificación del plano  $z = 0$ . Una posibilidad sería la minimización de  $\sigma z^2$  por el método de los mínimos cuadrados, pero los cinco desplazamientos relativos a este plano, generalmente, no se pueden expresar en términos de los dos parámetros  $q$  y  $\varphi$  de la ecuación 3.1.

Una importante contribución a la sistematización del análisis conformacional de las moléculas cíclicas de pequeño y medio tamaño se debe a Hendrickson<sup>150-153</sup>, quien estableció una nomenclatura propia para los anillos. Consideró únicamente las formas simétricas, las cuales las dividió en dos tipos: aquellos anillos con un plano de simetría  $C_s$  y aquellos con un eje de simetría  $C_2$ . En los anillos impares, el eje o el plano de simetría debe pasar por un átomo y bisectar el enlace opuesto (tipo A), y en los anillos pares deberá pasar por dos átomos enfrentados o bisectar, perpendicularmente, dos enlaces opuestos (tipo B).

En esta notación, el eje o el plano de simetría, se representan por una línea horizontal. Encima o debajo de dicha línea, se sitúan los signos  $+$  o  $-$ , que representan la secuencia de ángulos diedros de los enlaces del anillo (si el ángulo diedro es 0, se usará este símbolo como tal). Cuando un enlace está bisectado por un plano o eje, su signo aparecerá al final de la línea de simetría y no encima o debajo de ella (véase la figura 3.2).

Cualquier anillo simétrico se puede describir con este sistema, que establece además las siguientes reglas:

- 1) Los enlaces enfrentados por un elemento de simetría tienen los ángulos diedros iguales en magnitud y del mismo signo, si es por un eje, o de distinto signo, si lo es por un plano.
- 2) La representación del anillo es equivalente al anillo físico y se puede voltear sin cambiar su identidad.

<sup>147</sup>K. Pitzer y W. E. Donath *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 3213-3218.

<sup>148</sup>W. J. Adams, H. J. Geise y L. S. Bartell *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 5013-5019.

<sup>149</sup>H. J. Geise, W. J. Adams y L. S. Bartell *Tetrahedron*, **1969**, 25, 3045-3052.

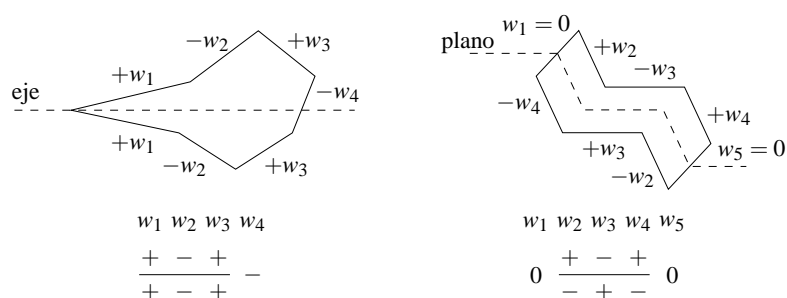
<sup>150</sup>J. B. Hendrickson *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 4537-4547.

<sup>151</sup>J. B. Hendrickson *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 79, 4059.

<sup>152</sup>J. B. Hendrickson *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, 86, 4854-4866.

<sup>153</sup>J. B. Hendrickson *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 7047-7061.





**Figura 3.2:** Notación de Hendrickson para indicar la deformación del anillo. Ejemplos para anillos de 7 y 8 átomos, con eje y plano de simetría, respectivamente.

3) Cuando un elemento de simetría bisecta un enlace, el signo de su ángulo diedro aparecerá al final de la línea de simetría; si el elemento de simetría es un plano el diedro será 0.

4) La imagen especular de un anillo se genera invirtiendo todos los signos; así, se puede observar que un anillo con un plano de simetría es idéntico con su enantiómero, mientras que con eje no lo es.

5) Los símbolos con tres o más signos seguidos del mismo signo, o bien son anillos irreales o muy tensionados, que se considerarán, sólo ocasionalmente, como formas de transición.

6) Se puede eliminar la línea de simetría, indicando el eje con una A o el plano con una P, para indicar el elemento de simetría, ya que se pueden deducir los signos debajo de la línea, a partir de los de encima, siguiendo la regla 1. Los signos sobre las líneas, se colocarán entre parentesis, para distinguirlos de los signos al final de la línea que representan los enlaces bisectados por el elemento de simetría. Ejemplos: A (+ - +) - y P0(+ - +)0.

Con este sistema, los anillos quedan caracterizados por sus ángulos diedros y por sus elementos de simetría y con este método es fácil generar todas las posibles formas de un anillo y seguir los cambios en los ángulos diedros en cualquier modo de interconversión entre conformaciones.

Un intento para definir un conjunto generalizado de coordenadas de la deformación (coordenadas *puckering*, de aquí en adelante) fue dada por Geise, Altona, Romers y Sundaralingam<sup>154-156</sup>, los cuales intentan correlacionar los estudios conformacionales de Hendrickson sobre el ciclopentano, utilizando los ángulos de torsión,  $\omega_j$ , en lugar de los desplazamientos perpendiculares al plano, con la ecuación 3.2<sup>156</sup>:

$$\omega_j = \omega_m \cos(P + 4\pi(j-1)/5) \quad ; \quad j = 1, 2, \dots, 5 \quad (3.2)$$

<sup>154</sup>H. J. Geise, C. Altona y C. Romers *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 15, 1383-1386.

<sup>155</sup>C. Altona, H. J. Geise y C. Romers *Tetrahedron*, **1972**, 24, 13-32.

<sup>156</sup>C. Altona y M. Sundaralingam *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 8205-8212.

donde  $\omega_m$  es la amplitud de la deformación y  $P$  el ángulo de fase, que se obtiene por:

$$\tan P = \frac{\omega_3 + \omega_5 - \omega_2 - \omega_4}{2\omega_1 (\sin \frac{1}{5}\pi + \sin \frac{2}{5}\pi)} \quad (3.3)$$

El método tiene ciertas desventajas, ya que la ecuación 3.2 es sólo aproximada y dependerá algo del átomo que se escoja como número 1.

Se han publicado otros estudios posteriores sobre conformaciones de anillo, pero utilizan ecuaciones aproximadas y centradas en un tamaño determinado del anillo<sup>157-160</sup>. Por ejemplo, Dunitz<sup>159</sup> indicó que para desplazamientos infinitesimales de un pentágono hay una relación lineal directa entre los ángulos de torsión y los desplazamientos, por lo que las amplitudes y fases de la ecuación 3.2 se pueden relacionar rigurosamente con la ecuación 3.1, aunque, si los desplazamientos son mayores, las desviaciones de esta relación lineal son grandes.

Pickett y Strauss<sup>161</sup>, utilizaron la teoría de grupos para describir los anillos, en función de los desplazamientos en la coordenada  $z$  con respecto al anillo plano. Establecieron que la simetría de estos desplazamientos y de las conformaciones resultantes se pueden especificar completamente en términos de las propiedades del grupo de simetría del anillo plano,  $D_{Nh}$ . El conjunto de los  $N$  desplazamientos se pueden utilizar como base para una representación irreducible, al igual que se hace en el análisis vibracional, quedando:

$$\Gamma_{(\text{anillo par})} = B_{2(g,u)} + E_{2u} + \dots + E_{(N/2-1)(g,u)} \quad (3.4)$$

$$\Gamma_{(\text{anillo impar})} = E''_{2u} + \dots + E''_{(N-1)/2} \quad (3.5)$$

donde los símbolos  $g$  y  $u$  se deben tomar como  $g$  para  $N/2$  impar y como  $u$  para  $N/2$  par. Los términos de traslación de la molécula en la dirección  $z$ ,  $T_z$ , que pertenece a  $A_{2u}$  y las rotaciones  $R_x$  y  $R_y$  que pertenecen a  $E_{1g}$  no se consideran significativas y, por lo tanto, se desprecian.

A partir de aquí, las coordenadas adaptadas a la simetría se pueden escribir, fácilmente, en términos de las coordenadas de los desplazamientos respecto al anillo plano, para cada átomo,  $z_j$ . Si  $Q$  son las coordenadas adaptadas a la simetría, perteneciente a la representación  $B_{2(g,u)}$  para un anillo par, se tiene:

$$z_j = (-1)^j Q \quad , \quad j = 1, 2, \dots, N \quad (3.6)$$

La vibración  $E_m$ , tanto para anillos pares como impares, producirá los desplazamientos:

$$z_j = \rho_m \cos(2\pi jm/N + \phi_m) \quad (3.7)$$

<sup>157</sup>S. Lifson y A. Warshel *J. Chem. Phys.*, **1968**, *49*, 5116-5129.

<sup>158</sup>H. R. Buys y H. J. Geise *Tetrahedron Lett.*, **1968**, *54*, 5619-5624.

<sup>159</sup>J. D. Dunitz *Tetrahedron*, **1972**, *28*, 5459-5467.

<sup>160</sup>J. D. Dunitz y J. Waser *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 5645-5650.

<sup>161</sup>H. M. Pickett y H. L. Strauss *J. Chem. Phys.*, **1971**, *55*, 324-334.

siendo,

$$j = 1, 2, \dots, N \quad ; \quad m = 2, 3, \dots, (N/2) - 1 \quad (\text{para } N \text{ par});$$

ó

$$m = 2, 3, \dots, (N/2) - 1 \quad (\text{para } N \text{ impar});$$

El problema fundamental de este método es que no hay una rutina para encontrar el plano principal para anillos con longitudes de enlace y ángulos de enlace diferentes, por lo que no se puede utilizar para la mayoría de moléculas reales.

El primer método general para la definición de las coordenadas *puckering* de un anillo de cualquier tamaño, forma y longitudes de enlace, es el algoritmo de Cremer y Pople<sup>162</sup> (CP), ampliamente utilizado. Se puede aplicar, sin aproximaciones, conociendo únicamente las coordenadas atómicas de los átomos del anillo y especifica inequívocamente el plano principal del anillo, midiendo la no planaridad del mismo por medio de los desplazamientos atómicos con respecto a dicho plano principal. El método da una descripción única de la conformación, quedando ésta definida por  $N - 3$  parámetros *puckering*, a partir de las  $3N$  coordenadas cartesianas. Las amplitudes de la deformación no dependen de la numeración atómica y las desviaciones de los átomos desde el plano principal se pueden recuperar a partir de dichos parámetros.

La formulación es la siguiente:

- 1) En primer lugar las coordenadas atómicas se desplazan convenientemente, de forma que el origen de las coordenadas sea el centro geométrico del anillo, haciendo que satisfagan la ecuación:

$$\sum_{j=1}^N R_j = 0 \quad (3.8)$$

siendo  $R_j$  el vector correspondiente al átomo  $j$ . De esta ecuación se deduce:

$$\sum_{j=1}^N z_j = 0 \quad (3.9)$$

- 2) Imponiendo las condiciones adicionales:

$$\sum_{j=1}^N z_j \cos[2\pi(j-1)/N] = 0 \quad (3.10)$$

$$\sum_{j=1}^N z_j \sin[2\pi(j-1)/N] = 0 \quad (3.11)$$

el plano principal queda inequívocamente fijado y no depende de las numeraciones atómicas y las nuevas coordenadas  $z$  se corresponderán con los desplazamientos con respecto a dicho plano principal.

- 3) A partir de aquí, los  $N-3$  parámetros *puckering* del anillo (amplitudes  $q_m$  y ángulos

<sup>162</sup>D. Cremer y J. A. Pople *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 1354-1358.

de fase  $\phi_m$ ), se calculan por medio de las ecuaciones siguientes:

$$q_m \cos \phi_m = \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{j=1}^N z_j \cos[2\pi m(j-1)/N] \quad (3.12)$$

$$q_m \sin \phi_m = -\sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{j=1}^N z_j \sin[2\pi m(j-1)/N] \quad (3.13)$$

siendo  $q_m \geq 0$ ,  $0 \leq \phi_m$  y  $m = 2, \dots, N/2 - 1$  para  $N$  par ó  $m = 2, \dots, (N-1)/2$  para  $N$  impar.

Para  $N$  par existe un parámetro adicional,  $q_{N/2}$  calculado por:

$$q_{N/2} = \sqrt{\frac{1}{N}} \sum_{j=1}^N \sin(z_j/2) \cos[\pi(j-1)] \quad (3.14)$$

Se puede demostrar<sup>163</sup> que existe una correspondencia uno a uno de estos parámetros, con respecto a las  $N-3$  coordenadas adaptadas a la simetría de Picket y Strauss que se han visto antes.

- 4) Todas las coordenadas  $z$  se pueden extraer exactamente, a partir de los parámetros *puckering*, por medio de las ecuaciones 3.15 y 3.16:

$$N \text{ impar:} \quad z_j = \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{m=2}^{(N-1)/2} q_m \cos[\phi_m + 2\pi m(j-1)/N] \quad (3.15)$$

$$N \text{ par:} \quad z_j = \sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{m=2}^{N/2-1} q_m \cos[\phi_m + 2\pi m(j-1)/N] + \sqrt{\frac{1}{N}} q_{N/2} (-1)^{j-1} \quad (3.16)$$

- 5) La amplitud total de la deformación,  $Q$ , se deduce de la normalización de coeficientes de las ecuaciones 3.12 a 3.14, que da lugar a la relación:

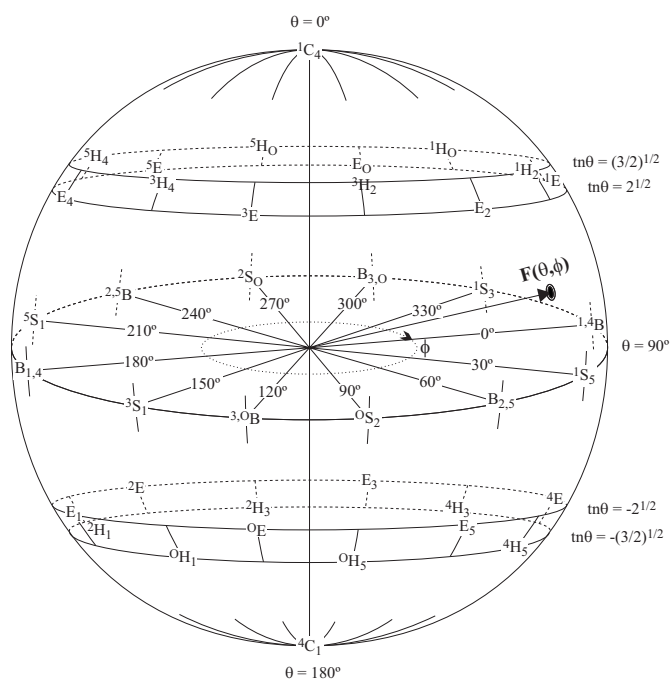
$$\sum_{j=1}^N z_j^2 = \sum_m q_m^2 = Q^2 \quad (3.17)$$

En el caso particular de anillos de 6 miembros ( $N = 6$ ) hay tres grados de libertad que están descritos por un par de parámetros de amplitud y fase ( $q_2, \phi_2$ ) y una coordenada *puckering*  $q_3$ . De forma alternativa, estas coordenadas se pueden reemplazar por un conjunto de coordenadas polares esféricas:  $Q$ ,  $\theta$  y  $\phi$ , donde  $Q$  es la amplitud total de la deformación de la ecuación 3.17,  $\phi$  es  $\phi_2$  (ángulo de fase,  $0 \leq \phi \leq 2\pi$ ) y  $\theta$  es un ángulo ( $0 \leq \theta \leq \pi$ ) tal que:

$$q_2 = Q \sin \theta \quad (3.18)$$

$$q_3 = Q \cos \theta \quad (3.19)$$

<sup>163</sup>J. C. A. Boeyens y D. G. Evans *Acta Cryst.*, **1989**, *B45*, 577-581.



**Figura 3.3:** Las 38 formas básicas del anillo de piranosa, representadas sobre la superficie de una esfera, generada por las coordenadas polares esféricas del método CP.

De este modo este conjunto de coordenadas permite una representación esquemática de las 38 formas canónicas del anillo de piranosa sobre la superficie de una esfera de radio  $Q$  (véase la figura 3.3). Los polos ( $\theta = 0$  o  $\theta = 180^\circ$ ) corresponderán a las conformaciones de silla; en el ecuador, para valores discretos del ángulo de fase  $\phi$ , se alternan 6 formas de bote y 6 formas de bote torcido que pueden interconvertirse por un camino pseudorotacional. Las formas intermedias de sobre y semisilla se localizan entre los polos y el ecuador, según se puede observar en la figura.

El algoritmo CP es el más comúnmente utilizado, aunque se han descrito algunos problemas<sup>164–166</sup>: en anillos con diferencias significativas en las distancias y ángulos de enlace endocíclicos, conduce a conclusiones que no son consistentes con otros criterios comúnmente aceptados en la estereoquímica.

Por otra parte, la reconstrucción de las coordenadas atómicas a partir de las coordenadas *puckering* CP es una tarea complicada, a menos que se conozcan los ángulos de enlace endocíclicos y, la necesidad de tener un plano de referencia, hace que el método sea virtualmente imposible de aplicar a las coordenadas internas derivadas, por ejemplo, de los datos de RMN<sup>165</sup>.

Pero, dado el avance de la determinación estructural por métodos de RMN, ha habido varios intentos de idear métodos empíricos para calcular las coordenadas *puckering* para anillos de 6 miembros, a partir de los ángulos de torsión endocíclicos<sup>158,167</sup>, pero o bien describen sólo parte del espacio conformacional del anillo o utilizan fórmulas bastantes

<sup>164</sup>N. S. Zefirov, V. A. Palyulin y E. E. Dashevskaya *J. Phys. Org. Chem.*, **1990**, *3*, 147-158.

<sup>165</sup>C. A. G. Haasnoot *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 882-886.

<sup>166</sup>A. Y. Zotov, V. A. Palyulin y N. S. Zefirov *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1997**, *37*, 766-773.

<sup>167</sup>F. H. Cano, C. Foces-Foces y S. García-Blanco *Tetrahedron*, **1977**, *33*, 797-802.

complicadas. Otras relaciones empíricas del mismo tipo se han propuesto por varios autores<sup>167-169</sup>, pero para anillos de un tamaño en particular.

Díez y cols.<sup>170-174</sup> han hecho varios trabajos en los que relacionan los ángulos de torsión endocíclicos con las coordenadas *puckering*, CP, como una suma de los desplazamientos infinitesimales de la conformación plana de referencia y demostraron que, bajo esas condiciones, las ecuaciones CP se pueden transformar en una expresión generalizada dependiente de los ángulos de torsión.

Haasnoot<sup>165,175</sup>, utiliza los ángulos de torsión endocíclicos y las constantes de acoplamiento vecinales para la descripción de las formas del anillo de 6 miembros, estableciendo un algoritmo (HP) similar al de CP, pero utilizando un formalismo de transformada de fourier truncada que describe la interdependencia de los ángulos de torsión  $\phi_j$ , en la forma:

$$\omega_j = \Phi_2 \cos(P_2 + 4\pi j/6) + \Phi_3 \cos(\pi j) \quad , \quad j = 0, 1, \dots, 5) \quad (3.20)$$

donde las coordenadas *puckering*,  $\Phi_2$ ,  $P_2$  y  $\Phi_3$ , definen la conformación de un anillo de 6 miembros como un simple punto en un espacio conformacional cilíndrico. Se calculan por las ecuaciones siguientes:

$$\Phi_2 \cos P_2 = \frac{1}{3} \sum_{j=0}^5 \omega_j \cos(2\pi j/3) \quad (3.21)$$

$$\Phi_2 \sin P_2 = -\frac{1}{3} \sum_{j=0}^5 \omega_j \sin(2\pi j/3) \quad (3.22)$$

$$\Phi_3 = \frac{1}{6} \sum_{j=0}^5 \phi_j \cos(\omega_j) \quad (3.23)$$

Al igual que con el método CP, también se puede obtener un conjunto de coordenadas polares esféricas ( $P_2, \theta, Q$ ), siendo:

$$Q = \sqrt{\Phi_2^2 + \Phi_3^2} \quad (3.24)$$

$$\theta = \arctan(\Phi_2/\Phi_3) \quad (3.25)$$

el cual permite también representar las 38 formas canónicas sobre la superficie de la esfera de radio  $Q$ .

El método palía algo las dificultades del algoritmo CP mencionadas anteriormente. Sin embargo, las coordenadas HP llevan implícitas un error sistemático, por lo que es un sistema aproximado (el algoritmo CP, sin embargo, es matemáticamente riguroso).

<sup>168</sup>C. Altona, H. J. Geise y C. Romers *Tetrahedron*, **1968**, *24*, 13-32.

<sup>169</sup>W. M. J. Flapper y C. Romers *Tetrahedron*, **1975**, *31*, 1705-1713.

<sup>170</sup>E. Díez, Á. L. Esteban, J. Guilleme y F. L. Bermejo, **1981**, *70*, 61-64.

<sup>171</sup>E. Díez, Á. L. Esteban y F. J. Bermejo, **1984**, *125*, 49-65.

<sup>172</sup>F. A. A. M. De Leeuw, P. N. Van Kampen, C. Altona, E. Díez y Á. L. Esteban, **1984**, *125*, 67-88.

<sup>173</sup>Á. L. Esteban, E. Ruiz, E. Díez y J. San-Fabán *J. Phys. Chem.*, **1994**, *98*, 10440-10446.

<sup>174</sup>F. Pavelčík *J. Appl. Cryst.*, **1993**, *26*, 462-465.

<sup>175</sup>C. A. G. Haasnoot *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 1460-1468.

so), si bien el error es comparable con la incertidumbre de los parámetros geométricos determinados experimentalmente.

Otro método que utiliza los ángulos diedros se debe a Zefirov y cols<sup>164,166</sup>. El método ZP utiliza la misma base matemática que el método CP, pero, en lugar de los desplazamientos  $z_j$ , utiliza los valores de  $\sin(\omega_j/2)$ , siendo  $\omega_j$  el ángulo torsional endocíclico entre los átomos  $j$ ,  $j+1$ ,  $j+2$  y  $j+3$ . Las ecuaciones 3.12 a 3.14 del método CP se transforman en:

$$S_m \cos \psi_m = -\sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{j=1}^N \sin(\omega_j/2) \sin[\pi m(2j+1)/N] \quad (3.26)$$

$$S_m \sin \psi_m = -\sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{j=1}^N \sin(\omega_j/2) \cos[\pi m(2j+1)/N] \quad (3.27)$$

$$S_{N/2} = \sqrt{\frac{1}{N}} \sum_{j=1}^N \sin(\omega_j/2) \cos[\pi(j-1)] \quad (3.28)$$

donde  $S_m$  y  $\psi_m$  son los parámetros *puckering* del método ZP que, a menudo, para moléculas reales, dan unos resultados similares a los CP, aunque no son iguales debido a la diferente interpretación en ambos métodos.

Los valores de los ángulos de torsión se pueden regenerar, de forma aproximada, por medio de las ecuaciones:

$$N \text{ impar: } \omega_{j(\text{reg})} = 2 \arcsin \left\{ -\sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{m=2}^{(N-1)/2} [S_m \sin(\psi_m + \pi m(2j+1)/N)] \right\} \quad (3.29)$$

$$N \text{ par: } \omega_{j(\text{reg})} = 2 \arcsin \left\{ -\sqrt{\frac{2}{N}} \sum_{m=2}^{N/2-1} [S_m \sin(\psi_m + \pi m(2j+1)/N)] + \sqrt{\frac{1}{N}} S_{N/2} (-1)^{j-1} \right\} \quad (3.30)$$

La suma de los términos  $\sin(\omega_j/2)$  no es igual a 0, para un anillo arbitrario, como sí lo es la suma de  $z_j$  en el método CP. De esta forma,  $\omega_{j(\text{reg})}$  no es exactamente igual a  $\omega_{j(\text{ini})}$  para la mayoría de los anillos y la desviación de ambos valores se puede estimar mediante el parámetro  $\sigma$ :

$$\sigma = \sqrt{\sum_{j=1}^N (\omega_{j(\text{ini})} - \omega_{j(\text{reg})})^2 / (N-1)} \quad (3.31)$$

Para anillos de pequeño y medio tamaño, los valores de  $\sigma$  normalmente no exceden de 3 a 5° y, según los autores, valores superiores indicarían la necesidad de usar más de  $N-3$  parámetros para la correcta descripción de la forma del anillo.

Por otra parte, Bérces, Whitfield y Nukada<sup>176,177</sup> han formulado una descripción

<sup>176</sup>A. Bérces, D. M. Whitfield y T. Nukada *Tetrahedron*, **2001**, 57, 477-491.

<sup>177</sup>A. R. Ionescu, A. Bérces, M. Z. Zgierski, D. M. Whitfield y T. Nukada *J. Phys. Chem. A.*, **2005**, 109, 8096-8105.

cuantitativa del anillo de 6 miembros como combinación lineal de las conformaciones básicas de referencia: silla, bote, bote torcido, sobre y semisilla, cuyos parámetros permiten un uso directo de las constantes de acoplamiento para obtener las coordenadas *puckering*.

El anillo de piranosa queda caracterizado por tres de los seis ángulos de torsión endocíclicos, pudiéndose deducir los tres restantes a partir de aquéllos. Siguiendo el criterio de Prelog<sup>178</sup> y Cano<sup>167</sup>, se define un vector general de los 6 ángulos de torsión endocíclicos  $T = \{\tau_1, \tau_2, \tau_3, \tau_4, \tau_5, \tau_6\}$ , definidos por  $C_1C_2C_3C_4$ ,  $C_2C_3C_4C_5$ ,  $C_3C_4C_5O$ ,  $C_5OC_1C_2$ , y  $OC_1C_2C_3$ , respectivamente. Cualquier vector de torsión se podrá expresar como una combinación lineal en la forma:

$$T = \sum_{i=1}^3 \lambda_i F_i + \sum_{i=4}^6 \lambda_i R_i \quad (3.32)$$

donde  $F_i$  son los vectores de torsión canónicos, correspondientes a las conformaciones ideales  ${}^1C_4$ ,  ${}^1,4B$  y  ${}^OS_2$ :

$$F_1 = \{60, -60, 60, -60, 60, -60\} \quad (3.33a)$$

$$F_2 = \{0, 60, -60, 0, 60, -60\} \quad (3.33b)$$

$$F_3 = \{60, -30, -30, 60, -30, -30\} \quad (3.33c)$$

y  $R_i$  son los vectores de torsión redundantes:

$$R_4 = \{60, 30, -30, -60, -30, 30\} \quad (3.34a)$$

$$R_5 = \{0, 60, 60, 0, -60, -60\} \quad (3.34b)$$

$$R_6 = \{60, 60, 60, 60, 60, 60\} \quad (3.34c)$$

Como los 6 vectores  $F_i, R_i$  son ortogonales entre ellos, los coeficientes  $\lambda_i$  de la ecuación 3.32 se pueden determinar por una simple proyección de  $T$  en los vectores  $\{F_i, R_i\}$ :

$$\lambda_i = \langle T | F_i \rangle / n_i^2 \quad (3.35)$$

donde se utiliza la notación  $\langle P | S \rangle$  para indicar el producto escalar entre los vectores de torsión  $P$  y  $S$  de componentes  $p_j, s_j$ :

$$\langle P | S \rangle = \sum_{i=1}^6 p_i s_i \quad (3.36)$$

y  $n_i$  es la norma del vector  $F_i$ :

$$n_i = \sqrt{\langle F_i | F_i \rangle} \quad (3.37)$$

A los coeficientes de la ecuación 3.32,  $\lambda_i$ , para  $i = 1, 2, 3$  se les denominan coeficientes de proyección canónicos y a  $\lambda_i$ , para  $i = 4, 5, 6$  se les llama coeficientes de proyección redundantes.

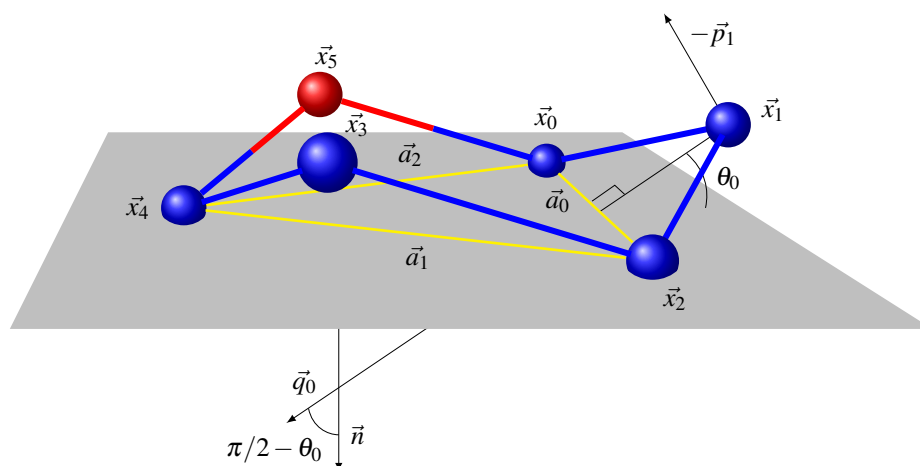
<sup>178</sup>W. Klyne y V. Prelog *Experientia*, **1960**, *16*, 521-523.



Si bien las tres formas básicas indicadas ( ${}^1C_4$ ,  ${}^1,4B$  y  ${}^0S_2$ ) son suficientes para establecer la combinación lineal para un anillo en particular, obviamente, dicha combinación se podrá establecer tomando como base las 38 formas canónicas del anillo de piranosa.

Por otro lado, los autores, mediante un procedimiento matemático consiguen eliminar una inconsistencia que es común a los métodos anteriores a la hora de establecer las coordenadas *puckering* en polares esféricas: la intuición estereoquímica nos dice que las conformaciones de sobre y semisilla son intermedias entre la conformación de silla de los polos y las conformaciones de bote y bote torcido del ecuador. Sin embargo, por ejemplo en el hemisferio norte de la esfera, la conformación de semisilla se sitúa a 51, 55 y 35° azimutales en las definiciones CP, ZP y HP, respectivamente y similarmente ocurre para la conformación de sobre. Con las correcciones introducidas estas conformaciones ahora se sitúan exactamente a 45°.

Recientemente Hill y Reilly<sup>179</sup> han ideado un formalismo totalmente diferente para describir la deformación del anillo. Aunque el método es generalizable a cualquier tamaño del anillo, los autores se limitan a enunciar las ecuaciones para el anillo de hasta 6 átomos.



**Figura 3.4:** Vectores para el cálculo de los parámetros *puckering* de Hill y Reilly (véase el texto).

Siendo  $N$  el número de átomos del anillo, éste se descompone en  $N - 2$  triángulos, siendo uno de ellos el plano de referencia, a partir del cual se mide la elevación de los restantes (véase la figura 3.4). De esta forma, el anillo queda completamente descrito por  $N-3$  parámetros *puckering*,  $\theta_i$ , que miden los ángulos que forman los triángulos que se elevan (a modo de «solapa») sobre el plano de referencia.

Primero se definen los ejes de *puckering*,  $\vec{a}_i$ , que se calculan en función de las coordenadas cartesianas de cada átomo del anillo,  $\vec{x}_i$  (comenzando los subíndices por 0):

$$\vec{a}_i = \vec{x}_{2(i+1)} - \vec{x}_{2i} \quad (3.38)$$

Utilizando dos de los ejes, se calcula el vector  $\vec{n}$ , normal al plano de referencia,

<sup>179</sup>A. D. Hill y P. J. Reilly *J. Chem. Inf. Model.*, **2007**, *47*, 1031-1035.

utilizando el producto vectorial:

$$\vec{n} = \vec{a}_1 \times \vec{a}_0 \quad (3.39)$$

Se calculan también los vectores,  $\vec{r}$ , que representan los enlaces:

$$\vec{r}_i = \vec{x}_{i+1} - \vec{x}_i \quad (3.40)$$

El producto vectorial de los vectores de enlaces a cada lado de un átomo nos dará el vector de orientación de dicho átomo, con respecto al plano,  $\vec{p}_i$ , que será ortogonal a ambos vectores de enlace y al eje con respecto al cual se deforma el átomo:

$$\vec{p}_i = \vec{r}_{i-1} - \vec{r}_i \quad (3.41)$$

Para calcular el ángulo de *puckering* con el signo adecuado, se crea un vector,  $\vec{q}_i$ , ortogonal a  $\vec{p}_{2i+1}$  y a  $\vec{a}_i$ :

$$\vec{q}_i = \vec{a}_i \times \vec{p}_{2i+1} \quad (3.42)$$

Y los parámetros *puckering*,  $\theta_i$ , se calcularán a partir de la intersección de  $\vec{q}_i$  con  $\vec{n}$ , siendo positivos cuando la «solapa» está sobre el plano y negativo en caso contrario:

$$\theta_i = \pi/2 - \arccos \left[ (\vec{q}_i \cdot \vec{n}) \cdot (|\vec{q}_i| \cdot |\vec{n}|)^{-1} \right] \quad (3.43)$$

Para las 38 formas canónicas del anillo de piranosa dan lugar a simetrías entre conformaciones opuestas: los tres ángulos de  ${}^4C_1$  son opuestos y del mismo valor que la silla  ${}^1C_4$ , análogamente  ${}^1,4B$  con  $B_{1,4}$ ,  ${}^2E$  con  $E_2$ , etc. Además en las diferentes formas se observa un patrón de *puckering* que permite visualizar fácilmente el desplazamiento relativo de las «solapas» con respecto al plano principal, por ejemplo las sillas tienen los tres ángulos en la misma dirección y de la misma magnitud, los botes tienen dos ángulos del mismo signo y de menor magnitud y uno de mayor valor y de signo opuesto, y los sobres tienen o dos ángulos de valor 0 y uno de bastante valor o bien dos ángulos de tamaño moderado y un tercero de valor aproximadamente la mitad y de signo opuesto.

Los autores han propuesto incluir esta metodología en estudios de dinámica molecular, que podrían, en cada etapa, calcular el momento de *puckering* del anillo e ir rotando las «solapas», acelerando de este modo el proceso de cálculo.

### 3.6.2. Generación de las diferentes formas del anillo

Desde la introducción del concepto de pseudorotación por parte de Kilpatrick<sup>146</sup> existe la necesidad de estudiar las diferentes formas del anillo de una molécula cíclica, puesto que se sabe que normalmente existe una interconversión entre ellas, que afecta a la estabilidad y reaccionabilidad de los compuestos.

En el estudio teórico, se hace necesario tener un algoritmo para poder construir las diferentes formas de un determinado anillo. Las coordenadas *puckering*, por sí mismas, no son suficientes, ya que hay que tener en cuenta que existe un número infinito de diferentes geometrías con el mismo conjunto de  $N - 3$  parámetros *puckering* pero con diferentes combinaciones de  $N$  longitudes de enlace y  $N - 3$  ángulos. Esto es normal, ya

que es la esencia de la definición del término conformación; por ejemplo la conformación de una molécula alicíclica con una cadena de  $N$  átomos se puede describir por  $N - 3$  ángulos diedros, pero esa conformación poseerá un número infinito de geometrías, cada una de ellas definida por  $N$  longitudes de enlace y  $N - 3$  ángulos<sup>180</sup>.

El método más simple es partir del anillo plano e ir modificando las coordenadas atómicas de forma aleatoria, para posteriormente optimizar la estructura. Una variante de este método es el llamado método estadístico mixto, que consiste en mezclar movimientos aleatorios, tipo Monte Carlo, de las coordenadas atómicas y rotaciones de enlace<sup>181</sup>.

Csonka y col.<sup>182,183</sup> utilizan un sistema de búsqueda conformacional denominado LMOD, el cual, partiendo de un conformero arbitrario de mínima energía, lo somete a un análisis de las vibraciones atómicas, buscando sistemáticamente, por perturbación de la estructura inicial, los modos de baja frecuencia.

Un método<sup>184</sup>, un tanto complejo, que toma como base el método CP, lo que propone es encontrar un conjunto de  $3N$  coordenadas atómicas  $(x_i, y_i, z_i)$  que minimice la expresión:

$$\begin{aligned} \omega = & t(Q - Q^0)^2 + \sum_{i=1}^{N-4} u_i (\psi_i - \psi_i^0)^2 \\ & + \sum_{i=1}^N v_i (b_i - b_i^0)^2 + \sum_{i=1}^N w_i (\tau_i - \tau_i^0)^2 \\ & + \alpha_1 \left( \sum_{i=1}^N x_i \right)^2 + \alpha_2 \left( \sum_{i=1}^N y_i \right)^2 + \alpha_3 \left( \sum_{i=1}^N z_i \right)^2 \\ & + \alpha_4 C^2 + \alpha_5 S^2 + \alpha_6 x_1^2 \end{aligned} \quad (3.44)$$

donde el superíndice 0 indica el valor que se quiere obtener;  $b_i$  y  $\tau_i$  son las distancias y ángulos de enlace;  $C$  y  $S$  son los términos a la izquierda de las ecuaciones 3.10 y 3.11, respectivamente, y que fijan la posición y orientación del anillo de forma consistente con el cálculo de los parámetros *puckering*;  $t$ ,  $u_i$ ,  $v_i$ ,  $w_i$  y  $\alpha_i$  son coeficientes. Se escoge un conjunto inicial de coordenadas que aproximen el anillo y se minimiza la ecuación utilizando una rutina de optimización no lineal.

Otro método que se ha empleado mucho, desarrollado por Dowd y colaboradores<sup>185-190</sup> fija ciertas coordenadas y utiliza optimizaciones de mecánica molecular para

<sup>180</sup>D. Cremer *Acta Cryst.*, **1984**, B40, 498-500.

<sup>181</sup>F. Tobiason, G. Vergoten y J. Mazurier *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **1997**, 395, 173-185.

<sup>182</sup>G. I. Csonka, K. Éliás e I. G. Csizmadia *J. Comput. Chem.*, **1996**, 18, 330-342.

<sup>183</sup>G. I. Csonka, K. Éliás, I. Kolossváry, C. Sosa e I. G. Csizmadia *J. Phys. Chem. A*, **1998**, 102, 1219-1229.

<sup>184</sup>R. P. Millane y E. U. Nzewi *J. Appl. Cryst.*, **1989**, 22, 138-143.

<sup>185</sup>M. K. Dowd, A. D. French y P. J. Reilly *Carbohydr. Res.*, **1994**, 264, 1-19.

<sup>186</sup>A. D. French y M. K. Dowd *J. Comput. Chem.*, **1994**, 15, 561-570.

<sup>187</sup>A. D. French, M. K. Dowd y P. J. Reilly *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **1997**, 395-396, 271-287.

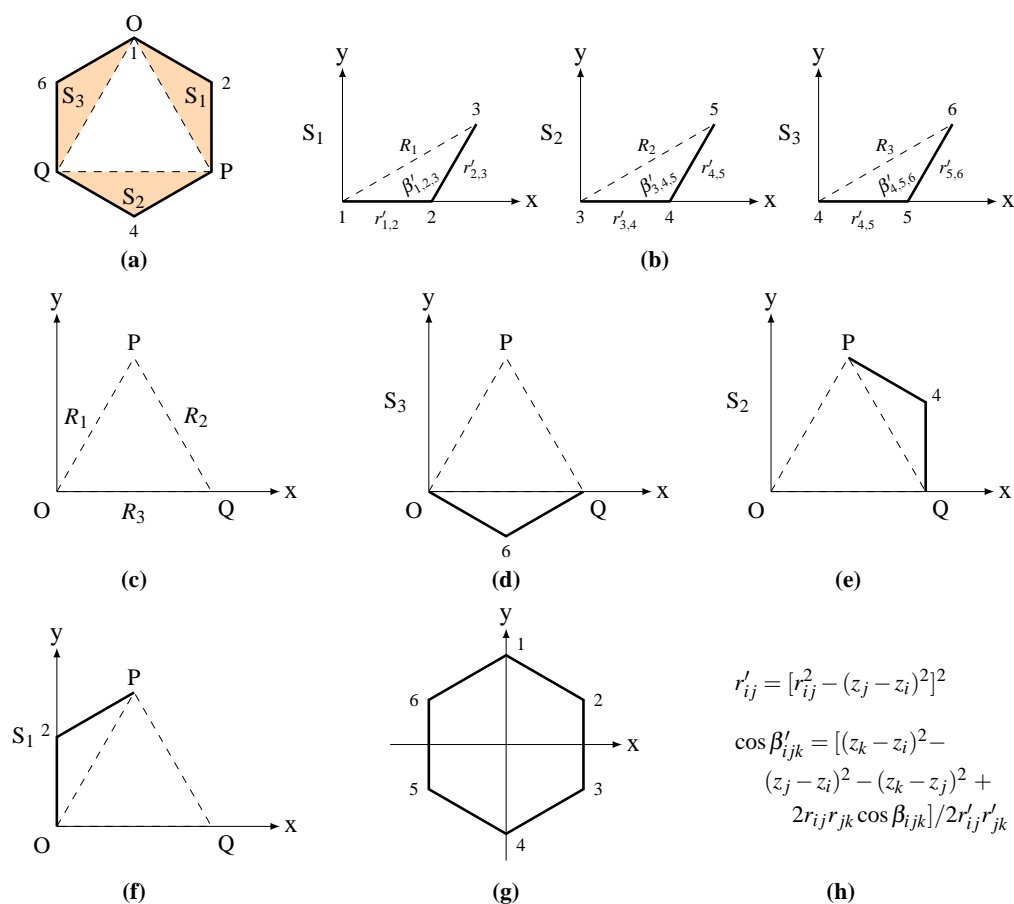
<sup>188</sup>M. K. Dowd, W. M. Rockey, A. D. French y P. J. Reilly *J. Carbohydr. Chem.*, **2002**, 21, 11-25.

<sup>189</sup>W. M. Rockey, M. K. Dowd, P. J. Reilly y A. D. French *Carbohydr. Res.*, **2001**, 335, 261-273.

<sup>190</sup>D. A. Navarro y C. A. Stortz *Carbohydr. Res.*, **2005**, 340, 2030-2038.

situar las coordenadas restantes. En el caso de una piranosa, se genera el anillo plano con todas las orientaciones exocíclicas posibles de las ramificaciones. Los anillos planos se orientan en el plano  $xy$  y se mueven los átomos C-2, C-4 y O del anillo (junto con sus sustituyentes) en la dirección  $z$ , en incrementos de  $\pm 0,1$  y las estructuras resultantes se optimizan manteniendo fijas las coordenadas  $z$  de los 6 átomos del anillo, dejando que se relaje el resto de la molécula. Otros autores también optimizan el anillo y, a partir de él, lo modifican para producir la deformación requerida<sup>191</sup>.

El método riguroso para obtener las coordenadas cartesianas de un anillo, a partir de las coordenadas *puckering* CP, fue descrito por Cremer<sup>192</sup> y se resume en la figura 3.5 para un anillo de 6 átomos.



**Figura 3.5:** Cálculo de las coordenadas del anillo plano de referencia de 6 átomos. (a) Partición del anillo en tres segmentos S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> y S<sub>3</sub> inscribiendo el triángulo OPQ dentro del anillo. (b) Cálculo de las coordenadas  $x,y$  de cada segmento. (c) Cálculo de las coordenadas  $x,y$  del triángulo OPQ. (d) Reorientación del segmento S<sub>3</sub>. (e) Reorientación del segmento S<sub>2</sub>. (f) Reorientación del segmento S<sub>1</sub>. (g) Reorientación del anillo completo. (h) Ecuaciones para el cálculo de las distancias y ángulos atómicos, proyectados sobre el plano.

Es fácil calcular las coordenadas cartesianas de cualquier anillo de  $N$  átomos, conociendo sus  $N - 3$  coordenadas *puckering*,  $N - 3$  ángulos de enlace y  $N$  longitudes de

<sup>191</sup>M. V. Hosur *J. Appl. Cryst.*, **1991**, 24, 1079.

<sup>192</sup>D. Cremer *J. Phys. Chem.*, **1990**, 94, 5502-5509.

enlace. El cálculo comprende las siguientes etapas:

1. Cálculo de las coordenadas,  $z_i$ , por aplicación de las ecuaciones 3.15 y 3.15, según se trate de anillo impar o par.
2. Proyección de las  $N$  longitudes de enlace ( $r_{i,j} \rightarrow r'_{i,j}$ ) y  $N - 3$  ángulos ( $\beta_{i,j,k} \rightarrow \beta'_{i,j,k}$ ) en el plano del anillo plano de referencia.
3. Partición del anillo plano en tres segmentos.
4. Cálculo de las coordenadas  $x,y$  de los segmentos.
5. Cálculo de las coordenadas  $x_i,y_i$  del anillo plano de referencia por combinación de sus segmentos.

Una vez calculadas las coordenadas del anillo plano de referencia, las coordenadas  $z_i$  definirán la conformación.

Por su parte, Hill y Reilly<sup>179</sup> (véase ecuación 3.43) proponen el siguiente esquema: para un anillo de 6 átomos se necesitan 18 coordenadas atómicas. Como se tiene un sistema de  $N - 3$  parámetros *puckering*, se necesitarían otros 15 grados de libertad adicionales para tener el sistema completamente descrito. Ellos eligen tomar las 6 longitudes de enlace y tres ángulos de enlace ( $\phi$ ), y toman como punto de partida inicial un átomo con coordenadas arbitrarias y siguen el siguiente algoritmo:

1. Se fijan las tres coordenadas de un átomo ( $\vec{x}_1$ ).
2. Se utiliza  $\phi_0$ ,  $|\vec{r}_0|$ ,  $|\vec{r}_1|$  y un vector de orientación para situar  $\vec{x}_0$  y  $\vec{x}_2$ .
3. Con  $\vec{x}_0$ ,  $\vec{x}_2$  y  $\theta_0$  se calcula el vector normal,  $\vec{n}$ .
4. Se usa  $\phi_1$ ,  $\phi_2$  y, desde  $|\vec{r}_2|$  hasta  $|\vec{r}_5|$ , para calcular  $|\vec{a}_1|$  y  $|\vec{a}_2|$ .
5. Con  $\vec{n}$ ,  $\vec{x}_0$ ,  $\vec{x}_2$ ,  $|\vec{a}_1|$  y  $|\vec{a}_2|$  se calcula  $\vec{x}_4$ .
6. Con  $\theta_1$ ,  $\vec{n}$ ,  $\vec{x}_2$ ,  $\vec{x}_4$ ,  $\phi_1$ ,  $|\vec{r}_2|$  y  $|\vec{r}_3|$  se calcula  $\vec{x}_3$ .
7. Si  $N = 6$ , se repite el paso 6 para fijar  $\vec{x}_5$ , utilizando las variables apropiadas.
8. Se comprueba la consistencia de los valores de  $\phi_i$  no especificados, con los que sí se han especificado, iterando las etapas 2 a 7 hasta que haya convergencia en los valores de  $\phi_i$ .

### 3.7. Cálculos teóricos, mediante ecuaciones empíricas, de las constantes de acoplamiento vecinales, ${}^3J_{H,H}$

El primer avance para la predicción teórica de los valores de la constante de acoplamiento,  ${}^3J_{H,H}$ , entre hidrógenos vecinales es la ecuación de Karplus<sup>193-195</sup>, que la relaciona con el ángulo de torsión entre los protones acoplados.

La ecuación tiene la forma general:

$${}^3J_{H,H} = A \cos^2 \theta + B \cos \theta + C \quad (3.45)$$

y originalmente deriva de cálculos de Enlace Valencia para el etano. Pero estos cálculos demuestran que también hay una dependencia con otros parámetros moleculares,

<sup>193</sup>M. Karplus *J. Chem. Phys.*, **1959**, *30*, 11-15.

<sup>194</sup>M. Karplus *J. Phys. Chem.*, **1960**, *64*, 1793-1798.

<sup>195</sup>M. Karplus *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2870-2871.

tales como: sustitución, ángulos y longitudes de enlace, etc. Y, experimentalmente, se puede demostrar que los efectos de la electronegatividad y la posición relativa de los sustituyentes unidos al fragmento H–C–C–H tienen una gran importancia en la determinación de la magnitud de las constantes de acoplamiento vecinales, de forma que es el segundo factor en importancia, cercano a la dependencia del ángulo diedro.

A la vista de esto, ha habido varios intentos para tener en cuenta esta influencia de los sustituyentes. Uno de los métodos utilizados es la parametrización de la ecuación de 3.45 para los fragmentos H–C–C–H a estudiar, dando lugar a varias relaciones tipo Karplus para gran cantidad de compuestos específicos, tales como nucleótidos y péptidos.

Una segunda aproximación es la generalización de la relación de Karplus introduciendo una dependencia lineal de la constante de acoplamiento vecinal con la electronegatividad de los sustituyentes unidos al fragmento H–C–C–H, como es el caso de la relación formulada por Abraham y Pachler<sup>196</sup>:

$${}^3J_{H,H} = 8,0 - 1,0 \sum \Delta\chi_i \quad (3.46)$$

donde  $\sum \Delta\chi_i$  es la suma de las diferencias de electronegatividad entre los sustituyentes unidos al fragmento de etano y el hidrógeno. Durette y Horton<sup>197</sup> combinan esta dependencia de la electronegatividad con la ecuación de Karplus y la parametrizan en, función de constantes encontradas en carbohidratos, para dar:

$${}^3J_{H,H} = (7,8 - 1,0 \cos \theta + 5,6 \cos 2\theta) (1 - 1,0 \sum \Delta\chi_i) \quad (3.47)$$

Existen otros métodos, que eliminan los efectos de la electronegatividad de los sustituyentes, tales como el método DAERM (*Dihedral Angle Estimation by the Ratio Method*)<sup>198</sup>, pero la aplicación de estos está restringida a compuestos alicíclicos.

Un aspecto común a los métodos anteriores es la disminución implícita o explícita de la constante de acoplamiento con el aumento de la electronegatividad de los sustituyentes. Sin embargo, se sabe que ciertas orientaciones de sustituyentes electronegativos, en relación con los protones acoplados, causan un aumento de la constante de acoplamiento al incrementarse la electronegatividad. Esto ha sido estudiado ampliamente, principalmente por métodos de cálculos OM; así, Pachler<sup>199</sup>, encontró que las constantes de acoplamiento calculadas para todos los compuestos investigados se podían representar por una función trigonométrica de la forma:

$${}^3J_{H,H} = A + B \cos \theta + C \cos 2\theta + D \sin \theta + E \sin 2\theta \quad (3.48)$$

Haasnoot, Leeuw y Altona<sup>200</sup>, lo que hacen es parametrizar empíricamente las ecuaciones anteriores para intentar encontrar una relación generalizada de tipo Karplus para las constantes de acoplamiento H-H vecinales. Para ello utilizan una base de datos de 315

<sup>196</sup>R. J. Abraham y K. G. R. Pachler *Mol. Phys.*, **1964**, 7, 165-182.

<sup>197</sup>P. L. Durette y D. Horton *Org. Magn. Res.*, **1971**, 3, 417-427.

<sup>198</sup>K. N. Slessor y A. S. Tracey *Can. J. Chem.*, **1971**, 49, 2874-2884.

<sup>199</sup>K. G. R. Pachler *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 22, 1955-1958.

<sup>200</sup>C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. De-Leeuw y C. Altona *Tetrahedron*, **1980**, 36, 2783-2792.

constantes de acoplamiento de 109 compuestos, emparejadas con sus correspondientes ángulos diedros. Tienen la precaución de escoger sólo aquellas constantes obtenidas de un adecuado análisis de  $^1\text{H-NMR}$ ; el conjunto se restringe a estructuras conformacionalmente rígidas, sobre todo a anillos de 6 miembros con grupos asociados.

Encontraron que, formalmente, podría escribirse la dependencia de la constante de acoplamiento vecinal con los diferentes factores mencionados, como una expresión de tipo Taylor:

$${}^3J_{\text{H,H}} = f(\theta) + \sum f'(\theta, \Delta\chi_i) + \sum \sum f''(\theta, \Delta\chi_i, \Delta\chi_j) + f'''(\text{otros}) \quad (3.49)$$

El primer término describe la dependencia de la constante de acoplamiento con el ángulo de torsión H – H. El segundo término tiene en cuenta la dependencia de un sustituyente electronegativo y, dado que también juega un papel muy importante la orientación del sustituyente en relación con los protones acoplados, también dependerá del ángulo de torsión; este término tiene que aplicarse a todos los sustituyentes diferentes del hidrógeno, de ahí el sumatorio. Como se utiliza una escala de electronegatividad relativa a la del hidrógeno ( $\Delta\chi_i = \chi_{\text{sustituyente}} - \chi_{\text{H}}$ ), no es necesario aplicar este término para cada hidrógeno. El tercer término se puede interpretar como la influencia de la electronegatividad de cada sustituyente sobre cada uno de los demás; los cálculos efectuados por Pachler indican la necesidad de este término, como es el caso de las constantes calculadas para el 1,1-difluoroetano, que difieren de las correspondientes calculadas para el 1,2-difluoroetano, lo que hace suponer una diferencia entre sustitución vecinal y geminal. El último término describe otros parámetros moleculares, tales como las desviaciones en longitudes y ángulos de enlace, etc.

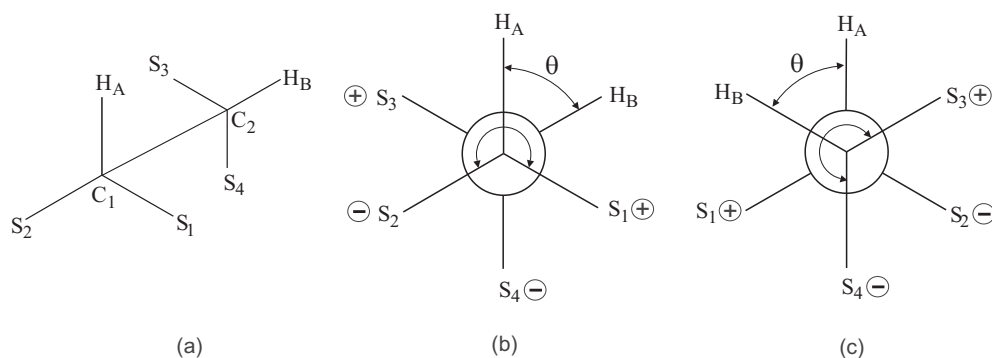
Siguiendo con esta línea, mantienen la relación clásica de Karplus para describir la dependencia angular de la constante de acoplamiento y, para tener en cuenta la influencia de la electronegatividad de los sustituyentes, parten de los resultados de cálculos OM, realizados por Pachler, de constantes de etanos monosustituídos. Así, el término de corrección pretende describir las diferencias en curvas de constantes de acoplamiento, calculadas en el etano y en etilderivados, como una función de  $\theta$  e  $\Delta\chi$ . De este modo, asumiendo una estricta aditividad de la influencia de los sustituyentes sobre la constante de acoplamiento, formulan la ecuación:

$${}^3J_{\text{H,H}} = P_1 \cos^2 \theta + P_2 \cos \theta + P_3 + \sum \Delta\chi_i [P_4 + P_5 \cos^2(\xi_i \theta + P_6 |\Delta\chi_i|)] \quad (3.50)$$

donde los parámetros  $P_1$  a  $P_6$  se determinaron empíricamente con la ayuda del conjunto de las 315 constantes de acoplamiento anteriormente mencionadas. Entre  $P_1$  y el parámetro independiente  $P_3$  existe una gran correlación y, debido a la aparente imposibilidad de obtener los dos valores simultáneamente,  $P_3$  arbitrariamente se iguala a 0.

$\xi_i$  se introduce para reproducir la influencia del sustituyente S respecto de su protón geminal, y tomará valores +1 ó -1, en función de la orientación del sustituyente. En la figura 3.6 se ilustra como se define dicha orientación.

Proyectando el fragmento  $\text{H}_\text{A} - \text{C}_1 - \text{C}_2 - \text{H}_\text{B}$  a lo largo del vector  $\text{C}_1 - \text{C}_2$  (véase la



**Figura 3.6:** Definición de sustituyentes «positivos» o «negativos».

figura 3.6b), se define la orientación del sustituyente S sobre  $C_1$  como positivo cuando el ángulo proyectado entre  $H_A$  y S es aproximadamente  $+120^\circ$ , midiéndolo desde  $H_A$  en el sentido de las agujas del reloj ( $S_1$  y, análogamente,  $S_3$ , serán positivos). La orientación del sustituyente será negativa cuando el ángulo sea de  $240^\circ$  ( $S_2$  y  $S_4$ ).

Hasta aquí sólo se ha tenido en cuenta el efecto de los sustituyentes  $\alpha$  sobre las constantes de acoplamiento vecinales, pero se ha demostrado que la sustitución en  $\beta$  también influye sobre dicha constante, de forma que ésta aumenta con el incremento de la electronegatividad de los sustituyentes  $\beta$ . Haasnoot, Leeuw y Altona, dado que los sustituyentes  $\beta$  electronegativos demuestran un comportamiento opuesto al de los sustituyentes  $\alpha$ , consideran la influencia de los  $\beta$  como moderando el efecto del sustituyente  $\alpha$ . Así introducen la ecuación 3.51 que corrige el valor de  $\Delta\chi$  de los sustituyentes alfa.

$$\Delta\chi^{\text{grupo}} = \Delta\chi^{\text{sustituyente } \alpha} - P_7 \sum \Delta\chi^{\text{sustituyente } \beta} \quad (3.51)$$

donde el sumatorio se extiende a todos los sustituyentes unidos al sustituyente  $\alpha$ , siendo  $\chi$  la electronegatividad de Huggins<sup>201</sup>. Usando la ecuación 3.51 para calcular el valor de  $\Delta\chi_i$  en la ecuación 3.50, para cada sustituyente de un fragmento H – C – C – H, se introduce un primer orden de corrección por la influencia de los sustituyentes  $\beta$  sobre las constantes de acoplamiento vecinales.

Los valores óptimos de  $P_1$ - $P_7$ , los determinaron usando un procedimiento iterativo de mínimos cuadrados. Los resultados se recogen en la tabla 3.1.

**Tabla 3.1:** Parámetros empíricos para la ecuación de Haasnoot (3.50)

Parámetros	A	B incluyendo efecto $\beta$	C 2 sustituyentes	D 3 sustituyentes	E 4 sustituyentes
$P_1$	13,86	13,70	13,89	13,22	13,24
$P_2$	-0,81	-0,73	-0,98	-0,99	-0,91
$P_3$	0	0	0	0	0
$P_4$	0,56	0,56	1,02	0,87	0,53
$P_5$	-2,32	-2,47	-3,40	-2,46	-2,41
$P_6$	17,9	16,9	14,9	19,9	15,5
$P_7$	—	0,14	0,24	0	0,19

<sup>201</sup>M. L. Huggins *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, 75, 4123-4126.



Como puede observarse, en la ecuación 3.50 no se tienen en cuenta los términos tercero y cuarto de la ecuación 3.49. Los autores de este trabajo, escogen diferentes conjuntos de datos para fragmentos H – C – C – H con dos, tres y cuatro sustituyentes diferentes del H (en tabla 3.1: C, D y E). Si los términos mencionados de la ec. 3.49 se pudieran realmente desprestigiar, los diferentes conjuntos de parámetros del  $P_1$  al  $P_7$  deberían ser independientes del conjunto de datos usados para su medida; sin embargo, como se observa en la tabla, esto no es así, es decir los términos desprestigiados en la ec. 3.49 no son desprestigiables, pero la coincidencia entre los valores experimentales de las constantes de acoplamiento y los valores calculados es muy alta, por lo que se puede concluir que su efecto sí es pequeño en relación con el efecto del término de corrección de primer orden de la electronegatividad. El dividir los parámetros en tres partes diferentes redundaba en beneficio de la concordancia de los valores experimentales con los teóricos.

La ecuación 3.50 no reproduce claramente algunos fenómenos; así por ejemplo no es aplicable con buena precisión a etanos 1,2-disustituídos, y no da un valor correcto de la constante de acoplamiento del etano. Al igual que para otros tipos de ecuaciones relacionadas con la de Karplus sólo es válida para fragmentos H–C–C–H con ángulos de enlace sin grandes desviaciones de la geometría tetraédrica;<sup>202</sup> por ejemplo no es válida para compuestos tensionados tales como los norbornanos.<sup>203</sup> En cuanto a los diferentes conjuntos de parámetros, y según observaciones de los mismos autores, D y E (3 y 4 sustituyentes) sí dan buenos resultados, mientras que la ecuación C (dos sustituyentes) falla en ocasiones, y recomiendan para el caso de dos sustituyentes el uso del conjunto B de parámetros, que sí da buenos resultados.

El error de la ecuación de Haasnoot, medido como desviación cuadrática media de los valores teóricos calculados respecto de los experimentales, es de 0,48 Hz, una vez introducida la corrección por efectos  $\beta$  (sin esta corrección es de 0,51 Hz).

Se han hecho varias revisiones para mejorar la precisión de la ecuación y tener en cuenta las excepciones<sup>204</sup>. Así por ejemplo, Imai y Osawa<sup>205</sup> expandieron la ecuación de Karplus para incluir 11 términos estructurales mutuamente independientes y 22 parámetros ajustables, dando una nueva ecuación que reproduce 198 constantes con una desviación estándar de 0.33 Hz:

$$\begin{aligned}
 {}^3J_{\text{H,H}} = & A \cos \theta + B \cos 2\theta + C \cos 3\theta + D \cos^2 2\theta \\
 & + W \left( E \cos \theta \sum \Delta\chi_i \cos \phi_i \right. \\
 & \left. + F \sum \Delta\chi_i \cos 2\phi_i + G \sum \Delta\chi_i \right) \\
 & + H \left[ (\omega_1 + \omega_2)/2 - 110 \right] + I (r_{\text{C-C}} - 1.5) \\
 & + K \sum \Delta\chi_j^\beta \cos 2\psi_j + L r^{-4} + M
 \end{aligned} \tag{3.52}$$

<sup>202</sup>C. Altona, R. Francke, R. de Haan, J. H. Ippel, G. J. Daalmans, A. J. A. Westra Hoekzema y J. van Wijk *Magn. Reson. Chem.*, **1994**, 32, 670-678.

<sup>203</sup>J. L. Marshall, S. R. Walter, M. Barfield, A. P. Marchand, N. W. Marchand y A. L. Segre *Tetrahedron*, **1976**, 32, 537-542.

<sup>204</sup>W. A. Thomas *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.*, **1997**, 30, 183-207.

<sup>205</sup>K. Imai y E. Osawa *Magn. Res. Chem.*, **1990**, 28, 668-674.

en la que los sumatorios se extienden a los sufijos  $i$ , que se refieren a todos los sustituyentes del fragmento H–C–C–H,  $j$  a todos los sustituyentes  $\beta$  y  $\omega$  a los ángulos de enlace H–C–C.  $\theta$  es el ángulo de torsión entre enlaces H–C y  $\phi$  lo es entre los enlaces H–C y C–R, siendo R el sustituyente directamente enlazado al fragmento H–C–C–H.  $\Delta\chi_i$  es la suma de las electronegatividades de Mullay<sup>206,207</sup> de los sustituyentes y  $\Delta\chi_i^\beta$  se define como el sumatorio de las diferencias entre las electronegatividades de Mullay de los sustituyentes  $\beta$  y la media de estos para los primeros  $n$ -alcanos.

La ecuación, que es algo compleja, ha sido cuidadosamente comprobada y refinada posteriormente por el mismo autor<sup>208</sup>.

Se han propuesto otras ecuaciones diferentes<sup>204,209–212</sup>, pero quizás sea la reparametrización de la ecuación de Haasnoot, realizada por el grupo de Altona<sup>202</sup>, la más destacable, reduciendo el error estándar de 0,48 Hz a 0,36 Hz, y utilizando un único conjunto de coeficientes frente a los tres que utiliza la ecuación 3.50:

$${}^3J_{H,H} = 14,63 \cos^2 \theta - 0,78 \cos \theta + 0,60 + \sum_i \lambda_i \times [0,34 - 2,31 \cos^2(\xi_i + 18,4|\lambda_i|)] \quad (3.53)$$

donde las electronegatividades atómicas de los sustituyentes se han reemplazado por las denominadas electronegatividades de grupo,  $\lambda_i$ , las cuales fueron obtenidas, a partir de datos experimentales, mediante el ajuste, por el método de mínimos cuadrados, de la ecuación:

$$\langle {}^3J_{H,H} \rangle = 7,836 - 0,594(\lambda_X + \lambda_Y) - 0,423(\lambda_X \cdot \lambda_Y) \quad (3.54)$$

En general el conjunto de electronegatividades así calculadas es válido para los disolventes orgánicos más comunes, aunque en disolución acuosa y en otros casos especiales, se necesitan conjuntos diferente de valores.

Específicamente para anillos de piranosas, Altona y Haasnoot<sup>213</sup> describieron un esquema simple de aditividad, que permite la predicción precisa de las constantes vecinales del anillo, mediante la ecuación:

$${}^3J_{H,H} = {}^3J^0 + \sum_1^4 \Delta J(X) \quad (3.55)$$

donde  ${}^3J^0$  es un valor de referencia (parámetro ajustable) y  $\Delta J(X)$  son las constantes de aditividad.

Como, en el caso de piranosas sulfosustituidas, los valores de las constantes sólo fueron asignadas de forma tentativa y sin cotejar con los valores experimentales, posteriormente Cicero y Varela<sup>214</sup> utilizaron esta misma ecuación, ajustando los valores de dichas

<sup>206</sup>J. Mullay *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 5842-5847.

<sup>207</sup>J. Mullay *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 7271-7275.

<sup>208</sup>E. Osawa, T. Ouchi, N. Saito, M. Yamato, S. Lee y M. Seo *Magn. Res. Chem.*, **1992**, *30*, 1104-1110.

<sup>209</sup>E. Díez, J. San-Fabián, J. Guilleme, C. Altona y L. A. Donders *Mol. Phys.*, **1989**, *68*, 49-63.

<sup>210</sup>J. Guilleme, J. San-Fabián, E. Díez, F. Bermejo y Á. L. Esteban *Mol. Phys.*, **1989**, *68*, 65-85.

<sup>211</sup>M. Barfield y W. B. Smith *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 1574-1581.

<sup>212</sup>W. B. Smith y M. Barfield *Magn. Res. Chem.*, **1993**, *31*, 696-697.

<sup>213</sup>C. Altona y C. A. G. Haasnoot *Org. Magn. Reson.*, **1980**, *13*, 417-429.

<sup>214</sup>C. Daniel y V. Oscar *J. Chem. Research (S)*, **1991**, 140-141.

constantes  $-\Delta J(S)$  exclusivamente para aquellos compuestos, a partir de 90 constantes de acoplamiento vecinales experimentales. Sin embargo, cuando el azufre está sustituyendo al oxígeno del anillo, la ecuación no ajusta correctamente, probablemente debido a la deformación del anillo causada por el heteroátomo.

Recientemente se ha formulado una nueva ecuación<sup>215</sup>, específica para glicosaminoglicanos (cargados con grupos sulfatos y carboxilatos), que ajusta mejor los datos experimentales que la ecuación de Haasnoot, y que establece la dependencia de  ${}^3J_{H,H}$  únicamente con el ángulo diedro:

$${}^3J_{H,H} = 9,6 \cos^2 \theta - 0,6 \cos \theta + 0,2 \quad (3.56)$$

Dicha ecuación la hemos probado con la 5-tio- $\alpha, \beta$ -L-fucosa y su homóloga natural; el resultado es que los valores de  $J_{4,5}$  quedan sobrestimados (casi el doble en algunos casos) y da valores promedio para la constante  $J_{5,6}$  (fragmento S,C,H-C-C-H<sub>3</sub>) inferiores a los de Haasnoot; en ambos casos este resultado va en contra de los resultados experimentales.

### 3.8. Antecedentes sobre la $\alpha$ -L-fucosidasa

La  $\alpha$ -L-fucosidasa es una glicosidasa abundante en los mamíferos<sup>216</sup>, que hidroliza las uniones  $\alpha 1,2$ ,  $\alpha 1,4$  y  $\alpha 1,6$ , presentándose en múltiples formas (ácidas, básicas y neutras)<sup>217,218</sup>. Su deficiencia da lugar a una enfermedad metabólica grave denominada fucosidosis producida por la acumulación de glicolípidos y glicoproteínas que contienen fucosa<sup>219</sup>. Además está relacionada con gran número de afecciones, tales como el cáncer, enfermedades hepáticas, leucemia y diabetes<sup>220</sup>. Enfermedades como la fibrosis quística y el carcinoma de colon van acompañadas de una distribución (intracelular y extracelular) anormal de esta enzima<sup>221</sup>.

No existen datos estructurales de esta enzima; sin embargo, sí se conoce la estructura cristalina de la  $\alpha$ -L-fucosidasa de la bacteria marina *Thermotoga marítima* y está prácticamente resuelta, tal como se indica en la sección 5.2. Es además, en la actualidad, la enzima más estrechamente relacionada con la  $\alpha$ -L-fucosidasa humana, compartiendo un 38 % de similitud<sup>222</sup>.

En el mismo trabajo<sup>222</sup> donde se describe esta enzima, también se recogen datos de rayos X del complejo enzima-sustrato con la fucosa, con detalles de las interacciones de la misma con el centro activo de la proteína. La fucosa, en el complejo, está presente

<sup>215</sup>M. Hricovíni y F. Bízik *Carbohydr. Res.*, **2007**, *342*, 779-783.

<sup>216</sup>B. J. Honas, U. M. Glassman y T. J. Wiese *Comparative Biochem. Physiol., Part B*, **2009**, *153*, 359-364.

<sup>217</sup>M. W. Ho, A. G. W. Norden, J. A. Alhadef y J. S. O'Brien *Mol. Cell. Biochem.*, **1977**, *17*, 125-140.

<sup>218</sup>G. Di Mateo, M. A. Orfeo y G. Romeo *Biochim. Biophys. Acta*, **1976**, *429*, 527-537.

<sup>219</sup>G. Di Mateo, P. Durand, R. Gatti, A. Maresca, M. Orfeo, F. Urbano y G. Romeo *Biochim. Biophys. Acta*, **1976**, *429*, 538-545.

<sup>220</sup>D. Junlin y O. Chaowei *Guoji Jiannan Yixue Zazhi*, **2008**, *29*, 731-732.

<sup>221</sup>O. J. Cordero, A. Merino, M. Páez de la Cadena, B. Bugía, M. Nogueira, J. E. Viñuela, V. S. Martínez-Zorzano, A. de Carlos y F. J. Rodríguez-Berrocá *Eur. J. Biochem.*, **2001**, *268*, 3321-3331.

<sup>222</sup>G. Sulzenbacher, C. Bignon, T. Nishimura, C. A. Tarling, S. G. Withers, B. Henrissat y Y. Bourne *J. Biol. Chem.*, **2004**, *279*, 13119-13128.

en la conformación de silla  ${}^1C_4$ , y preferentemente en la configuración anomérica  $\beta$ , resultado de su mutarrotación en disolución.

Otro estudio (el único que conocemos que incluye cálculos teóricos)<sup>223</sup>, compara la actividad de la  $\alpha$ -L-fucosidasa de la *Thermotoga marítima* con la  $\alpha$ -L-fucosidasa humana. La estructura de rayos X de la primera ha permitido a los autores realizar un modelo, por homología, de la segunda, resultando que las principales diferencias entre ambas se encuentran en la periferia del sitio activo. En este mismo trabajo, los autores prueban diversos derivados de la fuconojirimicina y llegan a la conclusión de que los sustituidos en C1 son fuertes, pero lentos, inhibidores de la  $\alpha$ -L-fucosidasa de la bacteria marina, mientras que son inhibidores reversibles de la humana.

También, en el PDB, podemos encontrar otras estructuras de rayos X de la  $\alpha$ -L-fucosidasa<sup>224,225</sup>, pero sin la similitud con la humana que tiene la de la *Thermotoga marítima*.

---

<sup>223</sup>C. Ho, Y. Lin, C. Chang, S. Li, Y. Wu, C. Wu, C. Chang, S. Liu, Y. Li y C. Lin *Biochemistry*, **2006**, *45*, 5695-5702.

<sup>224</sup>M. Nagae, A. Tsuchiya, T. Katayama, K. Yamamoto, S. Wakatsuki y R. Kato *J. Biol. Chem.*, **2007**, *282*, 18497-18509.

<sup>225</sup>K. J. Gregg, R. Finn, D. W. Abbott y A. B. Boraston *J. Biol. Chem.*, **2008**, *283*, 12604-12613.



---

---

# METODOLOGÍA

## 4.1. Mecánica Molecular

### 4.1.1. El concepto teórico

El enlace químico entre un par de átomos es la consecuencia de la localización de la estructura electrónica. En mecánica molecular<sup>226</sup> (MM), se considera a la molécula como una colección de partículas (normalmente átomos) unidas por fuerzas armónicas o elásticas (un ejemplo gráfico es considerar un modelo de esferas unidas por muelles). Estas fuerzas se pueden describir como funciones de energía potencial, de modo que a cada aspecto estructural (longitudes de enlace, ángulos de enlace, diedros, interacciones no enlazantes, etc), se le puede asignar un tipo de función. Al conjunto de estas funciones de energía potencial se le denomina «campo de fuerza».

Si partimos de una geometría de equilibrio en la que todas las distancias, ángulos y diedros están en situación de reposo, para mover estos átomos de dicho equilibrio se necesita una energía que se denomina energía estérica ( $E$ ) y que será la suma de las diferentes contribuciones de energía:

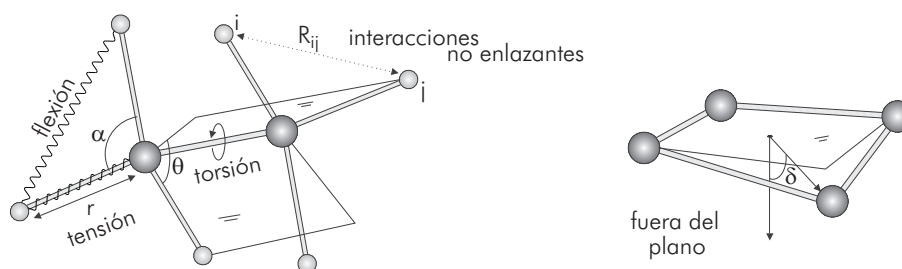
$$E = E_s + E_b + E_t + E_{nb} + \dots \quad (4.1)$$

donde  $E_s$  es la energía de tensión de enlace (*stretching*) de alargamiento o compresión,  $E_b$  es la energía de flexión angular (*bending*),  $E_t$  es la energía torsional y  $E_{nb}$  es la energía debida a interacciones no enlazantes, como las de van der Waals, electrostáticas, etc. (Para una descripción más completa véase el siguiente apartado).

La mecánica molecular está muy relacionada con la espectroscopía vibracional, ya que los campos de fuerza se desarrollaron inicialmente para el análisis vibracional, donde se considera que cuando una molécula, con  $n$  átomos definidos por  $3n$  coordenadas  $x_i$ , se deforma desde su geometría de potencial mínimo ( $V_0$ ) y coordenadas de equilibrio  $x_0$ ,

---

<sup>226</sup>N. L. Allinger and U. Burkett *Molecular Mechanics* American Chemical Society, Washington DC (1982).



**Figura 4.1:** Interacciones más importantes que se consideran en mecánica molecular.

el potencial se puede describir por un desarrollo en serie de Taylor, de la forma:

$$\begin{aligned}
 V_{pot} = & V_0 + \sum_{i=1}^{3n} \left( \frac{\partial V}{\partial x_i} \right)_0 \Delta x_i + \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^{3n} \left( \frac{\partial^2 V}{\partial x_i \partial x_j} \right)_0 \Delta x_i \Delta x_j + \\
 & + \frac{1}{6} \sum_{i,j,k=1}^{3n} \left( \frac{\partial^3 V}{\partial x_i \partial x_j \partial x_k} \right)_0 \Delta x_i \Delta x_j \Delta x_k + \text{términos superiores} \quad (4.2)
 \end{aligned}$$

donde  $x_i$  es una coordenada (cartesiana o interna) y  $\Delta x_i$  la desviación de dicha coordenada desde su valor de equilibrio. La ecuación 4.2, formulada de este modo, permite una descripción rigurosa de la superficie de energía de Born-Oppenheimer alrededor del punto de equilibrio.  $V_0$  es un valor constante, diferente para cada molécula, que se toma de referencia y cuya cuantificación sólo será importante cuando se tenga que calcular el calor de formación de la molécula, por lo que puede ignorarse para el razonamiento que sigue. En un estado de equilibrio, la primera derivada se anula y, por otro lado, para pequeñas desviaciones de la geometría de dicho equilibrio, los términos superiores a los cuadráticos se pueden despreciar (aproximación armónica). Así, sustituyendo las segundas derivadas (conocidas por constantes de fuerza espectroscópicas y que determinan la forma de la energía potencial cerca del punto de equilibrio) por  $f_{ij}$ , nos queda:

$$V_{pot} = \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^{3n} f_{ij} \Delta x_i \Delta x_j \quad (4.3)$$

que es una relación simple de un campo de fuerza armónico, que describe un sistema de osciladores armónicos acoplados. Normalmente, las constantes de fuerza se disponen en forma de una matriz. Si son nulos los términos diagonales ( $i = j$ ), implicaría que los osciladores no están acoplados, resultando tantas ecuaciones de Hooke como coordenadas hay en el sistema. En un tratamiento general se deben considerar los términos cruzados ( $i \neq j$ ) que corresponden a desplazamientos simultáneos en dos coordenadas. Por otra parte, a mayores amplitudes de desplazamiento deja de ser válida la aproximación armónica, y entonces, para considerar los efectos anarmónicos, se deben tener en cuenta los términos cúbicos en la ecuación 4.2, o bien reemplazar el potencial armónico por una función de Morse (estos refinamientos son muy difíciles de tratar matemáticamente en espectroscopía vibracional, por lo que raramente se utilizan en ese campo).

Desgraciadamente, la expresión 4.3 no es útil para los fines de la mecánica molecular. Esto se debe a dos motivos: *i*) se ha de conocer la configuración de equilibrio; no obstante, lo que se pretende es predecirla; y *ii*) la ecuación es una función de las coordenadas y no nos da información sobre la física de las interacciones interatómicas. Sin embargo, es una guía útil para el desarrollo de los campos de fuerza<sup>227</sup>; así, esta fórmula intenta incorporar la naturaleza básica de la interacción antes que la rigurosa formulación matemática. Por ejemplo, el campo de fuerza que se ajusta mejor a las ideas sobre la naturaleza de las fuerzas que actúan en una molécula es el llamado «campo de fuerza de valencia», que se formula en coordenadas internas, que son, normalmente, las distancias, ángulos de enlace y ángulos de torsión. Con esta selección de coordenadas, obtenemos un campo de fuerza con potenciales armónicos según la ley de Hooke (ecuación 4.4):

$$V = \frac{1}{2} \sum_i f_{r,i} (r_i - r_{0i})^2 + \frac{1}{2} \sum_i f_{\alpha,k} (\alpha_k - \alpha_{0k})^2 + \frac{1}{2} \sum_i f_{\theta,l} (\theta_l - \theta_{0l})^2 \quad (4.4)$$

La premisa básica aquí es el concepto de «transferibilidad»: si podemos tener una información precisa sobre datos de distancias, ángulos de enlace, etc. de moléculas conocidas; es decir, si podemos conocer sus parámetros  $f_{r,i}$ ,  $f_{\alpha,i}$ ,  $r_{0i}$ ,  $\alpha_{0k}$ , etc, en función de diferentes átomos tipos, podremos presuponer que estos mismos parámetros nos van a reproducir las geometrías de moléculas, de las que no se disponen datos, que contengan los mismos átomos tipos. Por ejemplo, si parametrizamos las constantes de flexión para el grupo H–C=O, a partir de datos experimentales de diferentes moléculas que contengan este ángulo (formamida, formaldehído, etc.) y asumimos que este ángulo tiene la misma constante de flexión en todas estas moléculas, entonces se podrá predecir esta geometría en otras moléculas que contengan ese grupo.

De este modo, la MM es la técnica más simple utilizada para la modelización de moléculas, la cual se centra en encontrar los estados de baja energía de las mismas. Un cálculo típico de mecánica molecular consta de las siguientes etapas:

1. Construcción de una estructura inicial de prueba.
2. Modificación de los grados de libertad de la misma y reoptimización de la energía de la molécula.
3. Ajuste de las coordenadas internas (distancias, ángulos, diedros, etc.) y reminimización de la energía para encontrar otros estados de baja energía.

Esto da lugar a un conjunto de conformaciones que corresponden a mínimos de energía potencial, entre los que se debería encontrar el mínimo global. Las conformaciones encontradas en MM pueden utilizarse para posteriores refinamientos mediante cálculos *ab initio* o semiempíricos, lo cual permite el cálculo de otras propiedades que no son derivables de los cálculos de mecánica clásica.

#### 4.1.2. Las funciones de potencial

**Tensión de enlace.** Una descripción adecuada del alargamiento/acortamiento del enlace, viene dada por la curva de Morse (inicialmente desarrollada en 1929 para moléculas

<sup>227</sup>B. B. Donald y K. B. Lipkowitz *J. Chem. Educ.*, **1982**, 59, 269-274.



diatómicas<sup>228</sup>), cuya formulación viene dada por la ecuación 4.5:

$$E_s(r) = D_e[1 - e^{-\alpha(r-r_0)}]^2 \quad (4.5)$$

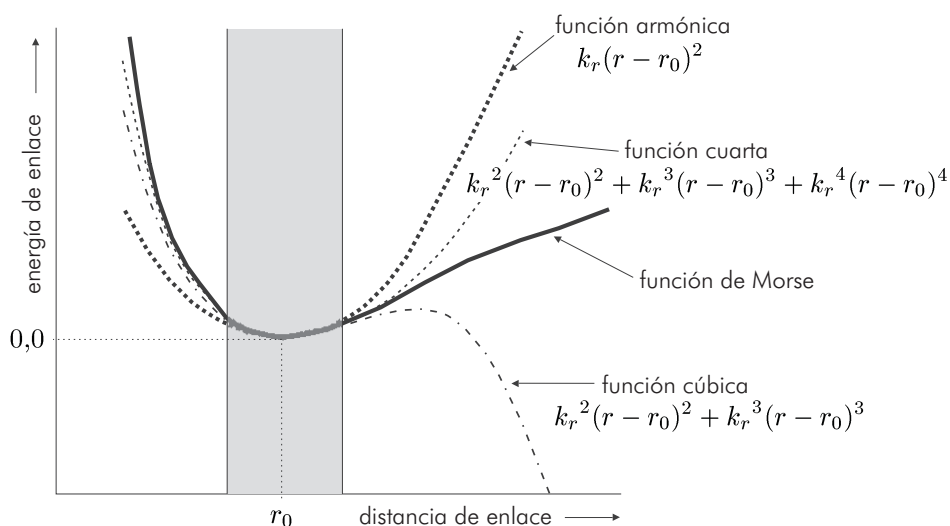
Sin embargo, si se compara con otras funciones, la evaluación de esta ecuación requiere mucho tiempo computacional, especialmente si ha de hacerse un número elevado de ocasiones. A pequeñas deformaciones del enlace respecto de su valor natural se puede considerar válida la aproximación armónica (véase la figura 4.2), que corresponde a la ley de Hooke (descripción clásica del comportamiento de un muelle):

$$E_s(r) = \frac{1}{2}k_r(r-r_0)^2 \quad (4.6)$$

A grandes deformaciones, las desviaciones del potencial armónico son importantes y entonces la ecuación 4.6 deja de ser aplicable. En el campo de fuerza MM2<sup>229</sup> se añade un término cúbico para reproducir mejor la curva de Morse:

$$E_s^{MM2}(r) = 143,88 \frac{k_r}{2} (r-r_0)^2 [1 - 2,00(r-r_0)] \quad (4.7)$$

El término cúbico tiene un problema: a grandes distancias de enlace, empieza a dominar y entonces tiende al infinito negativo (véase figura 4.2). Si se parte de una geometría pobre en la optimización, la molécula puede disociarse. MM2 solventa este problema haciendo que el término no se active hasta que el cálculo no se haya refinado suficientemente.



**Figura 4.2:** Comparación esquemática de los diferentes potenciales con la función de Morse. La zona sombreada corresponde a pequeñas desviaciones de la longitud de enlace natural para una pareja de átomos dada.

<sup>228</sup>P. M. Morse *Phys. Rev.*, **1929**, 34, 57-64.

<sup>229</sup>N. L. Allinger *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 8127-8134.

MM3<sup>230</sup> añade un término a la cuarta potencia; si antes teníamos un menos infinito, ahora tenemos un más infinito para distancias grandes, lo que evita la disociación completa. Además, consigue que la curva de potencial se ajuste mejor a la curva de Morse:

$$E_s^{MM3}(r) = 143,88 \frac{k_r}{2} (r - r_0)^2 [1 - 2,55(r - r_0) + \left(\frac{7}{12}\right) 2,55(r - r_0)^2] \quad (4.8)$$

**Flexión de enlace.** En este caso es también frecuente utilizar un potencial armónico:

$$E_b(\theta) = \frac{1}{2} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (4.9)$$

donde  $k_\theta$  es la constante de fuerza de flexión de enlace,  $\theta$  es el ángulo de enlace y  $\theta_0$  es el ángulo de enlace de referencia. La energía necesaria para desviar de su equilibrio a un ángulo de enlace es mucho menor que la necesaria para distorsionar longitudinalmente dicho enlace y, consecuentemente, las constantes de fuerza de flexión son proporcionalmente más pequeñas que las de tensión de enlace. Como en el caso anterior, la precisión puede mejorarse incluyendo en la ecuación términos de mayor orden.

**Interacciones torsionales.** En un campo de fuerza, los términos intramoleculares son muy importantes, aunque, sorprendentemente, algunos campos de fuerza omiten estas interacciones e intentan en su lugar modelar las barreras rotacionales con una combinación de interacciones no enlazantes.

Las interacciones de torsión son diferentes de las tensiones de enlaces y angulares por dos causas importantes: i) las barreras de rotación interna son bajas comparadas con las otras interacciones, ya que las desviaciones en los ángulos diedros pueden ser grandes y ii) el potencial de torsión,  $E_t$ , es periódico a lo largo de la rotación de 360°. Lo primero implica que una aproximación de  $E_t$  por una serie de Taylor es incorrecta. Además, puede tomar muy diferentes formas, dependiendo de los átomos que lo forman, por lo que se debe escoger un modelo adecuado para una amplia variedad de potenciales diferentes.

Es más frecuente modelar estas interacciones utilizando una serie de Fourier:

$$E_t(\tau) = \sum_n \frac{1}{2} V_n \cos(n\tau) \quad (4.10)$$

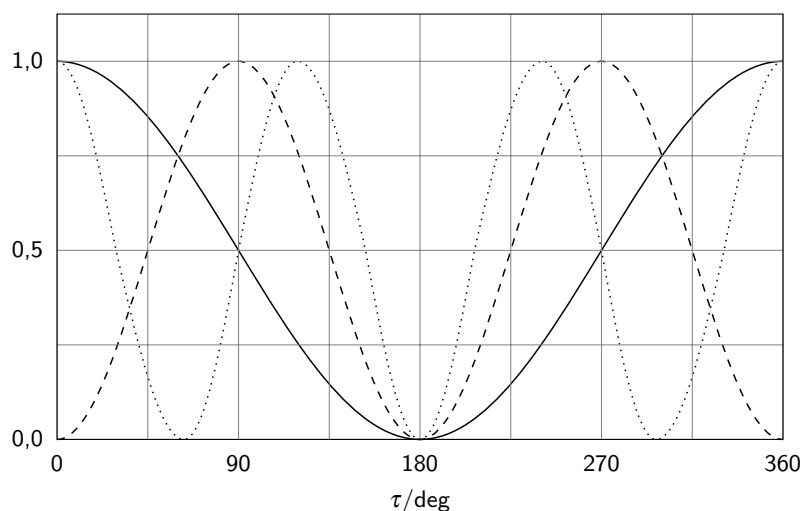
donde  $V_n$  son las constantes de fuerza torsionales y  $\tau$  es el ángulo de torsión. Se suele desplazar el punto cero del potencial e incluir factores de fase, dando:

$$E_t(\tau) = \sum_n \frac{1}{2} V_n (1 + \cos(n\tau + \delta_n)) \quad (4.11)$$

Normalmente, los ángulos de fase  $\delta_n$  se escogen para que los términos con valores positivos de  $V_n$  tengan un mínimo a 180° en lugar de a 0° (para  $n$  impar:  $\delta_n = 0^\circ$  y para  $n$  par:  $\delta_n = 180^\circ$ ). Los tres primeros se muestran en la figura 4.3. El número de

<sup>230</sup>N. L. Allinger, Y. H. Yuh y J. Lii *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 8551-8566.

términos necesarios depende de la complejidad del potencial de torsión y de la precisión requerida; para moléculas orgánicas, generalmente se utilizan tres términos.



**Figura 4.3:** Componentes de Fourier:  $n = 1$  (continua),  $n = 2$  (discontinua) y  $n = 3$  (punteada).

Muy relacionado con las interacciones torsionales están las interacciones fuera del plano (*out-of-plane*) (véase la **figura 4.1**). El mover un átomo, fuera del plano que forman los otros tres, exige un coste energético; esto se puede tener en cuenta de dos formas diferentes: la primera aproximación es utilizar un potencial armónico de la forma:

$$E_{oop} = \frac{1}{2}k_{oop}\delta^2 \quad (4.12)$$

La segunda aproximación es tomar un ángulo de torsión impropio y utilizar un potencial en la misma forma que la ecuación 4.11, normalmente utilizando sólo hasta el término  $n = 2$ .

**Interacciones no enlazantes.** Pueden ser interacciones de tipo electrostáticas o de van der Waals y se pueden referir a interacciones entre átomos de una misma molécula o de moléculas diferentes.

Las interacciones electrostáticas se producen por la diferente distribución de cargas en la molécula y pueden modelarse, teniendo en cuenta las cargas puntuales atómicas, por un potencial de Coulomb:

$$E_{elec} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (4.13)$$

donde,  $\epsilon_0$ , es la permitividad del vacío,  $q_i$  son las cargas atómicas y  $r_{ij}$  la distancia entre  $i$  y  $j$ .

Otra aproximación utilizada en algunos campos de fuerza es modelar las interacciones electrostáticas utilizando dipolos en átomos o enlaces —método denominado: *Distributed Multipole Analysis (DMA)*—.

Por su parte, las interacciones de van der Waals serán todas aquellas interacciones

entre átomos o moléculas que no están cubiertas por las interacciones electrostáticas<sup>226</sup>: dispersión, repulsión, inducción y otras. Las fuerzas de dispersión se producen por las correlaciones entre electrones de diferentes átomos, lo que da lugar a una disminución de la energía y por tanto a una atracción. La repulsión se produce cuando las nubes electrónicas de dos átomos o moléculas se solapan, debido a las repulsiones entre las cargas negativas de los electrones y al principio de exclusión. La inducción, por su parte, se produce por la distorsión de la distribución de carga de un átomo o molécula en la zona de sus vecinos.

A pequeñas distancias, la repulsión atómica da lugar a valores positivos de  $E_{vdw}$ , tendiendo al infinito cuando la distancia se aproxima a cero. A grandes distancias, la dispersión da lugar a valores negativos bajos, tendiendo a cero cuando la distancia tiende al infinito. Una forma razonable para modelar estas interacciones nos la da el potencial de Lennard-Jones:

$$E_{vdw}^{LJ} = \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}}{r_{ij}^6} \quad (4.14)$$

donde,  $A_{ij}$  y  $C_{ij}$  son constantes adecuadas. Alternativamente se puede obtener por:

$$E_{vdw}^{LJ} = 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (4.15)$$

donde,  $\epsilon_{ij}$  es la profundidad del potencial de van der Waals y  $\sigma_{ij}$  la distancia a la que  $E_{vdw}^{LJ} = 0$ , estando relacionada con la distancia de energía mínima,  $r_{ij}^*$ , por:

$$r_{ij}^* = 2^{\frac{1}{6}} \sigma_{ij} \quad (4.16)$$

Las constantes de la ecuación 4.14 se relacionan con  $\epsilon_{ij}$  y  $\sigma_{ij}$  por  $A_{ij} = 4\epsilon_{ij}\sigma_{ij}^{12}$  y  $C_{ij} = 4\epsilon_{ij}\sigma_{ij}^6$ . El término atractivo  $r^{-6}$  considera únicamente la interacción dipolo-dipolo y, en cuanto al término repulsivo, no hay argumentos físicos para un comportamiento  $r^{-12}$ , sino que es únicamente una exponencial arbitraria, basada en la experiencia computacional, que garantiza un buen comportamiento de la ecuación.

De manera más rigurosa, se puede asociar un término exponencial a la parte repulsiva del potencial, ya que, al estar el potencial repulsivo dominado por el solapamiento de nubes electrónicas y, como la densidad electrónica disminuye exponencialmente (en modo aproximado) con la distancia respecto al núcleo, esta interacción debería tener una dependencia exponencial con la distancia, lo que da lugar al potencial de Hill o Buckingham<sup>231</sup>:

$$E_{vdw}^{Hill} = A_{ij} \exp(-B_{ij}r_{ij}) - \frac{C_{ij}}{r_{ij}^6} \quad (4.17)$$

donde  $A_{ij}$ ,  $B_{ij}$  y  $C_{ij}$  son constantes. Como se puede observar, la ecuación mantiene la dependencia  $r^{-6}$  del potencial de Lennard-Jones.

<sup>231</sup>B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan y M. Karplus *J. Comput. Chem.*, **1983**, 4, 187-217.

**Otros términos.** Los términos descritos antes son comunes a todos los campos de fuerza, pero existen otros que, a veces, también se tienen en cuenta. Los términos cruzados son un grupo común de este tipo: por ejemplo, si una molécula de agua se somete a presión, los enlaces H-O se acortan levemente debido a la repulsión entre los hidrógenos; en este caso se añaden términos cruzados al potencial para tener en cuenta estos efectos. Normalmente se escriben como series de Taylor de las coordenadas individuales; por ejemplo, el campo de fuerza MM3 utiliza:

$$E_{sb} = 2.5228 k_{sb}(\theta_{ijk} - \theta_{ijk0}) [(r_{ij} - r_{ij0})(r_{jk} - r_{jk0})] \quad (4.18)$$

Otra modificación que contemplan algunos campos de fuerza, para describir los efectos conjugativos o la electronegatividad, es la modificación de una interacción entre átomos debida a otro átomo no directamente involucrado. Por ejemplo, los enlaces C-C se acortan si uno de los C está unido a un átomo electronegativo como es el caso del efecto anomérico. Este efecto se puede modelizar cambiando la referencia de la longitud de enlace:

$$r_{ij0} = r_{ij0} + \delta r \quad (4.19)$$

### 4.1.3. Tipos de campos de fuerza

Hay dos tendencias principales. La primera intenta predecir de forma precisa las estructuras moleculares y sus propiedades. Un buen ejemplo son los trabajos de Allinger y colaboradores, que han desarrollado los campos de fuerza MM1<sup>232</sup>, MM2<sup>229</sup>, MM3<sup>230,233,234</sup> y MM4<sup>235-238</sup>, los cuales se han parametrizado a partir de datos experimentales de calores de formación y frecuencias vibracionales. MMX es otro campo de fuerza de este tipo, mezcla de MM2(77) y MMP1<sup>239</sup>, añadiendo, este último, términos para el cálculo de hidrocarburos aromáticos e introduciendo el concepto de parámetros genéricos, para aquellos casos en los que no se tengan datos para algunos tipos de átomos.

La segunda tendencia va encaminada a la modelización de grandes moléculas tales como proteínas o polímeros. AMBER<sup>240,241</sup>, CHARMM<sup>231</sup> y OPLS<sup>242</sup> son los más representativos de esta categoría. Su principal característica es que simplifican las funciones de potencial por necesidades computacionales, al tener que tratar con moléculas

<sup>232</sup>N. L. Allinger, M. T. Tribble, M. A. Miller y D. H. Wertz *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 1637-1648.

<sup>233</sup>J. Lii y N. L. Allinger *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8566-8575.

<sup>234</sup>J. Lii y N. L. Allinger *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8576-8582.

<sup>235</sup>N. L. Allinger, K. Chen y J. Lii *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 642-668.

<sup>236</sup>N. Nevins, K. Chen y N. L. Allingers *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 669-694.

<sup>237</sup>N. Nevins, J. Lii y N. L. Allinger *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 695-729.

<sup>238</sup>N. L. Allinger, K. Chen, J. A. Katzenellenbogen, S. R. Wilson y G. M. Anstead *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 747-755.

<sup>239</sup>N. L. Allinger y J. T. Sprague *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, 95, 3893-3907.

<sup>240</sup>S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta Jr. y P. Weiner *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, 106, 765-784.

<sup>241</sup>W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, Jr., D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell y P. A. Kollman *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 5179-5197.

<sup>242</sup>W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell y J. Tirado-Rives *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 11225-11236.

de gran tamaño. A pesar de eso, normalmente, dan buenos resultados, incluyendo las propiedades termodinámicas o las densidades. Se suelen utilizar en simulaciones de dinámica molecular.

También ha habido intentos para acercar las diferencias entre los dos tipos anteriores de campos de fuerza. El ejemplo más significativo es el *Merck Molecular Force Field* (MMFF)<sup>243-249</sup>, que tiene una complejidad intermedia entre los funcionales tipo AMBER y las formas más complicadas de MM3/MM4. A diferencia de la mayor parte de los campos de fuerza, está parametrizado a partir de cálculos *ab initio* y donde realmente da buenos resultados es en el cálculo de moléculas orgánicas de pequeño tamaño<sup>249</sup>.

Y una tercera tendencia es al desarrollo de campos de fuerza de carácter general. Tal son los casos de los campos de fuerza UFF (*Universal Force Field*)<sup>250</sup> y DREIDING<sup>251</sup>, o bien de GAFF<sup>252</sup>, que cubre casi todo el espacio de la química orgánica siendo totalmente compatible con AMBER y que se utiliza, en combinación con éste, principalmente en estudios de *docking* y en cálculos de energía libre.

De forma específica, en el campo de los hidratos de carbono, es prácticamente imposible encontrar de un modo totalmente objetivo la adecuación y calidad de los campos de fuerza<sup>253</sup>, debido a su alta funcionalidad polar y a la dependencia del comportamiento conformacional en función de los efectos estereoelectrónicos (efectos anomérico, exoanomérico y gauche) y a su gran flexibilidad conformacional. Los datos experimentales deberían ser la mejor base de comparación, pero hay una gran falta de datos fiables. Aunque se han diseñado campos de fuerza específicos, tales como GLYCAM<sup>254</sup>, no por ello se obtienen mejores resultados que con los campos de fuerza del tipo MM2, MM3 o MM4. Además, en estos compuestos, la solvatación juega un papel importantísimo.

## 4.2. Mecánica cuántica

### 4.2.1. Métodos *ab initio*

#### 4.2.1.1. Postulado fundamental de la mecánica cuántica

Para calcular la estructura electrónica de una molécula aislada, se usan métodos mecanocuánticos, según los cuales, un sistema puede ser estudiado asumiendo que no se

<sup>243</sup>T. A. Halgren *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 490-519.

<sup>244</sup>T. A. Halgren *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 520-552.

<sup>245</sup>T. A. Halgren *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 553-586.

<sup>246</sup>T. A. Halgren y R. B. Nachbar *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 587-615.

<sup>247</sup>T. A. Halgren *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 616-641.

<sup>248</sup>T. A. Halgren *J. Comput. Chem.*, **1999**, *20*, 720-729.

<sup>249</sup>T. A. Halgren *J. Comput. Chem.*, **1999**, *20*, 730-748.

<sup>250</sup>A. K. Rappé, C. J. Casewit, K. S. Colwell, W. A. Goddard III y W. M. Skiff *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10024-10035.

<sup>251</sup>S. L. Mayo, B. D. Olafson y W. A. Goddard III *J. Phys. Chem.*, **1990**, *94*, 8897-8909.

<sup>252</sup>P. Ren y Y. W. Ponder *J. Comput. Chem.*, **2002**, *23*, 1497-1506.

<sup>253</sup>S. Pérez, A. Imberty, S. B. Engelsens, J. Gruza, K. Mazeau, J. Jiménez-Barbero, A. Poveda, J. Espinosa, B. P. van Eyck, G. Johnson, A. D. French, M. L. C. E. Kouwijzer, P. D. J. Grootenuis, A. Bernardi, L. Raimondi, H., Senderowitz, V. Durier y G. Vergotengly *Carbohydr. Res.*, **1998**, *314*, 141-155.

<sup>254</sup>R. J. Woods, R. A. Dwek, C. J. Edge y B. Fraser-Reid *J. Phys. Chem.*, **1995**, *99*, 3832-3846.

pueden conocer todas las variables del sistema, de acuerdo con lo que afirma el principio de incertidumbre de Heisenberg, algo que es tanto más cierto cuanto más pequeño es el sistema. El postulado principal de la Mecánica Cuántica afirma que las propiedades de un sistema, que llamaremos observables, se pueden determinar según la expresión:

$$\hat{G}\Psi = \gamma\Psi \quad (4.20)$$

donde  $\hat{G}$  es un operador,  $\Psi$  es la función de onda (información del estado del sistema) y  $\gamma$  es el autovalor asociado a dicho operador, es decir, su valor esperado. Cuando el observable estudiado es la energía del sistema, se utiliza el operador hamiltoniano, quedando:

$$\hat{H}\Psi(R_e, R_N) = E\Psi(R_e, R_N) \quad (4.21)$$

que es la denominada ecuación de Schrödinger para estados estacionarios<sup>255</sup>, donde  $R_e$  representa las coordenadas de los electrones y  $R_N$  la de los núcleos. Para construir el hamiltoniano, hay que considerar la energías cinética y potencial de los electrones y de los núcleos, así como de sus interacciones, por lo que la expresión se transforma en:

$$(\hat{T}_N + \hat{T}_e + \hat{V}_{NN} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{eN})\Psi(R_e, R_N) = E\Psi(R_e, R_N) \quad (4.22)$$

donde  $\hat{T}_N$  representa la energía cinética de los núcleos,  $\hat{T}_e$  la de los electrones,  $\hat{V}_{NN}$  es la energía de interacción núcleo-núcleo,  $\hat{V}_{ee}$  representa la repulsión interelectrónica y  $\hat{V}_{eN}$  la interacción electron-núcleo. Dicha ecuación sólo ha sido resuelta analíticamente para el átomo de hidrógeno monoeléctrico, ya que para sistemas multielectrónicos esto no es posible, debido a la aparición del término de energía potencial interelectrónico,  $\hat{V}_{ee}$ , lo que da lugar a que la ecuación diferencial no sea separable. Por ello, para intentar resolver los sistemas polielectrónicos, se han desarrollado una serie de aproximaciones, que a continuación se describen.

#### 4.2.1.2. Aproximación de Born-Oppenheimer

Esta aproximación considera que los núcleos permanecen inmóviles, en comparación a los electrones, debido a que la velocidad de los núcleos es unos tres órdenes de magnitud menor que la de los electrones, a causa de la diferencia de masa. Por lo tanto, las posiciones atómicas se pueden considerar fijas, considerándose como parámetros, de modo que se asume que si un núcleo cambia de posición, los electrones se reajustan inmediatamente a esta nueva situación. Por esto, la componente de la energía cinética nuclear del hamiltoniano se anula ( $\hat{T}_N = 0$ ) y la componente de la repulsión núcleo-núcleo ( $\hat{V}_{NN}$ ) permanece constante. De esta manera simplificamos el problema construyendo una función de onda exclusivamente electrónica, con un hamiltoniano exclusivamente electrónico, si bien la solución sólo es válida para una posición determinada de los núcleos.

<sup>255</sup>E. Schrödinger *Ann. Physik.*, **1926**, 384, 361-376.

### 4.2.1.3. Aproximación de la función de onda multielectrónica

El termino interelectrónico es el más difícil de determinar, ya que hay que conocer previamente la posición relativa de los electrones. Para resolver este inconveniente se expresa la función de onda (que ya es completamente electrónica debido a la primera aproximación) como un producto de  $n$  funciones de onda monoeléctricas (dependientes de un sólo electrón). A esto se le conoce como la aproximación orbital o productorio Hartree<sup>256</sup>.

$$\Psi_N(r_1 \dots r_n) = \prod_i^N \Psi_i(r_i) \quad (4.23)$$

### 4.2.1.4. Función de onda antisimétrica, determinante de Slater

Los electrones son fermiones (partículas con espín semientero) y, por lo tanto, según el principio de exclusión de Pauli, la función de onda de un sistema de electrones ha de ser antisimétrica con respecto al intercambio de los mismos. Sin embargo, en la aproximación orbital, la función de onda total no es antisimétrica. Para que lo fuese, una permutación de dos electrones debería de cambiar el signo de la función de onda. Para solucionar este problema Slater<sup>257</sup> expresó la función de onda como un determinante que, para el caso de un sistema bielectrónico, toma la forma siguiente:

$$\Psi(r_1, r_2) = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{vmatrix} \phi(1)\alpha(1) & \phi(1)\beta(1) \\ \phi(2)\alpha(2) & \phi(2)\beta(2) \end{vmatrix} \quad (4.24)$$

siendo  $\alpha$  y  $\beta$  las funciones dependientes de las coordenadas de espín. De esta manera, si se realiza una permutación del electrón 2 por el 1, el determinante cambia de signo, y, la función de onda es antisimétrica.

### 4.2.1.5. Método Hartree-Fock-Roothan

Si se utiliza una función de onda arbitraria construida como un determinante de Slater, según el principio variacional, si variamos los parámetros con los que está construida la función de onda, el autovalor energético siempre será mayor, o como mucho igual, que la energía exacta del sistema, por lo que a medida que se vaya mejorando esta función de onda, la energía se ira aproximando al valor correcto. Cada uno de los orbitales de la función de onda prueba se expresa como una combinación lineal de funciones de onda monoeléctricas<sup>258</sup>, de tal forma que, variando los coeficientes de dicha combinación lineal, se obtienen distintas funciones de onda prueba, con lo cual se podrán optimizar para hallar una función de onda mejorada de mínima energía.

Expresando de esta manera la función de onda, pasamos de una ecuación con  $n$  electrones a  $n$  ecuaciones monoeléctricas del tipo<sup>258</sup>:

$$\hat{F} \Psi_i(R_e) = \epsilon_i \Psi_i(R_e) \quad (4.25)$$

<sup>256</sup>D. R. Hartree *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, **1928**, 24, 89-110.

<sup>257</sup>J. C. Slater *Phys. Rev.*, **1929**, 34, 1293-1322.

<sup>258</sup>C. C. J. Roothaan *Rev. Mod. Phys.*, **1951**, 23, 69-89.



donde  $\hat{F}$  es el operador de Fock y  $\varepsilon_i$  es el autovalor energético del orbital. Estas funciones monoeléctricas están acopladas entre sí, ya que en el operador de Fock aparecen operadores de repulsión coulombiana  $J_j(r)$  y de intercambio  $K_j(r)$  que, a su vez, dependen del resto de los electrones.

$$\hat{F} = -\frac{1}{2}\nabla^2 - \sum_a \frac{Z_a}{r - r_a} + \sum_j [J_j(r) - K_j(r)] \quad (4.26)$$

$$J_j(r) = \int \frac{X_j^*(r)X_j(r)}{|r - r'|} dr' \quad (4.27)$$

$$K_j(r) = \int \frac{X_j^*(r)X_i(r)}{|r - r'|} dr' \quad (4.28)$$

El método HF (o método del campo autoconsistente SCF) posee una limitación importante: por muy exacta que sea la función de onda que introduzcamos en las ecuaciones HF, el valor calculado de la energía nunca podrá llegar a la solución real, ya que no tiene en cuenta toda la correlación entre los electrones, a pesar de que una parte ya ha sido considerada al hacer antisimétrica la función de onda. Como consecuencia, habrá una diferencia entre la energía HF calculada y la real, denominada energía de correlación y definida como:

$$E_{corr} = E - E_{HF} \quad (4.29)$$

#### 4.2.1.6. Funciones base

La probabilidad de encontrar a un electrón es máxima en zonas cercanas al núcleo y va disminuyendo progresivamente, a medida que nos alejamos de él. Esto se tiene en cuenta para hallar la función de onda en las ecuaciones HF y, tanto los orbitales moleculares como los atómicos, se obtienen como una combinación lineal de funciones base centradas en las posiciones de los núcleos. El conjunto ha de ser lo más completo posible, de modo que con una combinación lineal adecuada, que se puede obtener variacionalmente, se pueda reproducir de forma precisa cualquier función de onda.

El problema es decidir qué funciones matemáticas (y cuantas) se pueden utilizar como conjunto base. Inicialmente, se consideró la utilización de funciones del átomo hidrogenoides, o armónicos esféricos, que, en coordenadas polares, tienen la forma general:

$$\Psi_{nlm}(r, \theta, \phi) = R_{nl}(r)Y_l^m(\theta, \phi) \quad (4.30)$$

siendo  $n$ ,  $l$  y  $m$  los números cuánticos. Consta de una parte radial ( $R$ ) y otra angular ( $Y$ ).

Sin embargo, su utilización presenta grandes problemas a la hora de resolver numéricamente las integrales bielectrónicas, razón por la cual hay que recurrir a otro tipo de orbitales, que son los orbitales STO (*Slater type orbitals*) y los GTO (*Gaussian type orbitals*), los cuales únicamente difieren de los orbitales hidrogenoides en la función radial.

Los orbitales STO tienen la forma:

$$\phi_{nlm_l}^{\text{STO}} = N_{\xi} r^{n-1} e^{-\xi r} Y_l^{m_l} \quad (4.31)$$

en el que  $\xi$  es un parámetro variacional y  $N_{\xi}$  la constante de normalización. Para los orbitales  $1s$ ,  $2p$  y  $3d$ , el orbital STO con  $\xi = 1$  coincide con el orbital hidrogenoide. Sin embargo, estos orbitales no son ortogonales entre sí y presentan las mismas dificultades de integración antes referidas.

Este último inconveniente está resuelto con la utilización de orbitales GTO, los cuales quedan definidos como:

$$\phi_{nlm_l}^{\text{GTO}} = N_{\alpha} r^{n-1} e^{-\alpha r^2} Y_l^{m_l} \quad (4.32)$$

y cuya forma únicamente difiere de los orbitales STO en la función exponencial, lo que hace que se parezcan menos a los hidrogenoides; además siguen sin ser ortogonales. Un solo orbital gaussiano da una representación muy pobre de un orbital atómico, por lo que hay que recurrir a los denominados orbitales gaussianos contraídos, que son combinaciones lineales de funciones gaussianas primitivas, con distintos exponentes:

$$\phi^{\text{CGTO}} = \sum_{p=1}^L d_p g_p^{\text{GTO}} \quad (4.33)$$

siendo  $d_p$  los denominados coeficientes de contracción. Se suelen utilizar de 1 a 7 primitivas que se optimizan variacionalmente a fin de que la función sea lo más similar posible al orbital correspondiente de Slater.

La base mínima será el número mínimo de funciones necesarias para describir el estado fundamental de los átomos en una molécula. Por ejemplo, para la molécula de agua, la base mínima estaría constituida por un orbital  $1s$  por cada hidrógeno más los orbitales  $1s$ ,  $2s$ ,  $2px$ ,  $2py$  y  $2pz$  del átomo de oxígeno; es decir, los orbitales moleculares quedarían expresados como combinación lineal de estas siete funciones atómicas.

Este tipo de bases da un resultado pobre; para resolver esto cada orbital de la base mínima se reemplaza por dos funciones bases de tamaño diferente, expresadas como combinación lineal de las mismas y optimizadas durante el proceso HF. A este tipo de base extendida se le denomina doble zeta (doble- $\xi$ ); una nueva continuación serían las bases triple zeta, cuádruple, etc., en las que, de modo análogo, se va añadiendo cada vez una función adicional para representar cada orbital atómico.

El desdoblamiento de las funciones base se puede aplicar a todos los orbitales atómicos o sólo a los de valencia. En las bases llamadas *split-valence* o funciones de capa de valencia desdobladas<sup>259,260</sup>, los orbitales de las capas internas se representan por una función base y los orbitales de valencia por dos o más funciones base. Se distinguen por la notación K-LMG, donde K, L y M son números enteros; K representa el número de funciones gaussianas contraídas para los orbitales de las capas internas, mientras que para la capa de valencia se usan dos funciones, siendo L y M el número de gaussianas que

<sup>259</sup>J. S. Binkley, J. A. Pople y W. J. Hehre *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 939-947.

<sup>260</sup>M. S. Gordon, J. S. Binkley, J. A. Pople, W. J. Pietro y W. J. Hehre *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 2797-2803.

componen cada uno de estos conjuntos de orbitales. Por ejemplo, la base 3-21G indica que tiene una función gaussiana contraída, combinación lineal de tres funciones primitivas gaussianas, por cada orbital atómico de las capas internas; y dos funciones base, una contraída, combinación lineal de dos gaussianas primitivas, y una función gaussiana primitiva, para cada orbital de valencia. La base 6-311G indicará el uso de 6 funciones gaussianas primitivas para los electrones internos y, para los electrones de valencia, una combinación de 3 conjuntos de funciones, una contraída de 3 primitivas y 2 gaussianas primitivas sin contraer.

Aún se puede aumentar más la calidad de los cálculos: para permitir el desplazamiento de la densidad de carga desde el núcleo hacia las regiones de enlace, se pueden añadir orbitales con un número cuántico  $l$  mayor que el valor máximo de los orbitales de valencia en el estado fundamental del átomo; se denominan funciones de polarización. Así, la base 6-31G\* indica que al conjunto base principal se añaden seis funciones gaussianas tipo  $d$  para cada átomo distinto del hidrógeno, del segundo o tercer periodo. Una base, por ejemplo, 6-31G\*\* indicaría que también se añaden funciones tipo  $p$  para los átomos de hidrógeno.

Todavía hay otra mejora para iones, donde la nube electrónica que lo rodea puede aparecer expandida o contraída, dependiendo de la carga. Para describir esto de una manera precisa, se añaden las llamadas funciones difusas, las cuales poseen exponentes generalmente mayores y corrigen la forma de la nube electrónica, permitiendo un mejor ajuste de la energía del sistema. El uso de estas funciones difusas se denota con el signo + si se quiere implementar solamente en átomos pesados, y ++ si además queremos añadirlas a los átomos de hidrógeno.

#### 4.2.2. Teoría del funcional de la densidad: Métodos DFT

Debido a que el principal defecto de los métodos HF reside en la determinación exacta del término de la repulsión interelectrónica, varios autores propusieron la descripción del sistema sólo a través de la densidad electrónica  $\rho(r)$ , eludiendo el uso de la función de onda y utilizando, para la determinación del término interelectrónico, funciones que dependen directamente de  $\rho(r)$ , llamadas funcionales de la densidad, con las que se intenta reducir esa carencia de los métodos HF. Los actuales métodos DFT, poseen parámetros ajustables para ceñirse mejor a los resultados experimentales, por lo que suelen ser clasificados como métodos semiempíricos. Se han mostrado muy útiles, debido a que incluyen gran parte del término de correlación electrónica y por su reducido coste computacional.

Esta teoría fue desarrollada por Hohenberg y Kohn<sup>261</sup>, los cuales demostraron que la energía de un sistema de  $N$  electrones puede representarse a través de un funcional de su densidad electrónica. Este funcional es independiente del potencial externo, que para los electrones de una molécula, corresponde al creado por los núcleos. El problema es que el funcional no es conocido y lo único que se puede hacer es buscar funcionales que se aproximen lo mejor posible. Como los métodos Hartree-Fock (HF) no implementan

<sup>261</sup>P. Hohenberg y W. Kohn *Phys. Rev. B*, **1964**, *136*, 864-871.

la energía de correlación, el autovalor de la ecuación de HF,  $E_{HF}$ , estará siempre por encima del valor real de la energía, la cual consta de los términos cinético, coulombiano nuclear y el de interacción electrón-núcleo.

$$E \leq E_{HF} = E_T + E_V + E_J \quad (4.34)$$

Lo que le falta a la expresión para igualarse a la energía real, es la energía de correlación que, por definición, no es posible obtenerla por los métodos HF. Los métodos DFT, en cambio, pueden implementar parte de esta energía que falta, y dependiendo del funcional que se utilice, es posible incluso que se sobreestime alguno de los términos que calculan los métodos HF. Se han propuesto una gran variedad de funcionales. Por ejemplo el funcional de Becke88 (ecuación 4.36)<sup>262</sup>, que, basado en una corrección del funcional de Dirac (ecuación 4.35):

$$E_x = -\frac{3}{2} \left( \frac{3}{4\pi} \right)^{\frac{1}{3}} \int \rho^{\frac{4}{3}}(r) dr \quad (4.35)$$

queda de la siguiente forma:

$$E_x = -b \int \rho^{\frac{4}{3}}(r) \frac{x_a^2}{1 + 6\beta x_a \sinh^{-1}(x_a)} dr \quad (4.36)$$

En este funcional se introducen parámetros que mejoran los resultados obtenidos. Uno de los funcionales más utilizados en los últimos años es el funcional híbrido de intercambio de Becke con el funcional de correlación de tres parámetros de Lee, Yang y Parr, más conocido como B3LYP<sup>263,264</sup>, que tiene la forma:

$$-\alpha \int \left[ \frac{\rho}{1 + d\rho^{\frac{-1}{3}}} - \frac{11b}{24} \rho^2 |\nabla\rho|^2 + b \left[ \frac{3}{10} (3\pi^2)^{\frac{2}{3}} \rho^{\frac{8}{3}} + |\nabla\rho|^2 \left( \frac{5}{12} - \frac{7\delta}{72} \right) \right] \alpha d\rho \right] dr \quad (4.37)$$

### 4.2.3. Métodos perturbacionales

Los procedimientos Møller-Plesset<sup>265</sup>, son métodos *post-HF* que también surgen para recuperar parte de la energía de correlación ausente en los métodos HF. El tratamiento del sistema se basa en considerar parte del Hamiltoniano como una perturbación de un Hamiltoniano reducido  $\hat{H}^{(0)}$ .

$$\hat{H} = \hat{H}^{(0)} + \hat{H}^{(1)} \quad (4.38)$$

Como resultado de este tratamiento, tanto la energía como la función de onda queda expresada como una sumatoria de términos:

$$E_i = E^{(0)} + E^{(1)} + E^{(2)} + \dots \quad (4.39)$$

<sup>262</sup>A. D. Becke *Phys. Rev. A*, **1988**, 38, 3098-3100.

<sup>263</sup>A. D. Becke *J. Chem. Phys.*, **1993**, 98, 5648-5652.

<sup>264</sup>C. Lee, W. Yang y R. G. Parr *Phys. Rev. B*, **1988**, 37, 785-789.

<sup>265</sup>C. Møller y M. S. Plesset *Phys. Rev.*, **1934**, 46, 618-622.

$$\Psi_i = \Psi^{(0)} + \Psi^{(1)} + \Psi^{(2)} + \dots \quad (4.40)$$

Y la energía correspondiente al término  $n$  se obtendrá de la siguiente manera:

$$E_i^n = \langle \Psi_i^{(0)} | \hat{H}' | \Psi_i^{(n-1)} \rangle \quad (4.41)$$

La energía de correlación a orden 2 queda como:

$$E_i^{(2)} = \langle \Psi_0^{(0)} | \hat{H}' | \Psi_0^{(1)} \rangle \quad (4.42)$$

$$E_0^{(0)} + E_0^{(1)} = \langle \Psi_0^{(0)} | \hat{H}^{(0)} | \Psi_0^{(0)} \rangle + \langle \Psi_0^{(0)} | \hat{H}' | \Psi_0^{(0)} \rangle = \langle \Psi_0^{(0)} | \hat{H}^{(0)} + \hat{H}' | \Psi_0^{(0)} \rangle = E_{HF} \quad (4.43)$$

$$E_{MP2} = E_{HF} + E^{(2)} \quad (4.44)$$

Según el número de términos que se consideren, resultan los métodos MP2, MP3 y MP4, que aunque en principio podrían aumentar la exactitud de los cálculos, sin embargo, el incremento del número de correcciones hace que las soluciones fluctúen en torno a la solución real.

#### 4.2.4. Métodos teóricos para el cálculo de parámetros de RMN

##### 4.2.4.1. Método GIAO para el cálculo de desplazamientos químicos

El hamiltoniano que describe a una molécula en presencia de un campo magnético  $\vec{B}$ , siendo  $\{\vec{m}_J\}$  el campo debido a los momentos magnéticos nucleares fijos en posiciones  $R_J$ , se puede escribir, en unidades atómicas, en la forma<sup>266</sup>:

$$\hat{H}(\vec{B}, \{\vec{m}_J\}) = \sum_j \hat{h}_j(\vec{B}, \{\vec{m}_J\}) + \frac{1}{2} \sum_{j \neq k} r_{jk}^{-1} = \hat{H}_1(\vec{B}, \{\vec{m}_J\}) + \hat{H}_2 \quad (4.45)$$

donde todas las diferencias con respecto al hamiltoniano de muchos electrones, no relativístico independiente del tiempo, se reduce a un operador modificado de un electrón:

$$\hat{h}_j(\vec{B}, \{\vec{m}_J\}) = \frac{1}{2} [-i \nabla_j + c^{-1} \vec{A}(\vec{r}_j - \vec{R})]^2 - \sum_J Z_J r_{jJ}^{-1} \quad (4.46)$$

en el que  $c$  es la velocidad de la luz,  $Z_J$  es la carga del núcleo  $J$ ,  $r_{jJ}$  es la distancia entre el electrón  $j$  y el núcleo  $J$  y  $r_{jk}$  entre los electrones  $j$  y  $k$ . Por su parte, el vector de potencial para el electrón  $j$  será:

$$\vec{A}(\vec{r}_j - \vec{R}) = \frac{1}{2} \vec{B} \times (\vec{r}_j - \vec{R}) + \sum_J (\vec{m}_J \times \vec{R}_{jJ}) r_{jJ}^{-3} \quad (4.47)$$

el cual depende del parámetro arbitrario  $\vec{R}$  (denominado *gauge origin*, que puede traducirse como origen de calibración). Se puede demostrar que, tanto la energía espectral de  $\hat{H}(\vec{B}, \{\vec{m}_J\})$ , como otras propiedades electrónicas de la molécula son independientes de

<sup>266</sup>R. Ditchfield *J. Chem. Phys.*, **1972**, *56*, 5688-5691.

la elección de dicho parámetro<sup>267</sup>.

Sin embargo, si los cálculos resultado de aplicar el hamiltoniano 4.45 no se realizan con un conjunto de bases completo sino con conjuntos de bases finitos, como regla general producen resultados dependientes de la elección del *gauge*<sup>268</sup>. Una forma de minimizar los errores asociados a este hecho es emplear técnicas que introducen orígenes de calibración locales para definir el vector potencial del campo magnético externo. El método más utilizado es el método GIAO (*gauge-independent atomic orbital method*)<sup>269,270</sup>, que, para describir la molécula en un campo magnético, utiliza orbitales moleculares que dependen explícitamente de dicho campo:

$$\chi_p(\vec{B}) = \exp \left\{ -\frac{i}{2c} [\vec{B} \times (\vec{R}_p - \vec{R})] \cdot \vec{r} \right\} \chi_p(\vec{0}) \quad (4.48)$$

donde  $\chi_p(\vec{0})$  es un orbital atómico habitual, independiente del campo magnético, asociado al centro atómico en  $\vec{R}_p$ . Cada orbital GIAO tiene su propio origen de calibración local situado en su centro.

Una vez se tiene establecido este esquema, los elementos del tensor del apantallamiento químico de RMN de un núcleo  $J$  se pueden expresar como la derivada parcial segunda de la energía molecular en presencia de un campo magnético  $\vec{B}$  con respecto a los componentes del momento magnético nuclear  $\vec{m}_J$  y  $\vec{B}$ :

$$\sigma_{J,\alpha\beta} = \frac{\partial^2 E}{\partial m_{J,\alpha} \partial B_\beta} \Big|_{\vec{B}=\vec{0}, \forall \vec{m}_J=0} \quad (\alpha, \beta \in \{x, y, z\}) \quad (4.49)$$

que desarrollando, queda como:

$$\sigma_{J,\alpha\beta} = \sum_{p,q} P_{pq}(\vec{0}) \frac{\partial^2 h_{qp}(\vec{B}, \{\vec{m}_J\})}{\partial m_{J,\alpha} \partial B_\beta} \Big|_{\vec{B}=\vec{0}, \forall \vec{m}_J=0} + \sum_{p,q} \frac{\partial P_{pq}(\vec{B})}{\partial B_\beta} \Big|_{\vec{B}=\vec{0}} \frac{\partial h_{qp}(\vec{B}, \{\vec{m}_J\})}{\partial m_{J,\alpha}} \Big|_{\vec{B}=\vec{0}, \forall \vec{m}_J=0} \quad (4.50)$$

$\sigma_J$  es un tensor de rango dos que se puede expresar como la suma de tres tensores, uno de rango cero, otro de rango uno y otro de rango dos<sup>271</sup>:

$$\sigma_J = \sigma_{J,\text{iso}} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 & \sigma_{J,xy}^A & \sigma_{J,xz}^A \\ -\sigma_{J,xy}^A & 0 & \sigma_{J,yz}^A \\ -\sigma_{J,xz}^A & \sigma_{J,yz}^A & 0 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} d_{J,xx} & d_{J,xy} & d_{J,xz} \\ d_{J,xy} & d_{J,yy} & d_{J,yz} \\ d_{J,xz} & d_{J,yz} & d_{J,zz} \end{pmatrix} \quad (4.51)$$

donde  $\sigma_{J,\text{iso}}$  es el apantallamiento isotrópico:

$$\sigma_{J,\text{iso}} = \frac{1}{3} (\sigma_{J,xx} + \sigma_{J,yy} + \sigma_{J,zz}) \quad (4.52)$$

<sup>267</sup>P. B. Karadakov *Modern Magnetic Resonance (Ed. Springer Netherlands)*, **2006**, 59-66.

<sup>268</sup>T. Helgaker, M. Jaszuński y K. Ruud *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 293-352.

<sup>269</sup>R. Ditchfield *Mol. Phys.*, **1974**, 27, 789-807.

<sup>270</sup>K. Wolinski, J. F. Hinton y P. Pulay *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 8251-8260.

<sup>271</sup>S. A. Smith, W. E. Palke y J. T. Gerig *Concepts Magn. Reson.*, **1992**, 4, 107-144.

$\sigma_{J,\alpha\beta}^A$  se refiere al parámetro antisimétrico:

$$\sigma_{J,\alpha\beta}^A = \frac{1}{2}(\sigma_{J,\alpha\beta} - \sigma_{J,\beta\alpha}) \quad (4.53)$$

y las cantidades  $d_{J,\alpha\beta}$  vienen dadas por:

$$d_{J,\alpha\beta} = \frac{1}{2}(\sigma_{J,\alpha\beta} + \sigma_{J,\beta\alpha} - 2\sigma_{J,\text{iso}}) \quad (4.54)$$

Finalmente, los valores teóricos de los desplazamientos químicos se pueden obtener mediante la expresión:

$$\delta_J = (\sigma_{J,\text{iso,ref}} - \sigma_{J,\text{iso}})/(1 - \sigma_{J,\text{iso,ref}}) \simeq \sigma_{J,\text{iso,ref}} - \sigma_{J,\text{iso}} \quad \text{para } |\sigma_{J,\text{iso,ref}}| \ll 1 \quad (4.55)$$

en la que  $\sigma_{J,\text{iso,ref}}$  es el apantallamiento isotrópico absoluto del núcleo  $J$  en una molécula de referencia.

Los mejores resultados del método se obtienen con geometrías moleculares optimizadas con metodología DFT<sup>272</sup>, especialmente con B3LYP, siendo suficiente, para obtener resultados precisos, utilizar una base 6-31G(d)<sup>273</sup>.

#### 4.2.4.2. Cálculos de las constantes de acoplamiento indirecto espín-espín

Considerando la aproximación de Born-Oppenheimer, estas constantes se pueden calcular como propiedades moleculares de segundo orden, independientes del tiempo, causadas por los campos magnéticos generados por los núcleos estacionarios<sup>274</sup>, si bien, el cálculo preciso de las mismas<sup>268</sup> es mucho más complicado que en el caso de los desplazamientos químicos, por diversas razones.

Desde un punto de vista no relativístico, hay cuatro mecanismos que contribuyen a las constantes de acoplamiento: el mecanismo diamagnético espín-orbital (DSO), el mecanismo paramagnético espín-orbital (PSO), el contacto de Fermi (FC), el cual suele ser la contribución predominante y que depende críticamente de la densidad electrónica del núcleo, y el mecanismo espín-dipolo (SD). En general, los métodos *ab initio* y en particular, el modelo Hartee-Fock dan muy pobres resultados. Sin embargo los métodos DFT, y en particular el funcional híbrido B3LYP soslayan los problemas derivados de aquellos métodos, constituyéndose como una herramienta útil para el estudio teórico de las constantes de acoplamiento<sup>275,276</sup>.

El tensor que define el acoplamiento espín-espín para dos núcleos  $N$  y  $M$  es:

$$\vec{J}_{NM} = \frac{1}{h} \frac{\partial^2 E}{\partial \vec{I}_N \partial \vec{I}_M} \quad (4.56)$$

que en una fase isotrópica dará lugar a la constante de acoplamiento espín-espín, de

<sup>272</sup>C. J. Jameson *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **1996**, *47*, 135-169.

<sup>273</sup>R. J. Abraham y M. Mobli *Spectroscopy Europe*, **2004**, *16*, 16-22.

<sup>274</sup>N. F. Ramsey *Phys. Rev.*, **1953**, *91*, 303-307.

<sup>275</sup>T. Helgaker, M. Watson y N. C. Handy *J. Chem. Phys.*, **2000**, *113*, 9402-9409.

<sup>276</sup>V. Barone, J. E. Peralta, R. H. Contreras y J. P. Snyder *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 5607-5612.

valor:

$$J_{NM} = \frac{1}{3} \text{Tr}(\vec{J}_{NM}) \quad (4.57)$$

$E$  es la energía electrónica del sistema calculada por aplicación del hamiltoniano no relativístico de Ramsey (aproximación)<sup>274</sup>, que contempla la interacción entre los momentos magnéticos nucleares y los electrones como suma de los cuatro términos perturbativos:

$$\hat{H} = \sum_{N < M} \hbar^2 \gamma_N \gamma_M \vec{I}_N \cdot \vec{h}_{NM}^{\text{DSO}} \cdot \vec{I}_M + \sum_{N < M} \hbar \gamma_N \vec{I}_N \cdot (\vec{h}_N^{\text{FC}} + \vec{h}_N^{\text{SD}} + \vec{h}_N^{\text{PSO}}) \quad (4.58)$$

donde, estos cuatro términos, que se corresponden con los cuatro mecanismos anteriormente indicados, toman la siguiente forma:

$$\vec{h}_{NM}^{\text{DSO}} = \frac{\alpha^4}{2} \sum_k \frac{(\vec{r}_{kN} \cdot \vec{r}_{kM}) \vec{I} - \vec{r}_{kN} \vec{r}_{kM}^t}{r_{kN}^3 r_{kM}^3} \quad (4.59)$$

$$\vec{h}_N^{\text{PSO}} = \alpha^2 \sum_k \frac{\vec{I}_{kN}}{r_{kN}^3} \quad (4.60)$$

$$\vec{h}_N^{\text{SD}} = \alpha^2 \sum_k \vec{S}_k \cdot (\nabla_k \vec{F}_N) \quad (4.61)$$

$$\vec{h}_N^{\text{FC}} = \frac{8\pi}{3} \alpha^2 \sum_k \vec{S}_k \delta(\vec{r}_{kN}) \quad (4.62)$$

donde  $\vec{I}_{kN}$  es el momento angular del electrón  $k$  relativo al núcleo  $N$ ;  $\vec{S}_k$  es el operador espín asociado y  $(\nabla_k \vec{F}_N)$  es el gradiente del campo eléctrico debido al electrón  $k$  localizado en el núcleo  $N$ .

## 4.3. Dinámica Molecular

### 4.3.1. Introducción

La dinámica molecular (DM) es una de las principales herramientas para el estudio de biomoléculas. Las simulaciones de DM permiten el estudio de procesos dinámicos complejos de los sistemas biológicos tales como: estabilidad de proteínas, cambios conformacionales, reconocimiento molecular de biomoléculas, transporte de iones, etc. Es una herramienta teórica clave en el desarrollo de nuevos medicamentos y como ayuda en la determinación estructural de rayos X y RMN.

El método fue empleado por primera vez por Alder y Wainwright en la década de los 50<sup>277,278</sup>, de cuyos estudios se obtuvieron relevantes conclusiones sobre el comportamiento de los líquidos. Otros destacables avances fueron: la primera simulación del

<sup>277</sup>B. J. Alder y T. E. Wainwright *J. Chem. Phys.*, **1957**, 27, 1208-1209.

<sup>278</sup>B. J. Alder y T. E. Wainwright *J. Chem. Phys.*, **1959**, 31, 459-466.



argón líquido<sup>279</sup> y la primera simulación de un sistema real (agua líquida)<sup>280</sup>. La primera simulación de una proteína fue realizada, por McCammon y cols.<sup>281</sup>, con el estudio del inhibidor de la tripsina pancreática bovina (BPTI). Desde entonces hasta hoy día, la técnica se ha utilizado amplísimamente y el número de formas de simulación ha sufrido una gran expansión, existiendo incluso técnicas especializadas para problemas particulares.

La DM se basa en la segunda ley del movimiento de Newton,  $F = ma$ , donde  $F$  es la fuerza ejercida sobre una partícula,  $m$  es su masa y  $a$  su aceleración. Conociendo la fuerza ejercida sobre cada átomo es posible determinar su aceleración en el sistema. La integración de las ecuaciones del movimiento, producirá entonces una trayectoria que describe las posiciones, velocidades y aceleraciones de las partículas en función del tiempo. A partir de esta trayectoria, se pueden determinar los valores promedio de las propiedades del sistema. El método es determinístico: una vez que se conocen las posiciones y velocidades de cada átomo, se puede predecir el estado del sistema para cualquier valor del tiempo.

### 4.3.2. Fundamento teórico

#### 4.3.2.1. Mecánica clásica

El método consiste en la resolución (integración) del sistema de ecuaciones diferenciales dada por la segunda ley de Newton:

$$m_i \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} = \vec{f}_i \quad \text{para} \quad i = 1, \dots, N \quad (4.63)$$

donde  $m_i$  y  $\vec{r}_i$  son la masa y posición (coordenadas) de la partícula  $i$ , y la fuerza viene expresada en función del gradiente de la energía potencial  $\mathcal{V}(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N)$ :

$$\vec{f}_i = -\nabla_{\vec{r}_i} \mathcal{V} \quad (4.64)$$

El resultado de la integración nos dará información sobre cómo varían las posiciones y velocidades de las partículas del sistema en función del tiempo, a lo cual se le denomina trayectoria.

Para simplificar, se utilizan los momentos atómicos  $\vec{p}_i$ , de manera que la energía cinética se puede escribir como  $\mathcal{K} = \sum_{i=1}^N |\vec{p}_i|^2 / 2m_i$ . De esta forma, la energía total (hamiltoniano) se puede escribir como la suma de los términos cinéticos y de potencial:  $\mathcal{H} = \mathcal{K} + \mathcal{V}$  y escribir las ecuaciones clásicas del movimiento en la forma:

$$\frac{d\vec{r}_i}{dt} = \vec{p}_i / m_i \quad \text{y} \quad \frac{d\vec{p}_i}{dt} = \vec{f}_i \quad (4.65)$$

Este es un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que se debe resolver mediante integración numérica paso a paso. Existen muchos métodos para ello, pero el más

<sup>279</sup>A. Rahman *Phys. Rev.*, **1964**, *136*, A405-A411.

<sup>280</sup>F. H. Stillinger y A. Rahman *J. Chem. Phys.*, **1974**, *60*, 1545-1557.

<sup>281</sup>J. A. McCammon, B. R. Gelin y M. Karplus *Nature*, **1977**, *267*, 585.

utilizado, por sus ventajas<sup>282</sup>, es el algoritmo de Verlet, del que existen varias versiones esencialmente equivalentes: el método original<sup>283,284</sup>, el del salto de la rana (*leapfrog*)<sup>285</sup> y el algoritmo de la velocidad de Verlet<sup>286</sup>. Este último se puede expresar como:

$$\vec{p}_i(t + \frac{1}{2}\Delta t) = \vec{p}_i(t) + \frac{1}{2}\Delta t \vec{f}_i(t) \quad (4.66a)$$

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = \vec{r}_i(t) + \Delta t \vec{p}_i(t + \frac{1}{2}\Delta t) / m_i \quad (4.66b)$$

$$\vec{p}_i(t + \Delta t) = \vec{p}_i(t + \frac{1}{2}\Delta t) + \frac{1}{2}\Delta t \vec{f}_i(t + \Delta t) \quad (4.66c)$$

Sobre esta base teórica, el esquema básico de funcionamiento de una simulación de DM será:

1. Se establecen los parámetros para la simulación: temperatura inicial, paso del tiempo,  $\Delta t$ , tiempo total de simulación, etc.
2. Se ajusta el sistema, asignando las posiciones y velocidades iniciales:

Las posiciones iniciales de los átomos se pueden obtener a partir de estructuras experimentales, determinadas por rayos X o por RMN, o bien modelizadas teóricamente. Por su parte, las velocidades iniciales  $v_i$  se suelen escoger aleatoriamente a partir de una distribución de Maxwell-Boltzmann, la cual da la probabilidad  $\mathcal{P}$  de que un átomo  $i$  tenga una velocidad  $v_\alpha$  en la dirección  $\alpha(x, y, z)$  a una temperatura  $T$ :

$$\mathcal{P}(v_{i\alpha}) = \left( \frac{m_i}{2\pi k_B T} \right)^{1/2} \exp \left[ -\frac{m_i v_{i\alpha}^2}{2k_B T} \right] \quad \text{siendo} \quad \alpha = x, y, z \quad (4.67)$$

Normalmente, las velocidades se ajustan de forma que  $\vec{p} = \sum_{i=1}^N m_i \vec{v}_i = 0$  (momento global nulo).

3. Se calculan las fuerzas sobre todas las partículas.
4. Se integran las ecuaciones del movimiento. Este paso y el anterior se van repitiendo, durante el tiempo total de simulación estipulado, para calcular la evolución temporal del sistema. En cada paso, se van guardando en un archivo, para su posterior análisis, las posiciones, velocidades, fuerzas, etc. El tiempo total de la simulación dependerá del tamaño del sistema, de las propiedades físicas de interés<sup>282</sup> y, por supuesto, de los recursos computacionales disponibles. Normalmente los tiempos que se emplean son de  $10^3$  a  $10^6$  etapas, que se corresponden con un

<sup>282</sup>M. P. Allen. «Introduction to molecular dynamics simulation» Computational soft matter: from synthetic polymers to proteins, lecture notes, Norbert Attig, Kurt Binder, Helmut Grubmüller, Kurt Kremer (Eds.), John von Neumann Institute for Computing, Jülich, NIC Series, Vol. 23, ISBN 3-00-01264-4, pp. 1-28, **2004**.

<sup>283</sup>L. Verlet *Phys. Rev.*, **1967**, *159*, 98-103.

<sup>284</sup>L. Verlet *Phys. Rev.*, **1968**, *165*, 201-214.

<sup>285</sup>M.P. Allen and D.J. Tildesley, «Computer simulation of liquids», Clarendon Press, Oxford (**1989**).

<sup>286</sup>W. C. Swope, H. C. Andersen, P. H. Berens y K. R. Wilson *J. Chem. Phys.*, **1982**, *76*, 637-649.

tiempo real de unos pocos nanosegundos, aunque en algunos casos especiales se trabaja en la escala del microsegundo<sup>287</sup>.

#### 4.3.2.2. La función de potencial

Como se ha indicado, el cálculo de las fuerzas se hace a través de la energía potencial obtenida en cada paso. En general, la energía potencial  $\mathcal{V}$  de un sistema de  $N$  átomos se puede expresar como sigue:

$$\mathcal{V} = \sum_{i=1}^N u_1(\vec{r}_i) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N u_2(\vec{r}_i, \vec{r}_j) + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \sum_{k>j>1}^N u_3(\vec{r}_i, \vec{r}_j, \vec{r}_k) + \dots \quad (4.68)$$

donde el primer término  $u_1$  representa las interacciones de un cuerpo (fuerza externa),  $u_2$  las interacciones entre dos cuerpos y así sucesivamente; los términos mayores serán la interacción de muchos cuerpos, que tienen en cuenta los efectos de *cluster* sobre un átomo por estar rodeados de varios.

El mejor método para obtener las fuerzas que actúan sobre los átomos es por medio de la Mecánica Cuántica, resolviendo la ecuación de Schrödinger para un sistema de  $N$  partículas interactuando entre ellas. Sin embargo el costo computacional para hacer esto es altísimo e inviable para la mayoría de las macromoléculas. A pesar de ello, hay algunos métodos que intentan aplicar los métodos *ab initio*, como es el caso del método de Car-Parrinello, el cual combina la DM con métodos del funcional de la densidad<sup>288,289</sup>; o bien el método QM/MM<sup>290-293</sup> que, en los cálculos de DM para estudiar la interacciones enzima-inhibidor, combina métodos *ab initio* para el cálculo del ligando y mecánica molecular para la proteína.

No queda pues más remedio que recurrir a la mecánica molecular; lo habitual es utilizar los campos de fuerza que se han desarrollado para tratar con macromoléculas (proteínas y polímeros): AMBER, CHARMM, OPLS, etc., que, a pesar de tener funcionales más simples que otros, ofrecen buenos resultados.

#### 4.3.2.3. Dinámicas con restricción de los grados de libertad

A lo largo de una optimización o dinámica, basada en métodos de mecánica molecular, es posible encontrar situaciones en las que o bien no se exploran las proximidades del mínimo global o el sistema es incapaz de abandonar por sí mismo una determinada conformación durante la simulación. Por ello, cuando se busca hallar un mínimo global, o explorar el mayor número de conformaciones posibles, se puede emplear un algoritmo

<sup>287</sup>Y. Duan y P. A. Kollman *Science*, **1998**, 282, 740-.

<sup>288</sup>R. Car y M. Parrinello *Phys. Rev. Lett.*, **1985**, 55, 2471-2474.

<sup>289</sup>D. K. Remler y P. A. Madden *Molec. Phys.*, **1990**, 70, 921-966.

<sup>290</sup>E. Pellegrini y M. J. Field *J. Phys. Chem. A*, **2002**, 106, 1316-1326.

<sup>291</sup>K. Nam, J. Gao y D. M. York *J. Chem. Theory Comput.*, **2005**, 1, 2-13.

<sup>292</sup>T. Krüger, M. Elstner, P. Schiffels y T. Frauenheim *J. Chem. Phys.*, **2005**, 122, 114110-114115.

<sup>293</sup>M. Elstner, D. Porezag, G. Jungnickel, J. Elstner, M. Haugk, Th. Frauenheim, S. Suhai y G. Seifert *Phys. Rev. B*, **1998**, 58, 7260-7268.

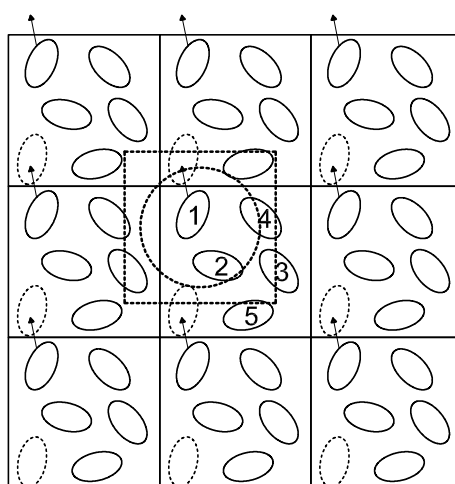
que aplique, durante un cierto tiempo, un conjunto de fuerzas y velocidades aleatorias que permita al sistema bajo estudio acceder a nuevas conformaciones.

Sin embargo, hay que considerar que el estiramiento de los enlaces intramoleculares supone una variación energética mayor que la correspondiente a la variación de los ángulos de valencia o de los diedros. Por esa razón, tras una distorsión aleatoria, en la posterior optimización, la restitución de las longitudes de enlace va a ostentar un mayor peso que la variación de los ángulos, que es de lo que más depende la exploración conformacional.

Para evitar esto, en estos procesos se suele fijar la longitud de los enlaces, con lo que no sólo se posibilita una mayor exploración, sino que se reduce el coste computacional, lo que típicamente permite ampliar el número de ciclos de la búsqueda. Dos métodos que realizan esto son el denominado SHAKE (para el algoritmo original de Verlet) y el RATTLE<sup>294</sup> (para el algoritmo de la velocidad de Verlet).

#### 4.3.2.4. Condiciones de contorno periódicas

Para simular el sistema macroscópico —estado líquido (*bulk*)—, se suelen emplear condiciones de contorno periódicas, ya que así se minimizan los efectos superficiales. Si consideramos un sistema con una serie de átomos encerrados en un cubo, incluso si tuviésemos un millón de átomos, casi un 6 % estarían sobre la superficie de dicho cubo, lo cual ya afecta a los cálculos de las propiedades del sistema. Esto se soluciona rodeando el cubo de réplicas de él mismo (véase la figura 4.4); ahora bien, si consideramos el cálculo de la fuerza sobre la partícula 1 de la figura y la energía potencial que la involucra, teniendo en cuenta sólo las interacciones diatómicas, deberíamos calcular las interacciones entre la partícula 1 y el resto de las partículas, y además con todas las imágenes de las réplicas, lo que daría lugar a un número infinito de interacciones, que harían inviable su cálculo.



**Figura 4.4:** Ilustración de las condiciones de contorno periódicas, convención de mínima imagen y radio de corte.

<sup>294</sup>H. C. Andersen *J. Comput. Phys.*, **1983**, 52, 24-34.

Para solucionar esto, se recurre al convenio de mínima imagen: si la fuerza es de corto rango, se considerarán sólo las partículas cercanas a la partícula 1 y si la interacción es a mayor distancia, simplemente se ignora. Lo que se hace es: tomando como centro a la partícula 1, se construye una caja del mismo tamaño y forma que la caja original (en la figura, el cubo con línea discontinua) y sólo se consideran las interacciones entre la partícula 1 y el resto de partículas que se encuentran dentro de esta última caja, por lo que sólo habrá ahora  $N - 1$  interacciones a calcular para la partícula 1.

#### 4.3.2.5. Radio de corte

Por otra parte, la contribución a la energía y a las fuerzas sobre una partícula provienen de sus vecinos más cercanos, por lo que se suelen tener en cuenta sólo potenciales de corto alcance que normalmente no van más allá de quintos vecinos e introducir un radio de corte (*cutoff*),  $r_c$ , de tal forma que  $u(r_{ij}) = 0$  si  $r_{ij} > r_c$  y, para asegurar que las fuerzas y la energía potencial tiendan suavemente a 0 en  $r = r_c$ , se puede usar un ajuste del tipo:

$$\mathcal{V}(r) \longrightarrow \mathcal{V}(r) - \mathcal{V}(r)|_{r=r_c} - (r - r_c) \left. \frac{d\mathcal{V}}{dr} \right|_{r=r_c} \quad (4.69)$$

Así, ya no se evalúan las  $N - 1$  interacciones, sino que se restringen a las que están dentro de la esfera (de radio  $r_c$ ) de influencia del potencial, como se ilustra en la figura 4.4

#### 4.3.2.6. Lista de vecinos

Con la introducción del radio de corte hemos conseguido que la evaluación de la energía y la fuerza se haga para un número mucho menor que  $N - 1$ . Sin embargo, en cada paso hay que examinar la distancia entre todos los pares de partículas para saber cuál está fuera o cuál está dentro del radio de corte, lo que conlleva un tiempo de cálculo proporcional a  $N^2$ .

Verlet<sup>283</sup> ideó un sistema para mejorar la velocidad de los cálculos, consistente en crear una lista de vecinos, los cuales se encuentran dentro de un radio  $r_l$  de cada partícula; la lista se renueva cada cierto número de pasos. De esta manera sólo se examinan en cada paso, las distancias entre la partícula  $i$  y sus partículas vecinas, reduciendo considerablemente el tiempo computacional. El método presupone que los vecinos que están dentro de la lista no varían mucho entre paso y paso, y que sólo cada cierto número de pasos, unas partículas entran y otras salen, por lo que periódicamente la lista debe ser renovada.

Un radio de corte  $r_l$  más grande, hará que haya de reconstruirse la lista menos frecuentemente, pero no ahorrará tanto tiempo computacional como con un valor pequeño, por lo que la elección del mismo vendrá dada por la experimentación.

Para sistemas de más de 5000 partículas existen métodos más eficientes como el *link-cell-list*<sup>295,296</sup>.

<sup>295</sup>B. Quentrec y C. Brot *J. Comput. Phys.*, **1973**, *13*, 430-432.

<sup>296</sup>J. S. Sims y N. Martys *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, **2004**, *109*, 267-277.

### 4.3.3. Aplicación de la Mecánica Estadística

La DM da la información a nivel microscópico y debe ser trasladada al nivel macroscópico para que se puedan estudiar propiedades observables tales como presión, energía, calor específico, etc. Para ello se requiere la aplicación de la mecánica estadística, la cual aporta expresiones matemáticas rigurosas, que relacionan las propiedades macroscópicas con la distribución y movimiento de los átomos y moléculas, en un sistema. Una vez resuelta la ecuación del movimiento de las partículas y evaluadas estas fórmulas matemáticas, se pueden estudiar las propiedades termodinámicas y los fenómenos dependientes del tiempo (cinéticos).

El estado termodinámico de un sistema se define normalmente por un pequeño conjunto de parámetros, como por ejemplo la temperatura  $T$ , la presión  $P$  y el número de partículas  $N$ , pudiéndose derivar, de éstos, el resto de propiedades termodinámicas.

Por otra parte, el estado microscópico de un sistema se define por las posiciones atómicas  $\vec{r}$  y sus momentos  $\vec{p}$ , las cuales se consideran coordenadas en un espacio multidimensional denominado espacio de fase (para un sistema de  $N$  partículas, el espacio tendrá  $6N$  dimensiones).

Se denomina *ensemble* al conjunto de todos los posibles sistemas que tienen diferentes microestados, pero que tienen un mismo estado termodinámico macroscópico. Una simulación de DM generará una secuencia de puntos en el espacio de fase en función del tiempo, puntos que perteneciendo al mismo *ensemble* se corresponderán a diferentes conformaciones del sistema y sus respectivos momentos.

La mecánica estadística nos permitirá hallar los promedios de las diferentes propiedades del sistema microscópico, de forma que haya una correspondencia con los datos experimentales (macroscópicos). En DM hay que hacer uso de una de las premisas fundamentales de la mecánica estadística, que es la hipótesis ergódica, que establece que:

$$\langle A \rangle_{ensemble} = \langle A \rangle_{tiempo} \quad (4.70)$$

donde  $A(p^N, r^N)$  es el observable en el que estemos interesados y  $\langle A \rangle_{ensemble}$  su valor promedio, dado por:

$$\langle A \rangle_{ensemble} = \iint dp^N dr^N A(p^N, r^N) \rho(p^N, r^N) \quad (4.71)$$

donde, la densidad de probabilidad del ensemble,  $\rho$ , viene dada por:

$$\rho(p^N, r^N) = \frac{1}{Q} e^{-H(p^N, r^N)/K_B T} \quad (4.72)$$

siendo  $H$  el Hamiltoniano,  $T$  la temperatura,  $K_B$  la constante de Boltzmann y  $Q$  la función de partición, cuyo valor es:

$$Q = \iint dp^N dr^N e^{-H(p^N, r^N)/K_B T} \quad (4.73)$$

La integral es muy difícil de calcular por lo que en DM se acostumbra a calcular el

promedio temporal de  $A$ , mediante la ecuación:

$$\langle A \rangle_{\text{tiempo}} \approx \frac{1}{M} \sum_{t=1}^M A(p^N, r^N) \quad (4.74)$$

siendo  $t$  el tiempo de la simulación,  $M$  el número de etapas de la simulación y  $A(p^N, r^N)$  el valor instantáneo de  $A$ .

Como ejemplo tenemos los valores promedios de las energías potencial y cinética:

$$\mathcal{V} = \langle \mathcal{V} \rangle = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M \mathcal{V}_i \quad (4.75)$$

$$\mathcal{K} = \langle \mathcal{K} \rangle = \frac{1}{M} \sum_{j=1}^M \left\{ \sum_{i=1}^N \frac{m_i}{2} v_i \cdot v_i \right\}_j \quad (4.76)$$

siendo  $M$  el número de configuraciones en la simulación,  $\mathcal{V}_i$  la energía potencial de cada configuración,  $N$  el número de átomos en el sistema,  $m_i$  sus masas y  $v_i$  su velocidad.

## 4.4. Tratamiento teórico del disolvente

### 4.4.1. Introducción

De manera general, existen dos modelos teóricos para tener en cuenta el efecto del disolvente. Uno, que es el más obvio, trata el disolvente de forma explícita: en la simulación, sus moléculas se sitúan alrededor del soluto<sup>297</sup>; y un segundo modelo, que lo que hace es considerarlo de forma implícita (modelo del continuo)<sup>298–300</sup>. El primer método da una información detallada y generalmente más precisa, pero es a costa de un mayor tiempo de computación, frente al segundo método que es más simple, aunque menos preciso, porque ignora los efectos debidos a las interacciones de corto alcance, y más rápido desde el punto de vista computacional.

### 4.4.2. Métodos de cálculo con disolvente explícito

Desde un punto de vista microscópico, la solvatación da lugar, tanto a interacciones entre el soluto y el disolvente, como a interacciones entre las propias moléculas del disolvente en las cercanías del soluto.

La definición de Ben-Naim<sup>301,302</sup>, establece la solvatación de un soluto como el proceso en el que una partícula del mismo se transfiere desde una posición fija en fase gas a otra posición fija en disolución, a temperatura, presión y composición del disolvente constantes. Ateniéndonos a esta definición, la energía libre de solvatación ( $\Delta G_{sol}$ ), que

<sup>297</sup>M. Orozco y F. J. Luque *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 4187-4225.

<sup>298</sup>J. Tomasi y M. P. Maurizio *Chem. Rev.*, **1994**, *94*, 2027-2094.

<sup>299</sup>C. J. Cramer y D. G. Truhlar *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2161-2200.

<sup>300</sup>J. Tomasi, B. Mennucci y R. Cammi *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 2999-3093.

<sup>301</sup>A. Ben-Naim *J. Phys. Chem.*, **1978**, *82*, 792-803.

<sup>302</sup>A. Ben-Naim y Y. Marcus *J. Chem. Phys.*, **1984**, *81*, 2016-2027.

es el parámetro clave para definir la solvatación<sup>303,304</sup>, queda definida como el trabajo reversible empleado en la transferencia de soluto, en aquellas condiciones en que la densidad en fase gas es la misma que en disolución y se puede determinar mediante la ecuación:

$$\Delta G_{sol} = \Delta G_{ele} + \Delta G_{vw} + \Delta G_{cav} \quad (4.77)$$

donde,  $\Delta G_{ele}$  es la contribución electrostática;  $\Delta G_{vw}$  son las fuerzas de dispersión-repulsión de van der Waals (denominadas a veces como contribuciones no electrostáticas) entre el soluto y las moléculas de disolvente; y  $\Delta G_{cav}$  es la energía libre de cavitación (o contribución estérica) debida a la rotura de las fuerzas de cohesión que existen entre las moléculas del disolvente (desfavorable para la solvatación).

Se pueden utilizar tres niveles de teoría para representar de forma explícita las interacciones moleculares de los sistemas solvatados: a nivel de mecánica cuántica (QM), a nivel de mecánica molecular (MM) y mediante métodos mixtos (QM/MM). El tratamiento QM puro es el más riguroso, pero no es útil para sistemas grandes por el gran costo computacional; de ahí la utilización de los métodos QM/MM que tratan el soluto o una parte de él (por ejemplo el centro activo de la proteína) al nivel de QM (*ab initio*<sup>305-308</sup> o DFT<sup>309,310</sup>), mientras que el resto del sistema lo hacen por medio de métodos de MM. Para los estudios bioquímicos, son los métodos de MM los más utilizados, combinados con algoritmos estocásticos como el de Monte Carlo (MC) o con algoritmos de DM.

#### 4.4.2.1. Implementación de disolvente explícito en los métodos de MM

En los modelos explícitos no se incluyen nuevos términos (potenciales) en los campos de fuerza, sino que se añaden los parámetros que definen la molécula de disolvente. El cálculo del potencial total incluirá la suma de los átomos del soluto más las moléculas de disolvente que se sitúan en una caja de simulación.

Existen diferentes modelos explícitos que usan agua como disolvente:

1. Modelos simples que conllevan un menor costo computacional. En estos, la molécula de agua se considera rígida y los pares electrostáticos e interacciones de van der Waals se modelizan mediante potenciales de Coulomb y de Lennard-Jones, respectivamente. Algunos modelos son: SPC y SPC/E<sup>311</sup>, TIP3P<sup>312</sup>, BF<sup>313</sup>,

<sup>303</sup>P. Kollman *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 2395-2417.

<sup>304</sup>W. L. Jorgensen *Acc. Chem. Res.*, **1989**, 22, 184-189.

<sup>305</sup>R. P. Muller y A. Warshel *J. Phys. Chem.*, **1995**, 99, 17516-17524.

<sup>306</sup>M. Freindorf y J. Gao *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 386-395.

<sup>307</sup>J. Bentzien, R. P. Muller, J. Florián y A. Warshel *J. Phys. Chem. B*, **1998**, 102, 2293-2301.

<sup>308</sup>R. A. Bryce, M. A. Vincent e I. H. Hillier *J. Phys. Chem. A*, **1999**, 103, 4094-4100.

<sup>309</sup>M. Strnad, M. T. C. Martins-Costa, C. Millot, I. Tuñón, M. F. Ruiz-López y J. L. Rivail *J. Chem. Phys.*, **1997**, 106, 3643-3657.

<sup>310</sup>P. Amara, A. Volbeda, J. C. Fontecilla-Camps y M. J. Field *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 4468-4477.

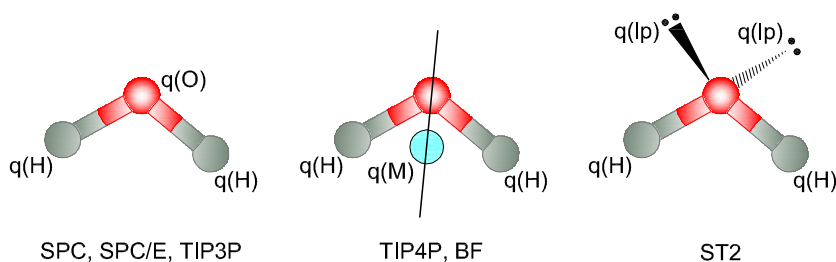
<sup>311</sup>H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera y T. P. Straatsma *J. Phys. Chem.*, **1987**, 91, 6269-6271.

<sup>312</sup>W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey y M. L. Klein *J. Chem. Phys.*, **1983**, 79, 926-935.

<sup>313</sup>J. D. Bernal y R. H. Fowler *J. Chem. Phys.*, **1933**, 1, 515-548.



modelo	dist. enlace (Å)	ángulo enlace	q(O)	q(H)
SPC	1,0	109,47	-0,82	0,41
SPC/E	1,0	109,47	-0,8472	0,4238
TIP3P	0,9572	104,52	-0,834	0,417
BF	0,96	105,7	0,0	0,49
TIP4P	0,9572	104,52	0,0	0,52
ST2	1,0	109,47	0,0	0,2375



**Figura 4.5:** Diferentes modelos rígidos para la molécula de agua.

TIP4P<sup>314</sup>, ST2<sup>315</sup> y TIP5P<sup>316</sup> (véanse en la figura 4.5).

2. Modelos flexibles, que incluyen cambios conformacionales en la molécula de agua al considerar tensiones y flexiones de enlace.
3. Modelos de agua polarizable, para sistemas que no son homogéneos con una considerable contribución de los campos electrostáticos de los iones y otros grupos cargados.

Con estos modelos, utilizados en simulaciones de DM o MC, se puede obtener una información importante sobre el comportamiento estructural y dinámico de las biomoléculas<sup>297</sup>. Lo primero es el análisis estructural promediado mediante el examen de la evolución en el tiempo del sistema molecular. Grandes solutos como las proteínas o ácidos nucleicos son flexibles en disolución, y su papel funcional suele depender de estas fluctuaciones estructurales; el análisis de los componentes principales (PCA) se aplica a las trayectorias de DM para identificar los movimientos más importantes en las macromoléculas<sup>317,318</sup>. También es posible calcular la diferencia de entropía entre dos estados de la macromolécula utilizando técnicas tales como la matriz de covarianza<sup>319</sup>.

Por otra parte, también se puede obtener una representación aceptable de la estructura del disolvente alrededor del soluto. Mediante adecuadas funciones de distribución del disolvente<sup>297</sup> se pueden obtener los detalles estructurales del mismo alrededor del soluto o bien el cálculo de las energías libres de solvatación.

<sup>314</sup>W. L. Jorgensen y J. D. Madura *Mol. Phys.*, **1985**, *56*, 1381-1392.

<sup>315</sup>F. H. Stillinger y A. Rahman *J. Chem. Phys.*, **1974**, *60*, 1545-1557.

<sup>316</sup>M. W. Mahoney y W. L. Jorgensen *J. Chem. Phys.*, **2000**, *112*, 8910-8922.

<sup>317</sup>S. T. Wlodek, T. W. Clark, L. R. Scott y J. A. McCammon *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 9513.

<sup>318</sup>E. C. Sherer, S. A. Harris, R. Soliva, M. Orozco y C. A. Laughton *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 5981-5991.

<sup>319</sup>M. Karplus y J. N. Kushick *Macromolecules*, **1981**, *14*, 325-332.

En cuanto al análisis de la energía de un sistema solvatado, ésta varía apreciablemente durante todo el tiempo de evolución de la trayectoria, lo cual limita su estimación. Sin embargo, recurriendo a la mecánica estadística, se puede definir una función de «pseudenergía»:

$$E = \langle E_{\text{soluto-soluto}}^{\text{campo de fuerza}} \rangle + \langle \Delta_{\text{sol}} \rangle \quad (4.78)$$

donde, la energía de solvatación  $\Delta_{\text{sol}}$ , se puede calcular utilizando modelos del continuo<sup>320,321</sup> o bien mediante métodos basados en la teoría de la respuesta extendida lineal<sup>322,323</sup>.

$$\Delta G_{\text{sol}} = \frac{1}{2} \langle E_{\text{ele}}^{\text{sx}} \rangle + \alpha \text{SAS}^s + \beta \langle E_{\text{vdw}}^{\text{sx}} \rangle \quad (4.79)$$

siendo  $E^{\text{sx}}$  la energía de interacción electrostática y de van der Waals,  $\alpha$  y  $\beta$  parámetros empíricos y SAS es la superficie del soluto accesible al disolvente («s» indica disolvente y «x» soluto).

### 4.4.3. Métodos de cálculo con disolvente implícito

#### 4.4.3.1. Modelos mecanocuánticos del continuo

Un modelo del continuo es aquel en el que el número de grados de libertad de las partículas se describen de forma continua, normalmente por una función de distribución. El concepto general es el siguiente: tengamos un soluto (S), rodeado de moléculas de disolvente (D); el Hamiltoniano del sistema completo lo podremos escribir en la forma:

$$\hat{H}^{\text{SD}}(\mathbf{s}, \mathbf{d}) = \hat{H}^{\text{S}}(\mathbf{s}) + \hat{H}^{\text{D}}(\mathbf{d}) + \hat{H}^{\text{int}}(\mathbf{s}, \mathbf{d}) \quad (4.80)$$

donde  $\mathbf{s}$  y  $\mathbf{d}$  indican los grados de libertad del soluto y del disolvente. En el modelo del continuo se elimina el término correspondiente al disolvente y se considera un hamiltoniano efectivo, en la forma:

$$\hat{H}_{\text{eff}}^{\text{SD}}(\mathbf{s}, \mathbf{d}) = \hat{H}^{\text{S}}(\mathbf{s}) + \hat{H}^{\text{int}}(\mathbf{s}, \mathbf{d}) \quad (4.81)$$

Con esta aproximación, para tener en cuenta el disolvente basta tener una descripción de la interacción  $\hat{H}^{\text{int}}(\mathbf{s}, \mathbf{d})$  lo suficientemente buena. Ahora bien, los grados de libertad de  $\mathbf{d}$  no se eliminan completamente por aparecer en este último Hamiltoniano. Para eliminarlos casi completamente se introduce una función de respuesta del disolvente,  $Q(\vec{d}, \vec{d}')$ , en la que  $\vec{d}$  son las posiciones vectoriales del disolvente:

$$\hat{H}_{\text{eff}}^{\text{SD}}(\mathbf{s}, \mathbf{d}) = \hat{H}^{\text{S}}(\mathbf{s}) + \hat{V}^{\text{int}}[\mathbf{s}, Q(\vec{d}, \vec{d}')] \quad (4.82)$$

La función de respuesta se expresa como una suma de diferentes términos relacio-

<sup>320</sup>B. Jayaram, D. Sproys, M. A. Young y D. L. Beveridge *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 10629-10633.

<sup>321</sup>J. Srinivasan, T. E. Cheatham III, P. Cieplak, P. A. Kollman y D. A. Case *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 9401-9409.

<sup>322</sup>J. Åqvist, C. Medina y J. Samuelsson *Protein Eng.*, **1994**, *7*, 385-391.

<sup>323</sup>J. Åqvist y T. Hansson *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 951.

nados con la interacción soluto-disolvente. El término electrostático tendrá la forma:

$$\vec{P} = \frac{\epsilon - 1}{4\pi} \vec{E} \quad (4.83)$$

donde  $\vec{P}$  será la función de polarización del medio, proporcional al campo externo  $\vec{E}$  y  $\epsilon$  la permitividad, que podrá tener una forma simple (valor numérico) o más compleja, según el modelo que se utilice.

Por otra parte, los componentes del modelo se dividen en varias partes o «capas», de forma concéntrica, envolviendo la parte de interés principal. Cada capa se considerará con un nivel de precisión determinado, variando en función del modelo; por ejemplo: QM/MM/Cont, sería un modelo de tres capas en el que la capa interior se trata a nivel QM, la intermedia a nivel MM y la tercera utilizando una aproximación del continuo.

Un modelo básico tendrá las siguientes características:

- El soluto se describe a un nivel QM homogéneo.
- Las interacciones soluto-disolvente se limitan a las de tipo electrostáticas.
- El sistema se considera muy diluido, es decir, compuesto de una sola molécula de soluto (a veces algunas moléculas de disolvente junto con la de soluto son tratados como una supermolécula a nivel QM homogéneo), sumergida en un recipiente infinito de disolvente.
  - El disolvente es isotrópico en equilibrio, a una temperatura y presión dadas.
  - Sólo se considera el estado fundamental del soluto.
  - No se consideran los efectos dinámicos.

**Cavidad.** Es un concepto básico en todos los modelos del continuo y consiste en colocar una molécula de soluto (o unas pocas) en una cavidad hueca, inmersa en un medio dieléctrico continuo que imita el disolvente. La forma y tamaño de la cavidad varía según el modelo. Esta cavidad debería tener un significado físico y no ser sólo un artificio matemático como lo es en algunos modelos.

En el modelo original de Onsager<sup>324</sup>, la molécula de disolvente se representa por un dipolo puntual permanente,  $\mu$ , y por una polarizabilidad,  $\alpha$ , y la cavidad tiene una forma esférica de radio  $a$ . Las moléculas de disolvente que la rodean se reducen a un medio continuo dieléctrico con una constante dieléctrica fija. A lo largo del tiempo este modelo ha ido en evolucionando y todavía sería deseable que fuese mejorado<sup>325</sup>. Por ejemplo, la forma esférica de la cavidad puede dar lugar a resultados absurdos<sup>326</sup>, siendo más conveniente adoptar una forma basada en la superficie irregular dada por los radios de van der Waals. O la aproximación dipolo puntual: es más efectivo incluir momentos multipolares con formas esféricas o elipsoides.

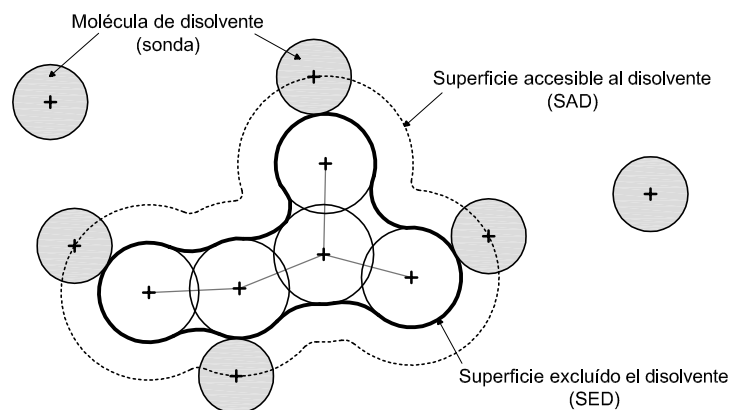
Una descripción precisa se obtiene si se considera una superficie de isodensidad (superficie de densidad electrónica constante)<sup>327</sup>, derivándose la cavidad sólo del ambiente

<sup>324</sup>L. Onsager *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, 58, 1486-1493.

<sup>325</sup>J. Tomasi *Theor Chem Acc*, **2000**, 103, 196-199.

<sup>326</sup>V. Luzhkov y A. Warshel *J. Comput. Chem.*, **1992**, 13, 199.

<sup>327</sup>J. B. Foresman, T. A. Keith, K. B. Wilberg, J. Snoonian y M. J. Frisch *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 16098-16104.



**Figura 4.6:** Superficie accesible al disolvente (SAD) y superficie excluido el disolvente (SED) que es la superficie topológica resultado de la unión de todos los muestreos de moléculas de disolvente que no solapan con el soluto.

electrónico real.

Una técnica diferente<sup>328,329</sup> se basa en el cálculo de la energía de interacción entre una molécula dada y un gas atómico de prueba (generalmente helio o argón) situado en posiciones adecuadas en el exterior del espacio molecular. De estos cálculos se obtienen un conjunto de superficies tridimensionales de isoenergía. Las superficies que interesan son dos: la superficie accesible al disolvente (SAD) y superficie excluyendo al disolvente (SED) –véase la figura 4.6–.

Generalmente, se adopta un compromiso entre una analítica demasiado simple u otra demasiado realista, pero computacionalmente costosa: la cavidad se define como el resultado de la superposición de esferas atómicas cuyos radios son los de van der Waals, generalmente los definidos por Bondi<sup>330</sup>, valores confirmados y recomendados con posterioridad<sup>331</sup>, o bien los tabulados por Pauling<sup>332</sup>. Para el cálculo de estas superficies se han realizado varios algoritmos y programas informáticos<sup>300</sup>.

**El problema electrostático.** La física de la interacción electrostática soluto-disolvente es simple. La distribución de carga  $\rho_S$  del soluto dentro de la cavidad polariza el medio continuo dieléctrico, el cual a su vez polariza la distribución de carga del soluto. Este es un proceso autoconsistente que ha de resolverse numéricamente mediante un procedimiento iterativo. El potencial de esta interacción depende del valor final de  $\rho_S$  que se alcance al final del proceso interactivo, lo que hace que el hamiltoniano efectivo de la ecuación 4.81 no sea lineal, lo cual conlleva importantes consecuencias en la elaboración de resultados computacionales. Se suele denominar a este potencial así obtenido *solvent reaction field* o, más propiamente *solvent reaction potential*.

Son varios los métodos que resuelven el problema. Una revisión exhaustiva de los

<sup>328</sup>C. Amovilli y R. McWeeny *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **1991**, 227, 1.

<sup>329</sup>E. Małolepsza y L. Piela *J. Phys. Chem. A*, **2003**, 107, 5356-5360.

<sup>330</sup>A. Bondi *J. Phys. Chem.*, **1964**, 68, 441.

<sup>331</sup>R. S. Rowland y R. Taylor *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 7384-7391.

<sup>332</sup>Pauling, L. «The nature of the chemical bond», 3rd ed.; Cornell University Press: Ithaca, NY, **1960**.

mismos queda fuera del alcance de esta tesis por lo que nos limitaremos a mencionarlos y referenciarlos:

**Métodos ASC:** Introducen una cantidad auxiliar que define las siglas: superficie aparente de carga dispersa,  $\sigma(s)$ , sobre la superficie de la cavidad, a partir del cual se calcula el potencial de la interacción, según la ecuación:

$$\mathcal{V}_\sigma(\vec{r}) = \int_\Gamma \frac{\sigma(\vec{s})}{|\vec{r} - \vec{s}|} d^2s \quad (4.84)$$

donde la integral se extiende a lo largo de la superficie  $\Gamma$  y  $s$  indica la posición variable.

El más antiguo de estos métodos es el método PCM (*polarizable continuum model*)<sup>333</sup>, renombrado posteriormente como DPCM (D por dieléctrico)<sup>334</sup>. Otras extensiones del método son el modelo de isodensidad-PCM (IPCM)<sup>335</sup> y el modelo SCI-PCM (isodensidad autoconsistente)<sup>336</sup>.

Otro modelo ampliamente utilizado es el COSMO (*Conductor-like Screening Model*)<sup>337</sup> el cual modifica los valores de la constante dieléctrica del medio, desde los valores característicos de cada disolvente a  $\epsilon = \infty$ . Una extensión del mismo es el llamado COSMO-RS (*conductor-like screening model for real solvents*)<sup>338</sup>, el cual tiene en cuenta que los disolventes no se comportan linealmente cuando se consideran campos eléctricos fuertes sobre la superficie molecular de solutos polares.

Otros métodos de este tipo son el IEF (*integral equation formalism*)<sup>339–341</sup> y los SVPE y SS(V)PE (*surface and volume polarization for electrostatic*)<sup>342,343</sup>.

Una modificación de los métodos ASC es el formalismo BEM<sup>344</sup>, el cual representa una poderosa representación matemática. Mientras que el método ASC utiliza una superficie de carga continua, esta modificación utiliza cargas puntuales.

**Métodos MPE:** Basados en trabajos previos de Onsager<sup>324</sup> y Kirkwood<sup>345,346</sup>, estos métodos están basados sobre la idea de una múltiple expansión (MPE) de las distribución de carga del soluto. En realidad, el modelo de Onsager, popularizado por

<sup>333</sup>S. Miertuš, E. Scrocco y J. Tomasi *Chem. Phys.*, **1981**, 55, 117-129.

<sup>334</sup>M. Cossi y V. Barone *J. Chem. Phys.*, **1998**, 109, 6246-6254.

<sup>335</sup>J. B. Foresman, T. A. Keith, K. B. Wiberg, J. Snoonian y M. J. Frisch *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 16098-16104.

<sup>336</sup>K. B. Wiberg, T. A. Keith, M. J. Frisch y M. Murcko *J. Phys. Chem.*, **1995**, 99, 9072-9079.

<sup>337</sup>A. Klamt y G. Schüürmann *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1993**, 799-805.

<sup>338</sup>A. Klamt *J. Phys. Chem.*, **1995**, 99, 2224-2235.

<sup>339</sup>E. C. B. Mennucci, y J. Tomasi *J. Chem. Phys.*, **1997**, 107, 3032-3041.

<sup>340</sup>B. M. E. Cancès, y J. Tomasi *J. Phys. Chem. B*, **1997**, 101, 10506-10517.

<sup>341</sup>E. Cancès y B. Mennucci *J. Math. Chem.*, **1998**, 23, 309-326.

<sup>342</sup>D. M. Chipman *J. Chem. Phys.*, **1997**, 106, 10194-10206.

<sup>343</sup>D. M. Chipman *J. Chem. Phys.*, **2002**, 116, 10129-10138.

<sup>344</sup>C. A. Brebbia y J. Domínguez *Appl. Math. Mod.*, **1977**, 1, 372-378.

<sup>345</sup>J. G. Kirkwood *J. Chem. Phys.*, **1934**, 2, 767-781.

<sup>346</sup>J. G. Kirkwood *J. Chem. Phys.*, **1939**, 7, 911-919.

el código Onsager-SCRF (*self-consistent reaction field*)<sup>347,348</sup> desarrollado para Gaussian<sup>349</sup>, es una versión simple de este método.

Implica la utilización de un potencial de reacción  $\mathcal{V}$  de una distribución de carga situada en una esfera de radio  $a$ , inmersa en un medio continuo de constante dieléctrica  $\epsilon$ , que ha de resolverse de forma autoconsistente junto con la carga de soluto:

$$\mathcal{V}(r) = \mathcal{V}_M + \mathcal{V}_r = \sum_{l=0}^{\infty} \frac{1}{r^{l+1}} \sum_{m=-l}^l M_l^m Y_l^m(\theta, \varphi) + \sum_{l=0}^{\infty} f_l r^l \sum_{m=-l}^l M_l^m Y_l^m(\theta, \varphi) \quad (4.85)$$

donde los coeficientes de campo de reacción  $f_l$  tienen la forma:

$$f_l = -\frac{(l+1)(\epsilon-1)}{l+(l+1)\epsilon} \frac{1}{a^{2l+1}} \quad (4.86)$$

$Y_l^m(\theta, \varphi)$  son las funciones armónicas esféricas y  $M_l^m$  es un momento multipolar de la distribución de carga del soluto.

Posteriores mejoras del método han introducido cavidades de forma elipsoides y cavidades de forma general.

**Aproximaciones generalizadas de Born (GB):** Se pueden considerar un caso extremo del método MPE, con los multipolos truncados en el primer término, la carga y los centros de expansión situados sobre todos los núcleos. El nombre deriva de la afinidad con el modelo antiguo de Born<sup>350</sup>, el cual expresa la energía libre de interacción de un ión esférico de radio  $a$  inmerso en un medio dieléctrico en la forma:

$$\Delta G = -\frac{q^2}{2a} \left( \frac{\epsilon-1}{\epsilon} \right) \quad (4.87)$$

A partir de aquí se pasa de una esfera a una multiplicidad de esferas interactuando, cada una con carga en su centro, en sus primeras formulaciones mediante la expresión<sup>351</sup>:

$$\Delta G = -\left( \frac{\epsilon-1}{\epsilon} \right) \sum_{i,j=1} q_i q_j \frac{1}{2f_{GB}} \quad (4.88)$$

donde el término  $1/f_{GB}$  es un operador empírico de Coulomb que se aplica a todos los pares de cargas atómicas del soluto ( $q_i, q_j$ ) y cuyo cálculo se puede realizar de diferentes formas.

El método tiene diferentes variantes y se utiliza ampliamente en muchos campos de la física y de la ingeniería, así como en las aplicaciones de química computacional, en particular en el estudio de la solvatación<sup>300</sup>.

<sup>347</sup>M. W. Wong, M. J. Frisch, y K. B. Wiberg *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 4776-4782.

<sup>348</sup>M. W. Wong, K. B. Wiberg y M. J. Frisch *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 523-529.

<sup>349</sup><http://www.gaussian.com>.

<sup>350</sup>M. Born *Z. Phys.*, **1920**, *1*, 45-48.

<sup>351</sup>W. C. Still, A. Tempczyk, R. C. Hawley y T. Hendrickson *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 6127-6129.

Para grandes sistemas, donde el coste computacional es alto, se recurre hoy día al concepto de capas (*layering*), a fin de reducir la complejidad de los cálculos. Consiste en particionar el problema en partes o capas, cada una de ellas tratadas a un nivel de teoría diferente y con una adecuada reducción de los grados de libertad. Hay muchas posibilidades; por ejemplo, QM/MM/Cont para un modelo de tres capas, en la que la capa interior se trata a nivel de mecánica cuántica, la segunda a nivel de mecánica molecular y la tercera mediante la aproximación del continuo. Este concepto ha sido aplicado, por ejemplo, a estudios de dinámica molecular o tipo Monte Carlo. El término *ab initio molecular dynamics* (AIMD) se refiere a una clase de métodos<sup>352–354</sup> que combinan la dinámica molecular con fuerzas obtenidas a partir de cálculos de la estructura electrónica, generalmente mediante métodos DFT.

## 4.5. Docking molecular

### 4.5.1. Introducción

La mayoría de los procesos biológicos dependen de las interacciones de los receptores moleculares y sus ligandos<sup>355</sup>, por lo que el reconocimiento molecular juega un papel clave en los eventos biomoleculares tales como: interacciones enzima-sustrato, proteína-inhibidor y ácido nucleico-inhibidor<sup>356</sup>.

Se denomina *docking*<sup>357</sup> molecular a un procedimiento de la química *in silico*<sup>358,359</sup> utilizado para explorar e intentar predecir los posibles modos de formación de complejos ligando-receptor<sup>360,361</sup>, siendo generalmente el receptor una proteína u oligómero y el ligando una molécula de pequeño tamaño u otra proteína<sup>362</sup>. Es un campo de investigación muy activo desde la década de los 80<sup>363</sup>, de la que datan los primeros trabajos, siendo una importante herramienta para el descubrimiento de nuevos medicamentos<sup>364,365</sup>. En particular, el acoplamiento ligando-proteína ocupa un lugar muy especial en el campo general del *docking* por sus aplicaciones en el área de la medicina.

El proceso por el cual una pequeña molécula se une a su proteína receptora no es sencillo, ya que está influenciado por diversos factores entrópicos y entálpicos. Además,

<sup>352</sup>R. Car y M. Parrinello *Phys. Rev. Lett.*, **1985**, 55, 2471-2474.

<sup>353</sup>M. C. Payne, M. P. Teter, D. C. Allan, T. A. Arias y J. D. Joannopoulos *Rev. Mod. Phys.*, **1996**, 100, 12878-1097.

<sup>354</sup>M. E. Tuckerman, P. J. Ungar, T. von Rosenvinge y M. L. Klein *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 12878-12887.

<sup>355</sup>M. Botta, F. Corelli, F. Manetti y A. Tafi *Il Farmaco*, **2002**, 57, 153-165.

<sup>356</sup>V. Mohan, A. C. Gibbs, M. D. Cummings, E. P. Jaeger y R. L. DesJarlais *Curr. Pharmacol. Des.*, **2005**, 11, 323-333.

<sup>357</sup>Anglicismo que podríamos traducir por acoplamiento.

<sup>358</sup>S. Ekins, J. Mestres y B. Testa *Br. J. Pharmacol.*, **2007**, 152, 9-20.

<sup>359</sup>S. Ekins, J. Mestres y B. Testa *Br. J. Pharmacol.*, **2007**, 152, 21-37.

<sup>360</sup>H. Alonso, A. A. Bliznyuk y J. E. Gready *Curr. Med. Chem.*, **2006**, 26, 531-568.

<sup>361</sup>S. F. Sousa, P. A. Fernandes y M. J. Ramos *Proteins*, **2006**, 65, 15-26.

<sup>362</sup>N. Brooijmans e I. D. Kuntz *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **2003**, 32, 335-373.

<sup>363</sup>I. D. Kuntz, J. M. Blaney, S. J. Oatley, R. Langridge y T. E. Ferrin *J. Mol. Biol.*, **1982**, 161, 269-288.

<sup>364</sup>D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr y J. Bajorath *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2004**, 3, 935-949.

<sup>365</sup>G. Klebe *J. Mol. Med.*, **2000**, 78, 269-281.

la movilidad, tanto del ligando como del receptor, el efecto de la proteína sobre la distribución de cargas del ligando<sup>366</sup> y sus interacciones con las moléculas de agua complican la descripción cuantitativa del proceso. La idea básica es generar un conjunto suficiente de conformaciones del complejo y entonces clasificarlas de acuerdo a su estabilidad.

Hay una gran variedad de métodos de *docking* computacional<sup>363,367–369</sup>, no siendo fácil la comparación entre los diferentes algoritmos<sup>370</sup>. El procedimiento general (iterativo)<sup>356,371</sup> es: generar una postura (cada postura es una determinada posición y orientación del ligando en el sitio activo), puntuarla y compararla con las demás posturas; entonces la actual postura es aceptada o rechazada según la puntuación que obtenga.

Los protocolos de *docking* se pueden describir como una combinación de dos componentes: un estrategia de búsqueda y una función de puntuación (*scoring*). Un algoritmo de búsqueda riguroso debería elucidar exhaustivamente todos los modos posibles de unión entre el ligando y el receptor. Se deberían explorar los seis grados de libertad traslacional y rotacional del ligando junto con los grados de libertad de la conformación interna tanto del ligando como del receptor. La solución ideal sería combinar los mejores algoritmos de búsqueda con las mejores funciones de puntuación<sup>361</sup>, pero esto en la práctica es inviable, debido al tamaño del espacio de búsqueda<sup>372</sup>.

Por lo tanto, sólo se puede explorar una pequeña parte del espacio conformacional, por lo que se tiene que buscar un balance entre el costo computacional y el espacio de búsqueda examinado; en la práctica esto se traduce en aplicar una serie de restricciones y aproximaciones, a fin de reducir la dimensión del problema.

Así, por ejemplo, los primeros estudios de *docking* utilizaban la aproximación del cuerpo rígido, fijando todos los grados internos de libertad excepto tres traslaciones y tres rotaciones, y utilizando funciones sencillas de energía potencial<sup>363,373,374</sup>. Pero la aproximación del cuerpo rígido tiene muchas limitaciones (aunque en algunos casos ha dado buenos resultados<sup>375</sup>), por lo que se han desarrollado muchos algoritmos que tienen en cuenta la flexibilidad del ligando e incluso, de forma limitada, la del receptor<sup>362</sup>.

De otra parte, inicialmente, los programas de *docking* representaban, tanto al receptor como al ligando, con sus átomos en forma explícita<sup>373,374,376</sup>. Posteriormente, con la utilización de cálculos de superficie molecular<sup>377</sup> se consiguió aumentar la velocidad de los algoritmos de *docking*<sup>363,378–380</sup>, si bien estos se utilizan preferentemente en el *do-*

<sup>366</sup>A. E. Cho, V. Guallar, B. J. Berne y R. Friesner *J. Comput. Chem.*, **2005**, *26*, 915-931.

<sup>367</sup>R. L. DesJarlais, R. P. Sheridan, G. L. Seibel, J. S. Dixon, I. D. Kuntz y R. Venkataraghavan *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 716-722.

<sup>368</sup>M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer y G. Klebe *J. Mol. Biol.*, **1996**, *261*, 470-489.

<sup>369</sup>G. Jones, P. Willett, R. C. Glen, A. R. Leach y R. Taylor *J. Mol. Biol.*, **1997**, *267*, 727-748.

<sup>370</sup>J. C. Cole, C. W. Murray, J. W. M. Nissink, R. D. Taylor y R. Taylor *Proteins*, **2005**, *60*, 325-332.

<sup>371</sup>G. Schneider y H. Böhm *DDT*, **2002**, *7*, 64-70.

<sup>372</sup>R. D. Taylor, P. J. Jewsbury y J. W. Essex *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **2002**, *16*, 151-166.

<sup>373</sup>Z. Li y H. A. Scheraga *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, *84*, 6611-6615.

<sup>374</sup>F. R. Salemme *J. Mol. Biol.*, **1976**, *102*, 563-568.

<sup>375</sup>B. K. Shoichet e I. D. Kuntz *Chem. Biol.*, **1996**, *3*, 151-156.

<sup>376</sup>S. J. Wodak, M. De Crombrughe y J. Janin *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **1987**, *49*, 29-63.

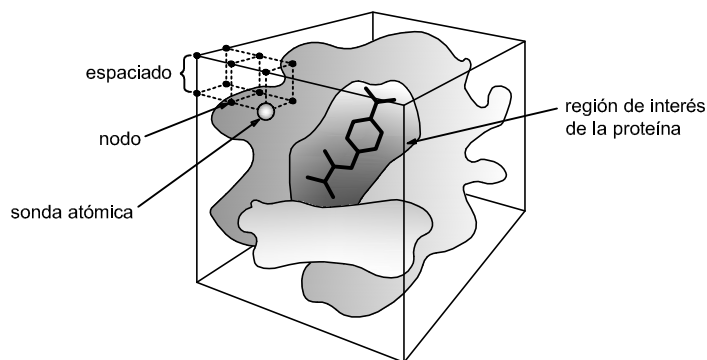
<sup>377</sup>M. L. Connolly *J. Appl. Crystallogr.*, **1983**, *16*, 548-558.

<sup>378</sup>H. A. Gabb, R. M. Jackson y M. J. E. Sternberg *J. Mol. Biol.*, **1997**, *272*, 106-120.

<sup>379</sup>F. Jiang y S. Kim *J. Mol. Biol.*, **1991**, *219*, 79-102.

<sup>380</sup>R. Norel, S. L. Lin, H. J. Wolfson y R. Nussinov *Biopolymers*, **1994**, *34*, 933-940.





**Figura 4.7:** Uso de mapas de rejillas.

cking de proteína a proteína<sup>364</sup>. Pero el mayor avance fue la aplicación de rejillas (*grids*) tridimensionales rectangulares con las que se discretiza el espacio alrededor del receptor o de su centro activo, evaluándose la energía de interacción entre la molécula y un átomo (sonda química), localizado en cada uno de los nodos situados en puntos igualmente espaciados, de la rejilla tridimensional. Como muchas formas de la energía potencial son de corto alcance, el espaciado de la rejilla debe ser  $\leq 0,5\text{\AA}$ <sup>381</sup>.

Para cada tipo de átomo del ligando se necesita una rejilla, de forma que se tiene un *array* de cuatro dimensiones (*grid*) en el que un elemento del mismo,  $grid(x_i, y_i, z_i, k)$ , representa la energía de interacción de un átomo sonda, tipo  $k$ , con la proteína receptora y localizado en el nodo de la rejilla con índice  $x_i, y_i, z_i$ ; calculándose los índices en la forma:

$$x_i = (x - x_0) / \Delta e + 1 \quad (4.89)$$

siendo  $\Delta e$  el espaciado de la rejilla,  $x$  la coordenada del nodo de la rejilla y  $x_0$  la coordenada del origen de la rejilla.

Estas rejillas se precálculan una sola vez, de tal forma que la puntuación correspondiente a la contribución de un determinado átomo del ligando al acoplamiento, será simplemente el resultado de consultar una serie de tablas que contienen el resultado de la puntuación de cada nodo de la rejilla según su tipo atómico (un átomo que caiga fuera de la rejilla tendrá una contribución nula). La puntuación total de un ligando con  $N$  átomos será:

$$\text{puntuación (scoring)} = \sum_{j=1}^N grid(x_j, y_j, z_j, k_j) \quad (4.90)$$

donde  $x_j, y_j, z_j$  son los índices del nodo más cercano a la localización del átomo  $j$ , y  $k_j$  es su tipo atómico.

Con el uso de estas rejillas se reduce notablemente el tiempo de cálculo, lo que, por un lado, permite la implementación de funciones de puntuación más sofisticadas<sup>382,383</sup> y por otro lado, permite ir modificando las posiciones atómicas del ligando y calcular rá-

<sup>381</sup>M. D. Miller, S. K. Kearsley, D. J. Underwood y R. P. Sheridan *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1994**, 8, 153-174.

<sup>382</sup>D. S. Goodsell y A. J. Olson *Proteins*, **1990**, 8, 195-202.

<sup>383</sup>E. C. Meng, B. K. Shoichet e I. D. Kuntz *J. Comput. Chem.*, **1992**, 13, 505-524.

pidamente las energías del acoplamiento. AutoDock<sup>382</sup> y DOCK<sup>383</sup> fueron los primeros programas en implantar el uso automatizado de rejillas.

## 4.5.2. Algoritmos de búsqueda de mínimos (análisis conformacional)

### 4.5.2.1. Algoritmos que tienen en cuenta la flexibilidad del ligando

Normalmente se desconoce cuál es la conformación más favorable del ligando para su interacción con el receptor. Los algoritmos que tratan de modelizar la flexibilidad del ligando se pueden dividir en tres categorías principales: métodos sistemáticos (construcción incremental, búsqueda conformacional y bases de datos), métodos aleatorios o estocásticos (Monte Carlo, algoritmos genéticos, búsqueda tabú) y métodos de simulación –métodos determinísticos– (dinámica molecular, optimización geométrica).

**Búsqueda sistemática.** Estos algoritmos intentan explorar todos los grados de libertad de la molécula; presentan el problema de la explosión combinatorial, que se debe a que el número de posibles conformaciones puede llegar a ser enorme, al venir dado por la ecuación:

$$N_{\text{conformaciones}} = \prod_{i=1}^N \prod_{j=1}^{n_{inc}} \frac{360}{\theta_{i,j}} \quad (4.91)$$

donde,  $N$  es el número de enlaces rotables y  $\theta_{i,j}$  el tamaño del incremento angular del ángulo  $j$  del enlace  $i$ .

Para evitar búsquedas tan exhaustivas algunos algoritmos utilizan una aproximación (construcción incremental) que consiste en lo siguiente: en una primera etapa el ligando se divide en un fragmento rígido y otro flexible (cadenas laterales); posteriormente estas ramificaciones se subdividen en cada nuevo enlace rotable que posean. Los fragmentos rígidos se van situando en el sitio activo y las cadenas laterales se van conectando de forma secuencial acompañando el proceso con una búsqueda sistemática de los ángulos diedros.

Otro método, perteneciente a esta categoría, consiste en la utilización de librerías de conformaciones generadas previamente, que se calculan una sola vez, por lo que el problema se reduce a un *docking* basado en la aproximación del cuerpo rígido.

**Métodos aleatorios.** La búsqueda se realiza por medio de cambios aleatorios en la estructura del ligando. El método más popular es el método MC, cuyo algoritmo es el siguiente:

1. Genera una configuración aleatoria inicial del ligando en el sitio activo.
2. Almacena la configuración inicial.
3. Genera una nueva configuración. Si esta nueva configuración tiene mejor puntuación que la anterior se acepta automáticamente. Si, por el contrario, no es un nuevo mínimo, se le realiza un test basado en la función de probabilidad de Boltzmann; si lo supera se acepta, en caso contrario se rechaza.

4. Se repiten los pasos previos hasta que se tenga un número deseado de configuraciones.

Los algoritmos tabú<sup>384,385</sup>, por su parte, tienen en cuenta las áreas del espacio conformacional que ya han sido previamente exploradas y aceptan o rechazan una determinada conformación según el valor del RMSD calculado con respecto a cada una de las conformaciones previamente almacenadas. Tienen el siguiente esquema básico:

1. Se le hacen  $n$  pequeños cambios a la conformación actual.
2. Se clasifica cada cambio según el valor dado por una función de idoneidad determinada.
3. Se determina que cambios son tabú, es decir, si son conformaciones rechazadas previamente.
4. Si la mejor modificación tiene un valor menor que cualquier otro de los aceptados hasta ahora, se acepta, incluso si está en la lista de los tabú; caso contrario, se acepta el mejor cambio que no sea tabú.
5. Se añade el cambio aceptado a la lista tabú y se registra su puntuación.
6. Vuelta a la primera etapa.

Los algoritmos genéticos (GAs)<sup>386</sup> son métodos estocásticos similares al MC, que se utilizan para encontrar el mínimo global, basándose en los principios biológicos de población y competición. Se genera una población inicial de conformaciones del ligando; en esta población, unos con otros compiten por su supervivencia y se exige que sólo los «individuos» más aptos continúen en la siguiente generación, realizándose una minimización del mejor<sup>387</sup>, permitiéndose cruces y mutaciones aleatorias o parciales.

AutoDock añade un algoritmo *Lamarckiano* (LGA) para mejorar la convergencia en los ligandos con más de ocho enlaces rotables. El LGA intercambia entre el espacio genotípico y el fenotípico. La mutación y el cruce tienen lugar en el espacio genotípico mientras que el espacio fenotípico queda determinado por la optimización de la función de energía. La minimización (*local sampling*) se realiza después de haber realizado los cambios genotípicos en la población (*global sampling*) en el espacio fenotípico, lo cual es conceptualmente similar a la minimización MC. El método LGA es el más eficiente y fiable de los algoritmos antes mencionados<sup>384,388,389</sup>.

**Métodos de simulación.** La aproximación más utilizada es la dinámica molecular, si bien ésta tiene el inconveniente de que a veces no es capaz de atravesar barreras de alta

<sup>384</sup>D. R. Westhead, D. E. Clark y C. W. Murray *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1997**, *11*, 209-228.

<sup>385</sup>C. A. Baxter, C. W. Murray, D. E. Clark, D. R. Westhead y M. D. Eldridge *Proteins*, **1998**, *33*, 367-382.

<sup>386</sup>R. S. Judson, Y. T. Tan, E. Mori, C. Melius, E. P. Jaeger, A. M. Treasurywala y A. Mathiowetz *J. Comput. Chem.*, **1995**, *16*, 1405-1419.

<sup>387</sup>D. K. Gehlhaar, G. M. Verkhivker, P. A. Rejto, C. J. Sherman, D. R. Fogel, L. J. Fogel y S. T. Freer *Chem. Biol.*, **1995**, *2*, 317-324.

<sup>388</sup>G. M. Morris, D. S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew y A. J. Olson *J. Comput. Chem.*, **1998**, *19*, 1639-1662.

<sup>389</sup>M. Vieth, J. D. Hirst, B. N. Dominy, H. Daigler y C. L. Brooks III *J. Comput. Chem.*, **1998**, *19*, 1623-1631.

energía en unos tiempos razonables de simulación, por lo que sólo pueden acomodar ligandos en mínimos locales de la hipersuperficie potencial<sup>362</sup>. Se intenta paliar este problema, o bien simulando diferentes partes del complejo a diferentes temperaturas, o comenzando la dinámica desde diferentes posiciones del ligando<sup>364</sup>.

#### 4.5.2.2. Algoritmos que tienen en cuenta la flexibilidad del receptor

Actualmente, el manejo eficiente de la flexibilidad de la proteína receptora se considera una de las principales metas en el campo del *docking*. Las proteínas están en constante movimiento entre diferentes estados conformacionales de similar energía y se sabe que esta flexibilidad, por un lado aumenta la afinidad por el ligando<sup>390</sup> y, por otro lado, influye en el centro activo.

Además, un concepto importante a tener en cuenta es que las conformaciones más estables del receptor en su estado fundamental no serán necesariamente las más estables en el complejo ligando-proteína<sup>361</sup>. Se sabe también que las regiones del centro activo de las enzimas están presentes tanto en zonas de baja como de alta estabilidad conformacional<sup>391</sup>. Considerar esta característica dual del entorno del centro activo es importante para la formación de un óptimo enlace entre proteína y ligando. Por lo tanto, una preparación cuidadosa de la estructura de la proteína, antes del proceso del *docking*, es un aspecto crítico. Una alternativa consiste en tratar al receptor como una molécula flexible y permitir los cambios conformacionales durante el *docking*. Aunque todavía están en un estado poco avanzado, hay ya técnicas que permiten tener en cuenta esta flexibilidad. Estas son algunas de las aproximaciones que consideran la flexibilidad del receptor:

**Soft docking.** Es la más simple de las aproximaciones, consistiendo en tratar la flexibilidad de la proteína de forma indirecta. Aunque el receptor se sigue tratando como un objeto rígido, los términos repulsivos del potencial Lennard-Jones se pueden atenuar generando una interacción «suave». De esta manera, al ligando se le permite «penetrar» la superficie de la proteína en un intento de tener en cuenta cambios pequeños y localizados que podrían tener lugar en un ambiente flexible<sup>392,393</sup>.

**Flexibilidad de las ramificaciones.** En esta técnica se permite la movilidad de algunos residuos, sobre todo los del sitio activo, y pueden ser tratados explícitamente, o bien durante el *docking*, o bien después de que el ligando se halla situado en el sitio activo de forma aproximada<sup>394,395</sup>.

Aunque esta aproximación conlleva un aumento del coste computacional, permite movimientos localizados de la proteína, lo cual mejora el ajuste del ligando. No se consideran los cambios del esqueleto de la proteína.

<sup>390</sup>S. J. Teague *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **2003**, *2*, 527-541.

<sup>391</sup>I. Luque y E. Freire *Proteins*, **2000**, *41*, 63-71.

<sup>392</sup>M. Vieth, J. D. Hirst, A. Kolinski y C. L. Brooks III *J. Comput. Chem.*, **1998**, *19*, 1612-1622.

<sup>393</sup>G. Wu, D. H. Robertson, C. L. Brooks III y M. Vieth *J. Comput. Chem.*, **2003**, *24*, 1546-1562.

<sup>394</sup>V. Schnecke y L. A. Kuhn *Perspect. Drug. Discov. Des.*, **2000**, *20*, 171-190.

<sup>395</sup>V. Schnecke, C. A. Swanson, E. D. Getzoff, J. A. Tainer y L. A. Kuhn *Proteins*, **1998**, *33*, 74-87.

**Simulaciones de DM.** De la panoplia de diferentes estados conformacionales de la proteína en disolución, no todas las conformaciones se enlazarán con la misma estabilidad a un ligando dado. Por sí mismo, la presencia del ligando afecta a la estructura del sitio activo y al equilibrio dinámico entre los diferentes estados conformacionales de la proteína<sup>396</sup>. Durante el proceso de acoplamiento, el conformero de la proteína que sea el más probable para acomodar al ligando se irá agotando en la disolución para formar el complejo y otros conformeros irán rellenando el espacio conformacional vacante, conduciendo así el proceso de enlace. Por lo tanto, lo que se espera es que la mejor representación del sistema venga dada por un conjunto de conformaciones del receptor y no por una simple estructura. Pero, si bien el *docking* de diferentes estructuras de la proteína aumenta las probabilidades de encontrar un receptor en la conformación correcta para acomodar a un ligando particular, sin embargo, también reduce la selectividad del proceso de *docking*, porque habrá un número mayor de estructuras del ligando viables para ajustar en la proteína. Es importante, por lo tanto, utilizar funciones de puntuación precisas para maximizar la selección de los ligandos más activos.

Este método constituye la aproximación más rigurosa y exhaustiva, pero por otro lado más costosa. No es una opción realista para la búsqueda de varios compuestos, pero sí es válida para problemas de acoplamientos complicados donde incluso pequeños cambios conformacionales del receptor tengan una gran influencia en el proceso de enlace. Por otro lado, realizar simulaciones de DM del receptor previas al *docking* ha permitido descubrir una nueva hendidura en la HIV-1 integrasa, adyacente al sitio activo, donde se ha demostrado que el ligando tiene, por lo tanto, dos modos diferentes de enlace<sup>397</sup>.

#### **Otros métodos que tienen en cuenta las diferentes conformaciones de la proteína.**

Uno de ellos consiste en combinar varias estructuras alternativas de la proteína en una única representación del conjunto, generándose una única rejilla de *docking*, promedio de todas las conformaciones del receptor (*grid representation*)<sup>398</sup>.

Otro método, implementado por el programa FlexE<sup>399</sup>, en lugar de combinar diferentes combinaciones del receptor en una única rejilla, superpone las diferentes conformaciones alternativas y construye una estructura rígida promediada. En las zonas variables, se consideran las diferentes conformaciones explícitamente y se exploran combinatorialmente durante el *docking* para generar nuevas estructuras de la proteína. La estructura del ligando se construye incrementalmente dentro del sitio activo y después de situar cada nuevo fragmento, se evalúan todas las posibles interacciones del ligando (parcialmente construido) con las diferentes conformaciones alternativas de la proteína. Aquellas conformaciones de la proteína que mejor acomoden al ligando se retienen para posteriores ciclos de crecimiento y optimización.

El programa DOCK<sup>363</sup> utiliza una aproximación<sup>400</sup> similar. En este caso, se calculan

<sup>396</sup>S. Kumar, B. Ma, C. J. Tsai, N. Sinha y R. Nussinov *Protein Sci.*, **2000**, *9*, 10-19.

<sup>397</sup>J. R. Schames, R. H. Henchman, J. S. Siegel, C. A. Sotriffer, H. Ni y J. A. McCammon *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 1879-1881.

<sup>398</sup>P. J. Goodford *J. Med. Chem.*, **1985**, *28*, 849-857.

<sup>399</sup>H. Claussen, C. Buning, M. Rarey y T. Lengauer *J. Mol. Biol.*, **2001**, *308*, 377-395.

<sup>400</sup>B. Q. Wei, L. H. Weaver, A. M. Ferrari, B. W. Matthews y B. K. Shoichet *J. Mol. Biol.*, **2004**, *337*,

independientemente las interacciones entre una configuración dada del ligando y las diferentes partes flexibles del receptor.

### 4.5.3. Funciones de puntuación

#### 4.5.3.1. Métodos rigurosos

En 1940, Pauling y Delbrück postularon que los complejos se estabilizan por medio de interacciones electrostáticas, de van der Waals y enlaces de hidrógeno, y que en la formación de los mismos existe una complementariedad, tanto estructural como fisicoquímica, entre las moléculas que los forman<sup>401</sup>. Posteriormente, en 1959, se describió también el efecto hidrofóbico (efecto atractivo de tipo entrópico)<sup>402</sup>. La creencia actual es que el efecto hidrofóbico es el principal término estabilizante en complejos biomoleculares mientras que las interacciones coulombianas y los enlaces de hidrógeno proporcionan la especificidad en las interacciones proteína-ligando.

La estabilidad de un complejo se puede medir determinando la constante de equilibrio  $K_{eq}$  (o hallando las constantes de reacción *on-rate* ( $k_{on}$ ) y *off-rate* ( $k_{off}$ )), la cual está directamente relacionada con la energía libre de Gibbs:

$$\Delta G_{enlace} = -RT \ln K_{eq} = -RT \ln \left( \frac{k_{on}}{k_{off}} \right) \quad (4.92)$$

que es la magnitud experimental (que engloba a la entalpía y a la entropía del sistema) que interesa en la química computacional, ya que se puede obtener por métodos teóricos.

La constante de equilibrio siempre se determina con respecto a un estado de referencia (para las preparaciones biológicas normalmente concentración 1M y 25°C), dependiendo fuertemente de estas condiciones y de parámetros tales como temperatura, tensión iónica, pH, presión y concentración del soluto. La influencia de estas variables hace complicado la comparación entre los valores teóricos y los experimentales, ya que no es posible modelarlas todas correctamente.

Aunque es posible calcular directamente la energía libre de enlace, utilizando por ejemplo la aproximación de estados predominantes para la integral de configuración<sup>403</sup> (la cual es muy costosa desde el punto de vista computacional), normalmente se estima haciendo una determinación separada de las contribuciones entálpicas y entrópicas, hallando separadamente las energías libres del complejo, del receptor y del ligando:

$$\Delta G_{enlace} = \Delta H - T\Delta S = G_{complejo} - (G_{receptor} + G_{ligando}) \quad (4.93)$$

La vía más rigurosa para hacerlo es a través de los métodos de perturbación de la energía libre (FEP) o de integración termodinámica (TI), en los que la diferencia de energía libre entre dos estados similares se determina mutando lentamente de un estado a otro («alquimia computacional»), lo cual se hace tanto para el complejo como para el

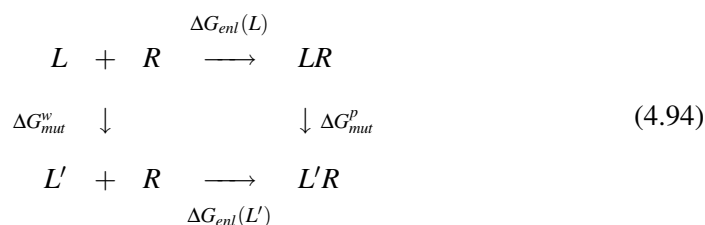
1161.

<sup>401</sup>L. Pauling y M. Delbrück *Science*, **1940**, 92, 77-79.

<sup>402</sup>W. Kauzmann *Adv. Protein Chem.*, **1959**, 14, 1-63.

<sup>403</sup>M. S. Head, J. A. Given y M. K. Gilson *J. Phys. Chem. A*, **1997**, 101, 1609-1618.

ligando libre en disolución<sup>303</sup>. El método permite calcular la energía libre de enlace con gran precisión, pero se requiere de mucho tiempo de cálculo<sup>404</sup>. La diferencia de energía libre de enlace entre dos ligandos dados,  $L$  y  $L'$ , y el receptor,  $R$ , se calcula teniendo en cuenta el siguiente ciclo termodinámico:



En lugar de calcular las energías de enlace individuales ( $\Delta G_{ent}$ ) para determinar la energía libre de enlace relativa ( $\Delta\Delta G_{ent}$ ), se estiman las energías de las transformaciones (no físicas)  $L \rightarrow L'(\Delta G_{mut}^w)$ , en disolución y  $LR \rightarrow L'R(\Delta G_{mut}^p)$ , cuando se enlaza a la proteína, mediante la ecuación:

$$\Delta\Delta G_{ent} = \Delta G_{ent}(L') - \Delta G_{ent}(L) = \Delta G_{mut}^p - \Delta G_{mut}^w \quad (4.95)$$

A tal efecto, los estados  $L$  y  $L'$  se combinan linealmente utilizando un parámetro de acoplamiento  $\lambda$  y se utiliza una simulación de DM para transformar lentamente un ligando ( $L, \lambda = 0$ ) en otro ( $L, \lambda = 1$ ), tanto en la forma libre como en la enlazada al receptor. Este tipo de metodología se puede utilizar para determinar las energías libres relativas, ya que la energía libre es una función de estado que puede calcularse por cualquier camino reversible entre los estados inicial y final.

Recientemente, han aparecido nuevos métodos que utilizan directamente campos de fuerza para estimar las contribuciones entálpicas a la energía libre de enlace, mientras que los efectos entrópicos se calculan separadamente para el soluto y el disolvente, utilizando diferentes aproximaciones.

Si el funcional de la energía tiene la forma:

$$\begin{aligned}
 E_{MM} = & \sum_{enlaces} K_r(r - r_{eq})^2 + \sum_{ángulos} K_\theta(\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{diedros} \frac{V_n}{2}[1 + \cos(n\tau - \delta_n)] \\
 & + \sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right]
 \end{aligned} \quad (4.96)$$

la energía interna de la molécula queda determinada por los tres primeros términos de la ecuación. Las contribuciones entálpicas se estiman por medio del potencial de Lennard-Jones que estima las interacciones de van der Waals y por la ecuación de Coulomb que determina la tensión de las interacciones carga-carga. La ecuación 4.96 utiliza campos de fuerzas aditivos que no tienen en cuenta los efectos de la polarización.

En cuanto a las contribuciones entrópicas, estas son de cuatro tipos: traslacional, rotacional, vibracional y conformacional. Las entropías traslacional y rotacional de los

<sup>404</sup>V. Helms, a. R. C. Wade y R. C. Wade *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 2710-2713.

solutos se determinan normalmente de forma separada con aproximaciones estadísticas y la entropía vibracional por medio de análisis de modo normal o por análisis cuasi armónicos<sup>362</sup>. La pérdida de entropía configuracional se puede estimar también por métodos basados en la termodinámica estadística<sup>405</sup> que requieren el cálculo de las superficies accesibles al disolvente de las cadenas laterales antes y después del enlace. Únicamente la entropía vibracional se calcula basándose en principios físicos rigurosos.

Por lo que se refiere al disolvente, la energía libre se divide en dos términos que se calculan separadamente: efectos polares y no polares. El término no polar se estima generalmente utilizando la superficie del soluto, teniendo en cuenta el coste energético de crear una cavidad en el disolvente que pueda contener el soluto y también las energías de interacción favorables de van der Waals del soluto con el disolvente. Normalmente la diferencia de energía libre de solvatación no polar entre el complejo y sus componentes es favorable, incrementando la estabilidad del complejo. El término polar de la solvatación tiene en cuenta la diferencia de energía electrostática entre el soluto, inmerso en un medio de baja constante dieléctrica y un medio de alta constante dieléctrica. Este término se puede calcular por medio de las aproximaciones del continuo tales como la ecuación de Poisson-Boltzmann<sup>406</sup> o por la ecuación generalizada de Born<sup>351,407</sup>.

Todos los términos anteriores determinan la tensión de la interacción entre las proteínas y los ligandos, dando lugar a la ecuación:

$$\Delta G_{\text{enlace}} = E_{MM} - T\Delta S_{\text{soluto}} + \Delta G_{\text{disolvente}} \quad (4.97)$$

Esta ecuación se ha aplicado recientemente al estudio de cantidad de estructuras diferentes, en las que las energías libres son promedios de diferentes estructuras obtenidas mediante simulaciones de DM con disolvente implícito<sup>321,408,409</sup>. El éxito de estos métodos, comparados con los resultados obtenidos utilizando una simple estructura a través de optimización geométrica, subraya la importancia de tener en cuenta la flexibilidad de las proteínas<sup>410,411</sup>. En los mejores casos, la precisión de estos métodos puede llegar a ser similar a la de los métodos FEP/TI, alrededor de  $\pm 1$  kcal/mol<sup>410,412</sup>.

#### 4.5.3.2. Métodos aproximados

Los métodos anteriores son métodos que ofrecen muy buenos resultados pero son computacionalmente muy costosos, lo que los convierten en algunos casos en prácticamente inviables<sup>413</sup>. La necesidad de tener funciones de puntuación rápidas, sin dejar de ser precisas, ha dado lugar a una serie de funciones diferentes que se pueden dividir en cuatro categorías: métodos de primeros principios, funciones de puntuación semi-

<sup>405</sup>S. D. Pickett y M. J. E. Sternberg *J. Mol. Biol.*, **1993**, *231*, 825-839.

<sup>406</sup>A. Nicholls y B. Honig *J. Comput. Chem.*, **1991**, *12*, 435-445.

<sup>407</sup>D. Bashford y D. A. Case *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **2000**, *51*, 129-152.

<sup>408</sup>I. Massova y P. A. Kollman *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 8133-8143.

<sup>409</sup>Y. N. Vorobjev, J. C. Almagro y J. Hermans *Proteins*, **1998**, *32*, 399-413.

<sup>410</sup>S. Huo, I. Massova y P. A. Kollman *J. Comput. Chem.*, **2002**, *23*, 15-27.

<sup>411</sup>C. M. Reyes y P. A. Kollman *J. Mol. Biol.*, **2000**, *295*, 1-6.

<sup>412</sup>S. Huo, J. Wang, P. Cieplak, P. A. Kollman e I. D. Kuntz *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 1412-1419.

<sup>413</sup>I. Halperin, B. Ma, H. Wolfson y R. Nussinov *Proteins*, **2002**, *47*, 409-443.



empíricas, métodos empíricos, potenciales basados en el conocimiento y funciones de consenso.

**Métodos de primeros principios.** Son utilizados por DOCK<sup>383</sup> y AutoDock<sup>382</sup> y utilizan sólo las funciones del campo de fuerza coulombianas y de van der Waals. Para tener en cuenta el efecto del disolvente sobre las interacciones electrostáticas se utiliza una constante dieléctrica dependiente de la distancia. Las energías internas del ligando y los términos entrópicos se ignoran.

**Métodos semiempíricos.** La mayor parte del tiempo de computación en los cálculos FEP/TI se emplea en estructuras físicamente irrelevantes mediante simulaciones MD y MC, ya que sólo se pueden hacer pequeñas mutaciones a una vez. Los métodos semiempíricos<sup>322,414-418</sup>, consisten en muestrear únicamente los estados inicial y final, es decir, el ligando libre en disolución y enlazado al receptor. Se utiliza una energía de interacción lineal basada en la respuesta lineal de las fuerzas electrostáticas debida a los cambios en los campos eléctricos, como por ejemplo, los descritos por la ecuación de Born para la solvatación de iones. La energía libre de hidratación de los iones y pequeños grupos polares resultan ser iguales a la mitad de la energía electrostática soluto-disolvente, siendo esta observación la base del método. Los cambios en las interacciones no polares se modelizan con un coeficiente determinado empíricamente ( $\alpha$ ), que se obtiene por el ajuste de datos experimentales de enlace. La función de puntuación resultante es:

$$\Delta G_{enlace} = \frac{1}{2} \langle \Delta \mathcal{V}_{i-s}^{el} \rangle + \alpha \langle \Delta \mathcal{V}_{i-s}^{vdw} \rangle \quad (4.98)$$

donde el primer término es la diferencia en la energía de interacción electrostática del inhibidor  $i$  con las moléculas que lo rodean,  $s$ , que se refieren o bien al disolvente o al disolvente y el receptor. El segundo término es la contribución no polar obtenida empíricamente. Los valores son promediados, obtenidos mediante simulaciones de DM o MC.

El programa AutoDock implementó<sup>388</sup> posteriormente una función de puntuación semiempírica, dada por la ecuación:

$$\begin{aligned} \Delta G = & \Delta G_{vdw} \sum_{i,j} \left( \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} \right) + \Delta G_{ptcH} \sum_{i,j} E(t) \left( \frac{C_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{R_{ij}^6} \right) \\ & + \Delta G_{elec} \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{\epsilon(r_{ij}) r_{ij}} + \Delta G_{tor} N_{tor} + \Delta G_{sol} \sum_{i,j} (S_i V_j + S_j V_i) \cdot e^{(-r_{ij}^2/2\sigma^2)} \end{aligned} \quad (4.99)$$

<sup>414</sup>J. Åqvist *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 1587-1597.

<sup>415</sup>N. A. McDonald, H. A. Carlson y W. L. Jorgensen *J. Phys. Org. Chem.*, **1997**, *10*, 563-576.

<sup>416</sup>T. Hansson, J. Marelius y J. Åqvist *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1998**, *12*, 27-35.

<sup>417</sup>J. Marelius, T. Hansson y J. Åqvist *Int. J. Quantum Chem.*, **1998**, *69*, 77-78.

<sup>418</sup>R. Zhou, R. A. Friesner, A. Ghosh, R. C. Rizzo, W. L. Jorgensen y R. M. Levy *J. Phys. Chem. B*, **2001**, *105*, 10388-10397.

donde los tres primeros términos son los del campo de fuerza, escalados empíricamente por el término  $\Delta G$ . El término de enlace de hidrógeno tiene una direccionalidad debida al factor  $E(t)$  que es función del ángulo. El último término tiene en cuenta los efectos de solvatación.

**Métodos empíricos.** Son extensiones<sup>368,419–421</sup> de las relaciones estructura-actividad desarrolladas en la década de los sesenta. La primera desventaja de estos métodos es que es difícil conocer exactamente los términos a tener en cuenta y de dónde proceden los errores. Además, las predicciones de energía de enlace sólo son buenas si las moléculas tienen similares interacciones que las de los complejos estudiados. Y, por otra parte, el pH, la concentración salina y la temperatura pueden influenciar significativamente la medida de las constantes.

Un ejemplo de función de este tipo es la implementada por el programa FlexX:

$$\begin{aligned} \Delta G = & \Delta G_o + \Delta G_{rot} N_{rot} + \Delta G_{pteH} \sum_{pteH-neutros} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{io} \sum_{int. iónicas} f(\Delta R, \Delta \alpha) \\ & + \Delta G_{arom} \sum_{int.arom.} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{lipo} \sum_{cont.lipo.} f^*(\Delta R) \end{aligned} \quad (4.100)$$

donde  $f(\Delta R, \Delta \alpha)$  es una función de escala que penaliza las desviaciones de las geometrías ideales y el factor de escala  $f^*(\Delta R)$  tiene en cuenta los contactos con distancia ideal, pero penaliza los contactos cercanos<sup>368</sup>.

**Potenciales basados en el conocimiento.** Se obtienen utilizando las frecuencias observadas en las interacciones átomo-átomo de estructuras conocidas de complejos ligando-proteína; si estas frecuencias se convierten en energías libres utilizando distribuciones de Boltzmann, a estos potenciales se le denominan potenciales de fuerza media (PMF). La diferencia principal con los potenciales empíricos es que no se necesitan datos de enlace.

La energía libre de Helmholtz de la interacción se calcula sumando la de todos los pares de átomos proteína-ligando:

$$\Delta A_{enlace} = \sum_{kl} A_{ij}(r) \quad (4.101)$$

donde  $A_{ij}$  es el potencial de fuerza principal entre el átomo tipo  $i$  y el tipo  $j$ , y la suma se hace sobre todos los pares de átomos  $kl$  proteína-ligando y todas las interacciones de tipo  $ij$ . Queda definido como:

$$A_{ij}(r) = -kT \ln \frac{g_{ij}(r)}{g(r)} \quad (4.102)$$

siendo  $k$  la constante de Boltzmann y  $g_{ij}(r)$  la probabilidad normalizada de que

<sup>419</sup>H. Böhm *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1994**, 8, 243-256.

<sup>420</sup>H. Böhm *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1998**, 12, 309-323.

<sup>421</sup>Z. Weng, S. Vajda y C. Delisi *Protein Sci.*, **1996**, 5, 614-626.

un par de átomos  $ij$  estén en contacto a una distancia  $r$ , mientras que  $g(r)$  es la probabilidad normalizada de referencia, siendo este estado de referencia aquél en el que la proteína y el ligando no interactúan.

Teóricamente, tienen en cuenta todas las fuerzas que intervienen en la formación del complejo, aunque algunos efectos, como el efecto disolvente, pueden quedar infravalorados<sup>387,422</sup>.

**Funciones de consenso.** Una reciente tendencia es el empleo de puntuaciones de consenso, uso que consiste en aplicar varias funciones de puntuación para el mismo *docking*, a fin de eliminar falsos positivos<sup>423,424</sup>.

#### 4.5.4. Validación de los algoritmos de *docking*

La bondad de los resultados de un programa, al predecir el acoplamiento de un ligando, normalmente se mide por los valores del RMSD entre las posiciones atómicas de los átomos pesados, observadas experimentalmente y las predichas teóricamente<sup>370</sup>.

Hay tres métodos principales: predicción del modo de enlace, optimización dirigida y búsqueda en bases de datos.

**Predicción del modo de enlace.** Es el método más antiguo; utiliza el valor del RMSD, comparando si la puntuación del complejo es menor que la correspondiente a la estructura cristalina. El umbral estándar para que se considere un *docking* correcto es de  $2\text{Å}$ <sup>392,425</sup>.

Un intento de valorar la predicción en ausencia de un estado de referencia es el uso de *Z-scores*, que tienen en cuenta la distribución de energía de las geometrías previstas<sup>392</sup>.

Los fallos del *docking* pueden ser debidos a un muestreo incompleto (fallos leves) o imprecisiones de la función de puntuación (fallos severos)<sup>426</sup>. Una comparación de la puntuación de la conformación en el complejo de menor energía con la puntuación del cristal optimizado puede indicar si hay un fallo leve o severo. Si la puntuación del complejo es menor que la estructura del cristal hay un fallo severo, lo que obliga a cambiar la función de puntuación. Si la puntuación del complejo es mayor (menos favorable) que la estructura cristalina, hay un fallo leve, debido al algoritmo de búsqueda ha que no ha encontrado el mínimo global; un remedio fácil es aumentar el muestreo.

**Optimización dirigida.** Se comparan compuestos de estructura química similar, aunque con diferente afinidad de enlace. Una buena función de puntuación limitará

<sup>422</sup>L. Schaffer y G. M. Verkhivker *Proteins*, **1998**, 33, 295-310.

<sup>423</sup>J. R. Tame *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1999**, 13, 99-108.

<sup>424</sup>P. S. Charifson, J. J. Corkery, M. A. Murcko y W. P. Walters *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 5100-5109.

<sup>425</sup>W. Sippl, J. Contreras, I. Parrot, Y. M. Rival y C. G. Wermuth *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **2001**, 15, 411-428.

<sup>426</sup>G. M. Verkhivker, D. Bouzida, D. K. Gehlhaa, P. A. Rejto, S. Arthurs, A. B. Colson, S. T. Freer, V. Larson, B. A. Luty, T. Marrone y P. W. Rose *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **2000**, 14, 731-751.

el número de falsos positivos o negativos. Se necesitan datos experimentales para verificar el programa de *docking* con respecto a compuestos similares.

**Búsqueda en base de datos.** En este caso se comparan diferentes compuestos y el algoritmo debe identificar los compuestos activos en una base de datos donde la gran mayoría son inactivos.

Hay dos métodos para evaluar la bondad de los resultados. El primer método es la medición de la «tasa de impacto» que se define como la recuperación de compuestos activos conocidos entre los  $x$  primeros compuestos de la librería. A mayor tasa de impacto, menos compuestos se han tenido que buscar experimentalmente. La segunda medida es el factor de enriquecimiento (EF), definido como:

$$EF = \frac{a/n}{A/N} \quad (4.103)$$

donde  $a$  es el número de bases de datos activas en la lista de  $n$  compuestos y  $A$  es el número total de compuestos activos en la base de datos de  $N$  compuestos.



---

## DETALLES COMPUTACIONALES

---

### 5.1. Caracterización de los tioazúcares estudiados

#### 5.1.1. Análisis conformacional y selección de estructuras

Con el fin de obtener un conjunto representativo de estructuras de cada compuesto estudiado, de forma que se tenga una cierta seguridad de haberse analizado todo el espacio conformacional, se ha elegido, como método, el análisis conformacional sistemático para la localización de las diferentes estructuras y un sistema para clasificarlas que consiste en identificar cada estructura según la forma del anillo que presente y su clasificación de ángulos diedros de los sustituyentes.

- Para cada molécula (anillo de piranosa), se ha generado, en el programa de modelización molecular PCMODEL<sup>427</sup>, una estructura inicial que posteriormente se ha optimizado con el campo de fuerzas MMX, utilizando para ello el ejecutable `mmx.exe` que viene contenido en el directorio de instalación de la versión 4.0 del referido programa<sup>428</sup>. Se ha utilizado esta versión de consola, ya que, de esta forma, los cálculos pueden automatizarse mediante el uso de archivos guión (proceso por lotes). Además, MMX ha sido empleado con éxito en estudios de anillos de piranosas<sup>181</sup>.
- De cada una de estas estructuras iniciales, se han generado las 38 formas canónicas posibles del anillo de piranosa (utilizando el algoritmo descrito en la página 112) y, de cada conformación del anillo, se han generado todos los posibles rotámeros

---

<sup>427</sup>Programa PCMODEL. Disponible en Serena Software, PO Box, 3076, Bloomington, IN 47402-3076, U.S.A.

<sup>428</sup>En esta primera parte, pudiera darse la impresión de que se utiliza un programa y un campo de fuerzas obsoleto. Téngase en cuenta que la presente tesis se inició allá por el año 1997, pero por diversas circunstancias ésta se ha dilatado (hay que reconocerlo) demasiado en el tiempo; sobre todo porque el desarrollo de la misma se ha tenido que compatibilizar con las actividades profesionales del doctorando y también, en gran medida, por el fallecimiento del recordado Pepe Molina. Durante este largo periodo de tiempo el doctorando ha podido conocer nuevos métodos y programas; de hecho diversos campos de fuerzas se han probado con posterioridad. Sin embargo, el doctorando está en condiciones de afirmar que el campo de fuerzas MMX ha resistido muy bien el paso del tiempo, si tenemos en cuenta los resultados a la hora de describir determinados aspectos de la química de tioazúcares, resultados que superan en precisión a los de otros campos de fuerza de más reciente desarrollo.

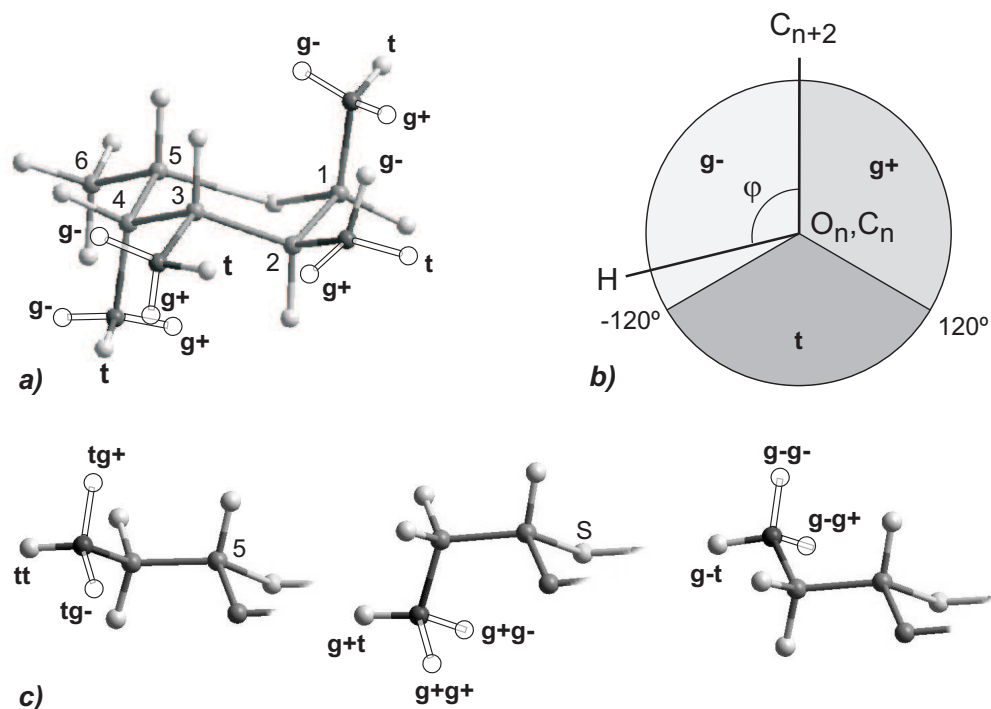
de sus ramificaciones, habiéndose considerado 3 posibles posiciones para cada grupo susceptible de rotación. Todas estas estructuras de partida (3078 ó 27702, dependiendo de la configuración de la molécula) se han optimizado con MMX.

- El conjunto de estructuras así optimizado ha habido que reducirlo para su posterior reoptimización por métodos *ab initio*. Con el fin de evitar perder estructuras de relevancia conformacional, el proceso de selección ha sido el siguiente: todas las estructuras optimizadas en MMX, dentro de un rango de 10 kcal/mol por encima del mínimo global, se han agrupado según la conformación del anillo (definida según el algoritmo descrito en la sección 7.1, que establece la manera en la que una forma no canónica del anillo es combinación lineal de otras cuatro formas canónicas que la rodean en el espacio conformacional) y la clasificación de ángulos diedros; de cada grupo se ha seleccionado el rotámero de menor energía. Hasta 5 kcal/mol se han retenido todos los rotámeros así seleccionados (subconjunto A) y para un rango de 5-10 kcal/mol, únicamente se han escogido aquellos rotámeros cuya conformación del anillo no se encontrase en el subconjunto A (subconjunto B).

### 5.1.2. Refinamiento de las geometrías. Moléculas aisladas

El conjunto (A + B) de estructuras seleccionado anteriormente se ha reoptimizado por métodos DFT<sup>261</sup>, considerando en principio a cada estructura como molécula aislada en el vacío. Siguiendo las recomendaciones de estudios existentes sobre los rotámeros de la homóloga natural fucosa<sup>182,183</sup>, se ha utilizado la base 6-31G\* con el funcional híbrido B3LYP<sup>263,264</sup> (B3LYP/6-31G\*), pero en el caso de los tioazúcares, este método sobrestima algunas interacciones (véase la sección de Resultados), por lo que finalmente se incluyeron funciones difusas en la base (B3LYP/6-31+G\*). Sólo se han retenido aquellas estructuras dentro de un rango de 10 kcal/mol.

Estos cálculos se han realizado con Gaussian 03<sup>429</sup>, utilizando coordenadas cartesianas, las cuales han resultado ser más eficientes para la optimización de los anillos. Para el resto de parámetros de optimización, se han tomado los valores que tiene el programa por defecto.



**Figura 5.1:** Criterio adoptado para la asignación de los ángulos diedros de los rotámeros. (a) Las diferentes orientaciones de los grupos OH para la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa. (b) Rango de valores para las orientaciones de los rotámeros: g+, g- y t. (c) Ejemplo (para la configuración L-Ido, en este caso) de las diferentes orientaciones en C5 cuando C6 tiene un grupo CH<sub>2</sub>OH.

### 5.1.3. Clasificación de los ángulos diedros

Véase la figura 5.1. Se ha adoptado el criterio más utilizado<sup>182,183,430,431</sup> de asignar una letra al ángulo diedro  $C_{(i+1)} - C_i - O - H$ : g+ (60°), t (180°) y g- (-60°), (g: gauche, t: anti). Cada letra incluye un rango de valores: g+ desde 0 hasta 120°, g- desde 0 hasta -120° y t desde 120° hasta -120°, de tal forma que cada estructura queda caracterizada por una secuencia de caracteres, siguiendo la numeración de los átomos del anillo, que identifica los diedros OH. Por ejemplo: t g+ t g- se refiera a OH1 = t, OH2 = g+, OH3 = t y OH4 = g-. Adicionalmente, se añaden flechas ( $\rightarrow$  y  $\leftarrow$ ) para indicar una posible interacción intramolecular en grupos OH vecinos (contiguos) —todas las distancias OH...O cercanas a 2,5 Å se clasifican como posibles enlaces de hidrógeno—, apuntando la flecha

<sup>429</sup>Gaussian 03, Revision B.05, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez y J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.

<sup>430</sup>G. I. Csonka, K. Éliás e I. G. Csizmadia *Chem. Phys. Lett.*, **1996**, 257, 49-60.

<sup>431</sup>C. J. Cramer y D. G. Truhlar *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 5745-5753.



hacia el átomo de oxígeno aceptor.

#### 5.1.4. Tratamiento del disolvente

Se ha recurrido a la inclusión del disolvente en forma implícita (métodos del continuo<sup>298</sup>); en concreto al método PCM<sup>333</sup> incluido en el programa Gaussian 03, con las opciones por defecto y con la misma base anterior (PCM-B3LYP/6-31+G\*), partiendo de las estructuras anteriormente optimizadas en fase gas. Previamente se hicieron pruebas con el método Onsager<sup>324</sup>, pero estos no dieron buenos resultados, al no conseguir subsanar el problema de la inversión de la silla en la configuración L-ido (véase la página 145).

#### 5.1.5. Cálculos de RMN

Los cálculos de desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  se han realizado, tanto en fase gaseosa como en disolución, con el método GIAO<sup>269,270</sup>, que viene implementado en Gaussian 03, y las bases B3LYP/6-31G\* y B3LYP/6-31+G\*. Como patrón de referencia se han tomado los valores calculados, con las mismas bases, para el tetrametilsilano.

Las constantes de acoplamiento vecinales,  $^3J_{\text{H,H}}$ , se han calculado utilizando dos métodos diferentes:

- mediante cálculos *ab initio*: método SSCC<sup>275</sup> incluido en Gaussian 03.
- utilizando la ecuación empírica de Haasnoot-Leeuw-Altona<sup>200</sup>

Para este último caso se ha desarrollado un programa, de elaboración propia, denominado CAL3JHH<sup>432</sup>, el cual se describe en la sección 6.2.2.

Para la realización del programa se ha utilizado «Java(TM) 2 SDK, Standard Edition, v1.4.2\_02» de Sun Microsystems<sup>433</sup>. Java es un lenguaje de programación orientado a objetos (POO) cuya principal característica es el de ser independiente de la plataforma y su facilidad para correr en cualquier navegador como un *applet*, que es un programa descargable y ejecutable desde una página web, siempre que se tenga instalada la máquina virtual de Java (*Java Virtual Machine* –JVM–).

Para poder leer los diferentes archivos PDB<sup>434</sup> de entrada, el programa necesita los correspondientes permisos de lectura en la máquina local debido a la estricta política de seguridad de Java, por lo que el *applet* se contiene en un fichero contenedor JAR, que solicitará al usuario final dichos permisos, antes de la ejecución del programa.

Tanto las constantes de acoplamiento, como los desplazamientos químicos se han promediado, teniendo en cuenta las poblaciones de Boltzmann, a 25° C.

#### 5.1.6. Otros cálculos de comprobación

Para comprobaciones puntuales, se ha recurrido a cálculos mediante métodos perturbacionales<sup>265</sup> y bases superiores, a los niveles de teoría: MP2/6-311++G\*\* y PCM-MP2/6-311++G\*\*.

<sup>432</sup>Disponible, gratuitamente, en <http://www.ugr.es/~gmdm/java/3jhh/cal3jhh.html>.

<sup>433</sup><http://www.sun.com/java>.

<sup>434</sup><http://www.rcsb.org/pdb>.

## 5.2. Estudio de la actividad inhibitoria

El análisis de la actividad inhibitoria de los diferentes tioazúcares estudiados se ha llevado a cabo por dos métodos diferentes: *docking* molecular y simulación por métodos de dinámica molecular. Para el caso de la dinámica molecular, las simulaciones se han ejecutado, utilizando el programa Amber, versión 9<sup>435</sup> y, en el caso del *docking*, se ha utilizado el programa Autodock 4.0<sup>436</sup>.

### 5.2.1. Simulación de la $\alpha$ -L-fucosidasa por métodos de dinámica molecular

#### 5.2.1.1. Definición de la proteína

Se ha construido un modelo tridimensional de la proteína  $\alpha$ -L-fucosidasa<sup>222,437</sup> a partir de tres estructuras incompletas de rayos X obtenidas en la base de datos PDB *Protein Data Bank*<sup>434</sup>, correspondientes a la bacteria marina *Thermotoga marítima*<sup>222</sup> (1HL9<sup>438</sup>, 1HL8<sup>439</sup> y 1ODU<sup>440</sup>, con resoluciones de 2,25; 2,4 y 2,8 Å, respectivamente). Se ha partido de la primera de las estructuras (1HL9), ya que es la que presenta mayor resolución (1HL9), eligiéndose la unidad B de ésta (la proteína está formada dos cadenas asimétricas e idénticas: A y B), dado que es la que tiene los segmentos ausentes más cortos (1–6, 47–55 y 269–274). Los huecos no definidos de la enzima se completaron usando la utilidad tleap de Amber, mediante optimizaciones parciales de los fragmentos insertados y una minimización final de toda la proteína, en 5000 etapas.

Paralelamente, con el fin de comprobar los resultados de esta dinámica, también se ha realizado la simulación de la unidad B incompleta. Para asegurar la integridad de ésta durante los cálculos, se fijaron los átomos pesados al final de cada segmento completo: 7–46, 56–268 y 275–448. A mano, se eliminaron las moléculas de agua y la del inhibidor que presenta el pdb.

La existencia de un residuo no estándar, presente en las dos unidades, cuyo código es KCX, ha requerido su definición previa para la optimización inicial. El residuo es un derivado de la lisina, denominado ácido lisina NZ-carboxílico<sup>441</sup>. La definición se ha diseñado de la siguiente forma:

<sup>435</sup>D.A. Case, T.A. Darden, T.E. Cheatham, III, C.L. Simmerling, J. Wang, R.E. Duke, R. Luo, K.M. Merz, D.A. Pearlman, M. Crowley, R.C. Walker, W. Zhang, B. Wang, S. Hayik, A. Roitberg, G. Seabra, K.F. Wong, F. Paesani, X. Wu, S. Brozell, V. Tsui, H. Gohlke, L. Yang, C. Tan, J. Mongan, V. Hornak, G. Cui, P. Beroza, D.H. Mathews, C. Schafmeister, W.S. Ross y P.A. Kollman, **2006**, AMBER 9, University of California, San Francisco..

<sup>436</sup>Autodock 4.0: programa disponible gratuitamente en <http://autodock.scripps.edu>. G. M. Morris, D. S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew y A. J. Olson *J. Comput. Chem.*, **1998**, 19, 1639-1662.

<sup>437</sup>G. Osanjo, M. Dion, J. Drone, C. Solleux, V. Tran, C. Rabiller y C. Tellier *Biochemistry*, **2007**, 46, 1022-1033.

<sup>438</sup><http://dx.doi.org/10.2210/pdb1hl9/pdb>.

<sup>439</sup><http://dx.doi.org/10.2210/pdb1hl8/pdb>.

<sup>440</sup><http://dx.doi.org/10.2210/pdb1odu/pdb>.

<sup>441</sup>Datos para el residuo KCX se pueden encontrar en [http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical\\_id=6915491](http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical_id=6915491) y en <http://xray.bmc.uu.se/hicup/KCX/index.html>.

1. Obtención<sup>442</sup> del residuo saturado en formato TRIPOS.
2. Cálculo de las cargas atómicas, con la ayuda del programa XRED<sup>443</sup>, que utiliza el método RESP de Amber para calcularlas leyendo los datos de una optimización de Gaussian. Como del residuo saturado se han de eliminar un H y un OH (los átomos de conexión con otros residuos), se ha partido del pdb obtenido de una optimización previa de Gaussian; a mano, se han eliminado los átomos sobrantes (H y OH) y se han vuelto a optimizar. De esta nueva optimización es de la que se han calculado las cargas atómicas.
3. En el archivo generado por XRED, que contiene los datos de conectividad, coordenadas y cargas, se les asigna a los átomos un nombre y un tipo apropiado. Esto se ha hecho en la siguiente forma: el residuo en su mayor parte es idéntico a la lisina, por lo que a los átomos similares se les ha nombrado y dado un tipo coincidentes con los de ésta; a los átomos del grupo que queda (R-NH-COOH: NZ-carboxílico), se les ha asignado un tipo, de acuerdo a los grupos funcionales que representan. A dos hidrógenos del esqueleto lisínico ha habido que cambiarles el tipo atómico, por estar ahora unidos a un carbono, a su vez unido al grupo anterior.
4. Con el programa auxiliar de Amber, Antechamber, se parametrizó el residuo antes definido. Antechamber busca el tipo de átomo del campo de fuerzas AMBER que mejor describa a cada uno de los átomos del residuo.
5. Como última etapa, se ha creado una librería específica para el residuo. Esto se ha hecho con tleap, tomando como entrada los datos calculados por Antechamber y el archivo con la definición del residuo creado en el paso 3.

#### 5.2.1.2. Protocolo de cálculo

Las dos unidades de la proteína se han simulado de forma independiente. Se ha utilizado el campo de fuerzas Amber<sup>240,241</sup> con el conjunto de parámetros ff03. El disolvente se ha simulado rodeando a la proteína de una caja octaédrica de moléculas de agua, con condiciones periódicas. Las moléculas de agua se han aproximado mediante el modelo rígido TIP3P<sup>312</sup>. El sistema se ha neutralizado con la inclusión de iones Na<sup>+</sup>. Todos estos cálculos preparativos y la creación de los archivos iniciales de parámetros y coordenadas, se han realizado con la utilidad tleap incluida en Amber.

El protocolo para la simulación ha sido el siguiente:

1. **Optimización inicial:** con el fin de eliminar posibles contactos entre residuos que pudiesen hacer fracasar la simulación, al existir regiones de alta energía a causa de dichos contactos, se ha realizado una optimización previa del sistema solvatado, en tres etapas:

<sup>442</sup>[http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical\\_id=6915491](http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical_id=6915491).

<sup>443</sup>XRED: programa disponible gratuitamente en <http://www.u-picardie.fr/labo/lbpd/RED/>.

- a) Minimización de las moléculas de agua, manteniendo a la proteína fija, con lo que se consigue la relajación de las moléculas de agua alrededor del soluto.
  - b) Minimización del soluto manteniendo fijas las moléculas de agua.
  - c) Relajación del sistema completo.
2. **Equilibrado del sistema**, hasta alcanzar el estado estacionario. Se ha realizado en tres etapas:
- a) Calentamiento gradual del sistema desde 0° hasta 300° K, durante un tiempo de simulación de 10 ps, manteniendo el volumen constante y utilizando el algoritmo de acoplamiento de Berendsen<sup>444</sup> para mantener constante la temperatura.
  - b) Equilibrado del sistema a presión y temperatura constantes, durante otros 10 ps. Con el fin de poder utilizar un buen tamaño de etapa y, dado que este depende de los movimientos más rápidos del sistema, se han restringido las tensiones de algunos enlaces del sistema, por ser estos los movimientos más rápidos. Para ello se ha utilizado el algoritmo SHAKE<sup>445</sup> y se han restringido sólo aquellos enlaces que implican a átomos de hidrógeno. El tiempo de etapa utilizado para todos los casos ha sido de 2 fs.
  - c) Extensión de la etapa anterior hasta alcanzar los 120 ps de etapa de equilibrado.
3. **Etapas de producción:** una vez equilibrado el sistema, se ha continuado la simulación durante 10 ns, en las mismas condiciones de la etapa anterior.

### 5.2.2. Cálculos de *docking* molecular

Se han estudiado, mediante *docking* molecular, todos los complejos formados por la  $\alpha$ -L-fucosidasa (unidad B) y los rotámeros de los diferentes tioazúcares estudiados y de la  $\alpha$ ,  $\beta$ -L-fucopiranososa, procedentes del cálculo PCM-B3LYP/6-31+G\*. Estos cálculos se han extendido a una amplia selección de compuestos mencionados en el capítulo Antecedentes; en este caso se ha partido de una estructura optimizada en Amber para cada compuesto y, en aquellos casos donde se ha obtenido un resultado que indicase un buen valor de la constante de inhibición, el cálculo se ha realizado para las diferentes formas canónicas (una vez optimizadas) de cada compuesto. Estos estudios se realizaron con el programa Autodock 4.0<sup>436</sup>, siguiendo el procedimiento estándar y las cargas atómicas parciales se calcularon mediante el método Gasteiger<sup>446</sup>.

En el *docking* molecular uno de los problemas por resolver es el de la flexibilidad de la proteína. Aún confiándonos únicamente a los residuos del centro activo, este sigue siendo inabordable, por lo que sólo se ha considerado la flexibilidad de los ligandos. Para la proteína se ha elegido la estructura con menor valor rmsd, con respecto a la estructura promedio de la simulación de 10 ns.

<sup>444</sup>H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola y J. R. Haak *J. Chem. Phys.*, **1984**, *81*, 3684-3690.

<sup>445</sup>J. Ryckaert, G. Ciccotti y H. J. C. Berendsen *J. Comput. Phys.*, **1977**, *23*, 327-341.

<sup>446</sup>J. Gasteiger y H. Saller *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1985**, *24*, 687-689.

Para la preparación de los archivos iniciales para el cálculo se ha hecho uso de la utilidad AutoDockTools<sup>447</sup>. De las estructuras de entrada, se eliminaron los átomos de hidrógeno no polares y se incluyeron de forma implícita (añadiéndose además sus cargas parciales a los correspondientes átomos de carbono), para mayor rapidez de los cálculos, tal y como recomienda el manual de Autodock. Con dicho programa, también se definieron los grupos de los ligandos susceptibles de rotación.

Los mapas de potencial se calcularon mediante el programa Autogrid (que viene incorporado en Autodock), utilizando una rejilla centrada en el sitio activo de la proteína, de  $30 \times 30 \times 30$  puntos, ampliándose a  $40 \times 40 \times 40$  para el caso de disacáridos y trisacáridos (y en algún otro caso en especial), por ser estos de mayor tamaño.

El máximo número de evaluaciones energéticas se ha seleccionado a  $6 \times 10^6$  y el número máximo de generaciones a 27000. Para el resto de parámetros del cálculo se han tomado los valores por defecto de Autodock y Autogrid.

### 5.2.3. Dinámica molecular de los complejos

De cada ligando, se ha seleccionado la estructura (que llamaremos postura de aquí en adelante) de mayor puntuación. El complejo formado, se ha simulado por métodos de dinámica molecular, con el mismo protocolo utilizado para el receptor. En este caso, de nuevo el problema ha sido la falta de parametrización del azufre del anillo, por lo que se ha optado por recurrir al campo de fuerzas general Gaff<sup>252</sup>, que tiene también la posibilidad de parámetros generalizados, además de que está especialmente diseñado para trabajar conjuntamente con Amber, precisamente para estos casos de interacciones proteína-ligando. Igual que para la definición del residuo KCX, con Antechamber, se han generado los parámetros no contemplados por el campo de fuerza.

Para la preparación del fichero pdb de entrada se ha actuado de la siguiente forma: para cada unidad de la proteína, se ha tomado la estructura de la misma, preparada en Amber (con todos los átomos de hidrógeno), y se le han eliminado las moléculas de agua e iones añadidos. A este fichero pdb se le ha añadido el pdb de la mejor postura del ligando correspondiente, una vez añadidos los hidrógenos no polares.

Las energías libres absolutas de interacción enzima-sustrato, se han calculado, también en Amber, mediante métodos que implementan el disolvente de forma implícita –método de Poisson-Boltzmann (PB), utilizando el programa pbsa<sup>448</sup> y el método generalizado de Born (GB) implementado en sander (de Amber)–, con la aproximación MM\_PBSA (véase el manual de Amber). También se han realizado, cálculos PB, con el programa delphi<sup>449</sup>.

<sup>447</sup>M. F. Sanner *J. Mol. Graphics. Mod.*, **1999**, *17*, 57-61.

<sup>448</sup>R. Luo, L. David y M. K. Gilson *J. Comput. Chem.*, **2002**, *23*, 1244-1253.

<sup>449</sup>B. Honig y A. Nicholls *Science*, **1995**, *26*, 1144-1149.

### 5.2.4. Análisis de las dinámicas

Para el análisis de las trayectorias se ha recurrido a la utilidad ptraj de Amber y a los programas de visualización VMD<sup>450</sup> y pymol<sup>451</sup>. Con ptraj, también se han calculado el «B-factor» o factor de temperatura y el radio de giro de la proteína.

El factor de temperatura, nos indica el grado de movimiento que, durante la simulación, han tenido los residuos. Es un parámetro que muestra como oscilan los átomos alrededor de una determinada posición y está relacionado con los desplazamientos medios cuadrados de los átomos ( $\langle \Delta r_i^2 \rangle$ ), mediante la ecuación<sup>452,453</sup>:

$$B_i = \frac{8}{3} \pi^2 \langle \Delta r_i^2 \rangle \quad (5.1)$$

Por su parte, el radio de giro se define<sup>454,455</sup> como el valor rmsd de cada átomo de la molécula con respecto a su centro de masas y se calcula según la ecuación (en la que se desprecian los átomos de hidrógeno)<sup>455</sup>:

$$R_g^2 = \sum m_i (r_i - R_C)^2 / M \quad (5.2)$$

siendo:  $m_i$  la masa atómica del átomo  $i$  y  $r_i$  sus coordenadas,  $M$  la masa total ( $M = \sum (m_i)$ ) y  $R_C$  la coordenadas del centro de masas.

Los gráficos Ramachandran<sup>456</sup> y el análisis de la estructura secundaria se ha realizado con el programa PROCHECK<sup>457</sup>.

## 5.3. Recursos computacionales empleados

Debido a la larga duración de esta tesis (12 años), por los motivos antes comentados, se han utilizado diversos recursos computacionales, tanto del grupo de investigación GMDM, como del «Centro de Servicios de Informática y Redes de Comunicaciones» (CSIRC) de la Universidad de Granada, así como propios del doctorando.

Los primeros cálculos, de mecánica molecular, se efectuaron en ordenadores personales con procesadores Intel 386 y 486. Lógicamente, avanzando en el tiempo, el poder computacional de este tipo de ordenadores ha aumentado exponencialmente. Los cálculos DFT se han llevado a cabo utilizando los recursos computacionales del CSIRC (servidor de memoria compartida Mulhacen, Silicon Graphics Origin 3800, con 64 procesadores) y los últimos cálculos, de dinámica molecular, se han realizado en el nuevo

<sup>450</sup>W. Humphrey and A. Dalke and K. Schulten «VMD - Visual Molecular Dynamics», *J. Molec. Graphics*, **1996**, *14*, 33-38. (Disponible gratuitamente en <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>).

<sup>451</sup>DeLano, Warren L. «The PyMol molecular graphics system» **2008**. DeLano Scientific, Palo Alto, California, USA. <http://www.pymol.org>.

<sup>452</sup>Y. Sun, S. Y. I. Hwang y T. Wu *J. Comput. Chem.*, **1998**, *20*, 546-562.

<sup>453</sup>X. Luo, R. Kato y J. R. Collins *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 12410-12418.

<sup>454</sup>X. Huang y R. Powers *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 3834-3835.

<sup>455</sup>M. Yu. Lobanov, N. S. Bogatyreva, y O. V. Galzitskaya *Mol. Biol.*, **2008**, *42*, 623-628.

<sup>456</sup>G. N. Ramachandran, C. Ramakrishnan y V. Sasisekharan *J. Mol. Biol.*, **1963**, *7*, 95-99.

<sup>457</sup>R. A. Laskowski, M. W. MacArthur, D. S. Moss y J. M. Thornton *J. Appl. Cryst.*, **1993**, *26*, 283-291.

«cluster» UGRGRID<sup>458</sup> («cluster» Sun FIRE X2200 M2/X4600 M2 de 1264 procesadores) que posee el CSIRC.

---

<sup>458</sup><http://ugrgrid.ugr.es>.

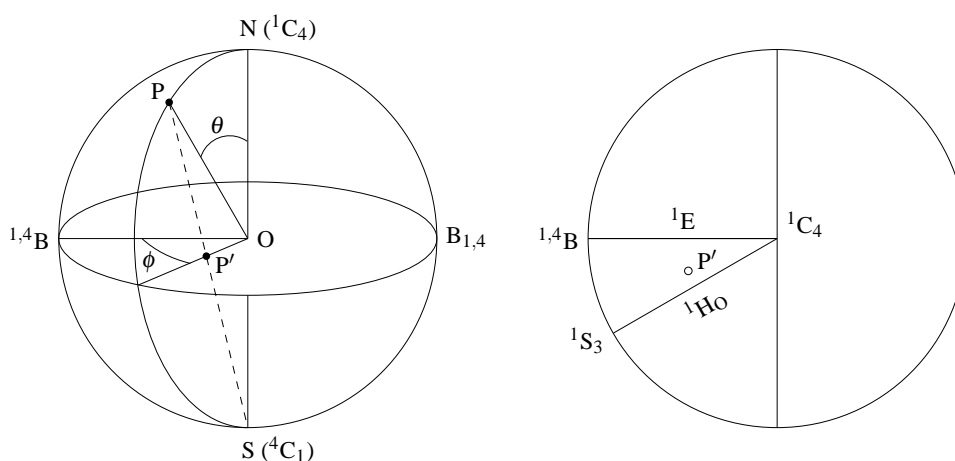
# RESULTADOS Y DISCUSIÓN I.

## ALGORITMOS DE INFORMÁTICA QUÍMICA

### 6.1. Caracterización y generación de las formas del anillo de piranosa

#### 6.1.1. Propuesta de caracterización de una forma no ideal

Cuando, como es el caso de cualquier situación real, lo que nos encontramos es con formas del anillo que se alejan de la idealidad, el problema estriba en discernir que forma tiene una determinada conformación.

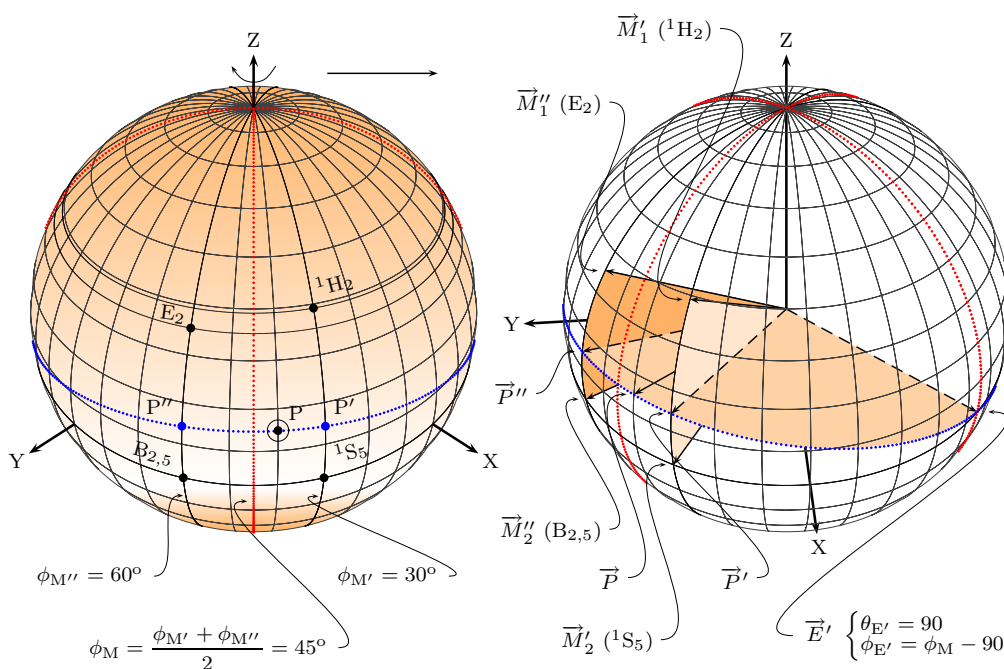


**Figura 6.1:** Ejemplo de representación estereográfica de los parámetros *puckering* de un anillo de 6 átomos.

Basándose en la costumbre de cristalógrafos y geógrafos, Jeffrey y Yates<sup>459</sup> propusieron una representación estereográfica de los parámetros *puckering* CP del anillo de 6

<sup>459</sup>G. A. Jeffrey y J. H. Yates *Carbohydr. Res.*, **1979**, 74, 319-322.





**Figura 6.2:** Ejemplo de una conformación  $P$  como combinación lineal de 4 formas canónicas adyacentes (para la explicación, véase el texto).

átomos, la cual se describe en la figura 6.1. Cada hemisferio queda proyectado sobre un círculo de radio  $Q$ , de forma que cualquier conformación  $P$  puede ser estudiada gráficamente en dos dimensiones. En la figura, el radio  $OP'$  define un pequeño círculo que mide la distorsión (dada por su latitud) desde la silla ideal  ${}^4C_1$  y la intersección de la extensión de dicho radio con el círculo ecuatorial medirá el tipo de distorsión (dada por su longitud): en la dirección de bote o en la de bote torcido.

Por otro lado, cualquier conformación se puede expresar como combinación lineal de las formas básicas. Normalmente, para anillos de 6 miembros, una conformación se suele expresar como combinación lineal de tres formas canónicas<sup>460</sup>.

En este apartado, se describe cómo se han caracterizado las conformaciones estudiadas de anillos de 6 miembros (véase la figura 6.2). Tomando como base las coordenadas *puckering* en polares esféricas, calculadas por el método CP (matemáticamente riguroso y el más utilizado), la idea intuitiva es que cualquier conformación no canónica del anillo,  $P(\theta_P, \phi_P, Q)$ , estará siempre situada, en la esfera de radio  $Q$ , entre 4 formas básicas (véase la figura 6.2), por lo que dicha conformación podrá establecerse como combinación lineal de las correspondientes 4 formas canónicas que la limitan, ya que, en el espacio tridimensional, cuatro o más vectores son siempre linealmente dependientes.

Ahora bien, se pueden hacer infinitas combinaciones lineales del vector  $\vec{P}$  con respecto a los 4 vectores limitantes ( $\vec{M}'_1$ ,  $\vec{M}'_2$ ,  $\vec{M}''_1$  y  $\vec{M}''_2$ ) correspondientes a las 4 formas básicas que se sitúan sobre meridianos de la esfera, por lo que el problema está en escoger la que nos permita decidir a que conformación canónica se asemejará más. Se podría

<sup>460</sup>J. C. A. Boeyens y D. G. Evans *Acta Cryst.*, **1989**, B45, 581-590.

hacer una aproximación: si consideramos que los 5 vectores implicados tienen el mismo módulo (el radio de la esfera  $Q$ ), el problema se puede reducir a un problema en dos dimensiones, dadas por los valores de  $\theta$  y  $\phi$  de cada vector. En tal caso se podrían obtener de manera trivial los porcentajes de cada conformación canónica limitante, y decidir que la conformación  $P$  se asemejaría más a la de mayor porcentaje, pero esto no sería un método riguroso.

Entonces, el esquema que se establece es el que sigue: según el teorema de la base, cualquier vector de la esfera podrá ser combinación lineal de otros dos vectores situados en la misma esfera, siempre que los tres se encuentren en una circunferencia máxima, lo cual viene dado por la condición de que, para que se pueda establecer una combinación lineal (que además es única) entre tres vectores  $(\vec{u}, \vec{v}, \vec{w})$ , estos han de ser coplanarios. Es decir, han de cumplir la condición:

$$\begin{vmatrix} x_u & y_u & z_u \\ x_v & y_v & z_v \\ x_w & y_w & z_w \end{vmatrix} = 0 \quad (6.1)$$

Teniendo en cuenta esto, a partir de  $P$  se deben obtener dos puntos  $P'$  y  $P''$  situados sobre los meridianos adyacentes a  $P$ , ( $M'$  y  $M''$ ), de tal forma que  $P$  pueda ser combinación lineal de ellos ( $P = \lambda_1 P' + \lambda_2 P''$ ), siendo  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  los parámetros escalares que la definen. Al estar situados sobre el mismo meridiano, se cumple automáticamente la condición de ser coplanarios, por lo que  $P'$  será combinación lineal de  $M'_1$  y  $M'_2$  y análogamente  $P''$  lo será de  $M''_1$  y  $M''_2$  y por ende,  $P$  será combinación lineal de  $M'_1, M'_2, M''_1$  y  $M''_2$ , que es lo que andamos buscando.

La fase crítica es situar correctamente  $P'$  y  $P''$  para que  $P$  sea combinación lineal de ellos. Esto se consigue situando los tres puntos sobre una circunferencia máxima de la esfera, para que se cumpla la condición de coplanaridad de la ecuación 6.1. El problema es que por  $P$  pasan infinitas circunferencias máximas y hay que escoger una, la que nos permita caracterizar correctamente la conformación  $P$ .

Esto se consigue de la siguiente forma (véase la figura 6.2): por  $P$  se hace pasar una circunferencia máxima que a su vez pase por el punto  $E'$ , situado en el ecuador de la esfera ( $\theta_{E'} = 90$ ) y de longitud  $\phi_{E'} = \phi_M - 90$ , siendo  $M$  el meridiano intermedio entre los meridianos de las formas canónicas limitantes  $M'$  y  $M''$ , es decir:  $\phi_M = \frac{\phi_{M'} + \phi_{M''}}{2}$ .

Los puntos  $P'$  y  $P''$  serán la intersección de esta circunferencia máxima con los meridianos  $M'$  y  $M''$  y tienen la peculiaridad de que, así obtenidos, las distancias de  $P'$  y  $P''$  al ecuador son idénticas, es decir,  $\theta_{P'} = \theta_{P''}$  (la misma latitud), lo que en el plano equivaldría a que  $P' - P''$  y la línea del ecuador fuesen rectas paralelas.

La formulación matemática, para el cálculo de las coordenadas polares esféricas de  $P'$  y  $P''$  será la siguiente:

- El valor de  $Q$  es fijo, el de la esfera.
- La longitud  $\phi$  queda fijada por ser las de los meridianos limitantes correspondientes, es decir,  $\phi_{P'} = \phi_{M'}$  y  $\phi_{P''} = \phi_{M''}$ .

- La latitud,  $\theta$ , que es común a  $P'$  y  $P''$ , la calcularemos ayudándonos de la condición de coplanaridad dada por la ecuación 6.1, que deberán cumplir los vectores  $\vec{P}'$ ,  $\vec{P}$  y  $\vec{E}'$  y que quedará como

$$\begin{vmatrix} x_{P'} & y_{P'} & z_{P'} \\ x_P & y_P & z_P \\ x_{E'} & y_{E'} & z_{E'} \end{vmatrix} = 0 \quad (6.2)$$

que, teniendo en cuenta las ecuaciones del cambio de coordenadas,

$$x = Q \sin \theta \cos \phi \quad (6.3a)$$

$$y = Q \sin \theta \sin \phi \quad (6.3b)$$

$$z = Q \cos \theta \quad (6.3c)$$

se transforma en:

$$\begin{vmatrix} Q \sin \theta_{P'} \cos \phi_{P'} & Q \sin \theta_{P'} \sin \phi_{P'} & Q \cos \theta_{P'} \\ Q \sin \theta_P \cos \phi_P & Q \sin \theta_P \sin \phi_P & Q \cos \theta_P \\ Q \sin \theta_{E'} \cos \phi_{E'} & Q \sin \theta_{E'} \sin \phi_{E'} & Q \cos \theta_{E'} \end{vmatrix} =$$

$$Q^3 \begin{vmatrix} \sin \theta_{P'} \cos \phi_{P'} & \sin \theta_{P'} \sin \phi_{P'} & \cos \theta_{P'} \\ \sin \theta_P \cos \phi_P & \sin \theta_P \sin \phi_P & \cos \theta_P \\ \sin \theta_{E'} \cos \phi_{E'} & \sin \theta_{E'} \sin \phi_{E'} & \cos \theta_{E'} \end{vmatrix} = 0 \implies$$

$$\implies \begin{vmatrix} \sin \theta_{P'} \cos \phi_{P'} & \sin \theta_{P'} \sin \phi_{P'} & \cos \theta_{P'} \\ \sin \theta_P \cos \phi_P & \sin \theta_P \sin \phi_P & \cos \theta_P \\ \sin \theta_{E'} \cos \phi_{E'} & \sin \theta_{E'} \sin \phi_{E'} & \cos \theta_{E'} \end{vmatrix} = 0 \quad (6.4)$$

y, considerando que  $\theta_{E'} = 90$ , queda como:

$$\begin{vmatrix} \sin \theta_{P'} \cos \phi_{P'} & \sin \theta_{P'} \sin \phi_{P'} & \cos \theta_{P'} \\ \sin \theta_P \cos \phi_P & \sin \theta_P \sin \phi_P & \cos \theta_P \\ \cos \phi_{E'} & \sin \phi_{E'} & 0 \end{vmatrix} = 0 \quad (6.5)$$

donde la única incógnita es  $\theta_{P'}$ , que además se puede comprobar que se corresponde también con el valor de  $\theta_{P''}$ . Operando el determinante y despejando:

$$\theta_{P'}(\theta_{P'}) = \arctan \left[ \tan \theta_P \frac{\sin \phi_P \cos \phi_{E'} - \cos \phi_P \sin \phi_{E'}}{\sin \phi_{P'} \cos \phi_{E'} - \cos \phi_{P'} \sin \phi_{E'}} \right] \quad (6.6)$$

siendo:

$$\phi_{E'} = \left( \frac{\phi_{P'} + \phi_{P''}}{2} \right) - 90 \quad (6.7)$$

Una vez obtenidos los vectores  $\vec{P}'$  y  $\vec{P}''$  de forma apropiada, se establecen las combinaciones lineales de manera adecuada. De forma general, se establece la combinación

lineal de un vector  $\vec{u}$ , con respecto a los vectores  $\vec{v}$  y  $\vec{w}$ , en la forma:

$$\vec{u} = \lambda_1 \vec{v} + \lambda_2 \vec{w} \quad (6.8)$$

$\vec{P}'$  será combinación lineal de los vectores correspondientes a las formas canónicas adyacentes, situadas en su mismo meridiano:  $\vec{M}'_1$  y  $\vec{M}'_2$ . Habrá que resolver el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\left. \begin{aligned} \lambda_{P'_1} x_{(M'_1)} + \lambda_{P'_2} x_{(M'_2)} &= x_{(P')} \\ \lambda_{P'_1} y_{(M'_1)} + \lambda_{P'_2} y_{(M'_2)} &= y_{(P')} \\ \lambda_{P'_1} z_{(M'_1)} + \lambda_{P'_2} z_{(M'_2)} &= z_{(P')} \end{aligned} \right\} \quad (6.9)$$

Los coeficientes de la combinación lineal se hallan fácilmente resolviendo el sistema, para lo que basta tomar sólo dos ecuaciones. La tercera se cumplirá automáticamente debido a la condición de coplanaridad. Análogamente, para  $\vec{P}''$  se obtienen  $\lambda_{P''_1}$  y  $\lambda_{P''_2}$ .

Ahora, se obtienen los coeficientes de la combinación lineal  $\vec{P} = \lambda_{P_1} \vec{P}' + \lambda_{P_2} \vec{P}''$  y, por último, la combinación final la obtendremos en la forma:

$$\vec{P} = \lambda_{P_1} \vec{P}' + \lambda_{P_2} \vec{P}'' = \lambda_{P_1} (\lambda_{P'_1} \vec{M}'_1 + \lambda_{P'_2} \vec{M}'_2) + \lambda_{P_2} (\lambda_{P''_1} \vec{M}''_1 + \lambda_{P''_2} \vec{M}''_2) \quad (6.10)$$

Si resolvemos para el ejemplo de figura — $P$  ( $\theta = 75^\circ$ ,  $\phi = 40^\circ$ )—, obtendremos el siguiente resultado:

- De aplicación directa:

$$\phi_{P'} = 30,0 \quad \phi_{P''} = 60,0 \quad \theta_{E'} = 90,0$$

- Por la ecuación 6.7:

$$\phi_{E'} = 135,0^\circ$$

- Por la ecuación 6.6:

$$\theta_{P'} = \theta_{P''} = 75,436^\circ$$

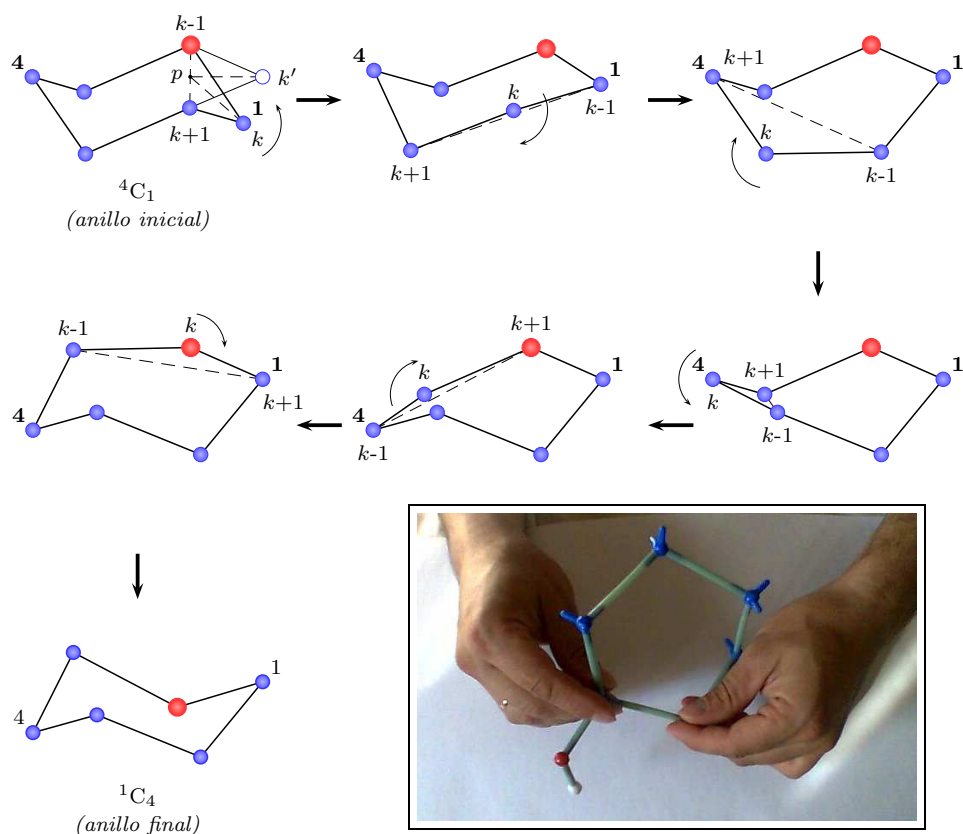
- Los coeficientes de las combinaciones lineales para  $P'$ ,  $P''$  y  $P$ , que se hallan al resolver los correspondientes sistemas de ecuaciones análogos al 6.9, serán:

$$\lambda_{P'_1} = 0,39759 \quad \lambda_{P'_2} = 0,65989$$

$$\lambda_{P''_1} = 0,43554 \quad \lambda_{P''_2} = 0,61225$$

$$\lambda_{P_1} = 0,68267 \quad \lambda_{P_2} = 0,34660$$

- Y por lo tanto, aplicando 6.10, la combinación lineal final quedará:



**Figura 6.3:** Ejemplo del método descrito para la generación de cualquier forma del anillo ( ${}^1C_4$ , en este caso), a partir de otra de referencia con una determinada conformación ( ${}^4C_1$ , en este caso).

$$\vec{P}_{(\theta=75, \phi=40)} = 0,27142 \vec{1}H_2 + 0,45049 \vec{1}S_5 + 0,15096 \vec{E}_2 + 0,21221 \vec{B}_{2,5}$$

Lo que nos indicará que la conformación se asemeja a la  ${}^1S_5$ .

En el caso de que la conformación buscada se encontrase entre uno de los polos (que corresponde a una de las formas de silla) y dos formas de semisilla y sobre, se debe considerar la forma canónica de los polos dos veces, situadas en los dos meridianos implicados, para que se pueda aplicar este cálculo. El coeficiente final de la forma de silla será la suma de los dos que se obtengan.

## 6.1.2. Generación de las diferentes formas del anillo

### 6.1.2.1. Implementación de un nuevo algoritmo

Se basa en la idea de cómo se podría mover manualmente un modelo de esferas para buscar las diferentes formas del anillo (véase la figura 6.3).

Se parte de un anillo de referencia, al cual se le modifican las coordenadas para que la molécula quede reorientada de acuerdo al plano principal que se obtiene en el proceso de cálculo de las coordenadas *puckering* CP. Como, para que se cumpla la condición dada

por la ecuación 3.8 (página 30), el plano principal ha de pasar por el centro geométrico del anillo ( $x_{cg}, y_{cg}, z_{cg}$ ), lo primero es calcularlo:

$$x_{cg} = \frac{\sum_{j=1}^N x_j}{N} \quad y_{cg} = \frac{\sum_{j=1}^N y_j}{N} \quad z_{cg} = \frac{\sum_{j=1}^N z_j}{N} \quad (6.11)$$

siendo  $N$  el número de átomos del anillo.

A continuación, todas las coordenadas de las moléculas se trasladan para que el centro geométrico del anillo sea el origen de las mismas:

$$x_i^t = x_i - x_{cg} \quad y_i^t = y_i - y_{cg} \quad z_i^t = z_i - z_{cg} \quad (i = 1 \dots N_{\text{atmol}}) \quad (6.12)$$

siendo  $N_{\text{atmol}}$  el número de átomos de la molécula.

El nuevo eje de coordenadas  $\vec{Z}'$  será perpendicular al plano principal, que queda definido<sup>162</sup> por su vector unitario perpendicular,  $\vec{n}$ , el cual se calcula por:

$$\vec{n} = \vec{R}' \times \vec{R}'' / |\vec{R}' \times \vec{R}''| \quad (6.13)$$

siendo:

$$\vec{R}' = \sum_{j=1}^N \vec{R}_j \sin[2\pi(j-1)/N] \quad (6.14)$$

$$\vec{R}'' = \sum_{j=1}^N \vec{R}_j \cos[2\pi(j-1)/N] \quad (6.15)$$

$$(6.16)$$

donde  $\vec{R}_j$  son los vectores de posición de los átomos del anillo.

Los cosenos directores del nuevo eje  $\vec{Z}'$ , siendo  $n_x, n_y$  y  $n_z$  las componentes del vector  $\vec{n}$ , serán:

$$\begin{cases} \cos \alpha_{Z'} = \frac{n_x}{|\vec{R}' \times \vec{R}''|} \\ \cos \beta_{Z'} = \frac{n_y}{|\vec{R}' \times \vec{R}''|} \\ \cos \gamma_{Z'} = \frac{n_z}{|\vec{R}' \times \vec{R}''|} \end{cases} \quad (6.17)$$

El eje  $\vec{Y}'$  quedará definido por el vector que pasa por el nuevo origen de coordenadas ( $O'$ ) y la proyección del primer átomo del anillo sobre el plano  $Z' = 0$ . Dicha proyección se establece calculando la intersección de la recta que pasa por el átomo  $j = 1$  del anillo y es perpendicular al referido plano:

$$t = \frac{x_1 \cos \alpha_{Z'} + y_1 \cos \beta_{Z'} + z_1 \cos \gamma_{Z'}}{\cos^2 \alpha_{Z'} + \cos^2 \beta_{Z'} + \cos^2 \gamma_{Z'}} \quad (6.18)$$

$$\begin{cases} x_1^p = x_1 - t \cos \alpha_{Z'} \\ y_1^p = y_1 - t \cos \beta_{Z'} \\ z_1^p = z_1 - t \cos \gamma_{Z'} \end{cases}$$

Teniendo esto, los cosenos directores del eje  $Y'$  se calculan a partir de una recta que pasa por dos puntos:

$$d = \sqrt{(x_1^p - x_{O'})^2 + (y_1^p - y_{O'})^2 + (z_1^p - z_{O'})^2}$$

$$\begin{cases} \cos \alpha_{Y'} = (x_1^p - x_{O'})/d \\ \cos \beta_{Y'} = (y_1^p - y_{O'})/d \\ \cos \gamma_{Y'} = (z_1^p - z_{O'})/d \end{cases} \quad (6.19)$$

Y, finalmente, el eje  $X'$  será el producto vectorial de los anteriores,  $\vec{X}' = \vec{Y}' \times \vec{Z}'$ , y por lo tanto sus cosenos directores serán:

$$\begin{cases} \cos \alpha_{X'} = \cos \beta_{Y'} \cos \gamma_{Z'} - \cos \beta_{Y'} \cos \gamma_{Y'} \\ \cos \beta_{X'} = \cos \alpha_{Z'} \cos \gamma_{Y'} - \cos \alpha_{Y'} \cos \gamma_{Z'} \\ \cos \gamma_{X'} = \cos \alpha_{Y'} \cos \beta_{Z'} - \cos \alpha_{Z'} \cos \beta_{Y'} \end{cases} \quad (6.20)$$

Una vez conocidos los nuevos ejes, se hace el cambio de coordenadas para obtener las nuevas coordenadas atómicas ( $x'_i, y'_i, z'_i$ ), que quedan así orientadas de acuerdo al plano principal del anillo:

$$\begin{pmatrix} x'_i \\ y'_i \\ z'_i \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_i - x_{O'} \\ y_i - y_{O'} \\ z_i - z_{O'} \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} \cos \alpha_{X'} & \cos \alpha_{Y'} & \cos \alpha_{Z'} \\ \cos \beta_{X'} & \cos \beta_{Y'} & \cos \beta_{Z'} \\ \cos \gamma_{X'} & \cos \gamma_{Y'} & \cos \gamma_{Z'} \end{pmatrix}^{-1} \quad (6.21)$$

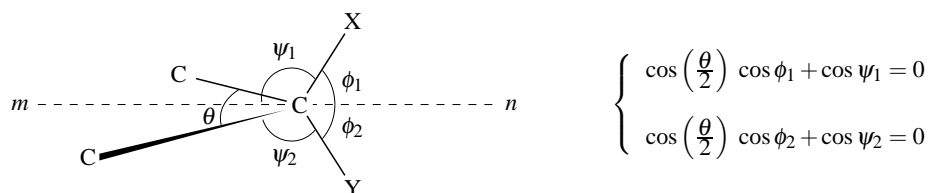
Una vez orientado convenientemente el anillo de referencia (y toda la molécula) éste se puede manipular, para modificar su conformación, conociendo los desplazamientos  $z_j$  respecto del anillo, los cuales se calcularán aplicando las ecuaciones 3.15 y 3.16 de la página 31.

Una vez conocidos los desplazamientos  $z_j$ , el proceso es iterativo desde  $k = 1$  hasta  $N$ , siendo  $N$  el número de átomos del anillo. En cada etapa, el átomo  $k$  se rota sobre el eje  $(k-1) \cdots (k+1)$ , de tal forma que la coordenada  $k_i$  alcance el valor calculado, pasando el átomo  $k$  a una nueva posición  $k'$  (véase la figura 6.3) quedando fijadas ya sus nuevas coordenadas. El algoritmo, cuya principal virtud es mantener constantes las distancias de enlace durante todo el proceso, es el siguiente:

1. Como lo que se va a hacer es rotar sobre el eje  $(k-1) \cdots (k+1)$ , las distancias  $d_1$  y  $d_2$ , deberán permanecer constantes. Así, lo primero es calcularlas:

$$\begin{cases} d_1 = \sqrt{(x_{k-1} - x_k)^2 + (y_{k-1} - y_k)^2 + (z_{k-1} - z_k)^2} \\ d_2 = \sqrt{(x_{k+1} - x_k)^2 + (y_{k+1} - y_k)^2 + (z_{k+1} - z_k)^2} \end{cases} \quad (6.22)$$

2. Se fija la nueva coordenada  $z$  del átomo  $k$  dada por el cálculo de las *puckering*:  
 $z_k \longrightarrow z_{k'}$
3. Queda calcular  $x_{k'}$  e  $y_{k'}$ , para lo cual se sustituyen en las dos ecuaciones anteriores, quedando como incógnitas, puesto que  $d_1$  y  $d_2$  han de ser constantes. Operando



**Figura 6.4:** Posición relativa de los sustituyentes en un anillo.

Llegamos a la siguiente ecuación de segundo grado:

$$y_{k'}^2 (1 + w^2) + y_{k'} 2(x_{k-1}w - v w - y_{k-1}) + (v^2 - t - 2 v x_{k-1}) = 0 \quad (6.23)$$

donde:

$$\begin{cases} t = d_1^2 - (z_{k-1} - z'_k)^2 - x_{k-1}^2 - y_{k-1}^2 \\ u = d_2^2 - (z_{k+1} - z'_k)^2 - x_{k+1}^2 - y_{k+1}^2 \\ v = \frac{t - u}{2(x_{k+1} - x_{k-1})} \\ w = \frac{y_{k+1} - y_{k-1}}{x_{k+1} - x_{k-1}} \end{cases}$$

y, por otro lado:

$$x_{k'} = v - w y_{k'} \quad (6.24)$$

La resolución de la ecuación de segundo grado da lugar a dos posibles parejas de valores para  $x_{k'}$  e  $y_{k'}$ . Para discriminar cuál es la solución aceptable se calculará la distancia desde el nuevo punto  $k'$  hasta el centro geométrico del anillo, el cual se ha de calcular previamente en cada etapa; se elegirán los valores que den un mayor valor de esta distancia.

**Las ramificaciones:** lógicamente, las rotaciones efectuadas sobre el anillo afectan a sus ramificaciones. El algoritmo lo que contempla es que los sustituyentes de cada vértice del anillo acompañen en la rotación de dicho vértice. Para ello, primero se calcula el ángulo  $w$  correspondiente a la rotación del vértice, que será el ángulo que forman las rectas  $p - k$  y  $p - k'$ . Una vez calculado, todos los átomos relacionados con dicho vértice se rotan el mismo ángulo.

Existe un problema en este paso; la figura 6.4 explica la posición correcta relativa que deben tener los sustituyentes con respecto al anillo<sup>150</sup>, en la que la recta  $mn$  es común a los planos, que deben ser perpendiculares entre sí,  $\overline{OCC}$  y  $\overline{XCY}$ . El giro de las ramificaciones en cada vértice, cuando es éste el que rota, no comporta ningún problema, puesto que todos los átomos rotarán sobre el eje  $k - 1 \cdots k + 1$ , al igual que lo hace el correspondiente átomo del anillo. Sin embargo las ramificaciones de los átomos del anillo contiguos al que gira, que en ese momento no son rotadas, quedan «distorsionadas» con respecto al nuevo plano que definen los átomos  $k - 1$ ,  $k$  y  $k + 1$ .

El problema tiene fácil solución: basta, en cada paso rotar convenientemente las



ramificaciones de los átomos  $k - 1$  e  $k + 1$ , para que cumplan las condiciones dadas en las ecuaciones de la figura 6.4. Sin embargo, aunque no es difícil de informatizar el proceso, no merece la pena hacerlo, teniendo en cuenta que las estructuras se optimizarán en mecánica molecular: cálculos muy rápidos que, con poco esfuerzo, corrigen estas posiciones.

## 6.2. Programa CAL3JHH

### 6.2.1. Introducción

La ecuación 3.53 (página 45) ha sido convenientemente informatizada en un programa de libre distribución denominado Mestre-J<sup>461</sup>, que además ofrece la posibilidad de utilizar otras ecuaciones descritas en la sección 3.7. Sin embargo, la detección de los grupos para las electronegatividades no es automática, y la idea que perseguimos es la automatización completa del proceso y la incorporación de las rutinas de cálculo en otros programas que analizan los diferentes datos obtenidos en los diversos cálculos realizados. Por otra parte, el diseño de un algoritmo que permita la detección de los diferentes grupos de sustituyentes, de acuerdo con las parametrizaciones disponibles, es un proceso factible pero arduo, que se sale del objetivo de esta tesis.

Además, la ecuación de Haasnoot se utiliza ampliamente en los estudios de análisis conformacional de moléculas orgánicas, permitiendo la validación de las geometrías calculadas por comparación con los datos experimentales, con muy buenos resultados en sacáridos. Existen también otros programas informáticos específicos<sup>462</sup>: 3JHH<sup>463</sup>, ALTONA<sup>464</sup>, SWEET-J (para el sistema operativo Macintosh)<sup>465</sup>, MSpin<sup>466</sup>, Janocchio<sup>467</sup>, AURELIA<sup>468</sup> y MULDER<sup>469</sup>.

Otro aspecto crítico, a tener en cuenta, es que los datos experimentales de RMN se toman de una muestra en disolución y, con frecuencia, en dicha disolución existe un equilibrio entre varias conformaciones, por lo que las constantes de acoplamiento medidas son valores promedio de entre todas las conformaciones que contribuyen al equilibrio. Un caso muy ilustrativo es el de los hidratos de carbono que, en disolución, dan mezclas de cadenas abiertas y anillos con diversos tamaños y formas en equilibrio, como es por ejemplo el caso de la glucosa<sup>431</sup>.

<sup>461</sup>A. Navarro-Vázquez, J. C. Cobas y F. J. Sardina *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2004**, *44*, 1680-1685.

<sup>462</sup>El programa PCMODEL (véase la cita 427) también permite el cálculo de las constantes de acoplamiento, así como, de forma un tanto rudimentaria, la página web <http://www.intermnet.ua.es/interMNet/calculadores/Haasnoot-Altona.htm>.

<sup>463</sup>E. Osawa y C. Jaime. 3JHH program, Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan **1982**.

<sup>464</sup>C. M. Cerda-García-Rojas, L. G. Zepeda y R. A. Joseph-Nathan *Tetrahedron Comput. Method.*, **1990**, *3*, 113-118.

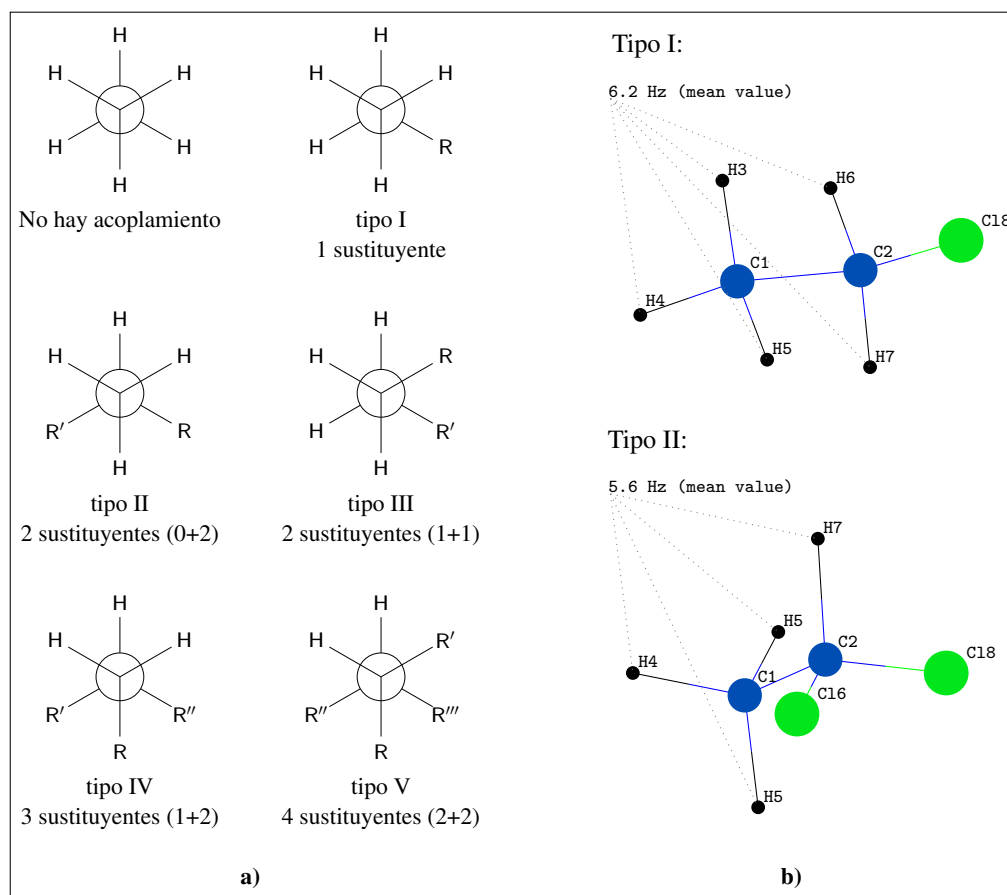
<sup>465</sup>G. Balacco *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1996**, *36*, 885-887.

<sup>466</sup>Disponible en <http://www.mestrec.com/index.php>.

<sup>467</sup>Janocchio Program v1.0.1. Eli Lilly and Co. Available on <http://janocchio.sourceforge.net>.

<sup>468</sup>K. Neidig, M. Geyerb, A. Görlner, C. Antz, R. Saffrich, W. Beneicke y H. R. Kalbitzer *J. Biomol. NMR*, **1995**, *6*, 255-270.

<sup>469</sup>P. Padrta y V. Sklenár *J. Biomol. NMR*, **2002**, *24*, 339-349.



**Figura 6.5:** Diferentes ambientes para un acoplamiento vecinal genérico  $H - C_{sp^3} - C_{sp^3} - H$ . **a)** Proyecciones de Newman para los tipos I al V. **b)** Salida gráfica del programa CAL3JHH con los valores promediados de  ${}^3J_{H,H}$  para el tipo I (cloroetano) y el tipo II (1,1-dicloroetano).

En vista de esto y, dado que en los trabajos de análisis conformacional que se están haciendo se manejan muchas estructuras diferentes de la misma molécula, se optó por la realización de un programa propio (CAL3JHH) que permitiera el cálculo rápido y fácil de las constantes de acoplamiento vecinales, adaptado preferentemente al análisis conformacional. A fin de hacerlo fácilmente accesible al resto de la comunidad científica, se determinó realizarlo utilizando el lenguaje de programación JAVA<sup>433</sup>, que tiene la doble ventaja de ser libre y gratuito, y además fácilmente accesible vía página web, evitando la dificultad del proceso de distribución y mantenimiento de un software que debería de ser multiplataforma. El programa se ha implementado como un *applet*, de forma que los usuarios sólo necesitan disponer de un navegador de Internet, pudiéndose despreocupar de instalaciones o posibles futuras actualizaciones. El programa, además, calcula los valores promedio de  ${}^3J_{H,H}$  de diferentes conformeros, si se le proporciona los valores de las energías calculadas. Utiliza la distribución de Boltzmann<sup>470</sup>, es decir, la distribución más probable de los conformeros según los valores de la energía, utilizando, para la determinación de la población conformacional, la ecuación de la Termodinámica

<sup>470</sup>D. Flamm *Stud. Hist. Philos. Sci.*, **1983**, *14*, 255-278.

Estadística:

$$\frac{N_i}{N} = \frac{e^{-E_i/KT}}{\sum_i e^{-E_i/KT}} \quad (6.25)$$

donde  $E_i$  es la energía, en kcal/mol, de cada conformero;  $K$  es la constante de Boltzmann;  $T$  la temperatura absoluta y  $N_i/N$  es la probabilidad de encontrar el conformero con el valor de energía  $E_i$  (es decir, su población, el tanto por uno de cada conformero). Así, el valor promediado final de cada constante será la suma de todos los valores particulares multiplicado por su correspondiente población.

CAL3JHH implementa la ecuación de Haasnoot, habiéndose tomado los diferentes conjuntos de parámetros  $P_1$  a  $P_7$  del trabajo original<sup>200</sup>. El programa detecta automáticamente los fragmentos H – C<sub>sp3</sub> – C<sub>sp3</sub> – H a partir del archivo PDB, del cual lee la información requerida: símbolo atómico y coordenadas; la conectividad se calcula a partir de los anteriores datos por comparación con los datos de radios covalentes u, opcionalmente, se leen del PDB si ésta está disponible. A partir de esta información el programa procesa automáticamente toda la información necesaria (ángulos diedros, electronegatividad de los sustituyentes y sus posiciones relativas) para calcular los valores de  $^3J_{H,H}$ .

Por otra parte, cuando un enlace C<sub>sp3</sub> – C<sub>sp3</sub> tiene varias constantes de acoplamiento (por ejemplo: grupos metileno o metilo), el programa calculará también los valores medios de  $^3J_{H,H}$ : debido a las posibles rotaciones libres alrededor del simple enlace C<sub>sp3</sub> – C<sub>sp3</sub>, en algunos casos, el espectrómetro de RMN detecta el hidrógeno en un ambiente promedio registrando sólo el valor medio. La figura 6.5a describe los diferentes tipos de protones según el ambiente en que se encuentran, dependiendo de los sustituyentes.

En el caso de los tipos I y II, la situación es la misma en ambos casos y las constantes de acoplamiento se promediarán. Para los tipos III y IV, en el caso particular del 1,2-dicloroetano (tipo III) o del 1,1,2-tricloroetano (tipo IV), experimentalmente se obtiene una única señal y, por lo tanto, el programa dará el valor promediado. Finalmente, en el tipo V sólo hay una constante y, obviamente, no hay nada que promediar.

### 6.2.2. Descripción del programa

El programa CAL3JHH utiliza menús autoexplicativos y elementos que siguen criterios de simplicidad y está organizado en tres módulos, cada uno de ellos insertado en un panel: «**Compute single structure**», «**Compute multiple structure**» y «**Graphical viewer**», éste último para mostrar gráficamente los resultados.

«**Compute single structure**» La figura 6.6 muestra un volcado de pantalla después del cálculo de una sola estructura, en este caso se trata de la molécula de la estricnina. Con el botón «**Open file**» se selecciona el fichero PDB en la máquina local y el programa automáticamente calculará todos los acoplamientos presentes en la molécula y los resultados aparecerán en el área de texto del programa. Al final de la salida de resultados se listan los acoplamientos calculados, junto con sus correspondientes ángulos diedros e identificaciones de los acoplamientos. Por ejemplo, la siguiente cadena en la cuarta fila:

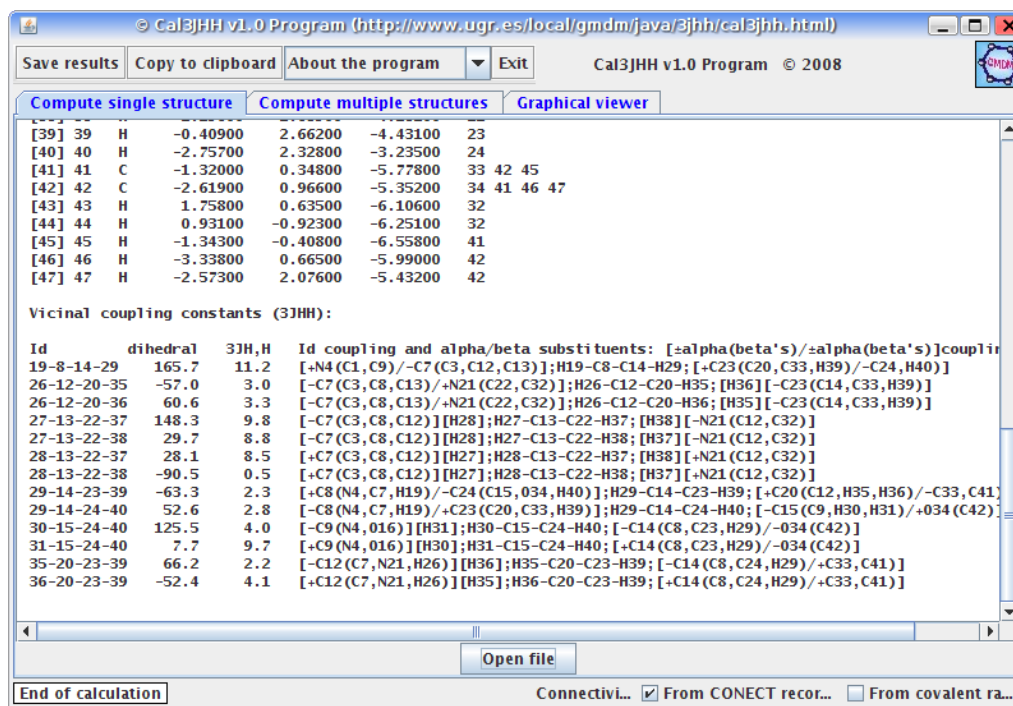
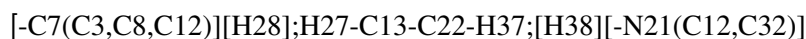


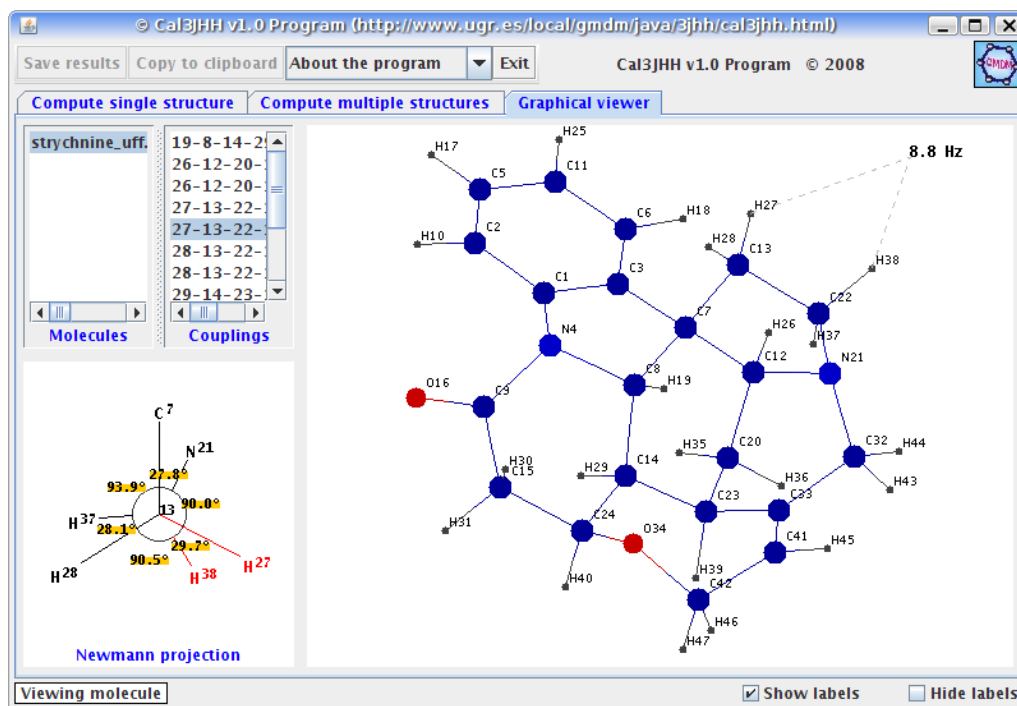
Figura 6.6: Vista del cálculo de una única estructura (estricnina) con el programa CAL3JHH.



donde «H27-C13-C22-H37» indica los protones acoplados al enlace C-C; cada cadena encerrada entre corchetes corresponde a cada sustituyente  $\alpha$  con sus sustituyentes  $\beta$  entre paréntesis. Los signos + o -, indican la posición relativa del sustituyente  $\alpha$  (en el caso de que sea un hidrógeno, no se indica el signo, ya que no participa como sustituyente porque, como se ha comentado antes, la ecuación de Haasnoot tiene en cuenta la electronegatividad relativa de los sustituyentes respecto de un átomo de hidrógeno).

El programa puede, o bien calcular las conectividades atómicas, comparando las distancias interatómicas con los respectivos radios covalentes (véase el pequeño botón seleccionable «**from covalent radii**» en la parte inferior derecha del panel en la figura 6.6), o bien utilizar los registros «CONNECT» del PDB, si es que los trae (botón seleccionable «**from CONNECT records**»). Esta última opción también puede ser útil en el caso de estructuras grandes, si sólo se requiere la información de acoplamientos de una parte de la molécula.

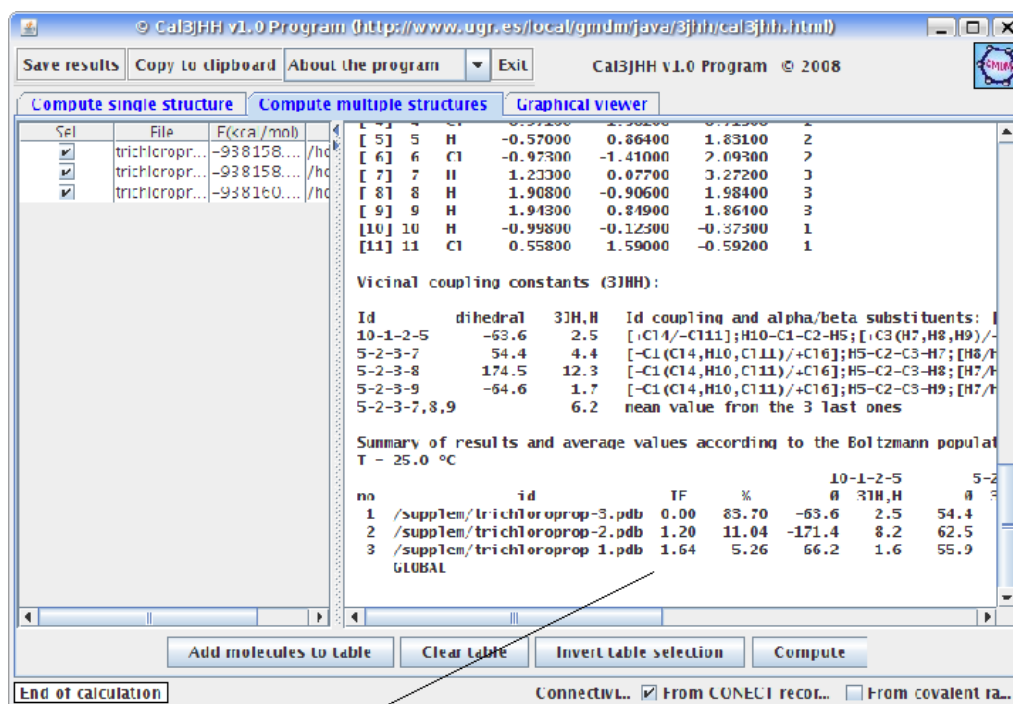
Cuando se calcula la conectividad, al final de la salida de resultados aparecerá dicha conectividad en formato PDB para su comprobación. Además, el programa presenta un menú adicional (figura 6.6 arriba a la izquierda) que permite grabar los resultados («**Save results**») a un fichero de texto o copiarlos al portapapeles («**Copy results to clipboard**»). Finalmente, en la esquina inferior izquierda, una etiqueta de texto da información sobre el estado del programa.



**Figura 6.7:** Menú «Graphical viewer» del programa mostrando los resultados del cálculo de la estricnina.

«**Graphical viewer**» La figura 6.7, enseña una vista del programa, con el panel mostrando gráficamente los cálculos anteriores de la estricnina, mostrados en la figura 6.6. El módulo incluye un visualizador para la molécula en 3D, el cual permite, la rotación en el espacio o a lo largo de algún eje xyz, el traslado y el zoom de la molécula. También dibuja en proyección de Newman los acoplamientos incluyendo los ángulos de torsión involucrados. El visualizador es simple, con el fin de ganar velocidad en la rotación de moléculas de mayor tamaño con ordenadores lentos, con lo que además el *applet* es de pequeño tamaño ayudando a que el proceso de descarga, que debe realizar el navegador, sea rápido. El panel incluye la facilidad de poder seleccionar el acoplamiento deseado, pulsando en la lista «**Couplings**», de forma que el visualizador y la correspondiente proyección de Newman, irán mostrando la constante seleccionada. Localizados en la parte inferior derecha, dos botones seleccionables permiten ocultar o mostrar las etiquetas atómicas que incluyen el símbolo atómico y el número de serie del átomo.

«**Compute multiple structures**» Finalmente, como ejemplo, se muestra en la figura 6.8 el panel que permite el cálculo de varias estructuras para tres conformeros *gauche* del 1,1,2-tricloropropano. El panel incluye, a la izquierda, una tabla de cuatro columnas con la lista de moléculas para calcularlas todas con sus valores de energía. Estas energías sólo son necesarias si se quieren obtener los valores ponderados según las poblaciones de Boltzmann y pueden ser introducidas manualmente (en kcal/mol), directamente en la tabla, en su correspondiente columna, o bien, por defecto el programa las intentará leer del fichero PDB cuando éste contenga un registro «**REMARK**» que comience con



#### Complete view of final table

Summary of results and average values according to the Boltzmann populations:  
T = 25.0 °C

no	id	IE	%	10-1-2-5 θ 3JH,H	5-2-3-7 θ 3JH,H	5-2-3-8 θ 3JH,H	5-2-3-9 θ 3JH,H	5-2-3-7,8,9 θ 3JH,H
1	C:\trichloro-3.pdb	0.00	83.70	-63.6	2.5	54.4	4.4	174.5
2	C:\trichloro-2.pdb	1.20	11.04	-171.4	8.2	62.5	3.0	-178.2
3	C:\trichloro-1.pdb	1.64	5.26	66.2	1.6	55.9	4.2	176.1
	GLOBAL			3.1		4.3		12.3

Figura 6.8: Vista del menú «Compute multiple structures» para los conformeros del 1,1,2-tricloropropano.

el texto «ENERGY(KCAL/MOL)=value». Las moléculas pueden ser eliminadas o añadidas a la tabla con los botones «Add molecules to table», «Clear table» e «Invert table selection». Una vez se han seleccionado las moléculas, el botón «Compute» inicia los cálculos. Si se han dado todos los valores de energías y todas las estructuras son conformeros de una misma molécula, adicionalmente, el programa calculará los valores promedios de  $^3J_{H,H}$ , tras haberle proporcionado el valor de la temperatura. Estos valores promedios se listan en una tabla final junto con las energías relativas, las poblaciones de Boltzmann en % y las constantes de cada conformero (véase la figura 6.8).

La figura 6.9 muestra el panel del visualizador 3D con los resultados correspondientes al 1,1,2-tricloropropano. La lista «Molecules» permite alternar entre los diferentes conformeros a visualizar.

La importancia de tener en cuenta la población de los conformeros se hace evidente después de comparar los valores experimentales y los calculados. La figura 6.10 muestra las proyecciones de Newman de los acoplamientos calculados, junto con los valores experimentales<sup>471</sup>, para los tres conformeros del 1,1,2-tricloropropano. Como se puede

<sup>471</sup>SDBS Database. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba, Ibaraki, Japan. <http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menu-e.html>.

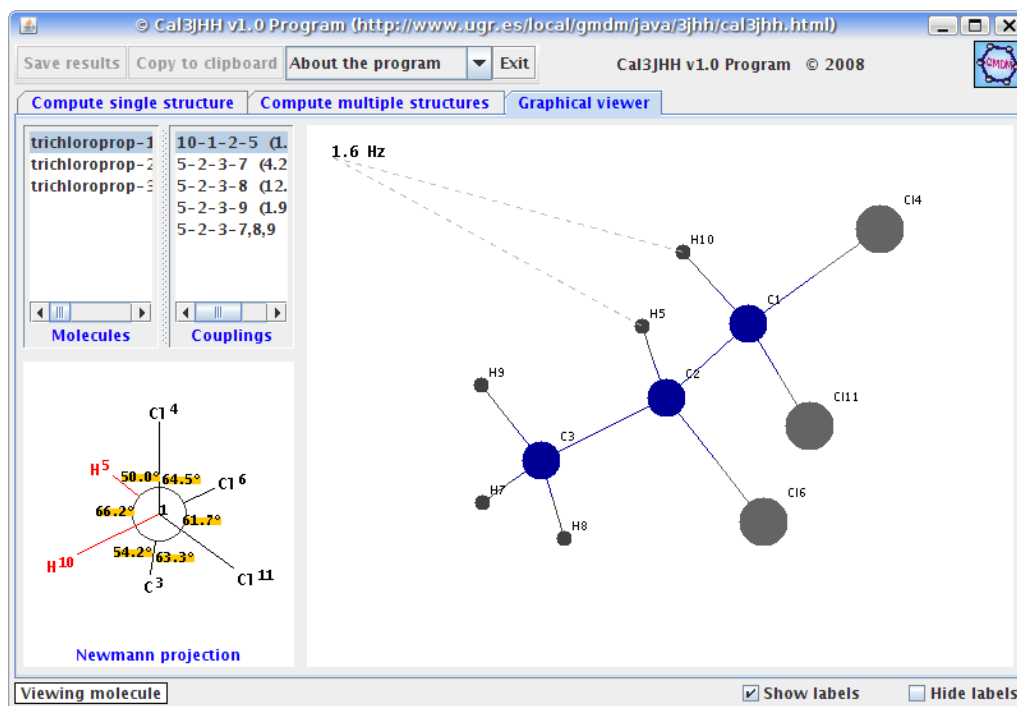


Figura 6.9: Vista gráfica con los resultados para el 1,1,2-tricloropropano.

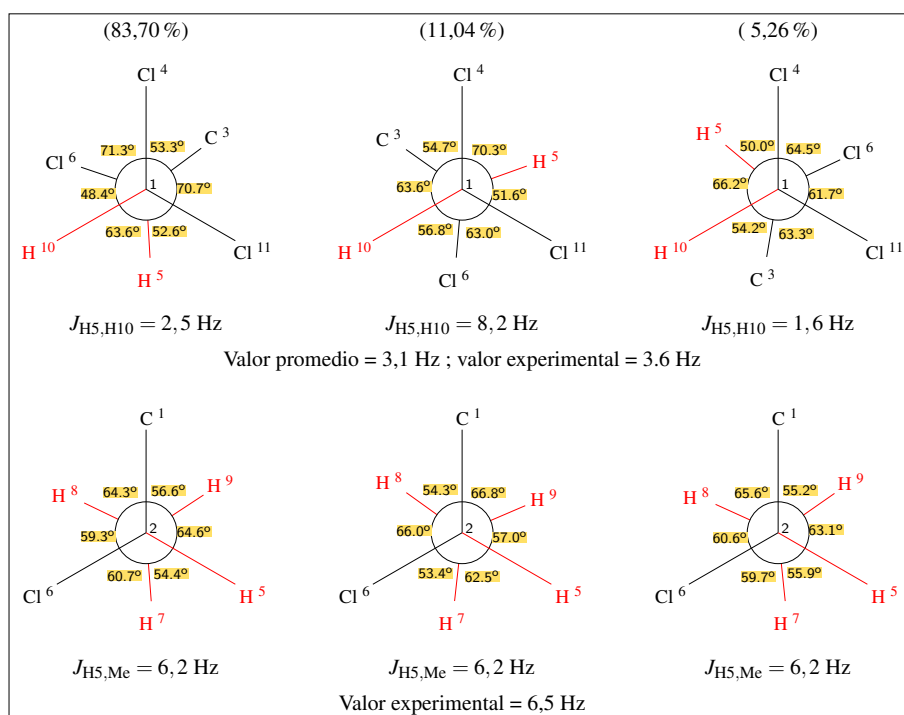


Figura 6.10: Proyecciones de Newman con los diferentes confórmers del 1,1,2-tricloropropano, junto con sus energías.

apreciar, el valor de la constante  $J_{H5,H10}$  sólo coincide con el valor experimental cuando se consideran los tres confórmers y sus poblaciones.

---

---

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN II.

### CÁLCULOS TEÓRICOS

#### 7.1. Consideraciones previas

En una primera fase, se ha realizado el análisis conformacional y el estudio teórico de las propiedades espectroscópicas de varios tioazúcares. Como la tendencia actual es al diseño de moléculas de pequeño tamaño, imitadoras de homólogas naturales<sup>472</sup> y teniendo en cuenta que en disolución la forma mayoritaria de los 5-tioazúcares es el anillo de piranosa<sup>29</sup>, se han estudiado varios compuestos de este tipo, de diferente configuración, y que se muestran en el esquema 7.1. Son la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**3,4**), la 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa (**5**), la 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa (**6**) y cuatro derivados de la 5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**7** al **10**)<sup>24</sup>.

Además, debido a la falta de estudios teóricos sobre tioazúcares y con el fin de validar la metodología empleada para el estudio de los mono-5-tiosacáridos, primeramente se ha realizado un análisis conformacional de la  $\alpha$ -L-fucopiranososa (**1**)<sup>473,474</sup>, de la que han realizado exhaustivos análisis para su caracterización<sup>182,183</sup>. El estudio se ha ampliado a la  $\beta$ -L-fucopiranososa (**2**), para la que tampoco hay información teórica previa y la metodología se extendió a sus tioderivados, 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**) y 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa (**4**), con el fin de comparar los resultados.

En la página 99 se aclara la nomenclatura empleada para la clasificación de los rotámetros (figura 5.1). Además de la notación empleada, se han añadido diferentes flechas ( $\rightarrow$  y  $\leftarrow$ ) para indicar un posible enlace de hidrógeno intramolecular entre grupos OH adyacentes, de tal forma que la flecha apunta hacia el átomo de O aceptor, tal como se puede observar en las figuras 7.10 y 7.11.

Cuando el enlace de hidrógeno es entre hidroxilos no adyacentes, o bien con el heteroátomo del anillo, se notará de la siguiente forma: por ejemplo,  $1 \leftarrow 3$ ,  $2 \rightarrow S$ , indicando el número el carbono al que pertenece el grupo OH.

En las mismas figuras aparecen, en proyección de Newman, las diferentes posibles

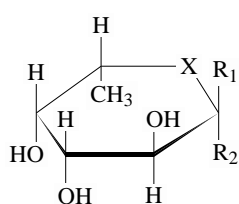
---

<sup>472</sup>C. H. Wong *Acc. Chem. Res.*, **1999**, 32, 376-385.

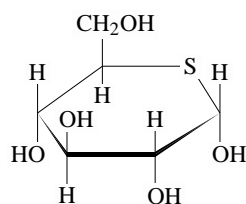
<sup>473</sup>H. M. Flowers *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1981**, 39, 279-345.

<sup>474</sup>P. T. Vanhooren y E. J. Vandamme. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **1999**, 74, 479-497.

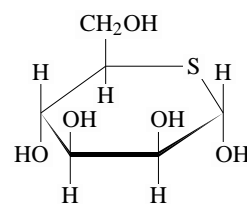


**L-GALACTO**

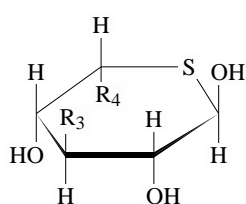
- (1) X = O , R<sub>1</sub> = OH , R<sub>2</sub> = H  
 (2) X = O , R<sub>1</sub> = H , R<sub>2</sub> = OH  
 (3) X = S , R<sub>1</sub> = OH , R<sub>2</sub> = H  
 (4) X = S , R<sub>1</sub> = H , R<sub>2</sub> = OH

**D-GLUCO**

(5)

**D-MANO**

(6)

**L-IDO**

- (7) R<sub>3</sub> = OH , R<sub>4</sub> = CH<sub>2</sub>OH  
 (8) R<sub>3</sub> = OH , R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>  
 (9) R<sub>3</sub> = OCH<sub>3</sub> , R<sub>4</sub> = CH<sub>2</sub>OH  
 (10) R<sub>3</sub> = OCH<sub>3</sub> , R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>

*Nomenclatura:*

<b>1</b>	6-Desoxi- $\alpha$ -L-galactopiranososa ( $\alpha$ -L-fucopiranososa)
<b>2</b>	6-Desoxi- $\beta$ -L-galactopiranososa ( $\beta$ -L-fucopiranososa)
<b>3</b>	5-Tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa
<b>4</b>	5-Tio- $\beta$ -L-fucopiranososa
<b>5</b>	5-Tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa
<b>6</b>	5-Tio- $\alpha$ -D-manopiranososa
<b>7</b>	5-Tio- $\alpha$ -L-idopiranososa
<b>8</b>	6-Desoxi-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa
<b>9</b>	3-O-Metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa
<b>10</b>	6-Desoxi-3-O-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa

**Esquema 7.1:** Tiopiranosas y piranosas objeto de estudio.

orientaciones del hidroxilo anomérico según el efecto exoanomérico: exo-sin, exo-anti y no-exo (abreviado para tablas y figuras como exs, exa y nex).

Cuando en el texto se menciona algún rotámero se hará de la siguiente forma: por ejemplo, el rotámero 1-38[2]<sub>124</sub> se refiere al rotámero nº 38, según el orden de energía del método de cálculo B3LYP/6-31G\*, del compuesto **1**, el cual proviene del rotámero nº 124 de la búsqueda conformacional con el método MMX. La numeración de los métodos empleados es: [1], MMX; [2], B3LYP/6-31G\*; [3], B3LYP/6-31+G\*; [4], PCM-B3LYP+G\*.

## 7.2. 5-Tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa y sus homólogos naturales

### 7.2.1. Moléculas aisladas. Búsqueda de una metodología adecuada

Una vez realizado el proceso de selección conformacional, se han encontrado en MMX un número de 161, 247, 185 y 238 conformaciones finales, dentro de un rango de energía de 10 kcal/mol, para los compuestos **1** al **4**, respectivamente<sup>475</sup>.

<sup>475</sup>Los resultados completos de la búsqueda sistemática, para los compuestos **1** al **2**, se pueden consultar en <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-MMX.pdf>.

### 7.2.1.1. Resultados MMX y B3LYP/6-31G\* para la $\alpha,\beta$ -L-fucopiranosas. Comparación con otros trabajos teóricos

En la tabla 7.1 se comparan los resultados MMX y B3LYP/6-31G\* obtenidos para la  $\alpha$ -L-fucopiranosas (**1**), con los de Csonka y col. En MMX, sólo dos estructuras no han sido encontradas: los rotámeros  $^{2,5}B$  (t t g- g+) y  $^0S_2$  (t t t t), aunque hay que decir que estos rotámeros tienen unos valores de energía MM2 elevados (aprox. 7 y 9 kcal/mol, respectivamente). Salvo tres rotámeros que ellos encontraron al nivel MM2, y que resultaron inestables en *ab initio* y DFT, los dos análisis han dado los mismos resultados en la búsqueda conformacional de la  $\alpha$ -L-fucopiranosas (**1**).

Aunque se encontraron diferencias en las energías relativas de MM2 y MMX, los primeros rotámeros de las conformaciones  $^1C_4$ ,  $^4C_1$ ,  $^3S_1$  y  $^5S_1$  coincidieron en ambos métodos. Sin embargo, para las formas  $^2S_0$  y  $^{2,5}B$  no hubo coincidencia.

En la tabla 7.2 se recogen las 10 primeras estructuras encontradas para cada molécula (**1** al **4**), al nivel de teoría B3LYP/6-31G\* y, adicionalmente, el rotámero más estable de cualquier conformación fuera del rango de 5 kcal/mol de energía relativa<sup>476</sup>.

En general, los resultados para la  $\alpha$ -L-fucopiranosas (**1**) están de acuerdo con los de Csonka y col. Para la principal forma del anillo ( $^1C_4$ ), nuestros resultados coinciden con su conclusión de que los rotámeros más estables son aquellos con el máximo número de interacciones OH $\cdots$ O, dando lugar a cadenas intramoleculares de grupos hidroxilos dirigidos unidireccionalmente, o bien en el sentido de las agujas del reloj, o bien en el sentido contrario. Asimismo, cuando estas interacciones se dirigen hacia un mismo oxígeno, formando cadenas bidireccionales, como es el caso del rotámero **1-6[2]<sub>14</sub>** (g+  $\rightarrow$  t  $\leftarrow$  t  $\leftarrow$  t) en el segundo grupo OH, las conformaciones resultantes fueron menos estables. Además, la orientación 4g+ da lugar a interacciones (4)OH $\cdots$ O<sub>anillo</sub> que dan lugar a una estabilización adicional<sup>182</sup> (por ejemplo, los rotámeros **1-4[2]<sub>5</sub>** y **1-5[2]<sub>12</sub>** son más estables que el **1-6[2]<sub>14</sub>**). El orden de los 5 primeros rotámeros está más de acuerdo con los cálculos HF/6-31G\* que con los resultados BP, lo cual, según los resultados de Csonka y col., está en concordancia con los cálculos a más alto nivel de teoría (cálculos MP2 con bases triple zeta).

Una importante diferencia es que los métodos MMX y B3LYP encuentran el rotámero **1-9[2]<sub>17</sub>** (g-  $\leftarrow$  g-  $\leftarrow$  t  $\leftarrow$  t), el cual desaparece en MM2 y HF/3-21G\*. Este rotámero tiene el número máximo de interacciones OH $\cdots$ O con cadenas de OH en el sentido contrario a las agujas del reloj. Sin embargo, su energía relativa en B3LYP fue de 3,88 kcal/mol. En este caso, el efecto exoanomérico juega un papel crucial, ya que en este rotámero no está actuando (la orientación 1g- es no-exo) y, por lo tanto, lo que se espera es que esté desestabilizado, a pesar de tener el número máximo de interacciones OH $\cdots$ O intramoleculares unidireccionales.

Con respecto a las otras formas del anillo, en un rango de 10 kcal/mol, el primer rotámero de las conformaciones  $^4C_1$ ,  $^{2,5}B$ ,  $^5S_1$  y  $^3S_1$  coinciden con los resultados de Csonka y col. Para  $^4C_1$ , el único rotámero no calculado en B3LYP fue el **1-61[1]** (g-  $\rightarrow$

<sup>476</sup>Los resultados completos, para los compuestos **1** al **2**, están disponibles <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-B3LYP.pdf>.

**Tabla 7.1:** Energías relativas, calculadas para los diferentes conformaciones y rotámetros de la  $\alpha$ -L-fucopiranososa (**1**), a distintos niveles de teoría.

no <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetros <sup>c</sup>				AE <sup>d</sup>				no <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetros <sup>c</sup>				AE <sup>d</sup>				
		1	2	3	4	MMX	B3LYP	MM2	BP			HF	1	2	3	4	MMX	B3LYP	MM2	BP
1	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	t	t	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
2	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	t	t	0,67	3,97	1,86	4,09	3,45	3,0	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g-	g-	4,45	7,17	7,20	8,40	
3	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	t	t	1,21	→2 <sup>f</sup>	→2,44	5,08	4,76	3,2	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	g+	g-	4,46	9,04	8,71	8,38
4	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g-	t	1,51	5,04	2,44	5,08	4,76	3,2	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	g+	g+	4,56	4,46	8,15	
5	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g+	g+	1,67	2,81	2,65	2,19	3,78	3,3	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	g-	4,58	6,51	5,70	7,03	
6	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g+	g-	1,77	4,59	2,68	4,57	4,53	3,4	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	g+	g+	4,61	7,16	7,18	7,45
7	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g+	2,15	0,72	1,26	0,08	1,92	3,5	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	g+	g+	4,68	5,43	6,87	7,64
8	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g-	2,37	2,54	1,71	2,47	2,71	3,6	<sup>2</sup> S <sub>0</sub> / <sup>2,5</sup> B	t	t	g+	g+	4,77	7,12	7,25	8,34
9	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	g-	t	2,37	4,23	2,37	2,37	4,23	3,7	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t	t	g-	g-	4,92	6,87	7,14	8,34
10	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	t	g-	2,46	5,32	4,02	3,77	3,75	3,8	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t	t	g+	g+	4,97	6,88	7,43	8,34
11	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g-	t	2,50	3,79	2,05	2,40	3,93	3,9	<sup>2</sup> S <sub>0</sub>	t	t	g-	t	4,93	6,88	7,43	8,34
12	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	g+	g+	2,61	2,98	3,68	2,40	3,93	4,0	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	g+	g+	4,97	6,49	5,31	7,64
13	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	g+	g-	2,68	4,75	3,87	4,75	4,54	4,1	<sup>2</sup> S <sub>0</sub>	t	t	g+	t	4,97	4,95	6,87	7,64
14	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	t	t	2,70	3,62	2,10	3,61	3,59	4,7	<sup>2</sup> S <sub>0</sub>	t	t	g+	g+	5,37	8,48	7,18	8,40
15	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	t	g+	2,70	3,83	3,80	3,34	4,69	5,0	<sup>2</sup> S <sub>0</sub>	t	t	g-	g-	5,49	8,48	8,61	8,40
16	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	t	t	t	2,76	→14 <sup>f</sup>	→3,80	→3,34	→4,69	5,0	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t	t	g-	g-	5,49	8,48	8,61	8,40
17	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g-	t	t	3,08	3,88	3,08	3,08	3,08	6,1	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g-	g+	g-	5,94	8,71	8,59	8,38	
18	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g-	g+	3,08	≡26 <sup>g</sup>	≡3,80	≡3,34	≡4,69	6,7	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t	t	g-	t	6,27	8,17	7,62	8,34
19	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	g-	t	3,27	8,13	3,27	3,27	3,27	8,2	<sup>2,5</sup> B	g-	g+	g-	6,89	7,1	7,62	8,34	
20	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g-	g+	3,65	4,94	3,65	3,65	3,65	9,5	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	g-	g+	g+	7,69	7,1	7,62	8,34	
21	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	t	g-	3,67	9,52	5,70	5,70	5,70	9,9	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	g-	g+	g-	8,08	12,76	9,59	9,80	
22	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	t	t	3,76	→14 <sup>f</sup>	→3,76	→3,76	→3,76	1,0	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	g+	g-	8,23	8,64	8,71	8,38	
23	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g-	g-	3,79	→26 <sup>f</sup>	→3,79	→3,79	→3,79	1,0	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	g-	t	8,23	8,64	8,71	8,38	
24	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	t	g-	4,04	→2 <sup>f</sup>	→4,04	→4,04	→4,04	1,0	<sup>0</sup> S <sub>2</sub>	t	g-	t	8,25	≡139 <sup>g</sup>	≡139 <sup>g</sup>	≡139 <sup>g</sup>	
25	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	g-	t	4,07	6,49	4,07	4,07	4,07	1,1	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> / <sup>1,4</sup> B	t	t	g-	t	8,62	10,01	≡47 <sup>g</sup>	≡47 <sup>g</sup>
26	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	t	g+	4,14	7,28	4,14	4,14	4,14	1,2	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> / <sup>1,4</sup> B	t	g-	t	8,88	10,01	≡47 <sup>g</sup>	≡47 <sup>g</sup>	
27	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	t	g+	4,15	7,97	5,93	7,61	8,31	1,3	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> / <sup>1,4</sup> B	t	g-	t	8,88	10,01	≡47 <sup>g</sup>	≡47 <sup>g</sup>	
28	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t	t	g-	t	4,17	6,58	7,18	6,82	6,22	1,3	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> / <sup>1,4</sup> B	t	t	g-	g-	9,37	7,26	≡47 <sup>g</sup>	≡47 <sup>g</sup>

<sup>a</sup> Número del rotámetro según el valor de la energía relativa MMX. <sup>b</sup> Conformación del anillo; en el caso de que exista "/", la segunda forma (B3LYP/6-31G\*) evolucionó a partir de la primera (MMX). <sup>c</sup> Clasificación por ángulos diedros; los grupos hidroxilo están numerados de acuerdo a los C del anillo. <sup>d</sup> Resultados del presente trabajo (MMX y B3LYP/6-31G\*). <sup>e</sup> Resultados de Csonka y col.; cálculos MM2, BP/6-31G\* y HF/6-31G\*. <sup>f</sup> El número tras la flecha indica el rotámetro hacia el que ha evolucionado, al reoptimizar en B3LYP. <sup>g</sup> ≡ significa que es similar al rotámetro que se indica.

**Tabla 7.2:** Energías relativas<sup>a</sup> ( $\Delta E$ ), en kcal/mol, calculadas para las estructuras **1-4**, al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*.

no <sup>b</sup>	$\Delta E$	Cf <sup>c</sup>	rotámeros (OH) <sup>d</sup>				no <sup>b</sup>	$\Delta E$	Cf <sup>c</sup>	rotámeros (OH) <sup>d</sup>									
			1	2	3	4				1	2	3	4						
<b><math>\alpha</math>-L-fucopiranosas (1)</b>					<b><math>\beta</math>-L-fucopiranosas (2)</b>														
1 <sub>1</sub>	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-	←	t	←	t	1 <sub>2</sub>	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	←	t	←	t	←	t
2 <sub>7</sub>	0,72	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g+	→	g+	2 <sub>1</sub>	0,12	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t	←	t	←	t
3 <sub>8</sub>	2,54	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g+	→	g-	3 <sub>3</sub>	1,45	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		g+	→	g+	→	g+
4 <sub>5</sub>	2,81	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		g+	→	g+	→	g+	4 <sub>10</sub>	1,54	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	→	g+	→	g+	→	g+
5 <sub>12</sub>	2,98	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-		g+	→	g+	5 <sub>13</sub>	1,82	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+		g+	→	g+	→	g+
6 <sub>14</sub>	3,62	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	t	←	t	←	t	6 <sub>4</sub>	2,01	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t		g+	→	g+
7 <sub>11</sub>	3,79	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g-	←	t	7 <sub>21</sub>	3,02	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	←	t		g+	→	g+
8 <sub>15</sub>	3,83	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-	←	t		g+	8 <sub>31</sub>	3,07	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t		g+		g+	→	g+
9 <sub>17</sub>	3,88	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	←	g-	←	t	←	t	9 <sub>5</sub>	3,21	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		t	←	t		g+
10 <sub>2</sub>	3,97	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		t	←	t	←	t	10 <sub>19</sub>	3,25	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t		g+		g+	→	g+
11 <sub>9</sub>	4,95	<sup>2</sup> S <sub>0</sub>	t	←	t		g+	←	g+	11 <sub>30</sub>	3,75	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+		g-		g-	→	t
19 <sub>36</sub>	5,43	<sup>2,5</sup> B	t	←	t		g-	→	g+	12 <sub>14</sub>	3,80	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+		t		g+	←	t
23 <sub>28</sub>	6,58	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t	←	t		g-	→	t	30 <sub>57</sub>	5,40	<sup>2</sup> S <sub>0</sub>	t		g+		g+	←	g+
35 <sub>67</sub>	8,17	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t	←	t		t	←	t	36 <sub>71</sub>	5,82	<sup>0</sup> S <sub>2</sub>	t		t	←	t	←	t
36 <sub>50</sub>	8,48	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t	←	t		t	←	t	43 <sub>163</sub>	8,43	<sup>3,0</sup> B	t		g+	→	g-	←	t
38 <sub>124</sub>	8,69	<sup>0</sup> S <sub>2</sub>	t	←	g-	←	t	←	t	44 <sub>173</sub>	9,00	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	←	t		t	←	g+
<b>5-tio-<math>\alpha</math>-L-fucopiranosas (3)</b>					<b>5-tio-<math>\beta</math>-L-fucopiranosas (4)</b>														
1 <sub>6</sub>	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g+	→	g+	1 <sub>7</sub>	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	→	g+	→	g+	→	g+
2 <sub>1</sub>	0,63	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-	←	t	←	t	2 <sub>13</sub>	0,41	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	←	t	←	t	←	t
3 <sub>4</sub>	2,21	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		g+	→	g+	→	g+	3 <sub>1</sub>	0,92	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t	←	t	←	t
4 <sub>8</sub>	2,92	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g+	→	g-	4 <sub>15</sub>	1,35	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+		g+	→	g+	→	g+
5 <sub>43</sub>	3,54	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-		g+	→	g+	5 <sub>28</sub>	1,58	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+		g-		g-	→	g-
6 <sub>14</sub>	3,68	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-	←	t		g+	6 <sub>20</sub>	1,66	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+		g-		g-	→	t
7 <sub>11</sub>	4,01	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	t	←	t	←	t	7 <sub>3</sub>	1,94	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		g+	→	g+	→	g+
8 <sub>9</sub>	4,36	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g-	←	t	8 <sub>25</sub>	1,94	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+		g-		g+	←	t
9 <sub>2</sub>	4,45	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		t	←	t	←	t	9 <sub>37</sub>	2,53	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+		g-		t	←	g+
10 <sub>22</sub>	4,49	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g-		g+	10 <sub>9</sub>	2,85	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t		g+	→	g+
12 <sub>40</sub>	5,47	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g-	→	g-		t	←	g+	11 <sub>5</sub>	3,60	<sup>2,5</sup> B	g+		t		g-	→	g+
19 <sub>109</sub>	6,90	<sup>2,5</sup> B	t	←	t		g-	→	g+	21 <sub>36</sub>	5,23	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	g+		t		t	←	t
27 <sub>133</sub>	8,10	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	g-	←	g-	←	t	←	t	30 <sub>80</sub>	6,18	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	t		t	←	t	←	t
										34 <sub>118</sub>	6,83	<sup>2</sup> S <sub>5</sub>	g+		t		g-	→	t
										36 <sub>51</sub>	7,43	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	←	t		t	←	g+

<sup>a</sup> De cada molécula, sólo se muestran aquellos rotámeros dentro de un rango menor de 10 kcal/mol y, adicionalmente, el primer rotámero de cualquier conformación no incluida en dicho rango<sup>476</sup>. <sup>b</sup> Número del rotámero según el orden de energía relativa. <sup>c</sup> Conformación del anillo. <sup>d</sup> Clasificación por ángulos diedros (véase texto en página 99); los grupos OH están numerados de acuerdo a los C del anillo (véase la figura 5.1). Las flechas indican las interacciones OH...O entre grupos hidroxilos adyacentes; la dirección es «oxígeno dador → oxígeno aceptor».

g+ g- → g-); éste se encontró en MMX, pero en un rango de energía de ~ 6 kcal/mol, por lo que no se seleccionó para ser reoptimizado en DFT. Los otros tres rotámeros de esta conformación están en el mismo orden de energía relativa que los cálculos BP. El segundo rotámero de <sup>3</sup>S<sub>1</sub> hallado por Csonka y col., tampoco se optimizó en B3LYP —1-95[1] (g- → g+ g- ← t),  $\Delta E_{\text{MMX}} = 7,69$  kcal/mol—. La forma <sup>2,5</sup>B evolucionó en

B3LYP, desde la forma  ${}^2S_0$  de MMX (rotámero **1-36[1]**). En el caso de  ${}^5S_1$  se calculó un rotámero adicional, el **1-37[2]<sub>103</sub>**.

Con respecto a la conformación  ${}^2S_0$ , encontramos un rotámero más estable, el **1-16[2]<sub>41</sub>** ( $t \leftarrow t \ g+ \leftarrow g+$ ), en oposición al **1-25[2]<sub>39</sub>** ( $t \leftarrow t \ g- \rightarrow t$ ), que es el más estable en BP. La razón podría ser la interacción  $(3)OH \cdots O_{\text{anillo}}$ , que, en este caso, está favorecida por la orientación  $3g+$ . El rotámero  ${}^2S_0$  ( $t \ t \ t \ g+$ ), que resultó ser un estado de transición, no se encontró en MMX. El resto de rotámeros de esta forma, resultaron en el orden de energía de BP.

La mayor discrepancia se encontró en la forma  ${}^0S_2$ . El único rotámero encontrado por Csonka y col. ( $t \ t \ t \ t$ ), no se encontró en MMX. Sin embargo, nosotros encontramos el rotámero **1-38[2]<sub>124</sub>** ( $t \leftarrow g- \leftarrow t \leftarrow t$ ), que además evolucionó desde una forma de bote  ${}^3_0B$ . Este rotámero debe de ser menos estable, a causa de la rotura de una interacción  $OH \cdots O$  ( $t \ t \leftarrow t \leftarrow t$ ), sin ninguna estabilización adicional.

En el caso de la conformación  ${}^1C_4$  de la  $\beta$ -L-fucopiranososa (**2**), el grupo OH anomérico está en posición ecuatorial y, por lo tanto, desaparece el efecto anomérico<sup>74</sup>, dando lugar a una mayor estabilización relativa de otras formas del anillo. Ahora, el efecto exoanomérico<sup>83</sup> está favorecido por las orientaciones  $1t$  y  $1g-$ , pero no por la  $1g+$ . Además, la diferente relación espacial entre OH(1) y OH(2) conduce a diferentes rotámeros con respecto al anómero  $\alpha$ .

Para (**2**), en los cuatro primeros rotámeros, los dos primeros están invertidos con respecto a lo predecible. El rotámero **2-2[2]<sub>1</sub>** debería ser más estable que el **2-1[2]<sub>2</sub>**, ya que éste tiene efecto exoanomérico (orientación  $1t$ ), mientras que el primero no lo tiene ( $1g+$ ), aunque bien es verdad que su energía relativa es de un valor muy escaso (0,12 kcal/mol) como para que sea significativo. Aunque el 3<sup>er</sup> y 4<sup>o</sup> rotámeros también están en un estrecho rango de energía, muestran que el efecto exoanomérico, favorecido por la orientación  $1t$ , podría ser más estabilizante que la interacción  $(1)OH \cdots OH(2)$ .

Respecto a los parámetros geométricos, en la tabla 7.3 están los valores teóricos más significativos de distancias, ángulos y coordenadas *puckering*, calculados a nivel B3LYP/6-31G\*, para las estructuras más estables de los compuestos **1** al **4**.

En el caso de la  $\alpha$ -L-fucopiranososa (**1**), se comparan los datos con los obtenidos de la geometría experimental de rayos X.<sup>477</sup> En este punto hay que decir que, si bien es cierto que no sería estricta una comparación directa entre los datos calculados (que, en rigor, se deben referir a una única molécula aislada en el vacío) y la estructura cristalina, sí nos puede aportar valiosa información sobre la tendencia de la geometría, para poder valorar la bondad de los cálculos teóricos realizados.

Las longitudes de enlace del compuesto **1** dieron una desviación máxima del valor experimental de unos 0,04 Å para C5 – O y C1 – O1, estando las demás distancias en buena concordancia con los datos experimentales, incluyendo la distancia C1 – O (~ 0,01). Sin embargo, los ángulos de enlace dieron mayores desviaciones, ~ 4° y 7° para  $\angle C1 - O - C5$  y  $\angle O1 - C1 - H1$ , respectivamente. En general los datos concuerdan bien, lo que, en principio, corroboraría que B3LYP/6-31G\* es un método correcto.

<sup>477</sup>F. Longchambon, J. Ohannessian, D. Avenel y A. Neuman. *Acta Cryst.*, **1975**, *31*, 2623-2627.

**Tabla 7.3:** Parámetros geométricos ( $\text{\AA}$  y  $^\circ$ ) de la conformación más estable ( ${}^1C_4$ ) de los compuestos **1–4**, calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*.

Parámetro	Compuesto				
	1	1 <sup>a</sup>	2	3	4
C1 – C2	1,530	1,527	1,531	1,532	1,525
C1 – X	1,402	1,412	1,411	1,832	1,847
C2 – C3	1,530	1,521	1,522	1,538	1,534
C3 – C4	1,532	1,517	1,534	1,534	1,538
C4 – C5	1,535	1,531	1,539	1,537	1,539
C5 – X	1,444	1,481	1,437	1,855	1,854
C5 – C6	1,521	1,520	1,521	1,529	1,530
C1 – H1	1,097	0,981	1,102	1,100	1,102
C1 – O1	1,424	1,382	1,404	1,413	1,405
$\angle$ C1 – C2 – C3	110,5	110,4	110,2	113,5	113,6
$\angle$ C2 – C3 – C4	110,1	109,9	109,8	114,2	113,6
$\angle$ C3 – C4 – C5	109,8	108,0	110,2	112,3	112,9
$\angle$ C4 – C5 – X	112,1	109,6	112,2	110,0	110,2
$\angle$ C1 – X – C5	116,1	112,2	114,2	98,9	96,8
$\angle$ C1 – O1 – H	107,8	104,4	106,1	104,4	105,4
$\angle$ O1 – C1 – H1	110,3	117,1	105,8	111,3	111,2
Coordenadas «puckering»					
$\theta$	4,8	2,6	4,6	9,0	11,9
$\phi$	116,6	210,0	42,2	289,9	302,2
$Q$	0,540	0,593	0,561	0,660	0,686

<sup>a</sup> Datos de la geometría de rayos X de la  $\alpha$ -L-fucopiranosas (**1**), tomados de la referencia 477.

Al comparar los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$ , se pueden examinar algunos aspectos. En el caso del anómero  $\alpha$ , la distancia C1 – O1 fue mayor en  $\sim 0,02$ , siendo la C1 – O más corta en  $0,01$ . Sin embargo, al mismo tiempo, para el anómero  $\alpha$ , el ángulo  $\angle$  C1 – O – C5 se alargó en  $\sim 2^\circ$ .

Las geometrías B3LYP/6-31G\* reprodujeron correctamente el efecto anomérico. Por ejemplo, en el caso del anómero  $\alpha$ , la distancia C1 – O5 fue más corta (1,402) que la C1 – O1 (1,424). Además, se observó el comportamiento opuesto del anómero  $\beta$  (1,411 y 1,404  $\text{\AA}$ , respectivamente). Sin embargo, estos resultados no se encontraron en la estructura del cristal, debido al efecto ambiental que influencia al efecto anomérico.

En cuanto a las propiedades espectroscópicas, como se puede apreciar en las tablas 7.4 y 7.5, existe un buen acuerdo de los datos calculados con los experimentales<sup>478,479</sup>, especialmente en los desplazamientos químicos de  ${}^1\text{H}$  y en las constantes de acoplamiento vecinales  ${}^3J_{\text{H,H}}$ , de las que se obtiene una mayor información estructural. Sorprende la diferencia encontrada para el cálculo de la  $J_{3,4}$  de la geometría experimental de rayos X de la  $\alpha$ -L-fucopiranosas (**1**).

A la luz de estos resultados para **1** y **2**, que nos indican que la metodología utilizada es válida para el análisis conformacional de estos monosacáridos, podríamos en un principio pensar extrapolarla para sus tioderivados: **3** y **4**.

<sup>478</sup>T. E. Walker, R. E. London, T. W. Whaley, R. Barker y N. A. Matwiyoff *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 5807-5813.

<sup>479</sup>K. Izumi *Agr. Biol. Chem.*, **1971**, *35*, 1816-1818.

**Tabla 7.4:** Desplazamientos químicos,  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$ , experimentales y teóricos calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*, para los compuestos **1–4**.

no.	conf.	1	2	3	4	% <sup>a</sup>	C1	C2	C3	C4	C5	C6	H1	H2	H3	H4	H5	H6	
<b><math>\alpha</math>-L-fucopiranososa (1)</b>																			
1 <sub>1</sub>	$^1\text{C}_4$	t	g-	t	t	74,9	93,1	69,9	70,7	70,3	67,8	17,7	5,2	3,7	3,6	3,8	4,0	0,9	
2 <sub>7</sub>	$^1\text{C}_4$	g+	g+	g+	g+	22,1	91,4	71,7	72,1	71,8	66,1	17,3	5,2	3,2	3,3	3,4	4,5	0,9	
3 <sub>8</sub>	$^1\text{C}_4$	g+	g+	g+	g-	1,0	91,8	70,0	70,9	73,2	66,1	16,8	5,3	3,6	3,6	3,6	4,2	0,6	
Global <sup>b</sup>						100,0	92,7	70,3	71,0	70,7	67,4	17,6	5,2	3,6	3,6	3,7	4,1	0,9	
Exptl						93,8 <sup>f</sup>	69,8 <sup>f</sup>	71,0 <sup>f</sup>	73,5 <sup>f</sup>	67,8 <sup>f</sup>	17,2 <sup>f</sup>	5,2 <sup>g</sup>	3,8 <sup>g</sup>	3,9 <sup>g</sup>	3,8 <sup>g</sup>	4,2 <sup>g</sup>	1,2 <sup>g</sup>		
<b><math>\beta</math>-L-fucopiranososa (2)</b>																			
1 <sub>2</sub>	$^1\text{C}_4$	g+	t	t	t	47,7	95,5	74,1	73,4	69,9	72,6	17,6	4,4	3,2	3,6	3,7	3,7	0,9	
2 <sub>1</sub>	$^1\text{C}_4$	t	t	t	t	39,0	96,1	72,3	73,4	70,0	71,7	17,6	4,5	3,7	3,5	3,7	3,5	2,0	
3 <sub>3</sub>	$^1\text{C}_4$	t	g+	g+	g+	4,1	97,2	73,3	75,0	71,7	71,1	17,5	4,6	3,2	3,2	3,4	3,6	1,5	
4 <sub>10</sub>	$^1\text{C}_4$	g-	g+	g+	g+	3,5	96,5	75,4	73,4	72,1	72,0	17,5	4,7	3,0	3,1	3,4	3,7	0,9	
5 <sub>13</sub>	$^1\text{C}_4$	g+	g+	g+	g+	2,2	96,8	76,9	74,7	71,6	71,8	17,5	4,5	2,8	3,2	3,4	3,7	1,5	
6 <sub>4</sub>	$^1\text{C}_4$	t	t	g+	g+	1,6	98,1	74,6	72,4	72,6	71,8	17,6	4,4	3,2	3,4	3,4	3,5	0,9	
Global <sup>b</sup>						100,0	95,9	73,5	73,5	70,2	72,1	17,6	4,4	3,4	3,5	3,6	3,6	1,4	
Exptl						97,8 <sup>f</sup>	73,4 <sup>f</sup>	74,6 <sup>f</sup>	73,1 <sup>f</sup>	72,3 <sup>f</sup>	17,2 <sup>f</sup>	4,6 <sup>g</sup>	3,5 <sup>g</sup>	3,7 <sup>g</sup>	3,8 <sup>g</sup>	3,8 <sup>g</sup>	1,3 <sup>g</sup>		
<b>5-tio-<math>\alpha</math>-L-fucopiranososa (3)</b>																			
1 <sub>6</sub>	$^1\text{C}_4$	g+	g+	g+	g+	72,2	77,8	73,2	72,2	73,3	44,1	17,4	4,7	3,3	3,4	3,7	3,7	1,2	
2 <sub>1</sub>	$^1\text{C}_4$	t	g-	t	t	25,0	79,8	71,7	70,8	72,5	43,6	17,7	4,8	3,8	3,7	4,1	3,4	1,1	
3 <sub>4</sub>	$^1\text{C}_4$	t	g+	g+	g+	1,7	81,1	73,1	70,9	73,8	45,0	17,8	5,0	3,5	3,7	3,8	3,8	1,2	
Global <sup>b</sup>						100,0	78,3	72,8	71,9	73,1	43,9	17,5	4,7	3,5	3,4	3,8	3,7	1,2	
Exptl <sup>c</sup>						75,1	72,1	71,5	75,6	37,4	17,0	4,9	3,9	3,8	4,0	3,5	1,0		
Exptl <sup>d</sup>						73,9	71,0	74,3	74,3	36,3	16,7	4,6	3,7	3,5	3,8	3,3	1,1		
<b>5-tio-<math>\beta</math>-L-fucopiranososa (4)</b>																			
1 <sub>7</sub>	$^1\text{C}_4$	g-	g+	g+	g+	48,4	79,7	76,2	74,4	72,9	46,1	17,7	4,7	3,3	2,9	3,6	3,0	1,1	
2 <sub>13</sub>	$^1\text{C}_4$	g+	t	t	t	24,1	78,6	75,7	74,5	71,0	45,6	17,7	4,6	3,5	3,4	3,9	3,1	1,1	
3 <sub>1</sub>	$^1\text{C}_4$	t	t	t	t	10,2	79,7	73,6	75,2	71,3	45,5	17,7	4,6	4,0	3,3	3,9	2,9	1,0	
4 <sub>15</sub>	$^1\text{C}_4$	g+	g+	g+	g+	5,0	81,6	77,7	75,6	72,5	46,0	17,7	4,9	3,2	3,0	3,6	3,1	1,1	
5 <sub>28</sub>	$^4\text{C}_1$	g+	g-	g-	g-	3,4	87,3	68,3	74,0	68,4	44,7	20,3	4,9	4,3	4,3	4,0	2,4	1,4	
6 <sub>20</sub>	$^4\text{C}_1$	g+	g-	g-	t	2,9	86,7	68,5	75,4	68,6	43,4	20,1	4,9	4,3	3,8	4,0	2,8	1,4	
7 <sub>3</sub>	$^1\text{C}_4$	t	g+	g+	g+	1,8	82,0	74,1	76,2	72,7	46,0	17,6	4,8	3,6	2,9	3,6	3,0	1,0	
8 <sub>25</sub>	$^5\text{S}_1$	g+	g-	g+	t	1,8	81,8	69,8	71,4	69,1	40,9	20,2	4,9	3,9	3,7	4,1	3,2	1,1	
Global <sup>b</sup>						100,0	80,1	75,2	74,6	71,9	45,7	17,9	4,7	3,5	3,2	3,7	3,0	1,1	
Exptl <sup>e</sup>													4,5	3,5	3,1	3,6	3,0	1,1	

<sup>a</sup> Porcentaje de la población de Boltzmann. Sólo se muestran aquellos rotámeros cuyo valor sea superior al 1%. <sup>b</sup> Valores promedio de los porcentajes de la población. <sup>c</sup>  $^{13}\text{C}$  100 MHz  $\text{D}_2\text{O}$  y  $^1\text{H}$  400 MHz  $\text{D}_2\text{O}^{24}$ . <sup>d</sup>  $^{13}\text{C}$  75 MHz  $\text{DMSO-}d_6$  y  $^1\text{H}$   $\text{DMSO-}d_6 + \text{D}_2\text{O}$  300 MHz<sup>24</sup>. <sup>e</sup>  $^1\text{H}$   $\text{DMSO-}d_6 + \text{D}_2\text{O}$  300 MHz<sup>24</sup>. <sup>f</sup> Datos experimentales<sup>478</sup>. <sup>g</sup> Datos experimentales<sup>479</sup>.

### 7.2.1.2. Resultados para la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (3,4)

Los 10 primeros rotámeros de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**), de conformación  $^1\text{C}_4$ , fueron los mismos que en el caso de la  $\alpha$ -L-fucopiranososa (**1**), pero con algunas diferencias de energía relativa y excluyendo los rotámeros **1-9**[2]<sub>17</sub> (g-  $\leftarrow$  g-  $\leftarrow$  t  $\leftarrow$  t) —que, en el caso de **3**, convergió al **3-1**[2]<sub>1</sub> (t  $\leftarrow$  g-  $\leftarrow$  t  $\leftarrow$  t), el cual posee el efecto exoanómico estabilizante— y **3-10**[2]<sub>22</sub> (g+  $\rightarrow$  g+  $\rightarrow$  g- g+), que en el caso de **1** pasó a ser el n<sup>o</sup> 15 (**1-15**[2]<sub>20</sub>) en el orden de energía<sup>480</sup>. En este último caso la razón parece

<sup>480</sup>Consúltense la tabla suplementaria <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-B3LYP.pdf>.

**Tabla 7.5:** Constantes de acoplamiento  $^3J_{H,H}$  (Hz), experimentales y teóricas calculadas al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*, para los compuestos **1–4**.

no.	conf.	rotamero				prc <sup>a</sup>	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6}^{b}$
<b><math>\alpha</math>-L-fucopiranosas (1)</b>											
1 <sub>1</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	t	t	74,9	3,6	9,8	3,2	1,4	5,9
2 <sub>7</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g+	22,1	4,0	9,2	2,8	0,6	5,9
3 <sub>8</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g-	1,0	3,7	9,6	3,2	1,3	5,9
	Global <sup>c</sup>					0,0	3,7	9,6	3,1	1,2	5,9
	Exptl <sup>e</sup>					0,0	3,2	9,2	3,7	< 0,5	6,7
	Rx <sup>f</sup>					0,0	3,9	9,9	1,9	0,9	7,2
<b><math>\beta</math>-L-fucopiranosas (2)</b>											
1 <sub>2</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	t	t	47,7	7,8	9,9	3,4	1,4	5,9
2 <sub>1</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	t	t	39,0	7,9	9,9	3,5	1,5	5,9
3 <sub>3</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g+	g+	4,1	7,7	9,3	2,9	0,6	5,9
4 <sub>10</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g+	g+	g+	3,5	7,8	9,5	3,0	0,7	5,9
5 <sub>13</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g+	2,2	7,8	9,5	3,0	0,7	5,9
6 <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	g+	g+	1,6	7,6	8,9	3,0	0,6	5,9
	Global <sup>c</sup>					0,0	7,8	9,8	3,4	1,4	5,9
	Exptl <sup>e</sup>					0,0	7,6	9,8	3,2	1,0	6,4
<b>5-tio-<math>\alpha</math>-L-fucopiranosas (3)</b>											
1 <sub>6</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g+	72,2	3,1	9,3	2,5	1,2	6,5
2 <sub>1</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g-	t	t	25,0	2,9	9,7	2,8	2,1	6,5
3 <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g+	g+	1,7	2,4	9,7	2,7	1,2	6,5
	Global <sup>c</sup>					0,0	3,0	9,4	2,6	1,4	6,5
	Exptl <sup>d</sup>					0,0	3,1	10,0	2,7	1,6	7,0-7,1
<b>5-tio-<math>\beta</math>-L-fucopiranosas (4)</b>											
1 <sub>7</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g+	g+	g+	48,5	9,5	9,4	2,7	1,3	6,5
2 <sub>13</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t	t	t	24,1	9,1	9,9	2,7	2,3	6,5
3 <sub>1</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	t	t	10,2	9,5	9,8	3,0	2,2	6,5
4 <sub>15</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g+	5,0	9,4	9,6	2,6	1,4	6,5
5 <sub>28</sub>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-	g-	g-	3,4	3,0	3,6	2,9	5,6	6,5
6 <sub>20</sub>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-	g-	t	2,9	3,0	3,6	3,1	5,8	6,6
7 <sub>3</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	g+	g+	1,8	9,3	9,4	2,6	1,3	6,5
8 <sub>25</sub>	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+	g-	g+	t	1,8	4,5	1,2	5,9	1,4	6,6
	Global <sup>c</sup>					0,0	8,8	9,1	2,8	1,9	6,5
	Exptl <sup>d</sup>					0,0	8,9	9,6-10,0	2,9	1,6	7,0-7,1

<sup>a</sup>Población de Boltzmann —sólo se muestran los rotámeros con valores superiores al 1,0%—. <sup>b</sup> Valor promedio correspondiente a los protones equivalentes del grupo metilo H(6). <sup>c</sup>Valores medios de los porcentajes de la población. <sup>d</sup>Datos experimentales (<sup>1</sup>H NMR DMSO-<sub>d</sub>6 + D<sub>2</sub>O, 300 MHz)<sup>24</sup>. <sup>e</sup> Datos experimentales (<sup>1</sup>H NMR D<sub>2</sub>O, 100 MHz)<sup>479</sup>. <sup>f</sup> Datos calculados para la geometría de rayos X<sup>477</sup>.

ser una interacción estabilizante (4)OH...S<sub>anillo</sub>, favorecida por la orientación 4g+; este tipo de interacción aparecerá con frecuencia, condicionando la estabilidad relativa de los rotámeros, con mucha mayor influencia que cuando es el oxígeno el que está en el anillo.

Un ejemplo claro de esta interacción lo tenemos en los 4 primeros rotámeros, que están invertidos dos a dos con respecto a **3**. En ambos casos la razón está relacionada con el efecto *hockey-sticks*<sup>481,482</sup> que, en este caso, tiene lugar en las orientaciones 4t y

<sup>481</sup>El efecto *hockey-sticks* se define como una interacción repulsiva 1,3-sindiaxial, debida al solapamiento del par de electrones no compartidos de un grupo OR (OH en este caso), con el orbital axial del azufre del anillo.

<sup>482</sup>N. S. Zefirov, V. S. Blagoveshchensky, I. V. Kazimirchik y N. S. Surova *Tetrahedron*, **1971**, 27, 3111-



4g- (véase la figura 7.1), pero en la orientación 4g+, el par no compartido de electrones está en posición exo con respecto al S, y además, la posición del H permite la interacción estabilizante (4)OH $\cdots$ S<sub>anillo</sub>. En la piranosa, sin embargo, este efecto no existe y no son aplicables estas consideraciones. Conviene aclarar que las diferencias de energía de estos rotámeros son muy pequeñas; téngase en cuenta que una diferencia de 1 kcal/mol se puede considerar una buena precisión en los cálculos teóricos<sup>483</sup> y quizás estas apreciaciones no tengan demasiada consistencia. Sin embargo, el hecho de que el primer rotámero en orden de energía no fuese el t  $\leftarrow$  g-  $\leftarrow$  t  $\leftarrow$  t, que tiene el número máximo de interacciones O $\cdots$ H unidireccionales y además exhibe el efecto exoanomérico, nos puede hacer sospechar que algo no va bien.

Otros indicios, que redundan en esta sospecha, los podemos encontrar en las conformaciones distintas de la mayoritaria <sup>1</sup>C<sub>4</sub>. Si analizamos las tres primeras de la  $\alpha$ -L-fucopiranososa (**1**), encontramos que el orden de energía (<sup>2</sup>S<sub>O</sub> > <sup>2,5</sup>B > <sup>4</sup>C<sub>1</sub>) obedece a una lógica: en la forma <sup>4</sup>C<sub>1</sub> hay una interacción estérica desestabilizante del grupo OH en C4 con el grupo metilo (véase la figura 7.2), y sólo dos interacciones estabilizantes OH $\cdots$ O ya que en esta forma la interacción de OH(2) con OH(3) no es posible debido a la disposición axial/ecuatorial. Sin embargo, las formas <sup>2</sup>S<sub>O</sub> y <sup>2,5</sup>B no exhiben dicha interacción desestabilizante, y además tienen una interacción estabilizante adicional entre el H en C5 y el grupo OH en C2 —(5)H $\cdots$ OH(2)—. Sin embargo, nos encontramos que los rotámeros **1**-25[2]<sub>39</sub>, **1**-26[2]<sub>82</sub> y **1**-30[2]<sub>139</sub> (formas <sup>2</sup>S<sub>O</sub> y <sup>2,5</sup>B) son menos estables que **1**-23[2]<sub>28</sub> (<sup>4</sup>C<sub>1</sub>)<sup>480</sup>. Es claro, por tanto, que debe existir alguna interacción adicional. Efectivamente, el rotámero **1**-16[2]<sub>41</sub> (<sup>2</sup>S<sub>O</sub>) muestra una interacción (3)OH $\cdots$ O<sub>anillo(axial)</sub>, y en el caso de **1**-19[2]<sub>36</sub> (<sup>2,5</sup>B) la interacción es del tipo (4)OH $\cdots$ O<sub>anillo(axial)}.</sub>

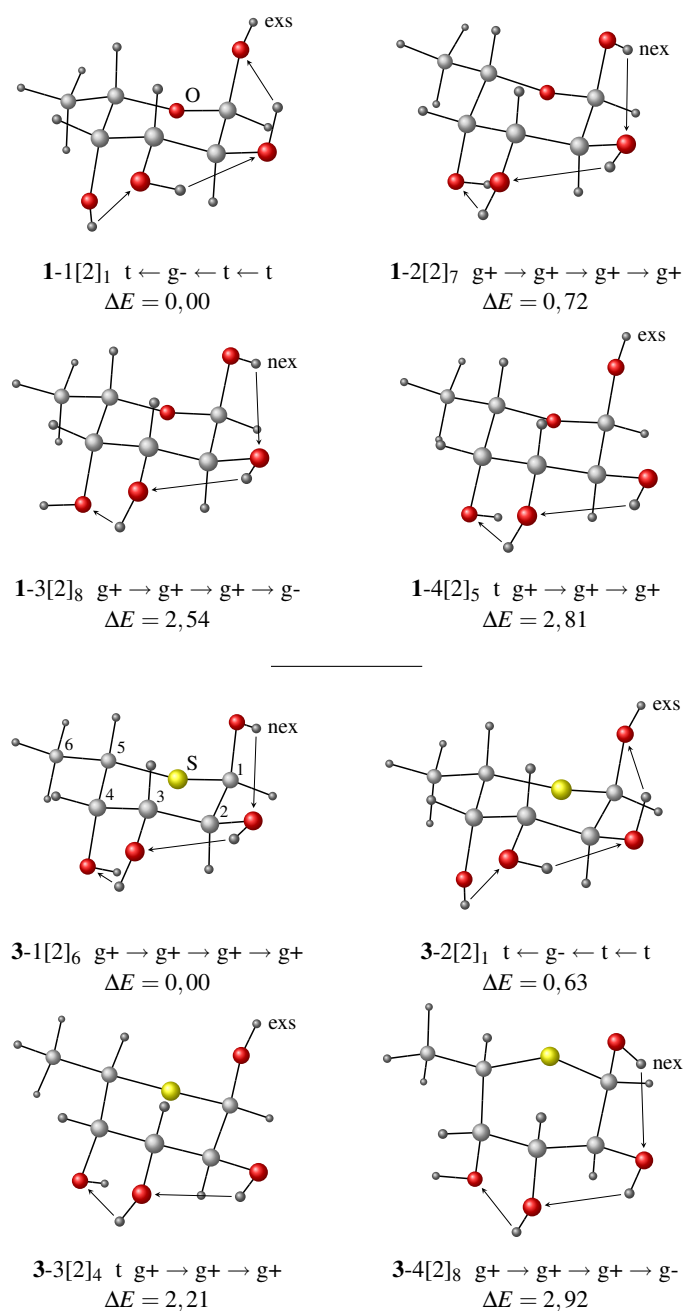
Sin embargo, para la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**), por un lado, la única forma <sup>2</sup>S<sub>S</sub> (homóloga a la <sup>2</sup>S<sub>O</sub>, rotámero **3**-100[1]), al nivel B3LYP, convergió a la forma <sup>2,5</sup>B (rotámero **3**-19[2]<sub>109</sub>) —lo mismo ocurrió en el caso de **3** con el rotámero homólogo **1**-19[2]<sub>36</sub>—; y por otro lado, el orden de energía se invirtió para <sup>4</sup>C<sub>1</sub> y <sup>2,5</sup>B.

Respecto de la conformación <sup>2</sup>S<sub>S</sub>, sólo decir que se comprobaron, reoptimizando en B3LYP, con las orientaciones de los hidroxilos en la forma homóloga <sup>2</sup>S<sub>O</sub> —(t t g+ g++), (t t g- t) y (t t g- g-)—. Resultaron tener una energía relativa de +7,12, 9,4 y superior a 10 kcal/mol, respectivamente. Es decir, menos estables que la conformación <sup>2,5</sup>B.

Por otra parte, la razón de la inversión de la energía relativa en la pareja <sup>4</sup>C<sub>1</sub> / <sup>2,5</sup>B es porque en **3** aparecen nuevos rotámeros cuya característica es la orientación 2g- que permite una interacción estabilizante (2)OH $\cdots$ S<sub>anillo(axial)}. En los rotámeros **3**-12[2]<sub>40</sub> y **3**-13[2]<sub>38</sub> las posiciones 2g- sitúan los orbitales de los pares no compartidos del oxígeno del OH en posición exo con respecto al azufre, cancelando el efecto *hockey-sticks* (la forma <sup>2,5</sup>B lo hace en la misma forma) —véase la figura 7.2—. Sin embargo, la orientación 2t y especialmente la 2g+, dan lugar a dicho efecto, razón por la cual los rotámeros <sup>4</sup>C<sub>1</sub>, **3**-24[2]<sub>13</sub>, **3**-28[2]<sub>34</sub>, **3**-29[2]<sub>23</sub> y **3**-31[2]<sub>29</sub> son menos estables<sup>480</sup>. Pero en **1** el efecto *hockey-sticks* no está presente, y el rotámero **1**-23[2]<sub>28</sub>, con orientación 2t, no está im-</sub>

3118.

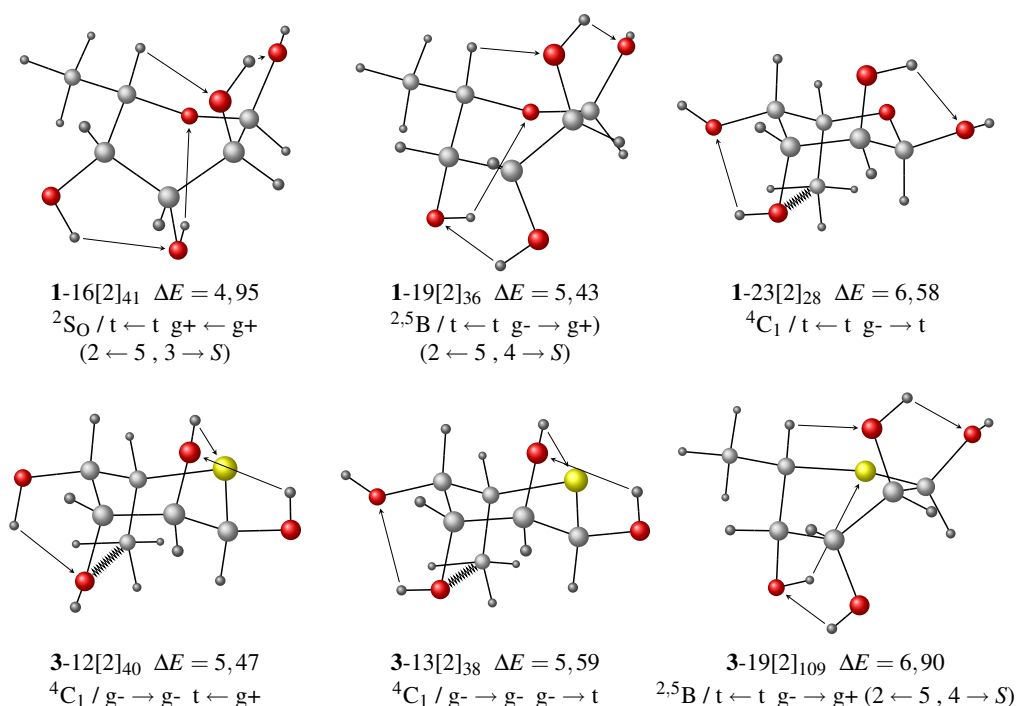
<sup>483</sup>J. A. Pople *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 1894-1902.



**Figura 7.1:** Los cuatro primeros rotámeros de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranosas (**3**) y de la  $\alpha$ -L-fucopiranosas (**1**) (conformación  ${}^1C_4$ ) al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*. El orden de energía está invertido dos a dos, en ambas moléculas, por influencia del gran orbital axial de pares no compartidos del S. La energía relativa se da en kcal/mol.

pedido. Como el resto de rotámeros  ${}^4C_1$  optimizados para **1** tienen la misma orientación en C2, decidimos comprobar el rotámero  ${}^4C_1$  (g- g- t g+), que resultó tener una energía relativa de 6,73 kcal/mol, es decir, menos estable, corroborando la influencia de la interacción (2)OH...S<sub>anillo(axial)</sub> en la inversión de la preferencia conformacional.

Aquí debemos detenernos un poco para aclarar lo que sigue: venimos hablando so-



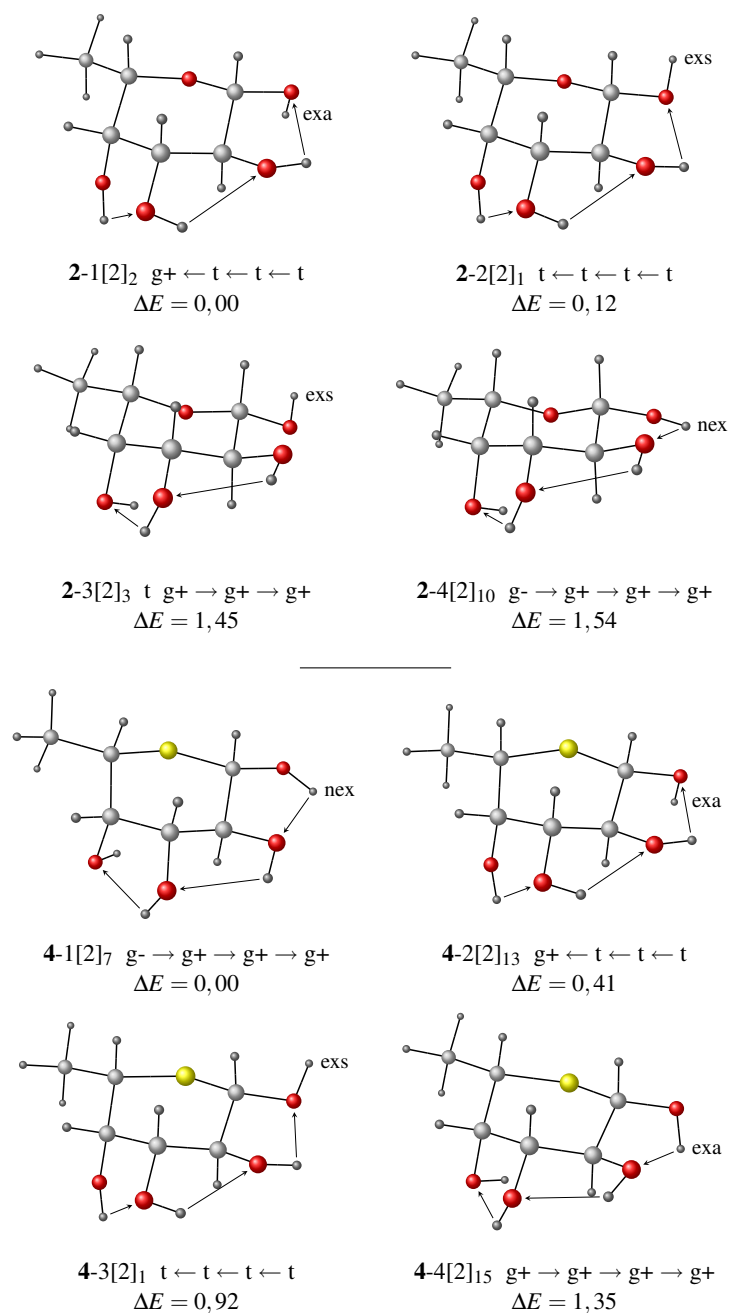
**Figura 7.2:** Rotámeros más estables, de conformación de anillo diferente a la  ${}^1C_4$  al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*, para la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**) y la  $\alpha$ -L-fucopiranososa (**1**). La energía relativa se da en kcal/mol.

bre una serie de interacciones, basados solamente en apreciaciones geométricas y en lo reportado por Csonka y col. Sin embargo, la única forma de establecer la existencia de un enlace es recurriendo a la teoría cuántica de «Átomos en Moléculas» (QTAIM) de Bader<sup>484</sup>. Hicimos algunos cálculos de este tipo, buscando puntos críticos de enlace, y los resultados fueron que, por un lado, en general, la gran mayoría de interacciones  $\text{OH} \cdots \text{O}$  intramoleculares no son enlaces desde el punto de vista de la teoría de Bader, lo cual coincide con lo informado por Csonka y col.. Por otro lado, sí se encuentran, en bastantes casos, puntos críticos de enlace en interacciones del tipo  $\text{OH} \cdots S_{\text{anillo}}$ ,  $\text{OH} \cdots \text{O}_{\text{anillo}}$ ,  $(5)\text{H} \cdots \text{OH}(2)$  y  $\text{OH} \cdots \text{O}$  entre hidroxilos no adyacentes.

En particular, para los referidos rotámeros,  ${}^2S_0$  **1-16[2]<sub>41</sub>** y  ${}^{2,5}B$  **1-19[2]<sub>36</sub>**, el análisis QTAIM confirmó los  $\text{OH} \cdots \text{O}$  entre  $\text{OH}$  adyacentes. En el primero ratificó la interacción  $(3)\text{OH} \cdots \text{O}_{\text{anillo}}$  ( $d_{\text{H} \cdots \text{O}} = 2,129$ ), pero no así la  $(5)\text{H} \cdots \text{OH}(2)$  ( $d_{\text{H} \cdots \text{O}} = 2,664$ ). En el segundo, sin embargo, corroboró la interacción  $(5)\text{H} \cdots \text{OH}(2)$  ( $d_{\text{H} \cdots \text{O}} = 2,313$ ) y no la  $(4)\text{OH} \cdots \text{O}_{\text{anillo}}$  ( $d_{\text{H} \cdots \text{O}} = 2,319$ ).

En el caso de la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa (**4**), de la misma forma que ocurre con los compuestos  $\alpha$ , la relación entre cadenas de hidroxilo a favor de las manecillas del reloj o en contra está invertida. De nuevo, la interacción  $(4)\text{OH} \cdots S_{\text{anillo}}$ , favorecida por la orientación  $4g+$  (rotámero **4-1[2]<sub>7</sub>**), juega un papel importante. Pero aquí los resultados no son tan claros como en los compuestos  $\alpha$ ; los rotámeros segundo y tercero, **4-2[2]<sub>13</sub>**

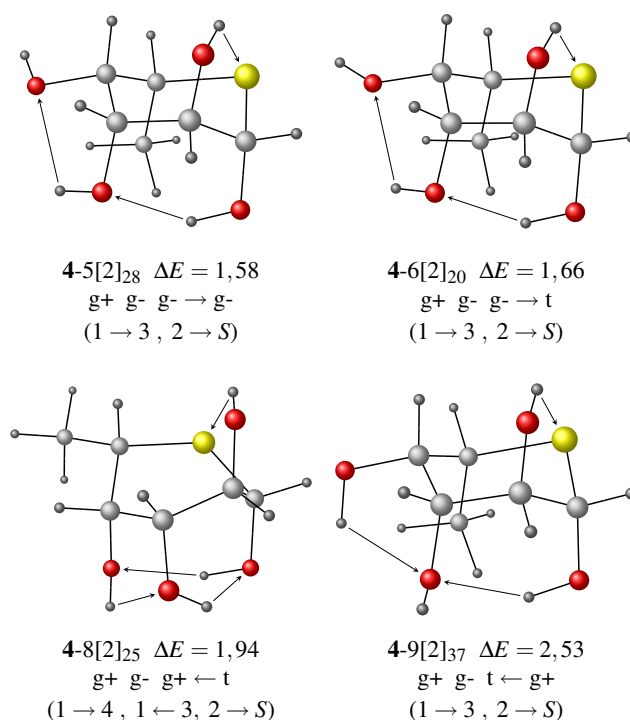
<sup>484</sup>a) R. F. W. Bader, *Atoms in Molecules: a Quantum Theory*, Clarendon, Oxford. 1990. b) R. F. W. Bader, *Chem. Rev.*, **1991**, *91*, 893-928.



**Figura 7.3:** Los cuatro primeros rotámeros de la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranosas (**4**) y de la  $\beta$ -L-fucopiranosas (**2**) (conformación  ${}^1C_4$ ) al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*. La energía relativa se da en kcal/mol.

y  $4-3[2]_1$  (que exhiben el efecto *hockey-sticks*), presentan la misma excepción que los dos primeros rotámeros de **2**, con respecto al efecto exoanomérico (véase la figura 7.3).

Pero, sin duda, el hecho más interesante es que las formas  ${}^4C_1$  y  ${}^5S_1$  de (**4**), se estabilizaron mucho con respecto a (**2**), pasando a tener un apreciable peso conformacional. Ambas formas presentan  $\text{OH} \cdots \text{O}$  entre el OH(1) y grupos hidroxilos no adyacentes (con OH(3) en el caso de  ${}^4C_1$  y  ${}^5S_1$ ). Otra vez la razón de la mayor estabilización de estas for-



**Figura 7.4:** Los 4 rotámeros más estables de **4**, de conformación de anillo diferente a la  ${}^1C_4$ , al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*. En estas formas aparecen interacciones entre OH no adyacentes. Obsérvese como la concentración de interacciones sobre un mismo O conduce a rotámeros menos estables (el n° 37). La energía relativa se da en kcal/mol.

mas está en la interacción estabilizante  $(2)OH \cdots S_{\text{anillo}}$ . En este caso, el análisis de Bader confirmó los resultados, ya que las dos primeros rotámeros de la  ${}^4C_1$ , **4-5**[2]<sub>28</sub> y **4-6**[2]<sub>20</sub> (véase la figura 7.4), mostraron un punto crítico de enlace entre el OH del C2 y el S del anillo (también confirmó la interacción  $(1)OH \cdots OH(3)$ , pero no la única interacción entre OH adyacentes); sin embargo, el homólogo al **4-6**[2]<sub>20</sub>, el **2-13**[2]<sub>33</sub>, como se esperaba, no dió punto crítico de enlace para la interacción  $(2)OH \cdots O_{\text{anillo}}$  (curiosamente sí lo dió para la interacción entre OH adyacentes); así, la energía relativa para uno y otro fue, respectivamente, 1,66 y 3,75 kcal/mol. En el caso del rotámero **4-5**[2]<sub>28</sub>, no se había optimizado el homólogo en B3LYP; por ello decidimos comprobarlo y el resultado fue el previsto, una energía relativa de 3,99 kcal/mol, frente a 1,58 del **4-5**[2]<sub>28</sub>.

Otro hecho que refuerza la idea de la influencia determinante de la interacción  $(2)OH \cdots S_{\text{anillo}}$  es que los rotámeros  ${}^4C_1$  ( $g+ \ t \ g- \ g-$ ) y ( $g+ \ t \ g- \ t$ ), aparecen en B3LYP para **2** (**2-35**[2]<sub>34</sub> y **2-31**[2]<sub>25</sub>, respectivamente) pero no para **4**. La razón es que estos, el **4-5**[2]<sub>28</sub> y el **4-6**[2]<sub>20</sub>, respectivamente, en la reoptimización en DFT, modificaron la orientación 2t a la 2g-, favoreciendo dicha interacción. Lo mismo ocurrió para los rotámeros ( $g+ \ t \ g+ \ t$ ) y ( $g+ \ t \ t \ t$ ) de la  ${}^5S_1$  (2t pasa a 2g-), en la homóloga

Por último, respecto de la forma  ${}^3S_1$ , frente a los cuatro rotámeros de **2** (los cuatro rotámeros tienen la misma cantidad de interacciones  $OH \cdots O$ , pero con diferentes orientaciones), sólo un rotámero de la forma  ${}^3S_1$  fue reoptimizado en B3LYP para (**4**), por ser el único encontrado por MMX en un rango de energía relativa menor de 5 kcal/mol.

Sin embargo, en la sospecha de que la interacción estabilizante  $(2)\text{OH}\cdots\text{S}_{\text{anillo}}$  pudiese darnos un rotámero más estable para **(4)**, decidimos comprobar el rotámero  $g^+ g^- t t$ , que tiene una orientación  $2g^-$  ventajosa para dicha interacción. Como se esperaba, resultó tener una menor energía relativa  $-+3,90$  kcal/mol frente a las 5,23 del rotámero  $4-21[2]_{36} (g^+ t t \leftarrow t)$ .

Si además analizamos detenidamente los datos espectroscópicos calculados de la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranosas (**4**), en comparación con los experimentales, se puede observar lo siguiente: en cuanto a los datos de desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$ , nada se puede sospechar, ya que los datos calculados son bastante precisos. Sin embargo, el análisis de los valores de  $^3J_{\text{H,H}}$  sí nos da una pista de que algo raro ocurre. En primer lugar hay que observar que los valores dependen de las orientaciones de los OH, dando lugar a una dependencia de  $^3J_{\text{H,H}}$ , no sólo de la conformación del anillo, sino también de los diferentes rotámeros, por lo que en este caso se hace mucho más necesaria la utilización de los valores promedio de  $^3J_{\text{H,H}}$ , corregidos por la aplicación de los porcentajes de Boltzmann. Para el valor de la constante anomérica  $J_{1,2}$  (valor más determinante), la concordancia con el valor experimental es muy buena; sin embargo el valor de  $J_{2,3}$  promedio está por debajo del experimental, sin duda debido a la sobrestimación de las formas  $^4\text{C}_1$  y  $^5\text{S}_1$ , que tienen un valor muy inferior de dicha constante, con respecto a la forma  $^1\text{C}_4$ . Por análogas razones el valor teórico de  $J_{4,5}$  es superior al que debería haberse obtenido.

Resumiendo: el método B3LYP/6-31G\* sobrestima la interacción  $(n)\text{OH}\cdots\text{S}_{\text{anillo}}$ , dando lugar, por un lado a que no se reproduzca correctamente el orden de energía en la principal forma del anillo ( $^1\text{C}_4$ ) para los compuestos **3** y **4** y, por otro lado, en el caso del compuesto  $\beta$  (**4**), esta sobrestimación da lugar a que el peso conformacional de otras formas alternativas del anillo se vea artificialmente aumentado. En vista de esto, se decidió la introducción de funciones difusas en la base y la repetición de los cálculos.

### 7.2.1.3. Introducción de la función difusa

En las tablas 7.6 y 7.7, están los resultados comparados de los cálculos B3LYP/6-31G\* y B3LYP/6-31+G\* para los 10 primeros rotámeros de los compuestos **1** al **4**. En el caso de la  $\alpha$ -L-fucopiranosas (**1**) los cambios son mínimos: los 4 primeros rotámeros están en el mismo orden de energía, los rotámeros 5 y 6 están invertidos en el orden de preferencia, aunque con prácticamente el mismo valor energético y el rotámero 10 pasa a ser el n° 7. Para la  $\beta$ -L-fucopiranosas (**2**), el orden de los dos primeros rotámeros se corrige respecto de lo esperado al invertir la preferencia a favor de la orientación  $1t$ , que favorece el efecto anomérico.

Analizando ahora los tioderivados, en el caso de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranosas (**3**), el principal error de B3LYP/6-31G\*, que es el de no haber predicho correctamente el rotámero de mínima energía ( $^1\text{C}_4 / t \leftarrow g^- \leftarrow t \leftarrow t$ , exoanomérico), queda también corregido con la introducción de la función difusa. Y en el caso de la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranosas (**4**), el resultado es más rotundo, puesto que ahora el método B3LYP/6-31+G\* disminuye fuertemente las poblaciones de las conformaciones  $^4\text{C}_1$  y  $^5\text{S}_1$ , al elevar considerablemente sus energías, lo cual es lo que se debería de esperar. Este hecho se ha contrastado

**Tabla 7.6:** Resultados comparados (sólo los diez primeros rotámeros) del análisis conformacional en fase gas, de los compuestos **1** y **2**, a los niveles de teoría B3LYP/6-31G\* y B3LYP/6-31+G\*.

Cf <sup>b</sup>	rotámeros OH <sup>a</sup>				nady <sup>c</sup>	exo <sup>d</sup>	B3LYP/6-31G*			B3LYP/6-31+G*		
	1	2	3	4			n <sup>o</sup>	$\Delta E^e$	% <sup>f</sup>	n <sup>o</sup>	$\Delta E^e$	% <sup>f</sup>
<b><math>\alpha</math>-L-fucopiranososa (1)</b>												
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ←	g- ←	t ←	t	—	exs	1 <sub>1</sub>	0,00	74,86	1 <sub>10</sub>	0,00	90,21
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ →	g+ →	g+ →	g+	—	nex	2 <sub>7</sub>	0,72	22,12	2 <sub>7</sub>	1,50	7,20
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ →	g+ →	g+ →	g-	—	nex	3 <sub>8</sub>	2,54	1,03	3 <sub>8</sub>	2,59	1,15
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+ →	g+ →	g+	—	exs	4 <sub>5</sub>	2,81	0,66	4 <sub>26</sub>	3,32	0,33
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ →	t ←	t ←	t	—	nex	6 <sub>14</sub>	3,62	0,17	5 <sub>14</sub>	3,51	0,24
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ←	g-	g+ →	g+	—	exs	5 <sub>12</sub>	2,98	0,49	6 <sub>12</sub>	3,52	0,24
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t ←	t ←	t	—	exs	10 <sub>2</sub>	3,97	0,09	7 <sub>2</sub>	3,65	0,19
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ →	g+ →	g- ←	t	—	nex	7 <sub>11</sub>	3,79	0,13	8 <sub>11</sub>	3,73	0,17
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ←	g- ←	t	g+	—	exs	8 <sub>15</sub>	3,83	0,12	9 <sub>15</sub>	4,18	0,08
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- ←	g- ←	t ←	t	—	nex	9 <sub>17</sub>	3,88	0,11	10 <sub>17</sub>	4,34	0,06
<b><math>\beta</math>-L-fucopiranososa (2)</b>												
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ←	t ←	t ←	t	—	exs	2 <sub>1</sub>	0,12	38,99	1 <sub>8</sub>	0,00	54,12
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ←	t ←	t ←	t	—	exa	1 <sub>2</sub>	0,00	47,71	2 <sub>12</sub>	0,15	41,74
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+ →	g+ →	g+	—	exs	3 <sub>3</sub>	1,45	4,12	3 <sub>3</sub>	2,14	1,46
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- →	g+ →	g+ →	g+	—	nex	4 <sub>10</sub>	1,54	3,52	4 <sub>10</sub>	2,37	1,00
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ←	t	g+ →	g+	—	exs	6 <sub>4</sub>	2,01	1,61	5 <sub>4</sub>	2,60	0,68
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+ →	g+ →	g+	—	exa	5 <sub>13</sub>	1,82	2,20	6 <sub>13</sub>	2,87	0,43
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t ←	t	g+	—	exs	9 <sub>5</sub>	3,21	0,21	7 <sub>5</sub>	3,30	0,21
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	t →	g+ →	g+	—	exa	7 <sub>21</sub>	3,02	0,29	8 <sub>21</sub>	3,97	0,07
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+ →	g+ →	g-	—	exa				9 <sub>14</sub>	4,03	0,06
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- →	g+ →	g+ →	g-	—	nex				10 <sub>26</sub>	4,10	0,05
<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t	g+	g+ →	g+	1 ← 4	exs	8 <sub>31</sub>	3,07	0,27			
<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t	g+	g+ →	g+	1 ← 4	exs	10 <sub>19</sub>	3,25	0,20			

<sup>a</sup> Clasificación de los ángulos diedros, los grupos OH están numerados según los carbonos del anillo. Las flechas indican interacciones OH...O entre OH adyacentes, siendo la dirección de la misma: oxígeno dador → oxígeno aceptor. <sup>b</sup> Conformación del anillo. <sup>c</sup> Interacción tipo OH...O entre OH no adyacentes. <sup>d</sup> Orientación del grupo OH anomérico según el efecto exoanomérico. <sup>e</sup> Energía relativa en kcal/mol. <sup>f</sup> Población de Boltzmann en %.

realizando cálculos más rigurosos (MP2/6-311++G\*) para rotámeros, cuyos resultados se recogen en la tabla 7.12, corroborando este resultado.

Es decir, la introducción de la función difusa es fundamental a la hora de corregir sobrestimaciones erróneas de determinados rotámeros que presentan interacciones intramoleculares (n)OH...S<sub>anillo</sub>. Sin embargo, aún no nos podemos dar por satisfechos; el ambiente en el que se encuentran estos compuestos es en disolución, por lo que se hace imprescindible realizar los cálculos anteriores, pero teniendo ahora en cuenta la influencia del disolvente y comparar con los resultados de las moléculas aisladas.

## 7.2.2. Influencia del disolvente. Método PCM

Los resultados obtenidos al introducir la influencia del disolvente son importantes y drásticos<sup>485</sup>. En la tabla 7.8, se presentan, comparados, los resultados de los cálculos de

<sup>485</sup>Cálculos semiempíricos PM3 previos, realizados con disolvente explícito, utilizando el método MMH, revelaron la importancia capital de dicha influencia. Sin embargo, se descartó continuar con esta metodología de trabajo debido a los problemas que presenta el método PM3, y otros métodos semiempíricos, de no

**Tabla 7.7:** Resultados comparados (sólo los diez primeros rotámeros) del análisis conformacional, en la fase gas, de los compuestos **3** y **4**, a los niveles teóricos B3LYP/6-31G\* y B3LYP/6-31+G\*.

Cf <sup>b</sup>	rotámeros OH <sup>a</sup>				nady <sup>c</sup>	exo <sup>d</sup>	B3LYP/6-31G*			B3LYP/6-31+G*					
	1	2	3	4			n <sup>o</sup>	$\Delta E^e$	% <sup>f</sup>	n <sup>o</sup>	$\Delta E^e$	% <sup>f</sup>			
<b>5-tio-<math>\alpha</math>-L-fucopiranosas (<b>3</b>)</b>															
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-	←	t	←	t	—	exs	2 <sub>1</sub>	0,63	24,95	1 <sub>10</sub>	0,00	55,35
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g+	→	g+	—	nex	1 <sub>6</sub>	0,00	72,22	2 <sub>22</sub>	0,17	41,36
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		g+	→	g+	→	g+	—	exs	3 <sub>4</sub>	2,21	1,73	3 <sub>4</sub>	2,10	1,60
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g+	→	g-	—	nex	4 <sub>8</sub>	2,92	0,53	4 <sub>8</sub>	2,56	0,73
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-		g+	→	g+	—	exs	5 <sub>43</sub>	3,54	0,18	5 <sub>43</sub>	3,25	0,23
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	t	←	t	←	t	—	nex	7 <sub>11</sub>	4,01	0,08	6 <sub>35</sub>	3,32	0,20
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	g-	←	t		g+	—	exs	6 <sub>14</sub>	3,68	0,14	7 <sub>14</sub>	3,34	0,20
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		t	←	t	←	t	—	exs	9 <sub>2</sub>	4,45	0,04	8 <sub>24</sub>	3,41	0,17
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g-	←	t	—	nex	8 <sub>9</sub>	4,36	0,05	9 <sub>9</sub>	3,75	0,10
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g-	←	t	—	nex				10 <sub>5</sub>	4,43	0,03
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	→	g+	→	g-		g+	—	nex	10 <sub>22</sub>	4,49	0,04			
<b>5-tio-<math>\beta</math>-L-fucopiranosas (<b>4</b>)</b>															
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	→	g+	→	g+	→	g+	—	nex	1 <sub>7</sub>	0,00	48,44	1 <sub>7</sub>	0,00	39,89
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t	←	t	←	t	—	exs	3 <sub>1</sub>	0,92	10,20	2 <sub>4</sub>	0,16	30,21
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	←	t	←	t	←	t	—	exa	2 <sub>13</sub>	0,41	24,13	3 <sub>12</sub>	0,24	26,55
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t		g+	→	g+	→	g+	—	exs	7 <sub>3</sub>	1,94	1,84	4 <sub>3</sub>	2,05	1,25
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t	←	t		g+	—	exs				5 <sub>14</sub>	2,57	0,52
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t		g+	→	g+	—	exs	10 <sub>9</sub>	2,85	0,39	6 <sub>9</sub>	2,67	0,44
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	→	g+	→	g+	→	g-	—	nex				7 <sub>14</sub>	3,04	0,24
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+		g-		g-	→	t	1 → 3	exa <sup>g</sup>	6 <sub>20</sub>	1,66	2,92	8 <sub>20</sub>	3,11	0,21
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+		g-		g-	→	g-	1 → 3	exa <sup>g</sup>	5 <sub>28</sub>	1,58	3,37	9 <sub>28</sub>	3,14	0,20
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	←	t	←	t		g+	—	exa				10 <sub>21</sub>	3,33	0,14
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+		g+	→	g+	→	g+	—	exa	4 <sub>15</sub>	1,35	4,98			
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+		g-		t	←	g+	1 → 3	exa <sup>g</sup>	9 <sub>37</sub>	2,53	0,68			
<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+		g-		g+	←	t	1 ← 3, 1 → 4	exa <sup>g</sup>	8 <sub>25</sub>	1,94	1,83			

<sup>a</sup> Clasificación de los ángulos diedros, los grupos OH están numerados según los carbonos del anillo. Las flechas indican interacciones OH...O entre OH adyacentes, siendo la dirección de la misma: oxígeno dador → oxígeno aceptor. <sup>b</sup> Conformación del anillo. <sup>c</sup> Interacción tipo OH...O entre OH no adyacentes. <sup>d</sup> Orientación del grupo OH anomérico según el efecto exoanomérico. <sup>e</sup> Energía relativa en kcal/mol. <sup>f</sup> Población de Boltzmann en %.

las moléculas aisladas (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*).

Por un lado el rango de energías relativas se estrecha en disolución. Por ejemplo, los 10 primeros rotámeros del anómero  $\alpha$ , en los cálculos sin disolvente, están dentro de un rango de 3,25 kcal/mol, mientras que en disolución lo están en el rango de 1,67 kcal/mol (de modo similar para el anómero  $\beta$ : 3,33 frente a 1,17 kcal/mol).

Por otra parte, al optimizar con el método PCM algunos rotámeros giran los grupos OH a fin de evitar las interacciones OH...O, dejándolos en una posición más favorable para su interacción con las moléculas del disolvente. Así, por ejemplo los rotámeros  $\alpha$  12<sup>o</sup> y 5<sup>o</sup>, en fase gaseosa (**3**-12[3]<sub>19</sub> y **3**-5[3]<sub>43</sub>), al solvatar rompen dos de sus interacciones OH...O, pasando a ser el segundo y tercer rotámero más estable (**3**-2[4]<sub>19</sub> y **3**-3[4]<sub>43</sub>). Esta estabilización se debe a la presencia de cuatro y tres grupos OH li-

ser capaces de establecer un adecuado orden energético de rotámeros y de dar lugar a falsas interacciones H...H del soluto con las moléculas del disolvente.



bres, respectivamente. El principal rotámero, tanto aislado como en disolución ( ${}^1C_4$  t  $\leftarrow$  g-  $\leftarrow$  t  $\leftarrow$  t), también rompe su interacción 1  $\leftarrow$  2 (véase la figura 7.10 en página 150) para obtener una estabilización adicional con el disolvente. En el anómero  $\beta$ , aunque la tendencia es también visible, estas roturas de interacciones intramoleculares no ocurren de una forma tan evidente.

Pero, sin duda, el resultado más destacable tiene relación con el efecto exoanomérico: en disolución, los rotámeros de la conformación  ${}^1C_4$ , tanto del anómero  $\alpha$  como del  $\beta$ , reproducen perfectamente el efecto exoanomérico, de tal forma que, según su energía relativa, quedan ordenados de acuerdo con este efecto (exo-sin > no-exo > exo-anti, para el anómero  $\alpha$  y exo-sin = exo-anti > no-exo, para el  $\beta$ ), que es lo que se debería de esperar.

Así, en el caso de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**), los rotámeros más estables son los que poseen la orientación 1t (posición favorable exo-sin), con la excepción de los rotámeros t t  $\leftarrow$  t g+ y t t g+  $\rightarrow$  t-. Los rotámeros no-exo (orientación 1g+) aparecen agrupados después de aquellos, con una energía relativa mayor de 1,48 kcal/mol. Por otra parte, el rotámero exo-anti (orientación 1g-), es el menos estable de los rotámeros  ${}^1C_4$ , puesto que presenta repulsiones 1,3-sindiaxiales del grupo hidroxilo OH(1) con H(3) y H(5). Sin embargo, como se observa en la tabla, en fase gaseosa los rotámeros no-exo aparecen más estabilizados y mezclados con los exo-sin, siendo el caso más destacado el del rotámero g+  $\rightarrow$  g+  $\rightarrow$  g+  $\rightarrow$  g+ que pasa de ser el segundo rotámero en fase gaseosa al décimo en disolución, lo cuál está de acuerdo con lo esperado por el efecto exoanomérico.



Tabla 7.8: Continuación.

C <sup>b</sup>	n <sup>oc</sup>	Fase gas: B3LYP/6-31+G*												Disolución: PCM-B3LYP/6-31+G*													
		Rotámeros OH <sup>a</sup>						OH						Rotámeros OH <sup>a</sup>						OH							
		1	2	3	4	nady <sup>e</sup>	S <sub>ani</sub> <sup>f</sup>	hck <sup>g</sup>	libre <sup>h</sup>	exo <sup>j</sup>	ΔE <sup>j</sup>	% <sup>k</sup>	n <sup>oc</sup>	C <sup>pl</sup>	1	2	3	4	nady <sup>e</sup>	S <sub>ani</sub> <sup>f</sup>	hck <sup>g</sup>	libre <sup>h</sup>	exo <sup>j</sup>	ΔE <sup>j</sup>	% <sup>k</sup>		
3	2653	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t ← t	t ← t	t ← t	—	—	2	1,3,4	exs	8,94	0,0	2653	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t ← t	t ← t	t ← t	—	—	—	2	1,3,4	exs	6,15	0,0		
3	2725	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+ → g-	—	—	—	4	1,3,4	exs	8,99	0,0	2742	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t	t ← t	t ← t	—	—	—	2	1,3	exs	6,57	0,0		
3	28147	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t ← g-	g- → t	—	—	—	—	1,4	exs	9,34	0,0	28109	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	g- ← g-	t ← t	t ← t	—	—	—	—	1	exa	11,26	0,0		
3	2945	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	t	g+ → g-	—	—	4	1,2,4	exs	9,44	0,0	29133	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	t ← g-	t ← t	t ← t	—	—	—	—	1	exs	11,47	0,0		
3	3042	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t	t ← t	—	—	—	2	1,3	exs	9,55	0,0															
3	3192	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	t ← g-	t ← t	—	—	—	—	1	exs	9,79	0,0															
3	3260	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	g+ → g-	t ← t	—	—	—	1,2,4	exs	9,98	0,0															
5-tio-β-L-fucopiranosas (4)																											
4	17	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- → g+ → g+ → g+	—	—	—	—	4	→ S	1	nex	0,00	39,9	112	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ← t	t ← t	t ← t	—	—	—	4	1	exa	0,00	25,1	
4	24	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t	t ← t	t ← t	—	—	4	—	4	1	exs	0,16	30,2	24	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t	t ← t	t ← t	—	—	—	4	1	exs	0,06	22,6
4	312	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ← t	t ← t	t ← t	—	—	4	—	4	1	exa	0,24	26,5	35	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t	t ← t	g+	—	—	4	→ S	1	exs	0,70	7,8
4	43	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+ → g+ → g+	—	—	—	4	→ S	1	exs	2,05	1,3	421	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ← t	t ← t	g+	—	—	4	→ S	1	exa	0,78	6,8	
4	55	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t	t ← t	g+	—	—	4	→ S	1	exs	2,57	0,5	59	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t	t ← t	g+ → g+	—	—	4	→ S	1	exs	0,79	6,7	
4	69	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t	g+ → g+	g+	—	—	4	→ S	1	exs	2,67	0,4	631	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ← t	t ← t	g+ → g+	—	—	4	→ S	1,3	exa	0,96	5,0	
4	714	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- → g+ → g+ → g-	—	—	—	—	4	—	4	nex	3,04	0,2	724	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ← t	t ← t	g+ → g-	—	—	4	—	4	1,3,4	exa	1,08	4,1
4	820	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g-	g- → t	1 → 3	2 → S	—	—	—	4	exa <sup>m</sup>	3,11	0,2	817	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g-	g+ → g+ → g-	—	—	—	4	—	4	1,4	exa	1,09	4,0
4	928	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g-	g- → g-	1 → 3	2 → S	—	—	—	4	exa <sup>m</sup>	3,14	0,2	916	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t	t ← t	g+ → g-	—	—	4	—	4	1,4	exs	1,11	3,9
4	1021	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ← t	t ← t	g+	—	—	4	→ S	1	exa	3,33	0,1	103	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+ → g+ → g+	—	—	—	4	→ S	1	exs	1,17	3,5	
4	1131	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ ← t	t ← t	g+ → g+	—	—	4	→ S	1	exa	3,67	0,1	1118	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g-	g+ → g- ← t	—	—	—	4	—	4	1,3	exa	1,19	3,4
4	1237	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g-	g- → t	1 → 3	2 → S	—	—	—	3	exa <sup>m</sup>	3,79	0,1	128	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+ → g+ → g-	—	—	—	4	—	4	1,4	exs	1,44	2,2
4	1326	B <sub>1,4</sub>	g+ g-	g- → t	1 → 4	2 → S	—	—	—	3	exa <sup>m</sup>	3,81	0,1	1310	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+ → g- ← t	—	—	—	—	—	1,3	exs	1,59	1,7	
4	1419	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- → g+ → g-	t ← t	—	—	—	4	—	3	nex	4,21	0,0	147	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g+ → g+ → g+	—	—	—	4	→ S	1	nex	1,73	1,4	
4	1525	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g-	g+ ← t	1 → 4, 2 → S	—	—	—	—	4	exa <sup>m</sup>	4,22	0,0	1514	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g+ → g+ → g-	—	—	—	4	—	4	1	nex	1,88	1,0
4	1617	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g+ → g+ → g-	—	—	—	—	4	—	4	1,4	exa	4,37	0,0	1619	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- → g+ → g- ← t	—	—	—	4	—	4	3	nex	2,02	0,8
4	1736	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	g+ t ← t	t ← t	1 → 4	—	—	—	—	2	exa <sup>m</sup>	4,63	0,0	1736	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	g+	t ← t	t ← t	1 → 4	—	—	—	2	exa <sup>m</sup>	3,49	0,1	

Tabla 7.8: Continuación.

Fase gas: B3LYP/6-31+G*										Disolución: PCM-B3LYP/6-31+G*																	
Rotámetros OH <sup>a</sup>					OH					Rotámetros OH <sup>a</sup>					OH												
C <sup>b</sup>	n <sup>o,c</sup>	C <sup>d</sup>	1	2	3	4	nady <sup>e</sup>	S <sub>ani</sub> <sup>f</sup>	hck <sup>g</sup>	libre <sup>h</sup>	exo <sup>i</sup>	$\Delta E^j$	% <sup>k</sup>	n <sup>o,c</sup>	C <sup>d</sup>	1	2	3	4	nady <sup>e</sup>	S <sub>ani</sub> <sup>f</sup>	hck <sup>g</sup>	libre <sup>h</sup>	exo <sup>i</sup>	$\Delta E^j$	% <sup>k</sup>	
4	18 <sub>38</sub>	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t	g+	g+	g+→	g+	1←4	—	2	1,2	exs	5,08	0,0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-	t	←	g+	1→3	2→S	3	exa <sup>m</sup>	4,56	0,0	
4	19 <sub>80</sub>	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	t	←	t	←	—	—	—	1,2	exs	5,28	0,0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	t	g-	→	t	1→3	—	—	2	2,4	exa <sup>m</sup>	4,68	0,0
4	20 <sub>8</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	→	g+	→	—	—	4	1,4	exs	5,33	0,0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-	g-	→	g-	1→3	2→S	4	exa <sup>m</sup>	4,71	0,0	
4	21 <sub>04</sub>	<sup>2,5</sup> B	g+	t	g-	→	g+	2←5, 4→S	1→3	1	exa	5,41	0,0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g+	g-	→	g-	1→3	—	—	2	2,4	exa <sup>m</sup>	4,79	0,0
4	22 <sub>18</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	→	g-	←	t	—	4	1,3	exa	5,51	0,0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-	g-	→	t	1→3	2→S	4	exa <sup>m</sup>	4,83	0,0	
4	23 <sub>33</sub>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	t	g-	→	t	1→3	—	2	2,4	exa <sup>m</sup>	5,67	0,0	B <sub>1,4</sub>	g+	g-	t	←	t	1→4	2→S	3	exa <sup>m</sup>	5,05	0,0	
4	24 <sub>16</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	←	t	g+	→	g-	—	4	1,4	exs	5,73	0,0	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t	g+	g+	→	g+	1←4	—	2	1	exs	5,49	0,0
4	25 <sub>24</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	←	t	g+	→	g-	—	4	1,4	exa	5,84	0,0	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	←	t	←	g+	—	—	1	exs	5,71	0,0	
4	26 <sub>29</sub>	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+	g+	g+	←	t	1←3, 1→4	—	2	2	exa <sup>m</sup>	6,02	0,0	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+	g+	g+	←	t	1←3, 1→4	—	2	2	exa <sup>m</sup>	5,82	0,0
4	27 <sub>10</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	→	g-	←	t	—	4	1,3	exs	6,34	0,0	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	←	t	g-	→	—	—	1,4	exs	5,86	0,0	
4	28 <sub>51</sub>	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	←	t	←	g+	—	—	1	exs	6,39	0,0	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	t	←	t	←	t	—	—	—	1,2	exs	7,42	0,0	
4	29 <sub>35</sub>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g+	g+	→	g-	1→3	—	2	2,4	exa <sup>m</sup>	6,50	0,0	<sup>2</sup> S <sub>5</sub>	g+	t	g-	→	t	1→3	—	2,4	exa <sup>m</sup>	8,64	0,0	
4	30 <sub>118</sub>	<sup>2</sup> S <sub>5</sub>	g+	t	g-	→	t	1→3	—	2,4	exa <sup>m</sup>	7,82	0,0														
4	31 <sub>129</sub>	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	←	t	g-	→	t	—	1,4	exs	9,99	0,0														

<sup>a</sup> Clasificación de los ángulos diedros; los grupos OH están numerados según los carbonos del anillo. Las flechas indican interacciones OH...O entre OH adyacentes, siendo la dirección de la misma: oxígeno dador → oxígeno aceptor. <sup>b</sup> Compuesto. <sup>c</sup> Número de rotámetro. <sup>d</sup> Conformación del anillo. <sup>e</sup> Interacción OH...O entre grupos OH no adyacentes. Los números indican el átomo de carbono al que pertenecen. <sup>f</sup> Interacción OH...O con el S del anillo. <sup>g</sup> Número del átomo de carbono cuyo OH que muestra el efecto *hockey-sticks*. <sup>h</sup> Número del átomo de carbono que tiene un OH adecuadamente orientado para interactuar con las moléculas de agua del disolvente. <sup>i</sup> Efecto exoanómico; exs: exo-sin, exa: exo-anti, nex: no-exo. <sup>j</sup> Energía relativa en kcal/mol. <sup>k</sup> Porcentaje calculado según las poblaciones de Boltzmann. <sup>l</sup> El OH anómico presenta el efecto exoanómico favorable, pero está desestabilizado por 2 interacciones 1,3-sindiales con los hidrógenos axiales en C3 y C5. <sup>m</sup> Igual que en la nota anterior la posición es endo, pero en este caso está estabilizada una interacción OH...OH entre grupos no adyacentes.

En el caso de la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa (**4**), también se reproduce mucho mejor el efecto exoanomérico en el análisis conformacional. Para la forma mayoritaria  ${}^1C_4$  (orientación 1g-) los conformeros no-exo son los menos estables. Así, el rotámero g-  $\rightarrow$  g+  $\rightarrow$  g+  $\rightarrow$  g+, que es el más poblado en los cálculos en fase gaseosa, pasa a ser el 14<sup>o</sup> en disolución. Un comportamiento similar, aunque menos pronunciado, se da para el rotámero g-  $\rightarrow$  g+  $\rightarrow$  g+  $\rightarrow$  g-. En el caso de este anómero  $\beta$ , ninguna de las formas exo (exo-sin y exo-anti) presentan impedimentos estéricos por lo que son igualmente probables, lo cual es reflejado perfectamente por los cálculos en disolución (véase la tabla 7.8).

También en este caso las roturas de las interacciones intramoleculares OH $\cdots$ O en disolución son menos marcadas. El primer y segundo rotámeros más poblados en disolución presentan el máximo número de dichas interacciones con un patrón unidireccional y en contra de las agujas del reloj, al igual que ocurre en los cálculos en fase gaseosa. Sin embargo, sí existe una leve rotación de los grupos OH a fin de ser más accesibles al disolvente.

A partir de los razonamientos anteriores, se puede concluir que los cálculos en disolución dan lugar a roturas de las interacciones intramoleculares OH $\cdots$ O, debido a la estabilización con el disolvente. Para ambos anómeros, tanto en fase gaseosa como en disolución, los rotámeros de la conformación  ${}^1C_4$  son los más estables. Sin embargo, en fase gaseosa los rotámeros más estables presentan indiferentemente, las interacciones intramoleculares OH $\cdots$ O a favor de las agujas del reloj o en contra, mientras que en disolución las formas a favor de las agujas del reloj son penalizadas en sus valores de energía, en concordancia con el efecto exoanomérico, por lo que se puede concluir que los cálculos en fase gaseosa no son adecuados para reproducir este efecto.

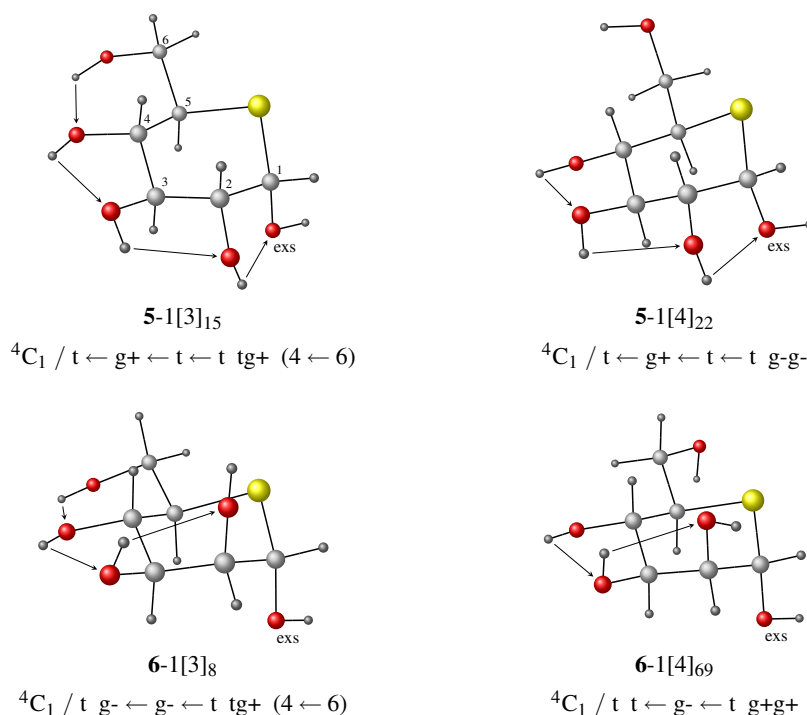
### 7.3. Otros monosacáridos: análisis conformacional de las moléculas aisladas y en disolución

#### 7.3.1. 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa (**5**) y 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa (**6**)

Estos dos compuestos presentan un grupo CH<sub>2</sub>OH en C6, lo que da lugar a un mayor número de rotámeros. Por cuestiones de claridad, los resultados para estos compuestos y para el resto de monosacáridos se recogen en la tabla suplementaria B.1 (página B).

Para ambas moléculas, la situación es similar que para **3** y **4**: en disolución los diferentes rotámeros aparecen ordenados de acuerdo al efecto exoanomérico y las conformaciones que más contribuyen a la población de rotámeros están en un estrecho rango de energía.

La figura 7.5 muestra los rotámeros más estables de ambas moléculas (**5** y **6**), en fase gaseosa y en disolución. Ambas presentan el mismo patrón que para la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**3,4**) es decir, los rotámeros más estables tienen un número máximo de interacciones OH $\cdots$ O contrarias a las agujas del reloj. Además, en fase gaseosa, el hidroxilo del grupo hidroximetilo continua esta cadena de interacciones en la misma dirección; sin embargo, esta interacción se elimina después de solvatar, al rotar el grupo



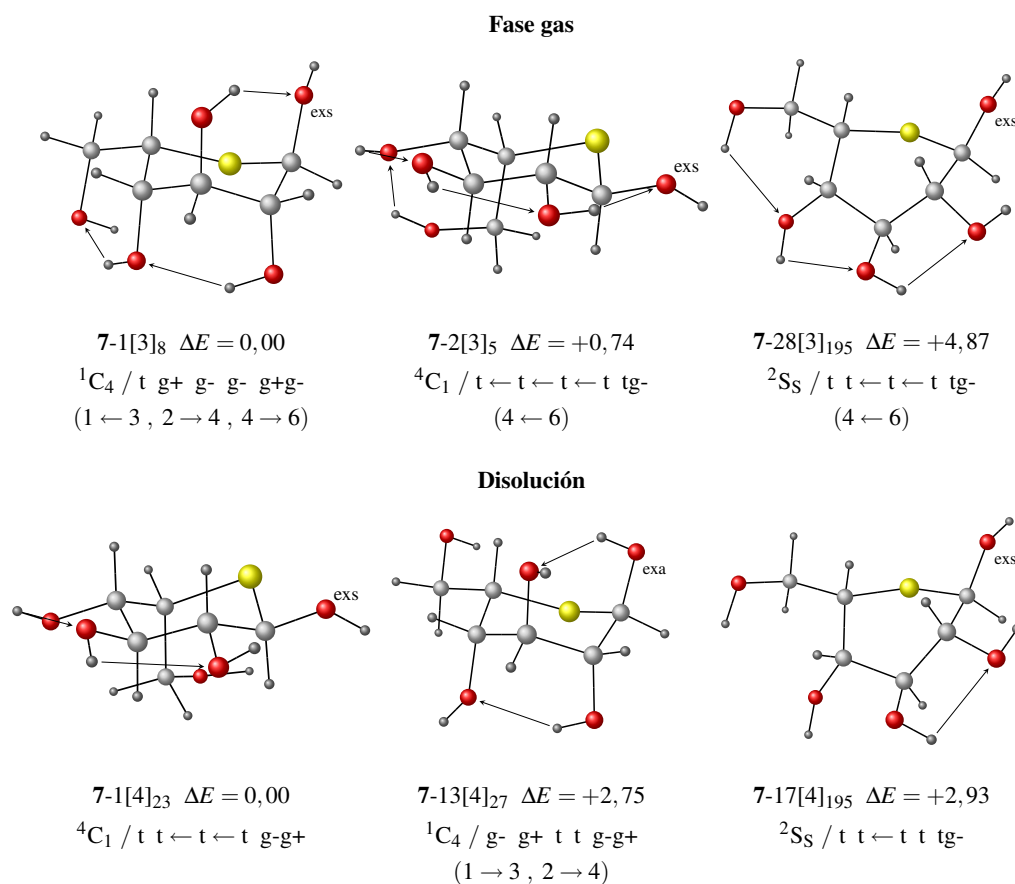
**Figura 7.5:** Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa (**5**) y de la 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa (**6**), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*). Las diferentes orientaciones de los grupos OH, de acuerdo al efecto exoanomérico, se indican como exs: exo-sin y exa: exo-anti. Las flechas indican interacciones OH $\cdots$ O entre grupos OH vecinos y, en paréntesis, las interacciones entre grupos no adyacentes.

### CH<sub>2</sub>OH.

Para la 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa (**5**), igual que para **3** y **4**, las cadenas de interacciones a favor de las agujas del reloj, después de solvatar, se desestabilizan dando lugar a mayores energías relativas respecto de las más estables. De nuevo, este comportamiento se explica con el efecto exoanomérico, ya que estas interacciones coinciden con las formas no-exo. Sin embargo, para la 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa (**6**) este efecto no se puede observar debido a la imposibilidad, a causa de su configuración, de que exista una interacción OH(1) $\cdots$ OH(2) que pudiera estabilizar la orientación no-exo (orientación 1g-).

### 7.3.2. Tioderivados de configuración L-ido (7 al 10)

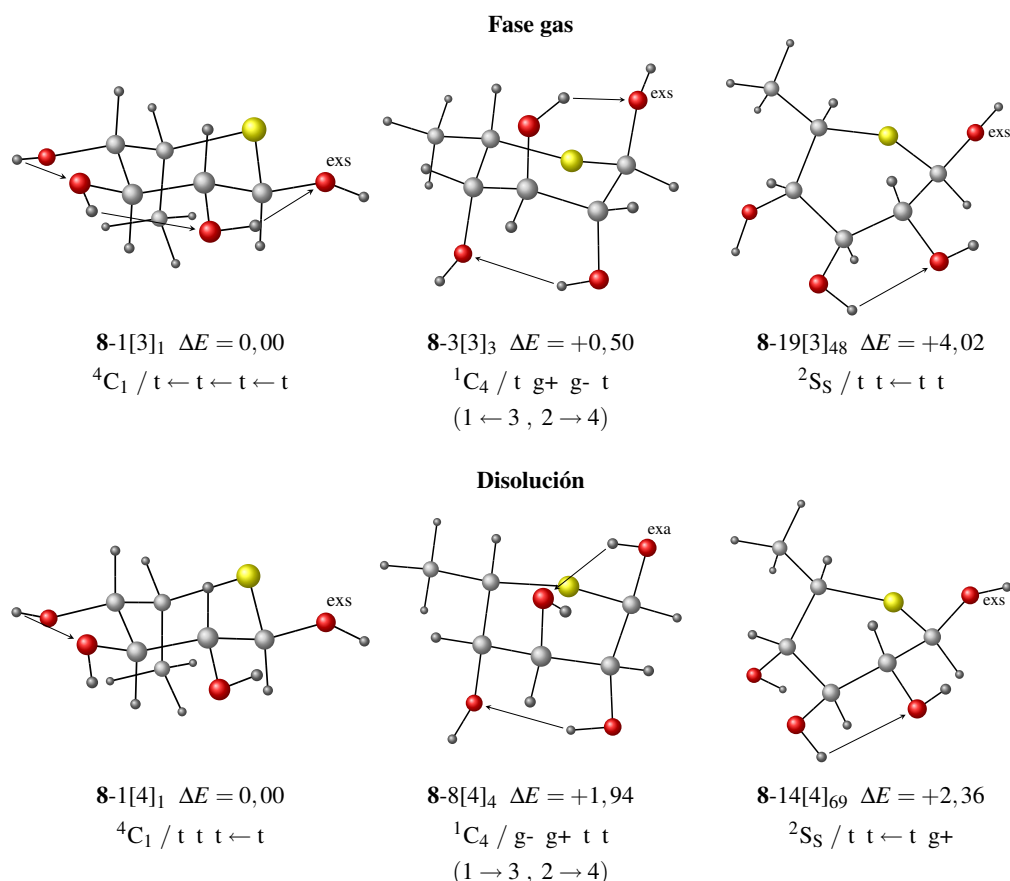
Se han estudiado 4-tioderivados de configuración L-ido: la 5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**7**), su 6-desoxi derivado (**8**), el 3-*OMe*-derivado de **7** (**9**) y su correspondiente 6-desoxi derivado (**10**). Estudios previos experimentales de RMN<sup>23,118</sup>, concluyen que la preferencia conformacional de **7** y de alguno de sus derivados es  ${}^4C_1 > {}^1C_4 > {}^2S_5$ . Los resultados teóricos obtenidos en disolución para los compuestos **7**, **8** y **9** concuerdan con estos datos experimentales y, para el compuesto **10**, la forma *skew-boat* queda reemplazada por la forma de bote B<sub>1,4</sub>, en la preferencia conformacional.



**Figura 7.6:** Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**7**), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*). Las diferentes orientaciones de los grupos OH, de acuerdo al efecto exoanomérico, se indican como exs: exo-sin y exa: exo-anti. Las flechas indican interacciones OH $\cdots$ O entre grupos OH vecinos y, en paréntesis, las interacciones entre grupos no adyacentes.

En las figuras 7.6 a 7.9 se describen las geometrías de los primeros rotámeros de cada forma del anillo. El análisis conformacional de los compuestos 6-desoxi, tanto en fase gaseosa como en disolución, reproducen el orden de energía experimental (<sup>4</sup>C<sub>1</sub> > <sup>1</sup>C<sub>4</sub> > <sup>2</sup>S<sub>5</sub>), si bien en fase gaseosa la forma <sup>1</sup>C<sub>4</sub> está sobrestimada, si comparamos con los datos <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> experimentales (véase la tabla 7.11 en 154). Por el contrario, las formas no desoxi (6-hidroxiladas) (**7** y **9**) intercambian la preferencia conformacional de las formas de silla (invierte a <sup>1</sup>C<sub>4</sub> > <sup>4</sup>C<sub>1</sub>) en fase gaseosa, mientras que los cálculos en disolución reproducen el orden energético experimental (<sup>4</sup>C<sub>1</sub> > <sup>1</sup>C<sub>4</sub>). Además, en disolución, la forma <sup>2</sup>S<sub>5</sub> de **7**, **8** y **10** (B<sub>1,4</sub> en el caso **9**) aumenta su peso conformacional.

El análisis de los rotámeros muestra resultados destacables respecto al favorecimiento de la forma <sup>1</sup>C<sub>4</sub> en fase gaseosa. Para los compuestos **7-10**, esta forma del anillo, en la que no son posibles las interacciones OH $\cdots$ O entre OH adyacentes, exhibe dos enlaces de hidrógeno entre hidroxilos no adyacentes: OH(1) $\cdots$ OH(3) (OMe para **9** y **10**) y OH(2) $\cdots$ OH(4). Estas interacciones son responsables de su mayor población en fase gaseosa. Además, las moléculas no desoxi presentan una estabilización adicional debido al enlace de hidrógeno OH(4) $\cdots$ OH(6), invirtiendo de esta forma la preferencia confor-



**Figura 7.7:** Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 6-desoxi-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**8**), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*). Las diferentes orientaciones de los grupos OH, de acuerdo al efecto exoanómico, se indican como exs: exo-sin y exa: exo-anti. Las flechas indican interacciones OH...O entre grupos OH vecinos y en paréntesis las interacciones entre grupos no adyacentes.

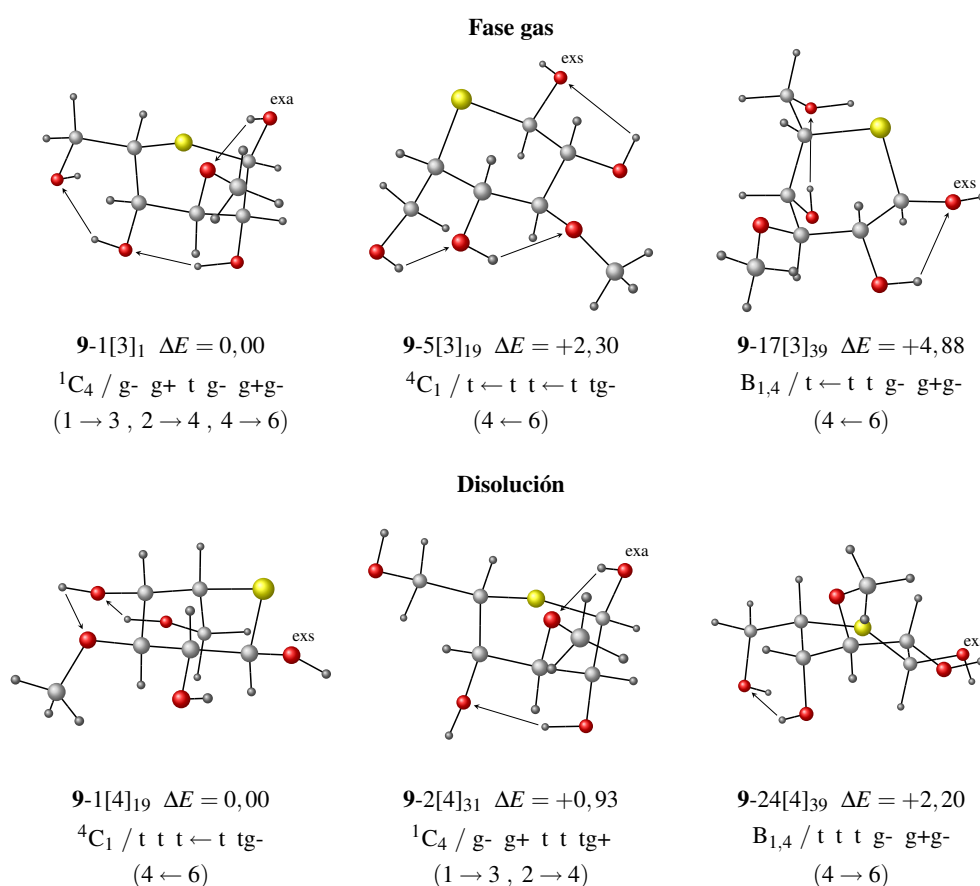
macional y favoreciendo esta forma del anillo.

Por otra parte, si tenemos en cuenta el hecho de que las interacciones entre hidroxilos adyacentes son más débiles que entre los no adyacentes<sup>486</sup>, la forma <sup>4</sup>C<sub>1</sub> está relativamente desestabilizada en fase gaseosa con respecto a la forma <sup>1</sup>C<sub>4</sub>. Además, la presencia de débiles cadenas unidireccionales de interacciones OH...O permite, tras solvatar, una mejor interacción con las moléculas del disolvente, al perder alguna de estas interacciones o reorientar los grupos OH. Además, en el caso de las moléculas no desoxi, se prefiere la forma libre del grupo OH(6), en lugar de su participación en enlaces de hidrógeno intramoleculares, por lo que se incrementa la estabilidad relativa en disolución.

La preferencia conformacional experimental de los 5-tio-L-derivados generalmente se explica en términos del efecto *hockey-sticks*. De acuerdo a este efecto, la forma <sup>1</sup>C<sub>4</sub>, que presenta un doble efecto en C2 y C4, debería ser menos estable la forma <sup>4</sup>C<sub>1</sub>. Los resultados aquí obtenidos confirman este efecto en disolución, pero no en la fase gaseosa, aunque en principio el efecto debería ser también válido para la molécula

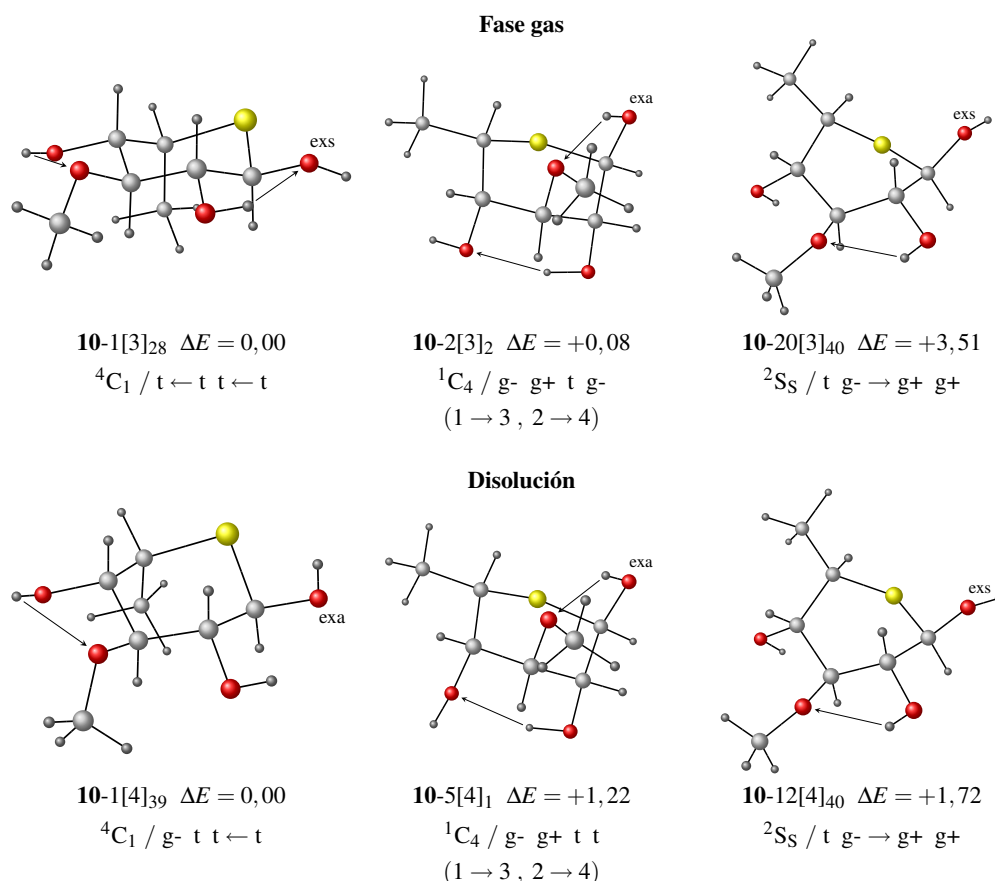
<sup>486</sup>M. López de la Paz, G. Ellis, M. Pérez, J. P. Jesús, Jiménez-Barbero y C. Vicent *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 840-855.





**Figura 7.8:** Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 3-*O*-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**9**), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*). Las diferentes orientaciones de los grupos OH, de acuerdo al efecto exoanomérico, se indican como exs: exo-sin y exa: exo-anti. Las flechas indican interacciones OH $\cdots$ O entre grupos OH vecinos y, en paréntesis, las interacciones entre grupos no adyacentes.

aislada. Es más, en el estudio conformacional, varios rotámeros compatibles con este efecto, aparecen estabilizados debido a interacciones OH $\cdots$ O intramoleculares, mientras que en otros confórmeros la rotación de algunos grupos OH dan lugar a interacciones (n)OH $\cdots$ S<sub>anillo</sub> estabilizantes, lo que es incompatible con la naturaleza del efecto *hockey-sticks*. Esto indica que, aunque válido, este efecto no es un factor determinante a la hora de elucidar la conformación de este tipo de moléculas, y que serían necesarios estudios adicionales sobre la relevancia de este efecto.



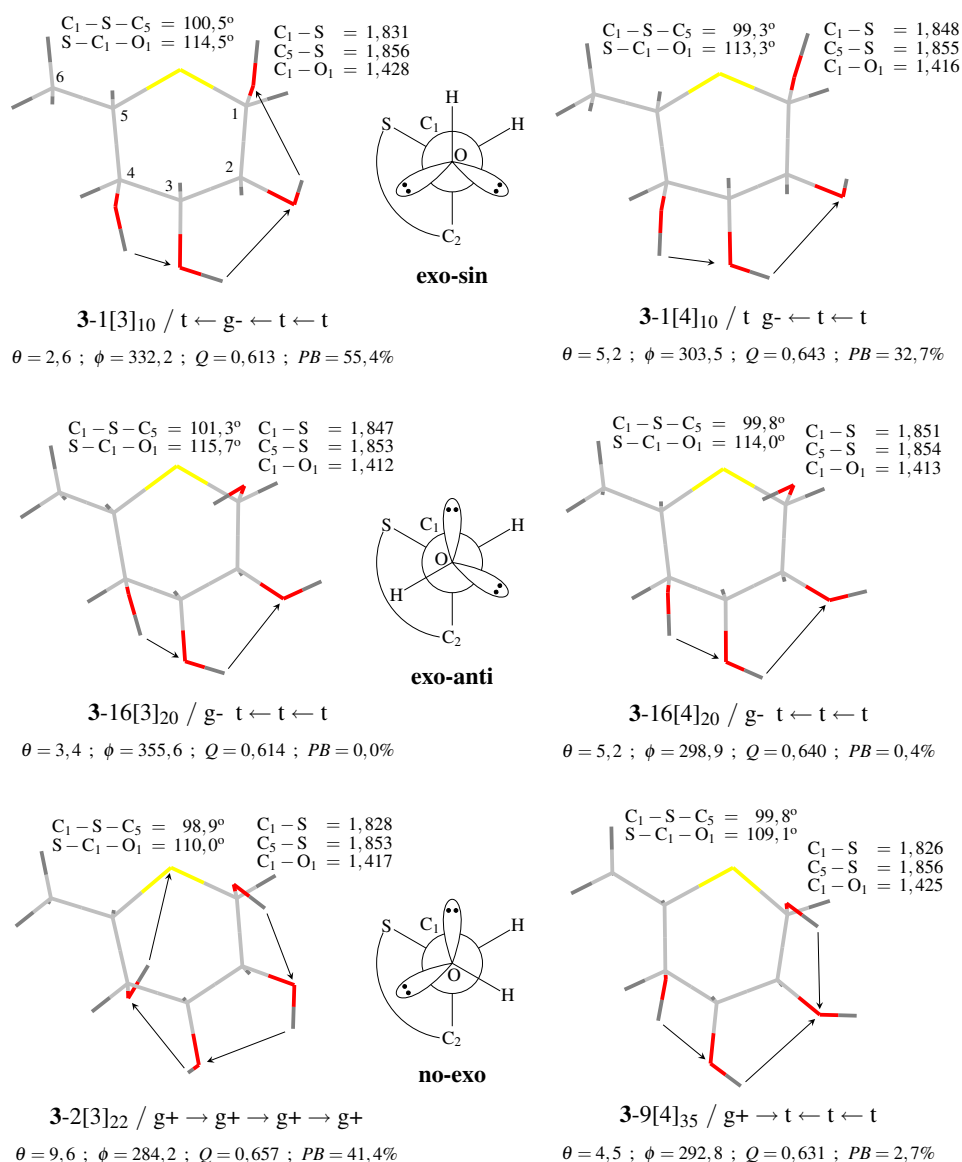
**Figura 7.9:** Rotámeros mayoritarios de las conformaciones principales de la 6-desoxi-3-O-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**10**), en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*). Las diferentes orientaciones de los grupos OH, de acuerdo al efecto exoanomérico, se indican como exs: exo-sin y exa: exo-anti. Las flechas indican interacciones OH $\cdots$ O entre grupos OH vecinos y, en paréntesis, las interacciones entre grupos no adyacentes.

## 7.4. Monotiosacáridos: parámetros geométricos

Las figuras 7.10 y 7.11 muestran una selección de parámetros geométricos para las estructuras más estables de **3** y **4**, respectivamente, tales como distancias de enlace, ángulos y coordenadas *puckering* de cada posible orientación del OH anomérico de acuerdo al efecto exoanomérico.<sup>487</sup>

Las coordenadas *puckering*<sup>162</sup> se han utilizado para analizar y clasificar las conformaciones resultantes del anillo según se explica en la sección 3.6.1. Como era de esperar el anillo de 5-tio- $\alpha$ , $\beta$ -L-fucopiranososa mostró valores mayores de  $Q$  que los de la homóloga natural, lo que indica una mayor desviación de la planaridad. Por otra parte, los anillos  ${}^1C_4$  de la 5-tio- $\alpha$ , $\beta$ -L-fucopiranososa muestran un mayor retorcimiento (*twisting*) que la fucopiranososa, según queda patente por sus mayores valores de la coordenada  $\theta$ . Esto también se puede observar por los datos experimentales de otros tioazúcares<sup>4,44</sup> y se explica por la mayor distancia de enlace C-S<sub>anillo</sub>, comparada con C-O<sub>anillo</sub>, y el

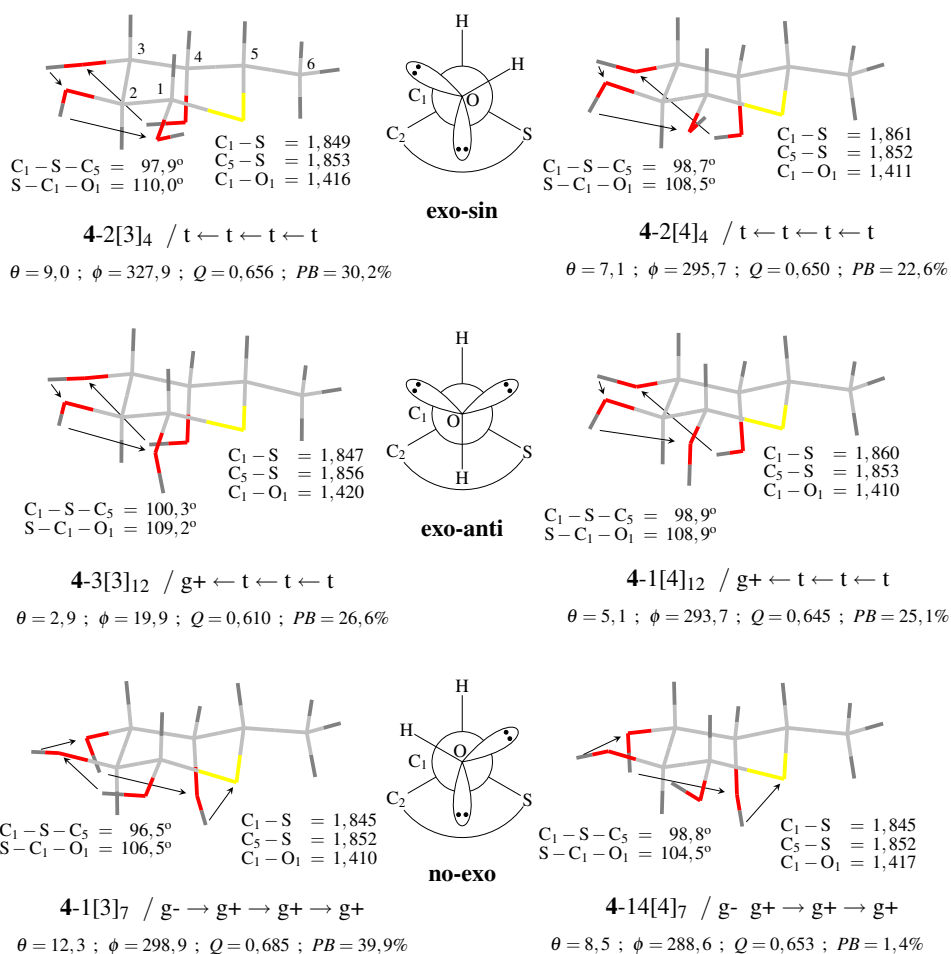
<sup>487</sup>H. Yuasa y H. Hashimoto *Trends Glycosci. Glyc.*, **2001**, *13*, 31-55.



**Figura 7.10:** Distancias seleccionadas (Å) y ángulos de enlace ( $^{\circ}$ ) para los rotámeros más estables de cada posible orientación del OH anomérico, según el efecto exoanomérico, para la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**) en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*). En proyección de Newman se muestran los esquemas del enlace C<sub>1</sub> – O según cada orientación. Se incluye información sobre las coordenadas *puckering* ( $\theta$ ,  $\phi$  y  $Q$ ) y las poblaciones de Boltzmann en %.

menor ángulo  $\angle C1 - S_{\text{anillo}} - C5$ .

Además, los resultados en B3LYP/6-31+G\*, obtenidos para la  $\alpha$ -L-fucopiranososa (**1**), concuerdan con los datos experimentales de rayos X.<sup>477</sup> Las máximas desviaciones en las longitudes de enlace fueron de 0,034 Å para C5 – O<sub>anillo</sub> y 0,046 Å para C1 – O1. El resto de distancias están en buena concordancia con los datos experimentales, incluyendo la distancia C1 – O<sub>anillo</sub>. Sin embargo, los ángulos de enlace muestran mayores desviaciones de 4,5 $^{\circ}$  y 7,1 $^{\circ}$  para  $\angle C1 - O_{\text{anillo}} - H$  y  $\angle O1 - C1 - H1$ , respectivamente, pero en general los datos indican que es un método correcto para la reproducción de la



**Figura 7.11:** Distancias seleccionadas (Å) y ángulos de enlace ( $^{\circ}$ ) para los rotámeros más estables de cada posible orientación del OH anomérico, según el efecto exoanomérico, para la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa (**4**) en fase gaseosa (B3LYP/6-31+G\*) y en disolución (PCM-B3LYP/6-31+G\*). En proyección de Newman se muestran los esquemas del enlace C<sub>1</sub>–O según cada orientación. Se incluye información sobre las coordenadas *puckering* ( $\theta$ ,  $\phi$  y  $Q$ ) y las poblaciones de Boltzmann en %.

geometría de piranosas.

Si nos centramos en el estudio de las 5-tio- $\alpha$ , $\beta$ -L-fucopiranosas **3** y **4**, se pueden extraer importantes resultados respecto de la comparación de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$ . Tanto en fase gaseosa como en disolución, las geometrías B3LYP/6-31+G\* reproducen correctamente el efecto anomérico. Así, la distancia C1–S de la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**) se acorta con respecto al anómero  $\beta$  (valores medios en fase gaseosa: 1,830 frente a 1,836 Å; en disolución: 1,845 frente a 1,858 Å), mientras que la distancia C1–O1 se alarga (fase gaseosa: 1,423 frente a 1,406 Å; disolución: 1,412 frente a 1,408 Å). Por otra parte, el ángulo  $\angle$ S–C1–O1 se alarga en el anómero  $\alpha$  (fase gaseosa: 112,6 frente a 107,7 $^{\circ}$ ; disolución: 112,5 frente a 108,3 $^{\circ}$ ). Estos resultados son los esperados, si nos atenemos a los datos experimentales de monosacáridos<sup>488</sup>, lo que confirma la presencia del efecto anomérico en tiopiranosas.

<sup>488</sup>C. J. Cramer, D. G. Truhlar y A. D. French *Carbohydr. Res.*, **1997**, 298, 1-14.

**Tabla 7.9:** Diferencias en las longitudes de enlace C1 – O1 y C1 – S<sub>anillo</sub>, entre las diferentes orientaciones exoanoméricas, exo-sin y exo-anti, con respecto a la orientación noexoanomérica (valores en Å).

	Cf <sup>a</sup>	exo <sup>b</sup>	Fase gaseosa		En disolución	
			$\Delta$ C1 – S	$\Delta$ C1 – O1	$\Delta$ C1 – S	$\Delta$ C1 – O1
<b>1</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0,019	-0,005	+0,025	-0,012
		exs	+0,003	+0,011	+0,022	-0,009
<b>2</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0,002	+0,010	+0,015	-0,007
		exs	+0,004	+0,006	+0,016	-0,006
<b>3</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0,027	-0,008	+0,029	-0,013
		exs	+0,013	+0,007	+0,026	-0,011
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0,005	+0,006	+0,018	-0,009
		exs	+0,008	+0,004	+0,018	-0,008
<b>6</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0,038	-0,037	+0,028	-0,021
		exs	+0,016	-0,013	+0,016	-0,014
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0,008	+0,006	+0,017	-0,009
		exs	+0,012	+0,004	+0,019	-0,009
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0,031	-0,036	+0,028	-0,021	
	exs	+0,012	-0,011	+0,018	-0,015	
<b>8</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0,006	+0,007	+0,017	-0,009
		exs	+0,009	+0,005	+0,018	-0,008

<sup>a</sup> Conformación del anillo. <sup>b</sup> Orientación según el efecto exoanomérico, siendo exs: exo-sin y exa: exo-anti.

Experimentalmente, se ha evidenciado también la presencia del efecto exoanomérico en tioazúcares<sup>487</sup>. Los resultados geométricos teóricos más relevantes, aquí obtenidos, tienen que ver con este efecto. Contrariamente al efecto anomérico, el exoanomérico en sacáridos acorta la distancia C1 – O1 y alarga C1 – O<sub>anillo</sub><sup>488</sup>. Los datos teóricos indican, como a continuación se explica, que, de una manera clara, son necesarios los cálculos en disolución para poder reproducir este efecto.

La tabla 7.9 lista las diferencias de las longitudes de enlace, C1 – O1 y C1 – S<sub>anillo</sub>, en los confórmers que tienen orientación exoanomérica con respecto a los que no la tienen, tanto en fase gaseosa como en disolución. Para todos los compuestos estudiados, los resultados en disolución indican una disminución de la distancia C1 – O1 y un aumento de la C1 – S<sub>anillo</sub>, en completo acuerdo con el comportamiento general de monosacáridos. Sin embargo, en general, los resultados en fase gaseosa fallan a la hora de reproducir el acortamiento del enlace C1 – O1, dando como resultado el contrario: un alargamiento. Además, en el caso del alargamiento de la distancia C1 – S<sub>anillo</sub> hay un leve acuerdo, aunque los incrementos en la longitud de enlace es muy pequeño en muchos casos.

Finalmente, a fin de permitir una correlación directa entre los datos espectroscópicos y los geométricos, la tabla 7.10 resume los principales datos estructurales calculados en disolución para los rotámeros más estables de cada compuesto<sup>489</sup>. Es de destacar que el án-

<sup>489</sup>Los resultados completos de geometría están disponibles <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-geomresto.pdf>.

**Tabla 7.10:** Parámetros geométricos seleccionados, de los compuestos **3** al **10**, al nivel de teoría PCM-B3LYP/6-31+G\*.

	Cf <sup>a</sup>	Coordenadas <i>puckering</i>			C1-S	C5-S	C1-O1	C1-S-C5	S-C1-O1
		$\theta$	$\phi$	$Q$					
<b>3</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5,2	303,5	0,643	1,848	1,855	1,416	99,3	113,3
<b>4</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5,1	293,7	0,645	1,860	1,853	1,410	98,9	108,9
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	171,0	112,2	0,661	1,848	1,848	1,413	98,9	113,7
<b>6</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	176,7	105,2	0,621	1,845	1,849	1,416	100,6	113,4
<b>7</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	171,7	117,6	0,645	1,866	1,845	1,409	99,9	107,9
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5,6	302,0	0,633	1,858	1,854	1,414	99,6	113,6
	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	85,2	269,5	0,886	1,863	1,850	1,414	98,2	113,3
<b>8</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	171,0	108,7	0,653	1,864	1,848	1,411	99,7	108,1
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5,2	297,9	0,631	1,856	1,856	1,416	99,9	113,4
	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	85,4	266,9	0,878	1,860	1,851	1,417	98,7	113,2
<b>9</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	173,4	138,6	0,639	1,864	1,842	1,409	100,6	107,5
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	6,3	294,8	0,638	1,857	1,854	1,415	99,0	113,3
	B <sub>1,4</sub>	91,4	190,8	0,769	1,870	1,861	1,411	102,4	107,3
<b>10</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	172,1	103,5	0,640	1,859	1,846	1,411	99,9	108,2
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5,2	299,2	0,629	1,854	1,855	1,417	99,9	113,6
	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	82,9	267,8	0,888	1,857	1,851	1,415	98,2	112,6

<sup>a</sup> Conformación del anillo.

gulo  $\angle S - C1 - O1$  permite una determinación directa de la naturaleza (axial/ecuatorial) del enlace anomérico (C1-O1). Así, los valores de este ángulo, alrededor de  $113^\circ$  y  $108^\circ$ , se corresponden con la disposición axial o ecuatorial, respectivamente. Esto nos permite identificar si la disposición es axial o ecuatorial en aquellos casos en que la determinación visual es difícil, como es el caso de las formas de bote torcido (por ejemplo la conformación <sup>2</sup>S<sub>S</sub>).

## 7.5. Monotiosacáridos: propiedades espectroscópicas

La tabla 7.11 resume<sup>490</sup> los desplazamientos químicos de <sup>13</sup>C y <sup>1</sup>H, calculados en fase gaseosa y en disolución, utilizando el método GIAO y la figura 7.12 los presenta gráficamente.

Las principales diferencias entre **3** y **4** y sus homólogos naturales en fase gaseosa se han encontrado para los desplazamientos  $\delta_{C1}$  y  $\delta_{C5}$ , con un desplazamiento a campo bajo, en el caso de los tioazúcares, de 15 y 24 ppm, respectivamente, para los anómeros  $\alpha$ , y de 17 y 27 ppm para los  $\beta$ . Estos valores reproducen la tendencia experimental<sup>24,479</sup>.

Los desplazamientos de <sup>1</sup>H dan similares resultados al comparar la  $\alpha$ -tiofucopiranososa y la  $\alpha$ -fucopiranososa: los valores de  $\delta_{H5}$  y  $\delta_{H1}$  se desplazan a campo bajo, ambos,

<sup>490</sup>Los resultados completos de los desplazamientos químicos de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, se pueden consultar en <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-rmn.pdf>.

**Tabla 7.11:** Valores teóricos calculados (en disolución) de RMN <sup>1</sup>H (método GIAO) y de <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> (ecuación de Haasnoot), para los compuestos **3** al **10**, al nivel de teoría PCM-B3LYP/6-31+G\*. Los valores corresponden a los primeros rotámetros de cada conformación mayoritaria.

rotámetro	PB <sup>a</sup>	δ <sub>H</sub> (ppm)										<sup>3</sup> J <sub>HH</sub> (Hz)									
		H1	H2	H3	H4	H5	H6	H6'	H6''	HOME	J <sub>2,3</sub>	J <sub>2,3</sub>	J <sub>3,4</sub>	J <sub>4,5</sub>	J <sub>5,6'</sub>	J <sub>5,6''</sub>	J <sub>5,6</sub> <sup>b</sup>				
<b>3</b> <sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g- t t	32,7 Exptl <sup>c</sup>	5,2 4,9	4,1 3,9	4	4,4 4	3,8 3,5	1,3 1				2,9 3,1	9,8 10	2,7 2,7	1,7 1,6			6,6 7,0-7,1				
<b>4</b> <sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ t t t	25,1 Exptl <sup>c</sup>	5	4	3,7 3,1	4,3 3,6	3,6 3	1,3 1,1				9,1 8,9	9,7 10,0	2,5 2,9	1,6 1,6			6,6 7,0-7,1				
<b>5</b> <sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ t t g-g-	9,2 Exptl <sup>d</sup>	5,3 5	3,8 3,8	3,9 3,7	4,1 3,6	3,4 3,2		3,6 3,9	4,6 3,9		3 3,1	9,5 9,4	9,1 8,9	11,1 9,1	2	2,1					
<b>6</b> <sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t g- t g+g+	6,9 Exptl <sup>e</sup>	5,1 4,8	4,5 4,1	3,9 3,7	3,9 3,8	3,7 3,2		4,6 3,9	3,5 3,8		2,7 3,9	2,5 2,7	9,3 9,3	11 9,6	3,7 4,2	6,3					
<b>7</b> <sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t t t g-g+	42,4	5,2	3,8	3,7	4,3	3,3		4	3,7		9	9,3	9,2	4,6	3	11,1					
<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g-g+	0,4	5,2	4,3	4,4	4,4	4		3,9	4,1		2,8	3,6	3,8	1,7	2,7	10,9					
<sup>2</sup> SS t t t t g-	0,3	5,2	4	3,9	4,3	3,9		4	3,5		6,7	10,2	5,8	4,6	11,7	4,6					
<b>8</b> <sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t t t	33,7	5,3	3,8	3,8	4,3	3,2	1,3		3,7		9	9,2	9,2	4,4		6,5					
<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t	1,3	5,1	4,2	4,4	4,4	3,9	1,3		3,6		2,8	3,6	3,8	1,6		6,6					
<sup>2</sup> SS t t t g+	0,6	5,1	4,1	3,7	3,9	3,8	1,2		3,7		7	10,1	5,1	3,7		6,6					
<b>9</b> <sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t t t g-	37,6	5,2	4	3,5	4,3	3,4		4,4	3,7		9,2	9,6	9,2	5,1	10,9	2,7					
<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t t g+	7,8	5,2	4,4	3,9	4,7	3,7		3,9	3,6		2,9	3,4	3,8	1,5	11,2	3,3					
<sup>2</sup> SS t t t g- g+g-	0,9	5,8	4,1	3,6	4,6	3,7		3,8	4		9,1	3,7	2,2	1,7	1,8	2,3					
<b>10</b> <sup>4</sup> C <sub>1</sub> g- t t t	30,4	5,1	3,8	3,2	4	3,2	1,4		3,7		8,9	9,3	9,3	4,4		6,5					
<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t	3,8	5,1	4,4	3,8	4,3	3,8	1,4		3,5		2,8	3,5	3,7	1,6		6,6					
<sup>2</sup> SS t g- g+ g+	1,7	5,1	4	3,2	4	3,8	1,4		3,7		6,4	10,1	5	3,5		6,6					
	Avrg <sup>a</sup> / Exptl <sup>c</sup>	5,1 4,9	3,8 3,7	3,3 3,3	4,1 4	3,3 1,4		3,7 3,7	3,7		8,1 8,0-8,3	8,7 8,4	8,5 8,2-8,6	4,1 4,6			6,6				

<sup>a</sup> Porcentaje de la población de Boltzmann. <sup>b</sup> Valor promedio de los protones del grupo metilo. <sup>c</sup> De la referencia 24. <sup>d</sup> De la referencia 75. <sup>e</sup> De la referencia 60. <sup>f</sup> Valor promedio de los tres anteriores rotámetros, calculado de acuerdo a sus poblaciones de Boltzmann.

con un valor de 0,5 ppm. Sin embargo, el anómero  $\beta$ , aunque mantiene el mismo desplazamiento a campo bajo (alrededor de 0,5 ppm) para  $\delta_{H5}$ , en el caso de  $\delta_{H1}$  lo que aparece es un pequeño desplazamiento de 0,2 ppm a campo alto. Este efecto también se encuentra experimentalmente<sup>24,479</sup>.

Para la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**), los valores calculados de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$ , en fase gaseosa, concuerdan mejor con los datos experimentales que los calculados teniendo en cuenta el disolvente, encontrándose la mayor desviación para los valores de  $\delta_{C1}$  y  $\delta_{C5}$ . Para la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa (**4**), se encontraron similares resultados, pero en el caso de  $^{13}\text{C}$ , la ausencia de valores experimentales impiden su comparación. En general, los resultados en disolución dan valores más altos que en fase gaseosa, sin que haya diferencias apreciables entre los dos anómeros. Los resultados de  $\delta_{C5}$  son similares para el anómero  $\alpha$  y el  $\beta$ , tanto en fase gaseosa como en disolución; sin embargo, los resultados  $\delta_{C1}$  dan valores diferentes.

El análisis de las constantes de acoplamiento vecinales  $^3J_{H,H}$  experimentales, normalmente da una información clave para la elucidación de estos compuestos. Se han comparado los valores promedio de  $^3J_{H,H}$ , calculados con la ecuación empírica de Haasnoot y con el método SSCC, con los valores experimentales<sup>491</sup>. Los valores calculados con la ecuación de Haasnoot ajustan bien los datos experimentales con un error máximo de alrededor de 0,5 Hz para  $J_{2,3}$  y  $J_{5,6}$ . Teniendo en cuenta la incertidumbre en los datos experimentales ( $\sim 0,4$  y  $0,1$  Hz, respectivamente), estas desviaciones se pueden considerar muy pequeñas. También se observa que los valores de  $^3J_{H,H}$  muestran una dependencia indirecta con las orientaciones de los hidroxilos, por lo que los valores medios no dependen únicamente de la forma del anillo sino también del orden energético de los diferentes rotámeros. De acuerdo con estas ideas, los cálculos en disolución mejoran los resultados para ambos anómeros debido a la mejor distribución de los rotámeros.

Para la 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa (**5**) y la 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa (**6**), los resultados de  $^{13}\text{C}$ , en el caso del carbono anomérico, no son tan buenos como para **3** y **4**, aunque hay una mejora para el resto de los carbonos. Los datos de  $^1\text{H}$  están de acuerdo con los datos experimentales, pero, en contra a los calculados para **3** y **4**, los resultados en fase gaseosa dan mejor coincidencia que si se tiene en cuenta el disolvente. Como tendencia general, los datos de  $^3J_{H,H}$ , calculados en disolución y comparados con la fase gaseosa, ajustan claramente mejor con los datos experimentales, no sólo para **5** y **6**, sino para todos los compuestos estudiados. De forma particular, los resultados de  $J_{5,6}$  fallan en fase gaseosa, debido presumiblemente a la sobreestimación de la interacción  $\text{OH}(6) \cdots \text{OH}(4)$  en el primer rotámero de **5** y **6**.

En el caso de los L-ido derivados (**7-10**), aunque experimentalmente no están asignadas todas las señales, la constante anomérica  $J_{1,2}$ , que aporta la información estructural más relevante ( $^1\text{C}_4$  frente a  $^4\text{C}_1$  o  $\alpha$  frente a  $\beta$ ), ajusta bien con los datos empíricos<sup>23,24</sup>. Tanto para los compuestos 6-desoxi como para los 6-hidroximetilados, sólo ajustan bien, con los experimentales, los datos calculados teniendo en cuenta el disolvente. Para los compuestos 6-desoxi, el desacuerdo de los resultados en fase gaseosa está causado por la

<sup>491</sup>Para consultar los resultados completos de  $^3J_{H,H}$ , véase <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-jota.pdf>.



anteriormente mencionada sobreestimación de la silla  ${}^1C_4$ , siendo este desacuerdo mucho más evidente en los 6-hidroximetilados, ya que la misma sobreestimación conduce a la inversión de la preferencia conformacional de las sillas. Con respecto a los desplazamientos químicos de **7** a **10**, incluso existiendo una falta de datos experimentales para **7**, las principales tendencias de los desplazamientos  $\delta_C$  y  $\delta_H$  son similares a las encontradas para **5** y **6**.

Para todos los compuestos estudiados, el método SSCC falla a la hora de reproducir los valores altos de la constante  ${}^3J_{H,H}$ , dando valores más bajos que los de la ecuación empírica de Haasnoot, por lo que se desvían mucho de los datos experimentales.

La figura 7.12 muestra los datos teóricos de  ${}^{13}C$ ,  ${}^1H$  y  ${}^3J_{H,H}$ , correlacionados con los datos experimentales, cuando se disponen de ellos. Como se puede apreciar, los mejores ajustes de resultados se encuentran en el caso de los cálculos en disolución, con buenos valores del coeficiente  $r$  de regresión. Además, en el caso de  ${}^3J_{H,H}$ , la ecuación de Haasnoot aplicada a las geometrías en disolución ajustan mejor con los datos experimentales.

La figura 7.13 recoge la correlación de las constantes de acoplamiento  ${}^3J_{H,H}$  experimentales con los valores calculados por Haasnoot y SSCC, respectivamente. A fin de visualizar los diferentes grados de correlación, los gráficos se han dispuesto en tres series diferentes. La primera serie incluye los compuestos **3** y **4**, presentando ambos un alto grado de correlación para ambos métodos teóricos.

Por otro lado, la dispersión de los datos, en el caso de las 2 series restantes, es más pronunciado. En la segunda serie, que incluye los compuestos **5** y **6**, esta dispersión se debe principalmente a las constantes  $J_{5,6'}$  y  $J_{5,6''}$ , que corresponden a la libre rotación del grupo  $CH_2OH$ . De hecho, en **7**, los valores teóricos mejoran si se consideran los valores medios de los siete primeros rotámeros, los cuales tienen en común que tienen la clasificación  $t_g + t_t$ , para los ángulos diedros que implican a los carbonos del anillo y sólo difieren en la clasificación de la rotación del grupo  $CH_2OH$ . De todas formas, las constantes  $J_{5,6'}$  y  $J_{5,6''}$  no contribuyen a la elucidación de la conformación del anillo ( ${}^4C_1$ ).

La tercera serie (compuestos L-ido: **7** al **10**) dan la peor correlación, sin duda debido al valor de  $J_{1,2}$  de **7** y **9**. También hay que tener en cuenta que, para alguno de los compuestos incluidos en esta serie, hay falta de datos experimentales, lo cual impide una mejor correlación. Sin embargo, a pesar de estas dificultades, se puede establecer que el orden conformacional es  ${}^4C_1 > {}^1C_4 > {}^2S_5$  ( $B_{1,4}$  en el caso de **9**) para todos los compuestos de configuración L-ido estudiados, lo cual está de acuerdo con los datos experimentales, y que este resultado sólo se obtiene si se tiene en cuenta el disolvente en los cálculos. Aunque, en algunos casos particulares, la comparación de la constante anomérica  $J_{1,2}$  (que sólo está experimentalmente disponible para **9** y **10**) podría arrojar dudas de cuál de las formas  ${}^4C_1$  y  ${}^2S_5$  es la forma principal del anillo, la constante  $J_{3,4}$  claramente apunta a la forma  ${}^4C_1$ . Además esto está corroborado, por los cálculos más precisos (MP2/6-311++G\*\*), para alguna de estas estructuras, que dan la misma preferencia conformacional (véase tabla 7.12).

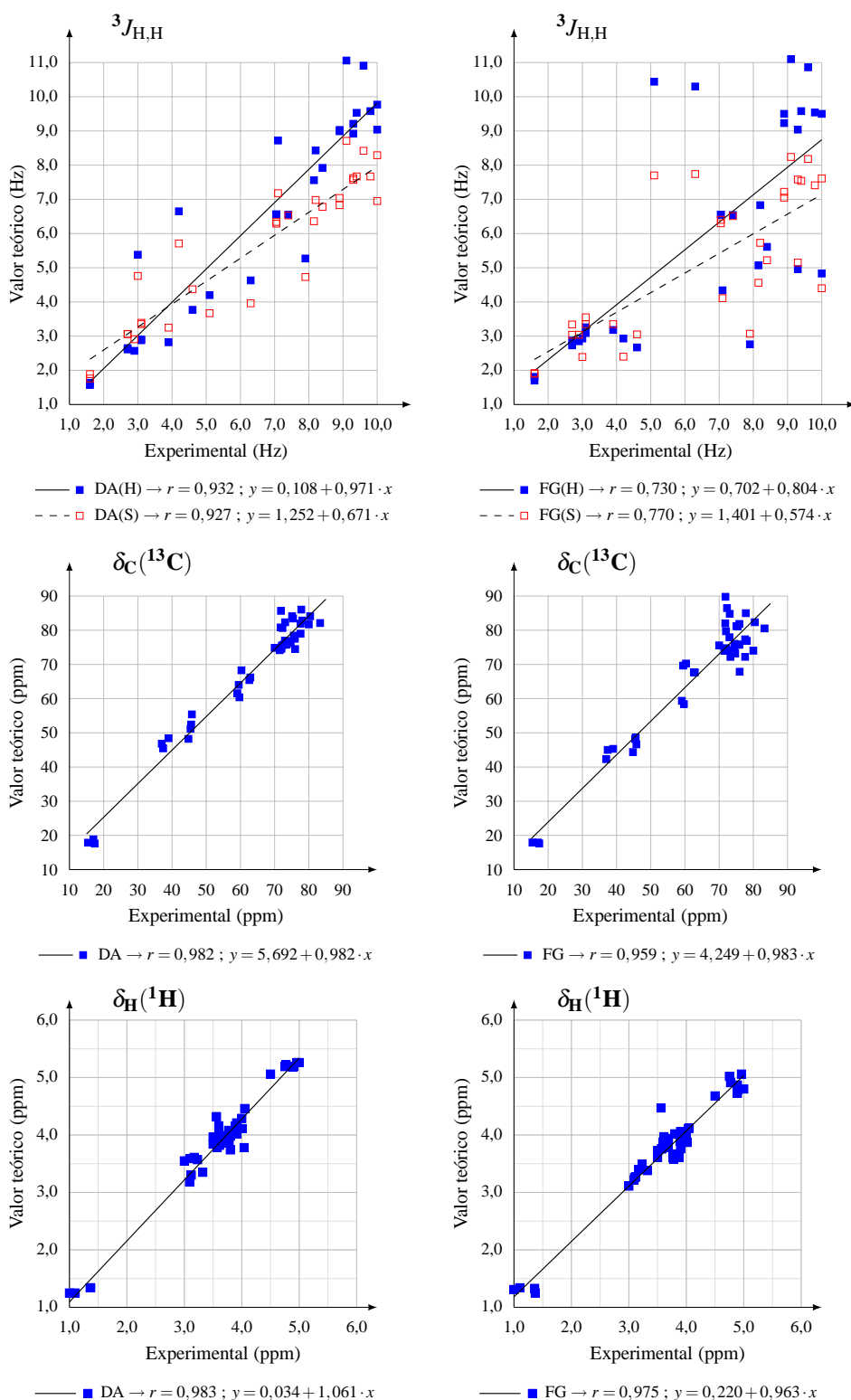
Además, la tabla 7.11 presenta los desplazamientos químicos de  ${}^1H$  y las constantes de acoplamiento vecinales  ${}^3J_{H,H}$ , dispuestas por conformación (las más pobladas), lo que

**Tabla 7.12:** Resultados<sup>a</sup> comparativos, entre los niveles B3LYP/6-31+G\* y MP2/6-311++G\*\*, de algunas estructuras seleccionadas (**4** en fase gas; **8** y **10** en disolución), para la comprobación de los cálculos.

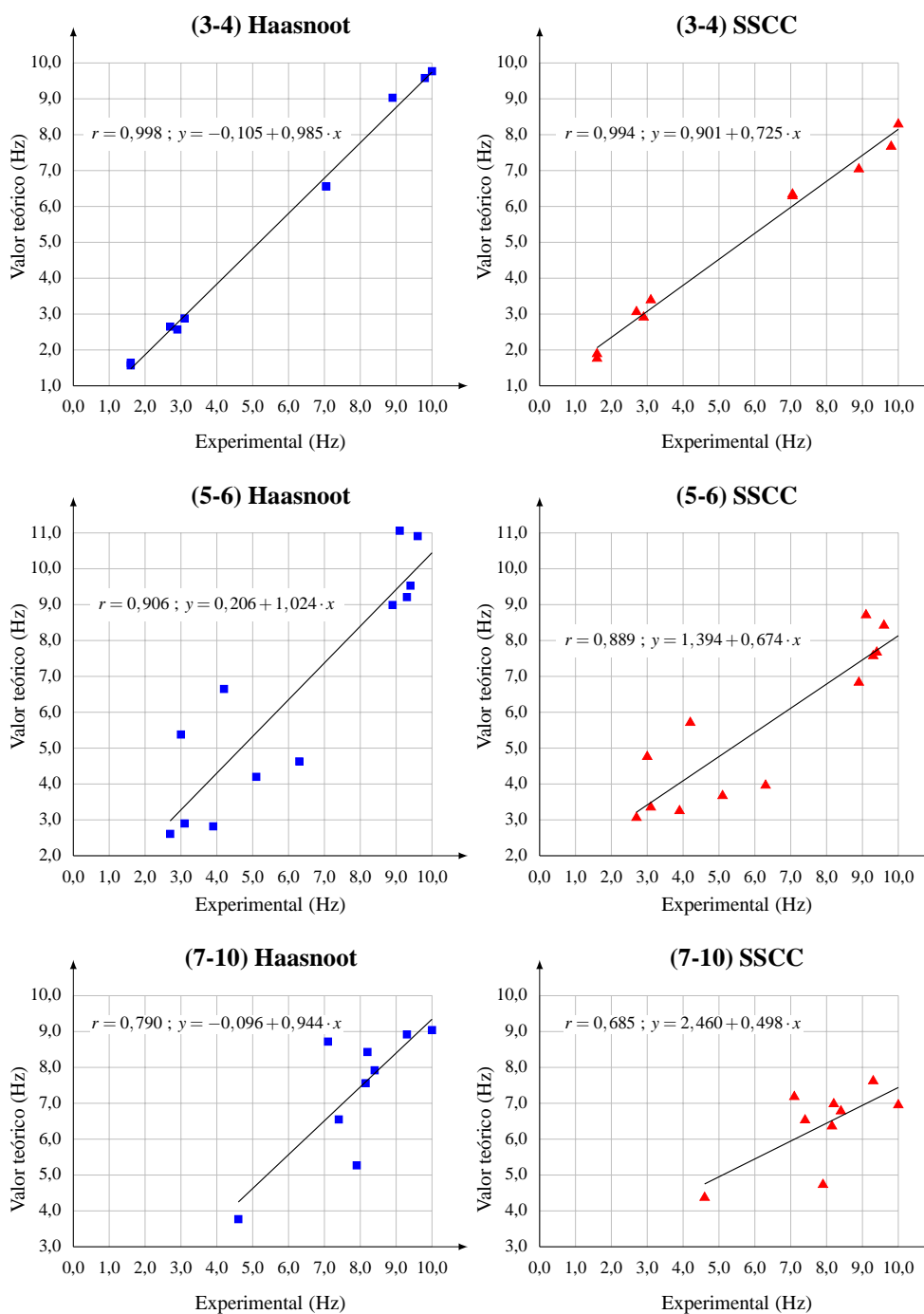
	Cf <sup>b</sup>	rotámero	B3LYP/6-31+G*		MP2/6-311++G**	
			$\Delta E^c$	PB <sup>d</sup>	$\Delta E^c$	PB <sup>d</sup>
<b>4</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g+	0,00 (0,00)	95,8 (82,0)	0,00	98,0
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ g+	2,05 (1,94)	3,0 (3,1)	2,32	1,9
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g- t	3,11 (1,66)	0,5 (4,9)	5,06	0,0
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g- g-	3,14 (1,58)	0,5 (5,7)	4,73	0,0
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- t g+	3,79 (2,53)	0,2 (1,2)	5,79	0,0
	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g- g+ t	4,22 (1,94)	0,1 (3,1)	7,82	0,0
<b>8</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t t t	0,00	94,7	0,00	95,2
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t	1,94	3,6	1,93	3,7
	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	t t t g+	2,36	1,8	2,65	1,1
<b>10</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- t t t	0,00	84,7	0,00	65,9
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t	1,22	10,7	0,48	29,3
	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	t g- g+ g+	1,72	4,6	1,55	4,8

<sup>a</sup> En paréntesis, los datos calculados al nivel de teoría B3LYP/6-31G\*. <sup>b</sup> Conformación del anillo. <sup>c</sup> Energía relativa en kcal/mol. <sup>d</sup> Porcentaje, según la población de Boltzmann.

permite una comparación directa de los datos espectroscópicos con la posible conformación de cada compuesto. Los compuestos **3** a **6** dieron como principal conformación del anillo la forma <sup>1</sup>C<sub>4</sub> o <sup>4</sup>C<sub>1</sub>, en concordancia con las constantes de acoplamiento experimentales. Para los L-ido derivados (**7** a **10**), en los que hay tres conformaciones principales, el acuerdo entre los valores promedios calculados y las constantes experimentales fue muy bueno. En general, los resultados obtenidos son buenos, con la excepción de  $J_{5,6'}$  y  $J_{5,6''}$  de **5** y **6**, y cuyas causas se han explicado antes.



**Figura 7.12:** Representación de los datos calculados de  $^1H$ ,  $^{13}C$  y  $^3J_{H,H}$ , frente a los valores experimentales de los compuestos **3** al **10**, junto con sus correspondientes líneas de regresión. DA: cálculos en disolución, FG: cálculos en fase gaseosa, H cálculo de las constantes de acoplamiento con la ecuación empírica de Haasnoot-Leew-Altona, S: obtenidos con el método SSCC.

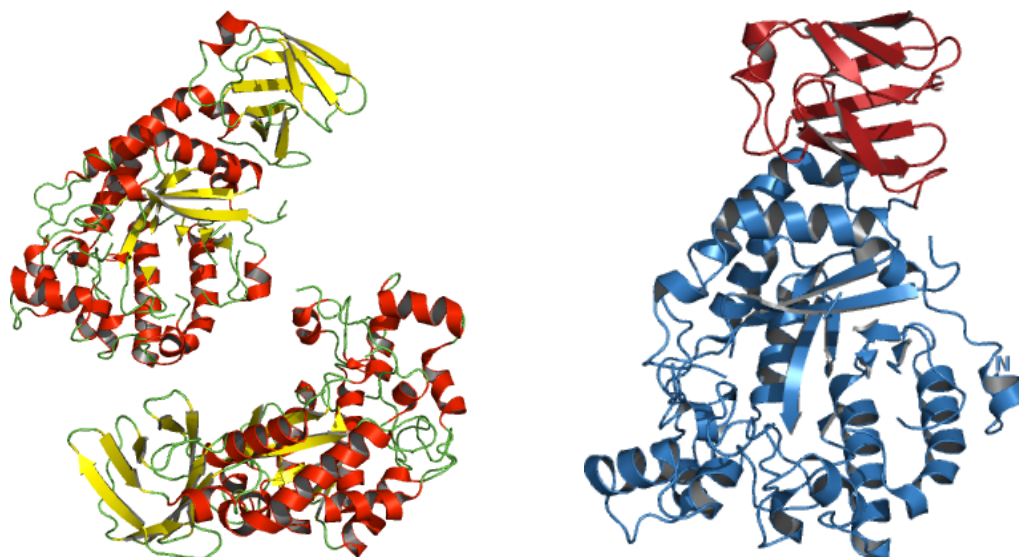


**Figura 7.13:** Gráfico con las constantes  $^3J_{H,H}$  teóricas en disolución, calculadas por el método SSCC y la ecuación de Haasnoot, representadas frente a los valores experimentales de los compuestos **3** al **10**, incluyendo las correspondientes rectas de regresión lineal.

## 7.6. Modelo estructural de la $\alpha$ -L-fucosidasa

### 7.6.1. Introducción

Como se ha descrito en los detalles computacionales (véase la pág. 97), en el presente trabajo se propone un modelo estructural completo de la  $\alpha$ -L-fucosidasa, basado en los datos de rayos X correspondientes a tres estructuras incompletas procedentes de la bacteria marina *Thermotoga marítima*<sup>222</sup>.



**Figura 7.14:** A la izquierda: diagrama de cintas mostrando las hélices  $\alpha$ , hojas  $\beta$  y giros del dímero de la  $\alpha$ -L-fucosidasa procedente de la bacteria marina *Thermotoga marítima*. A la derecha: diagrama correspondiente a la unidad B, en azul se representa el dominio N-terminal y en rojo el dominio C-terminal.

Esta estructura (véanse las figuras 7.14 y 7.24), presenta dos cadenas asimétricas de proteína (unidades A y B), ambas con idéntica secuencia de aminoácidos (448 residuos) y con el mismo centro activo. Cada cadena tiene dos dominios: el dominio N-terminal, que comprende los residuos 7 al 359, que presenta un plegamiento tipo barril  $(\beta/\alpha)_8$ , con ocho hebras  $\beta$  paralelas, empaquetadas alrededor de un eje central y rodeadas por seis hélices  $\alpha$ . El dominio C-terminal (residuos 360-447) está formado por ocho hebras  $\beta$  antiparalelas empaquetadas en dos hojas  $\beta$  de cinco y tres hebras, respectivamente, formando un  $\beta$ -sándwich de dos capas que contiene un motivo «llave griega» y una pequeña hélice  $\alpha$ .

El sitio activo está contenido en una depresión al final del N-terminal. El corazón de la proteína comprende las 8 hebras  $\beta$  alternantes y seis hélices  $\alpha$ , y está adornado por un número considerable de hélices  $\alpha$ , hélices  $3_{10}$  y giros. La primera hebra  $\beta$ , está precedida por dos pequeñas hélices  $\alpha$  (residuos 11-16 y 21-28) y seguida por una gran inserción que comprende tres hélices  $3_{10}$  (residuos 36-40, 64-66 y 92-94) y tres hélices  $\alpha$  (residuos 68-74, 77-87 y 96-100). Los residuos 128 a 151 constituyen una gran región de giros, insertada tras la hebra  $\beta$  2 y contiguas a las inserciones posteriores a la hebra  $\beta$  1. Finalmente, la hebra  $\beta$  3 está continuada por una inserción que comprende una hélice

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
MET	ILE	SER	MET	LYS	PRO	ARG	TYR	LYS	PRO	ASP	TRP	GLU	SER	LEU	ARG	GLU	HIS	THR	VAL	PRO	LYS	TRP	PHE	ASP
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
LYS	ALA	LYS	PHE	GLY	ILE	PHE	ILE	HIS	TRP	GLY	ILE	TYR	SER	VAL	PRO	GLY	TRP	ALA	THR	PRO	THR	GLY	GLU	LEU
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
GLY	LYS	VAL	PRO	MET	ASP	ALA	TRP	PHE	PHE	GLN	ASN	PRO	TYR	ALA	GLU	TRP	TYR	GLU	ASN	SER	LEU	ARG	ILE	LYS
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
GLU	SER	PRO	THR	TRP	GLU	TYR	HIS	VAL	LYS	THR	TYR	GLY	GLU	ASN	PHE	GLU	TYR	GLU	LYS	PHE	ALA	ASP	LEU	PHE
101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125
THR	ALA	GLU	LYS	TRP	ASP	PRO	GLN	GLU	TRP	ALA	ASP	LEU	PHE	LYS	LYS	ALA	GLY	ALA	LYS	TYR	VAL	ILE	PRO	THR
126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
THR	LYS	HIS	HIS	ASP	GLY	PHE	CYS	LEU	TRP	GLY	THR	LYS	TYR	THR	ASP	PHE	ASN	SER	VAL	LYS	ARG	GLY	PRO	LYS
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175
ARG	ASP	LEU	VAL	GLY	ASP	LEU	ALA	LYS	ALA	VAL	ARG	GLU	ALA	GLY	LEU	ARG	PHE	GLY	VAL	TYR	TYR	SER	GLY	GLY
176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
LEU	ASP	TRP	ARG	PHE	THR	THR	GLU	PRO	ILE	ARG	TYR	PRO	GLU	ASP	LEU	SER	TYR	ILE	ARG	PRO	ASN	THR	TYR	GLU
201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225
TYR	ALA	ASP	TYR	ALA	TYR	LYS	GLN	VAL	MET	GLU	LEU	VAL	ASP	LEU	TYR	LEU	PRO	ASP	VAL	LEU	TRP	ASN	ASP	MET
226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250
GLY	TRP	PRO	GLU	LYS	GLY	LYS	GLU	ASP	LEU	LYS	TYR	LEU	PHE	ALA	TYR	TYR	TYR	ASN	LYS	HIS	PRO	GLU	GLY	SER
251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275
VAL	ASN	ASP	ARG	TRP	GLY	VAL	PRO	HIS	TRP	ASP	PHE	LYS	THR	ALA	GLU	TYR	HIS	VAL	ASN	TYR	PRO	GLY	ASP	LEU
276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300
PRO	GLY	TYR	LYS	TRP	GLU	PHE	THR	ARG	GLY	ILE	GLY	LEU	SER	PHE	GLY	TYR	ASN	ARG	ASN	GLU	GLY	PRO	GLU	HIS
301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325
MET	LEU	SER	VAL	GLU	GLN	LEU	VAL	TYR	THR	LEU	VAL	ASP	VAL	VAL	SER	LYS	GLY	GLY	ASN	LEU	LEU	LEU	ASN	VAL
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350
GLY	PRO	LYS	GLY	ASP	GLY	THR	ILE	PRO	ASP	LEU	GLN	KCX	GLU	ARG	LEU	LEU	GLY	LEU	GLY	GLU	TRP	LEU	ARG	LYS
351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375
TYR	GLY	ASP	ALA	ILE	TYR	GLY	THR	SER	VAL	TRP	GLU	ARG	CYS	CYS	ALA	LYS	THR	GLU	ASP	GLY	THR	GLU	ILE	ARG
376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
PHE	THR	ARG	LYS	CYS	ASN	ARG	ILE	PHE	VAL	ILE	PHE	LEU	GLY	ILE	PRO	THR	GLY	GLU	LYS	ILE	VAL	ILE	GLU	ASP
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425
LEU	ASN	LEU	SER	ALA	GLY	THR	VAL	ARG	HIS	PHE	LEU	THR	GLY	GLU	ARG	LEU	SER	PHE	LYS	ASN	VAL	GLY	LYS	ASN
426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448		
LEU	GLU	ILE	THR	VAL	PRO	LYS	LYS	LEU	LEU	GLU	THR	ASP	SER	ILE	THR	LEU	VAL	LEU	GLU	ALA	VAL	GLU		

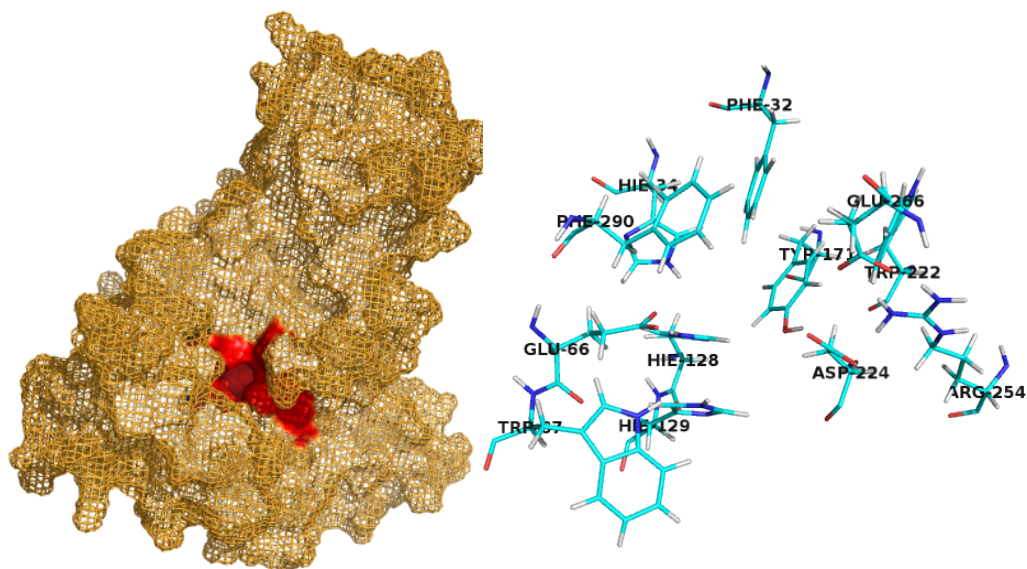
**Figura 7.15:** Secuencia completa de la unidad B de la  $\alpha$ -L-fucosidasa (1HL9<sup>438</sup>). En azul se indican los residuos que sí están resueltos (se conocen sus coordenadas), en amarillo los residuos pertenecientes al centro activo (de los que también se conocen sus coordenadas), en rojo se resalta el residuo no estándar KCX y, sin colorear, aquellos residuos cuyas coordenadas no han sido resueltas.

3<sub>10</sub> (residuos 188-192).

Estos datos que, como es lógico, se refieren al estado cristalizado de la proteína, han sido refinados, con el objeto de ser más coherentes con los procesos biológicos reales, los cuales tienen lugar en disolución acuosa. Por tanto, se ha considerado que, para los posteriores estudios de *docking* que se describirán en la siguiente sección, se requiere realizar una simulación previa de la  $\alpha$ -L-fucosidasa, de tal forma que se incluya el disolvente (agua) de una forma explícita y que nos sirva para obtener una estructura promedio con una información más ajustada a la realidad.

Por otra parte, dada la similitud de ambos monómeros, tanto la simulación, como los cálculos de *docking*, se han realizado para una sola de las unidades de la proteína<sup>492</sup>.

<sup>492</sup>Se hicieron cálculos previos de docking que confirman que los resultados obtenidos en ambas unidades son similares.



**Figura 7.16:** A la izquierda: zona (en rojo) correspondiente al centro activo de la  $\alpha$ -L-fucosidasa. A la derecha: una representación tridimensional y esquemática de los 12 residuos que forman el centro activo.

### 7.6.2. Descripción del centro activo

Está formado por 12 residuos (ver la **figura 7.16**), de los que sólo 4 de ellos, dos a dos, están unidos entre sí en la secuencia de la proteína (GLU 66-TRP67 e HIS 128-129).

Con carácter altamente hidrofílico, hay 4 residuos: la histidina (HIS o HIE 34, 128 y 129), que contiene un grupo imidazol, el cual le confiere dicho carácter y la arginina (ARG 254), que contiene varios grupos muy polares.

Hidrofílicos hay 3 residuos: el glutamato o ácido glutámico (GLU 66 y 266), que contiene un grupo terminal carboxiamida, cargado negativamente y el aspartato (ASP 224), que es un aminoácido similar al anterior.

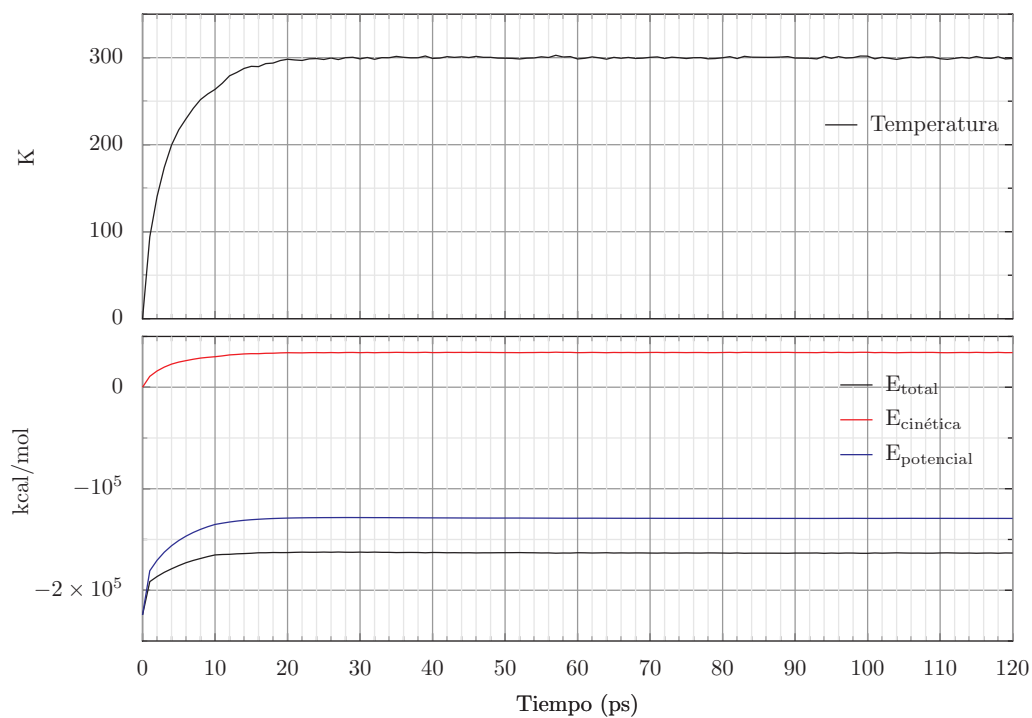
Residuos hidrofóbicos, al contener un anillo fenílico, son 2 fenilalaninas (PHE 32 y 290); y de carácter mixto, es decir, con propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas a la vez, hay 3 residuos: el triptófano (TRP 67 y 222), que contiene un anillo indol (responsable del carácter hidrofóbico) y un grupo  $-NH-$  con propiedades hidrofílicas, y la tirosina (TYR 171), que presenta un anillo aromático con un grupo OH.

### 7.6.3. Resultados de la dinámica molecular de la proteína

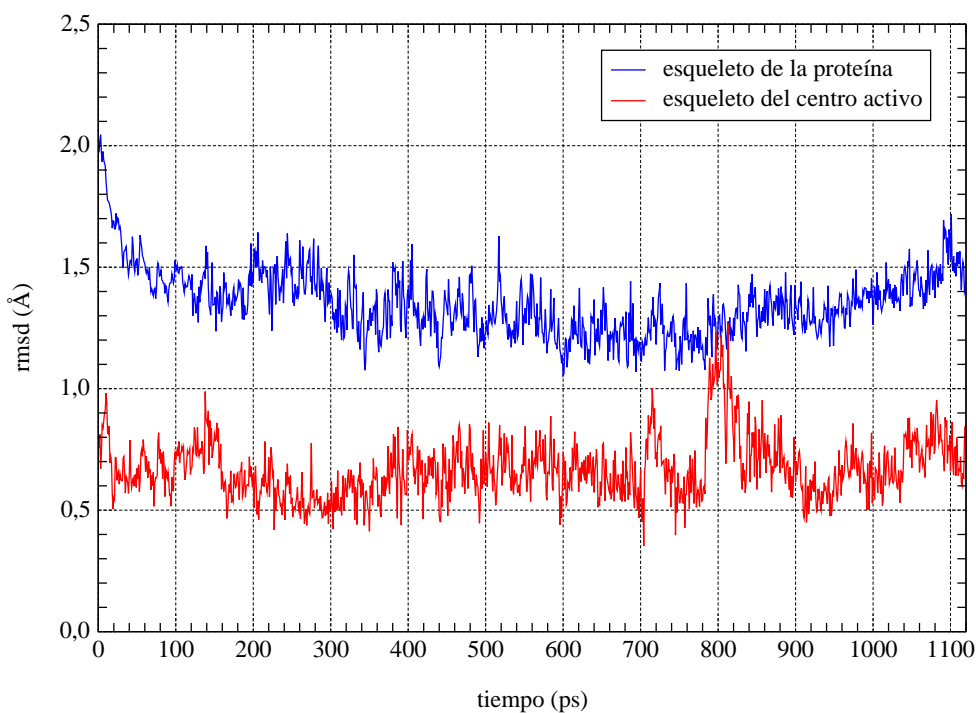
En la **figura 7.17**, aparecen la evolución de las energías y de la temperatura, en la etapa de equilibrado (120ps), mostrando que el sistema se ha estabilizado correctamente. El mismo perfil presenta la simulación de la estructura de rayos X.

Además, en la **figura 7.18** se representa la evolución de la trayectoria (sólo el esqueleto), durante la etapa de producción. Se observa como, salvo en un pequeño tramo, el valor del rmsd es inferior para el centro activo.

También, en relación con dicha trayectoria, en la **figura 7.19** aparecen, alineadas, las tres estructuras: la inicial de rayos X, la simulación de ésta y la de la estructura completa.

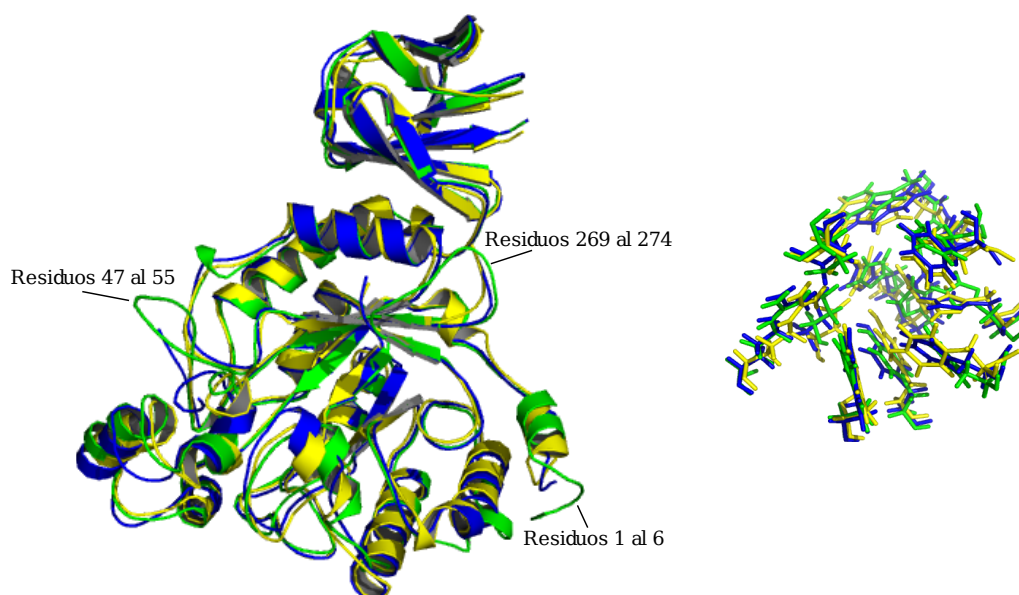


**Figura 7.17:** Evolución de la energía y de la temperatura durante la etapa de equilibrado en la simulación de la  $\alpha$ -L-fucosidasa, con respecto a la estructura promedio de la dinámica.



**Figura 7.18:** Evolución del rmsd durante las etapas de equilibrado y producción de la simulación de la  $\alpha$ -L-fucosidasa.





**Figura 7.19:** Comparación de las estructuras, una vez alineadas, de rayos X (amarillo), de la simulación de ésta (azul) y de la simulación de la estructura completa (verde). A la derecha, aparecen, también alineados y superpuestos, los residuos del centro activo.

Otro factor importante para establecer la calidad de la dinámica es el estudio de la evolución del radio de giro (véase su definición en la página 105), que nos indica el grado de compacidad de la estructura proteica (estando su valor estrechamente relacionado con el tipo de proteína y con su tamaño),

Los valores del radio de giro ( $R_g$ ), que se han calculado para la estructura de rayos X y para la estructura inicial de la  $\alpha$ -L-fucosidasa completada con los residuos ausentes, son 23.51 y 24.24, respectivamente. Y, en la **figura 7.20**, se puede observar la comparación de la evolución de este parámetro, para las dos dinámicas realizadas. Como se puede apreciar la simulación de la estructura de rayos X aumenta mucho más su valor con respecto a la proteína con la secuencia completa.

En la **figura 7.21** se han representado los valores calculados del factor de temperatura (véase la página 105) por residuo, es decir, tomando en cuenta el valor promedio ponderado según las masas atómicas que componen cada residuo (sólo los átomos del esqueleto). Se aprecia cómo los residuos del centro activo, así como el no estándar KCX, permanecen todos en zonas de valor bajo de dicho factor, en las dos simulaciones. La zona correspondiente a los residuos ausentes no son comparables; los huecos R47-55 y R269-274 presentan muchas fluctuaciones, especialmente el primero, pudiendo ser éste uno de los motivos por el cual dichas partes no fueros determinadas experimentalmente: debido a su movilidad. Sin embargo, este razonamiento no sería aplicable al terminal inicial R1-6, puesto que tiene una baja fluctuación.

Aunque existen algunas diferencias de movilidad para algunas secuencias de aminoácidos, en general, las gráficas que la reflejan son mayoritariamente coincidentes en ambos modelos y las discrepancias podrían deberse a que en la estructura de rayos X no se contemplan las interacciones con las secuencias no resueltas.

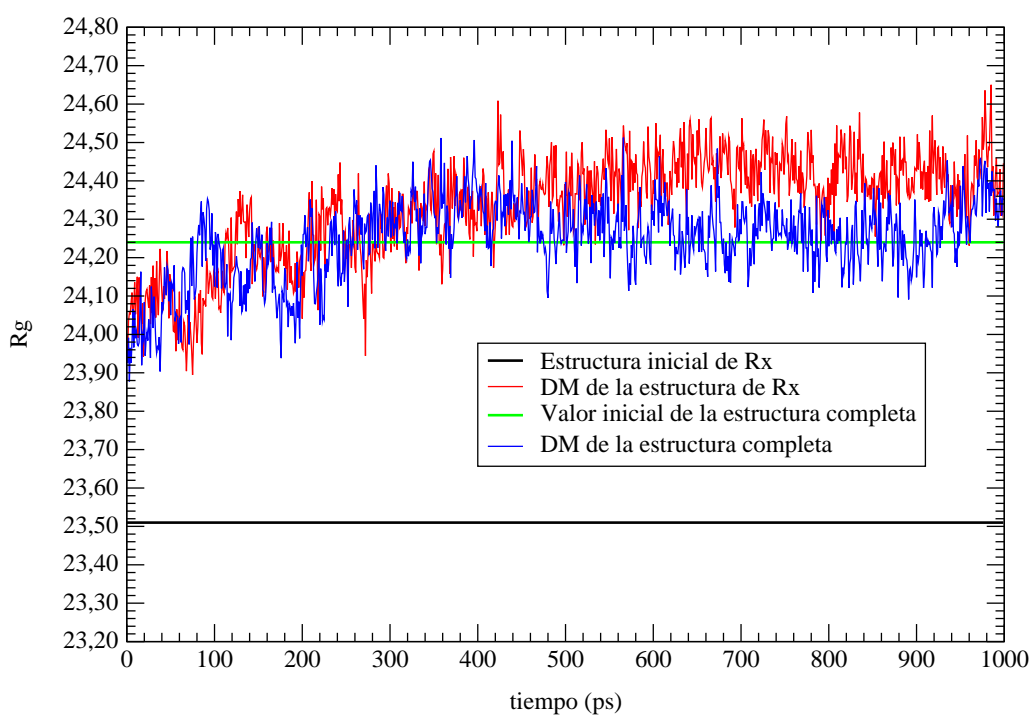


Figura 7.20: Evolución del radio de giro durante la etapa de producción.

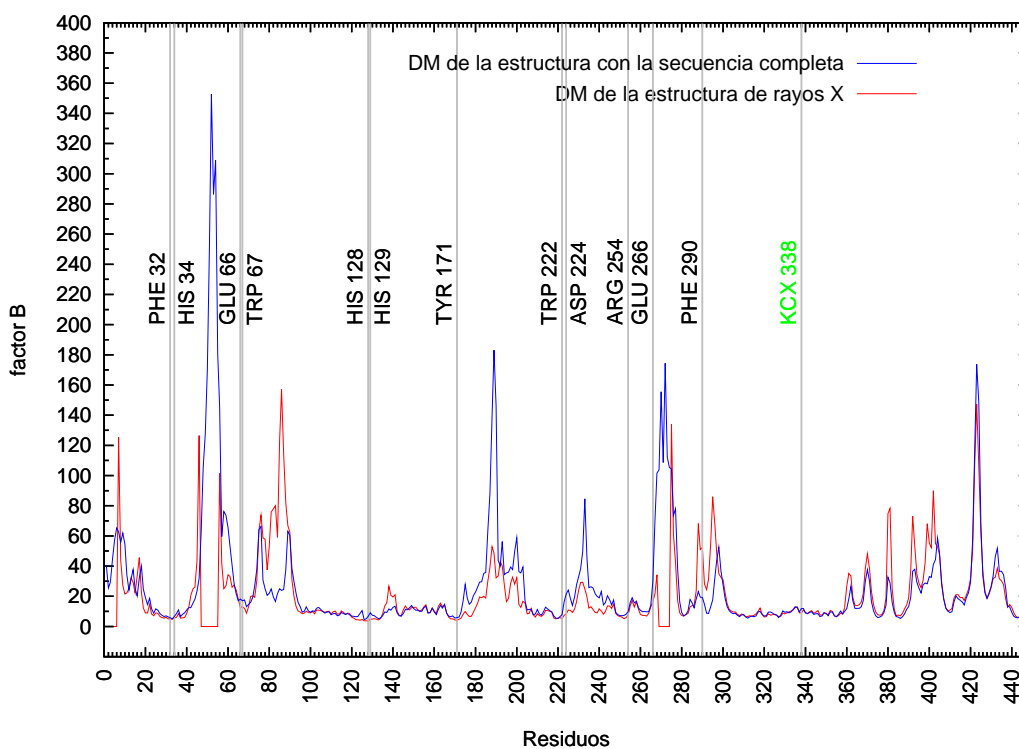
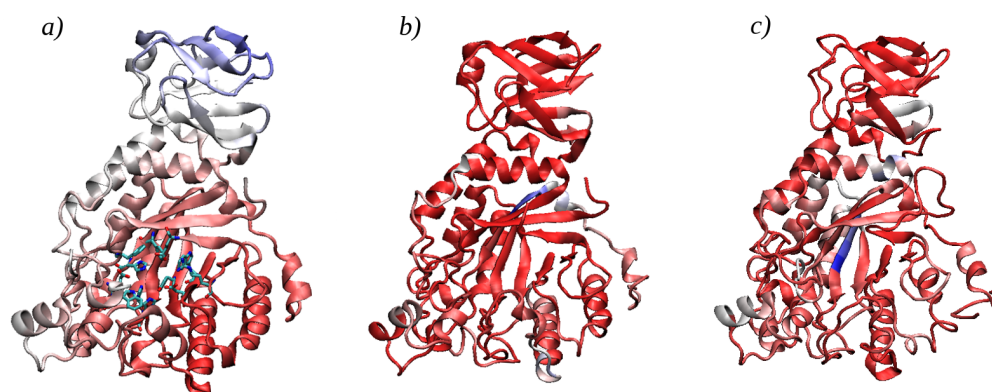


Figura 7.21: Evolución del factor B o factor de temperatura, durante la etapa de producción.



**Figura 7.22:** Representación, en código de colores (azul: valores bajos, rojo: valores altos), de la movilidad (factor B) del monómero B de la  $\alpha$ -L-fucosidasa. a) Estructura de rayos X (1HL9), donde, mediante modelos de bastones, se resaltan los residuos del centro activo; b) estructura de rayos X tras su equilibrado por DM; c) modelo completo de la proteína.

En la **figura 7.22** se puede visualizar, de una forma general, la movilidad que presentan las tres estructuras estudiadas de la  $\alpha$ -L-fucosidasa. Como puede apreciarse, las estructuras resultantes de la DM presentan, como es lógico, mayor movimiento (predominio de los colores rojos), quedando los residuos menos móviles más cercanos al centro activo. Incluso, se puede observar que el modelo completo de la proteína deja algo más fija la zona de dicho centro activo.

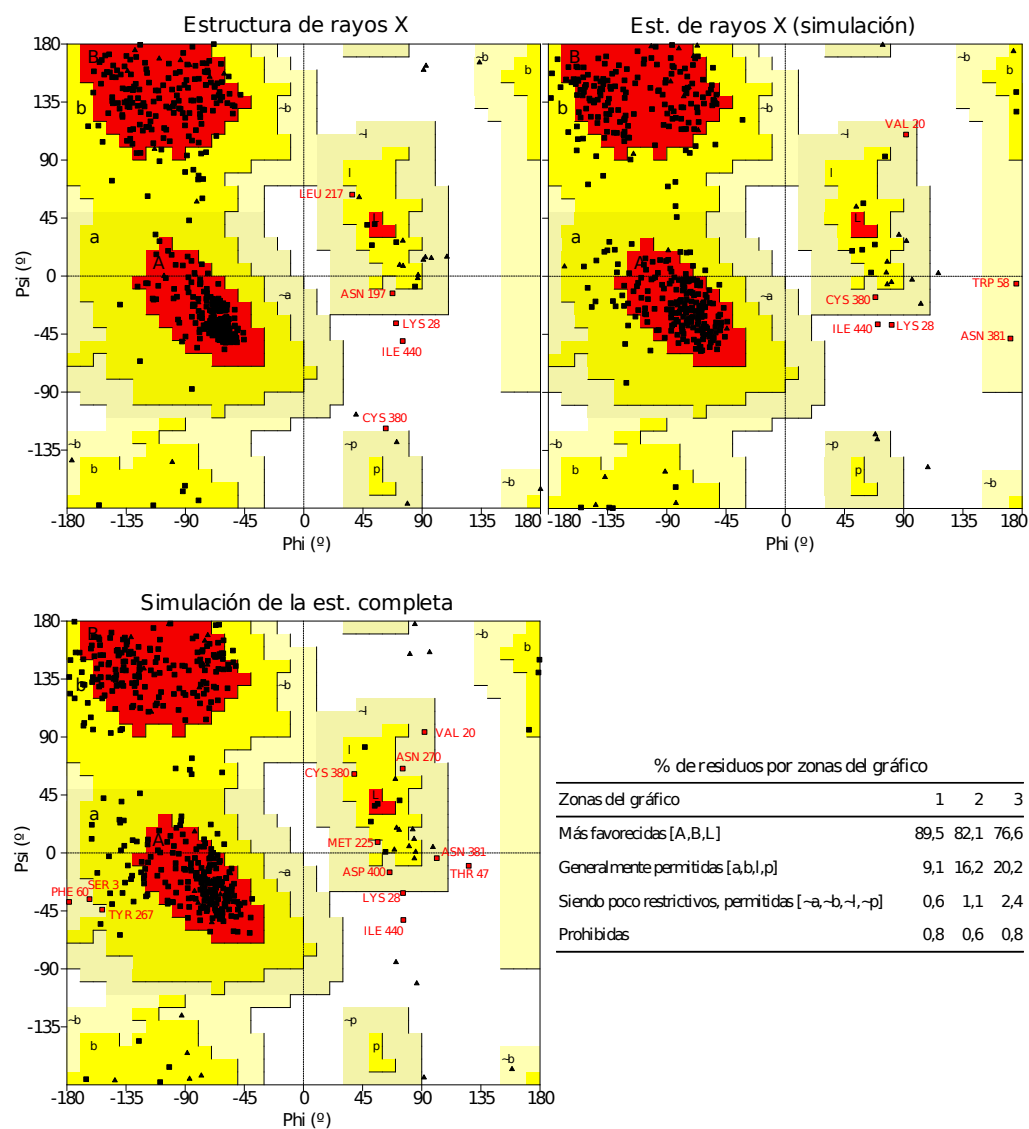
Con respecto a los gráficos Ramachandran<sup>456</sup> de la **figura 7.23**, los cuales también dan una medida de la calidad de la estructura, se observa que ambas simulaciones colocan algunos residuos más en zonas adicionalmente permitidas que la estructura de origen y, aunque levemente, la simulación de la estructura de rayos X presenta más residuos colocados en las zonas más favorecidas.

Por otra parte, la estructura secundaria de la proteína tampoco ha sufrido cambios bruscos, con respecto a la estructura inicial. Se puede observar, en la **figura 7.24**, que, salvo algún tramo concreto, los cambios son mínimos, tanto en la simulación de la estructura con la secuencia completa, como en la de rayos X.

Con respecto al residuo KCX, sí se produce un cambio apreciable en la simulación de la estructura de rayos X, si la comparamos con la dinámica de la estructura completa. El tramo donde se encuentra situado dicho residuo (359 al 364) evoluciona desde una estructura con espirales aleatorias (giros) hacia una hoja  $\beta$ . Sin embargo, la estructura completada no sufre esta alteración, no apreciándose cambios estructurales significativos en este tramo. Los residuos del centro activo, salvo levemente el TRP 67, no sufren alteración en ninguna de las dos simulaciones.

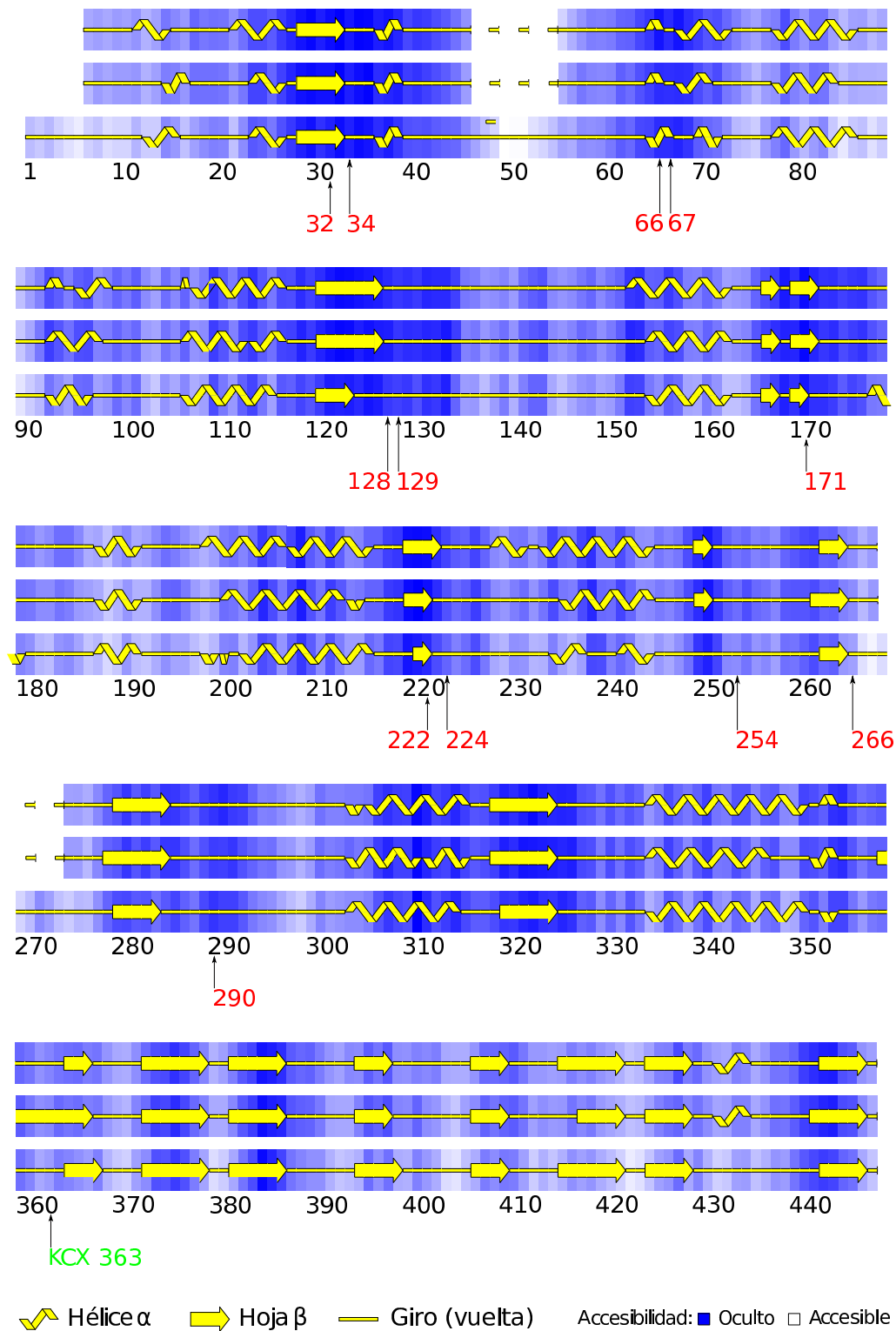
Como se ha comentado anteriormente, la estructura tomada inicialmente de rayos X presentaba varios residuos a los que no se les ha determinado su estructura tridimensional. Dichos huecos de la estructura de la proteína, interrumpen formas de giro, que permanecen así en la estructura completa.

Por tanto, la estructura propuesta, con la secuencia completa, reúne los requisitos para poder ser una buena candidata, como estructura de partida, para posteriores cálculos



**Figura 7.23:** Gráficos Ramachandran de la estructura de la  $\alpha$ -L-fucosidasa. **1:** estructura inicial de rayos X, **2** estructura de menor rmsd de la simulación de la de rayos X (incompleta) y **3:** estructura de menor rmsd de la simulación de la estructura completa.

de *docking* molecular y simulaciones de los complejos enzima-receptor que, a continuación, se discuten.



**Figura 7.24:** Evolución de la estructura secundaria de la  $\alpha$ -L-fucosidasa. Confrontadas, aparecen las tres estructuras comparadas (de arriba hacia abajo: estructura de rayos X, simulación de la estructura de rayos X y simulación de la proteína con la secuencia completa); los números se corresponden con los residuos; en rojo los del centro activo.

**Tabla 7.13:** Resumen de los resultados de *docking* obtenidos para las mejores posturas de cada tioazúcar estudiado en las secciones anteriores. Para la identificación de cada compuesto, véase el apéndice C.

comp <sup>a</sup>	$\Delta E^b$	$K_i^c$	$\bar{K}_i^d$	hb <sup>e</sup>	cnf <sup>f</sup>	exo <sup>g</sup>		clasif <sup>j</sup>	noady <sup>k</sup>
						ini <sup>h</sup>	dock <sup>i</sup>		
6 (t9a)	7,84	25	224	5	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	exs	nex	t g- → g- g+ g-g+ g- g- → ← g- g+ g-g-	3 → 6,4 → 1 3 → 6,4 → 1,6 → 3
4 (t2b)	5,05	44	151	5	B <sub>1,4</sub>	exa	nex	g+ g- t ← t g+ g+ g+ → ← g+	1 → 4 1 → 4,4 → 1
3 (t2a)	11,47	45	172	5	<sup>8</sup> S <sub>2</sub>	exs	nex	t ← g- ← t ← t g+ → ← t ← g+ ← g+	
8 (t6a)	3,47	48	152	4	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exs	nex	t g+ g- g- g+ g+ g- g+	2 → 4,3 → 1 2 → 4,3 → 1,4 → 2
5 (t1a)	6,39	49	299	4	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	exs	nex	t g- g+ g+ tg+ g- < g+ g- g+ tg+	4 → 1 4 → 1,6 → 3
7 (t3a)	2,86	51	177	4	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exs	nex	t g+ g- t g-t g+ g+ g- g+ g+g-	2 → 4,3 → 1 2 → 4,3 → 1,4 → 6
1 (o2a)	11,04	68	173	5	<sup>3,0</sup> B	exs	nex	t ← g- ← t ← t g- → ← t g+ ← t	
2 (o2b)	6,20	79	250	5	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	exa	nex	g+ t t ← t g+ g+ g+ → ← g+	1 → 4 1 → 4,4 → 1
10 (t7a)	1,64	96	399	3	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	exa	g- g+ g+ t g- t t g+	1 → 3,2 → 4 1 → 3,4 → 2
9 (t4a)	1,25	125	244	3	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	exa	g- g+ t g- g+g- g- t t g+ g+g+	1 → 3,2 → 4,4 → 6 1 → 3,4 → 2,6 → 4

<sup>a</sup> Compuesto. <sup>b</sup> Energía relativa, en kcal/mol, en el cálculo PCM-B3LYP/6-31+G\*. <sup>c</sup> Constante de inhibición (micromolar), calculada en el *docking*, de la mejor postura del mejor rotámero. <sup>d</sup> Valor promedio de la constante de inhibición (micromolar), de todos los rotámeros. <sup>e</sup> Número de enlaces de hidrógeno. <sup>f</sup> Conformación del anillo de piranosa. <sup>g</sup> Orientación del OH anomérico, de acuerdo con el efecto exoanomérico (exs: exo-sin, exa: exo-anti y nex: no-exo). <sup>h</sup> En el rotámero calculado con PCM-B3LYP/6-31+G\*. <sup>i</sup> En su mejor postura según el cálculo del *docking*. <sup>j</sup> Clasificación de los ángulos diedros; arriba: en el rotámero de partida, abajo: una vez modificado por el *docking*. <sup>k</sup> Interacciones entre hidroxilos no adyacentes; arriba: en el rotámero de partida, abajo: una vez modificado por el *docking*.

## 7.7. Resultados del *docking*

### 7.7.1. *Docking* con los rotámeros estudiados

En una primera fase, se han realizado cálculos exhaustivos de *docking* sobre todos los rotámeros que, en disolución, se han encontrado en un rango de energía menor de 10 kcal/mol, para todos los compuestos (10) estudiados en la sección 7.1 (en total se han analizado 441 rotámeros).

En la tabla 7.13, se recoge un resumen final de los resultados obtenidos para la mejor postura de cada compuesto.

Los cálculos de *docking* usan diferentes campos de fuerzas de los utilizados en dinámica molecular, siendo, además, fuente de información preliminar sobre la interacción proteína-inhibidor, la cual se debe contrastar posteriormente con dichas dinámicas.

Teniendo esto en cuenta, sorprende que sea el compuesto 5-tio- $\alpha$ -D-manopiranososa (**6** –t9a–), el que presenta un valor menor de la constante de inhibición,  $K_i$ . Sin embargo, si nos atenemos al valor promedio de todas las posturas, es la 5-tio- $\beta$ -L-fucopiranososa (**4** –t2b–) el compuesto que tiene el valor más bajo de  $K_i$ .

Un primer resultado, que está en concordancia con los datos experimentales<sup>4</sup>, es que la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**3,4** –t2a, t2b–) tiene un mayor poder inhibitorio que su homóloga natural  $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**1,2** –(o2a, o2b)–). En cuanto a la relación  $\alpha/\beta$ , los datos de rayos X<sup>222</sup> indican que es la forma  $\beta$  la que aparece en el complejo con el centro activo de la proteína. Esto se reproduce para el caso del tioderivado y no así para su homóloga natural.

Otro dato a tener en cuenta es que la conformación  ${}^1C_4$  es la que debería de ser la preferida en el complejo (según la misma evidencia de rayos X), aunque, obviamente, se puede esperar que dicho complejo, en disolución, presente otras formas del anillo. Además, lo esperado<sup>142</sup> es que el ligando adopte formas de bote o bote torcido, a fin de imitar mejor el estado de transición en la reacción con la enzima.

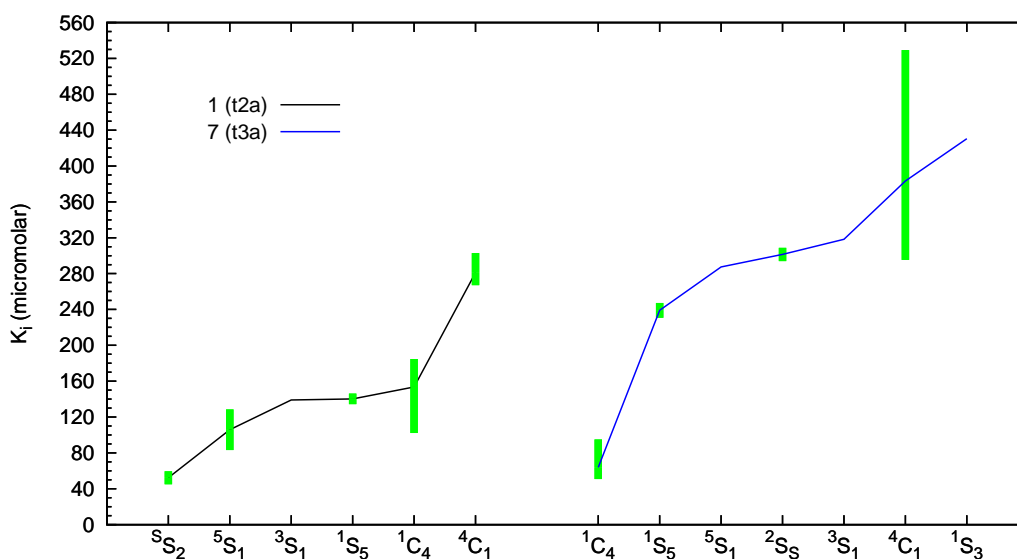
Si analizamos la tabla, observamos que en todos los casos, salvo dos excepciones que comentaremos a continuación, el efecto exoanomérico, que es favorable cuando el ligando está aislado en disolución, pasa a tener una disposición desfavorecida (no exoanomérico) en el complejo, para favorecer la formación de enlaces de hidrógeno del OH anomérico con los residuos del centro activo.

La excepción son la 3-*O*-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**9** –t4a–) y la 6-desoxi-3-*O*-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**10** –t7a–), que no modifican su orientación exoanomérica. Se justifica por que la forma del anillo ( ${}^1C_4$ ), que invierte la preferencia conformacional del ligando aislado en disolución, favorece el enlace de hidrógeno entre hidroxilos no adyacentes ( $1 > 3$ ), que, como hemos visto en secciones anteriores, son interacciones fuertes.

Este comportamiento debería esperarse para la 5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**7** –t3a–) y para la 6-desoxi-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**8** –t6a–), que sólo se diferencian de las anteriores en que las primeras tienen un grupo OMe en C3, mientras que en las segundas tienen el OH libre. Y, efectivamente, en realidad es el mismo comportamiento, salvo que ahora los enlaces de hidrógeno van en dirección al OH anomérico ( $3 > 1$ ), lo cual hace que no esté impedida la acomodación del OH para favorecer las interacciones con el centro activo.

Se observa, en la tabla, que todos los rotámeros han modificado sus orientaciones y que, salvo para **9** (t4a) y **10** (t7a), y para **1** (o2a) y **3** (t2a), estos últimos porque no tienen ninguna forma del anillo con posibilidad de tener interacciones entre OH no adyacentes, éstas han aumentado, siendo éste un comportamiento general para los 441 rotámeros. Como, además, en la mayoría de los casos, a igualdad de conformación del anillo, los rotámeros han evolucionado a unas mismas orientaciones, o grupos de ellas, podemos llegar a la conclusión de que, para el posterior estudio de *docking* de otros ligandos de este tipo, no es necesario partir desde todos los posibles rotámeros del anillo.

En cuanto a la influencia de la forma del anillo de partida, en la **figura 7.25**, aparecen representadas, a modo de ejemplo, la dependencia de la constante de inhibición calcula-



**Figura 7.25:** Ejemplos de la dependencia de la  $K_i$  calculada, con respecto a las formas del anillo.

da, con respecto a las formas del anillo, para los compuestos 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**-t2a-) y 5-tio- $\alpha$ -L-idopiranososa (**3**-t3a-).

Se deduce de la figura que la forma del anillo influye en el valor de la constante de inhibición. Sin embargo, dado que no se observan cambios con respecto al orden de magnitud, pensamos que se podría partir de una única conformación para cada compuesto estudiado, teniendo en cuenta que el *docking* es un paso previo, una especie de «tamiz de tamaño grueso».

### 7.7.2. Extensión de los cálculos a otros tioazúcares

Teniendo en cuenta lo indicado en la sección anterior, hemos extendido el protocolo de cálculo a una serie de tioazúcares, en un intento de encontrar alguno que presente una buena inhibición sobre la  $\alpha$ -tiofucosa. Para un primer estudio de su poder inhibitorio, se han seleccionado 78 compuestos representativos, de entre los presentados en los Antecedentes (véase el apéndice C, donde se muestran dichas estructuras). Los resultados se recogen en la tabla 7.14.

Como se ha indicado, el aspecto cuantitativo de estos cálculos hay que tomarlos desde un punto de vista de órdenes de magnitud. Por ello, se ha escogido un código de colores para que se visualice con facilidad el poder de inhibición calculado: verde, para el rango nanomolar (muy buenos inhibidores); azul claro, para el micromolar (aceptables inhibidores); anaranjado para el rango milimolar (malos inhibidores) y rojo para los que no presentan inhibición alguna.

El cálculo se ha realizado para una estructura optimizada de cada compuesto y, en aquellos casos en los que se ha apreciado indicios de obtener una buena inhibición, se ha efectuado para todas las formas posibles del anillo, una vez optimizadas. Esto mismo se ha hecho con los compuestos de los que tenemos datos experimentales (véase la tabla



**Tabla 7.14:** Valores calculados de la constante de inhibición ( $K_i$ ), para todos los compuestos<sup>a</sup> estudiados mediante *docking*. Se utiliza un código de colores para la mejor apreciación visual de los rangos de inhibición obtenidos.

compuesto	ta <sup>b</sup>	$K_i$	cnf <sup>c</sup>	hb <sup>d</sup>	compuesto	ta <sup>b</sup>	$K_i$	cnf <sup>c</sup>	hb <sup>d</sup>
1 (o2a-124)	6	68 uM	<sup>3</sup> O <sub>B</sub>	5	40 (f19f1-OMe2)	6	61 nM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	8
2 (o2b-23)	6	79 uM	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	5	41 (f19f1-OMe3)	6	417 nM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	7
3 (t2a-92)	6	45 uM	<sup>8</sup> S <sub>2</sub>	5	42 (t19f2)	6	981 nM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	7
4 (t2b-26)	6	44 uM	B <sub>1,4</sub>	5	43 (t19f3)	6	16 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	7
5 (t1a-90)	6	49 uM	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	4	44 (t19f4)	6	450 nM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	8
6 (t3a-26)	6	51 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	4	45 (t19f5)	6	627 nM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	7
7 (t4a-1)	6	125 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	3	46 (t20a)	5	174 uM	<sup>3</sup> E	4
8 (t6a-9)	6	48 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	4	47 (t20b)	5	195 uM	<sup>3</sup> T <sub>4</sub>	5
9 (t7a-42)	6	96 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	3	48 (t21a)	5	247 uM	E <sub>3</sub>	3
10 (t9a-147)	6	25 uM	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	5	49 (t21b)	5	308 uM	<sup>4</sup> T <sub>3</sub>	3
11 (t32a-36)	6	59 uM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	3	50 (t22b)	5	286 uM	<sup>4</sup> E	3
12 (t32b-35)	6	46 uM	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	5	51 (t23b)	5	52 mM	<sup>3</sup> E	2
13 (t33-36)	6	141 uM	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	2	52 (t24b)	5	271 uM	<sup>2</sup> E	2
14 (t34-30)	6	112 uM	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	4	53 (t25b)	5	149 uM	E <sub>2</sub>	2
15 (t35-30)	6	143 uM	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	3	54 (t26b)	5	27 uM	<sup>1</sup> T <sub>2</sub>	4
16 (t10a)	6	189 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	3	55 (t27b)	7	117 uM	TC <sub>4</sub>	3
17 (t16a)	6	58 uM	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	6	56 (t28a)	7	2 mM	TC <sub>4</sub>	1
18 (t18a)	6	62 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	4	57 (t28b)	7	3 mM	TC <sub>4</sub>	1
19 (t11a)	6	178 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	5	58 (t29)	7	166 uM	TC <sub>4</sub>	5
20 (t12a)	6	330 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	3	59 (t30)	7	281 uM	TC <sub>2</sub>	5
21 (t13a)	6	116 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5	60 (t31)	4	3 mM	≈ plano	3
22 (t14a)	6	235 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	3	61 (tn1)	5	28 uM	plano	2
23 (t14b)	6	185 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	7	62 (tn2)	5	5 uM	E <sub>3</sub>	4
24 (t15a)	6	32 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	6	63 (tn3)	6	104 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	4
25 (t15b)	6	28 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	6	64 (tn4)	6	29 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	3
26 (t17a)	6	52 uM	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	6	65 (tn5)	6	29 uM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	5
27 (t19e-31)	6	8 uM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	5	66 (tn6)	6/5	2 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>2</sup> T <sub>3</sub>	2
28 (t19e1-30)	6	20 nM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	7	67 (tn7)	6/5	3 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>2</sup> T <sub>3</sub>	3
29 (t19e1c-3)	6	29 nM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	6	68 (tn8)	6/5	11 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>2</sup> T <sub>3</sub>	2
30 (t19e1d)	6	4 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	6	69 (tn9)	6/5	3 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>4</sup> T <sub>N</sub>	4
31 (t19e2)	6	12 uM	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	7	70 (td1a)	6/6	1 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>4</sup> C <sub>1</sub>	3
32 (t19e3)	6	37 uM	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	5	71 (td1b)	6/6	3 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>4</sup> C <sub>1</sub>	4
33 (t19e4)	6	136 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	4	72 (td2a)	6/6	10 uM	<sup>3</sup> S <sub>1</sub> / <sup>1</sup> C <sub>4</sub>	6
34 (t19e5)	6	2 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	6	73 (t2db)	6/6	2 uM	<sup>3</sup> S <sub>1</sub> / <sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5
35 (t19f)	6	195 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5	74 (td3)	6/6	76 mM	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> / <sup>0</sup> S <sub>2</sub>	2
36 (t19f1-22)	6	42 nM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	9	75 (tt1)	6/6/6	0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> / <sup>4</sup> C <sub>1</sub> / <sup>1</sup> C <sub>4</sub>	1
37 (t19f1c-23)	6	18 nM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	7	76 (tt2)	6/6/6	2 mM	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> / <sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>4</sup> C <sub>1</sub>	5
38 (t19f1d)	6	2 uM	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	4	77 (tt3)	6/6/6	0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> / <sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>4</sup> C <sub>1</sub>	4
39 (f19f1-OMe1)	6	17 uM	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	7	78 (tt4)	6/6/6	0	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> / <sup>1</sup> C <sub>4</sub> / <sup>4</sup> C <sub>1</sub>	3

<sup>a</sup> Para la identificación de cada compuesto véase el apéndice C. Cuando, a continuación del identificador, aparece un guión y, tras él, un número, quiere decir que para ese compuesto se han estudiado diversas formas del anillo y dicho número indica el correspondiente a la conformación. Sin embargo, para los compuestos **1** al **10** expresa el número del rotámero analizado. <sup>b</sup> Tamaño del anillo del inhibidor. <sup>c</sup> Conformación del anillo. <sup>d</sup> Número de enlaces de hidrógeno con la proteína.

7.15).

El bajo valor de  $K_i$  obtenido, en primera instancia, para uno de los epímeros (en C3) del ácido 6-tiosialílico (**27** –t19e–), nos llevó a extender los cálculos en la manera

indicada y a realizar modificaciones de dicho compuesto. El resultado ha sido que nueve compuestos de la familia del 6-tiosialico presentan inhibición en el rango nanomolar.

Este resultado es congruente con los indicios experimentales que indican que la heterogeneidad estructural que presenta la  $\alpha$ -L-fucosidasa humana podría ser debida al diferente contenido de residuos del ácido siálico<sup>218,219,221</sup>.

La modificación, consistente en introducir un diol en el grupo carboxílico de C1 y un amino alcohol en C4, da lugar a resultados óptimos de inhibición para **36** (t19f1) y **28** (t19e1). Sin duda, el mayor peso lo tiene el diol, según se deduce de los resultados para **39** (t19f1-OMe1), **40** (t19f1-OMe2) y **41** (t19f1-OMe3), en los que se introducen grupos metilo para desactivar los grupos OH, en C1, en C4 y en ambos casos, respectivamente. Por otra parte, la sustitución del diol, por un grupo  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$  (**29** –t19e1c– y **37** –t19f1c–), incluso mejora el resultado para el segundo de los epímeros.

**Tabla 7.15:** Datos calculados y experimentales de la inhibición de tioazúcares hacia la  $\alpha$ -fucosidasa.

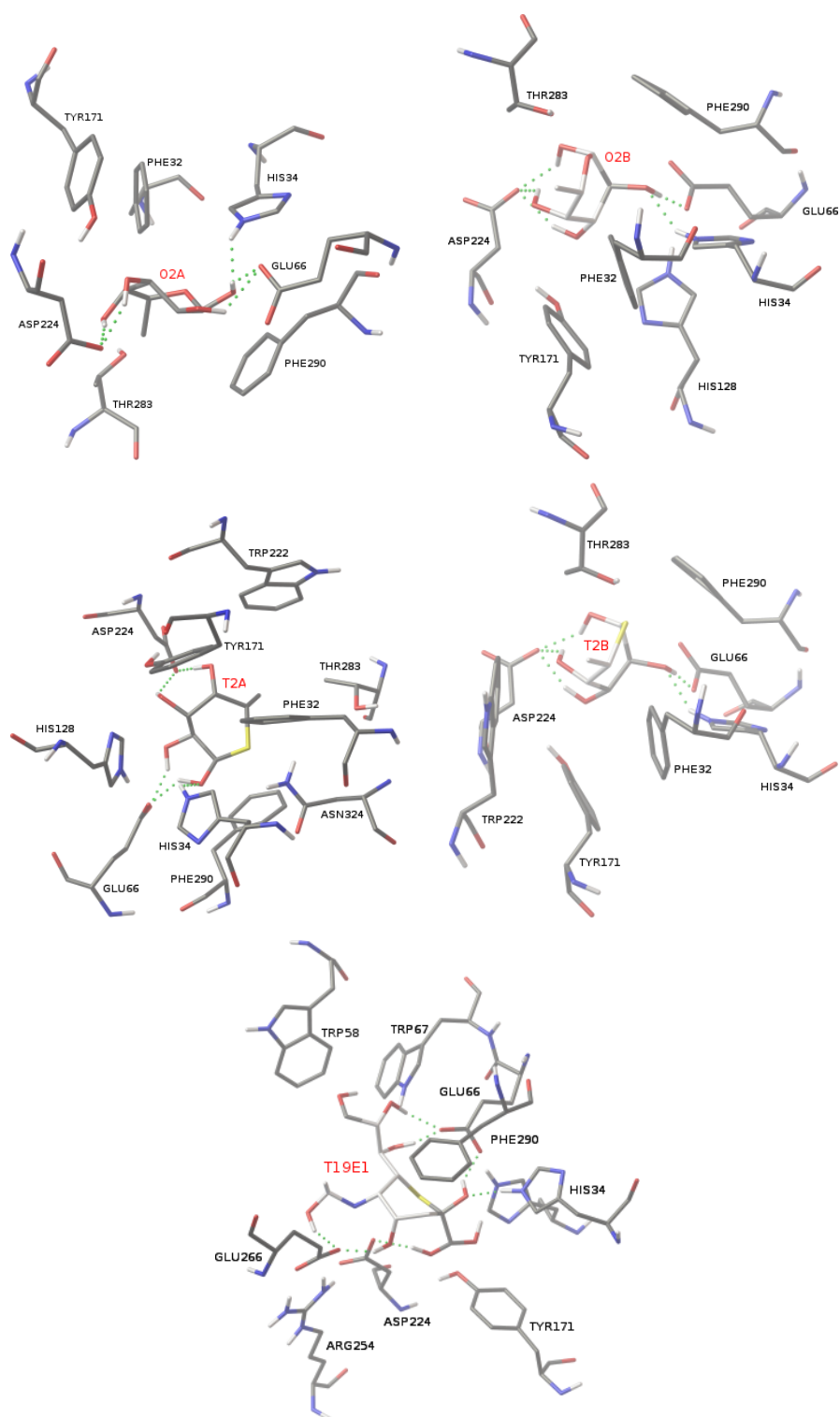
id	teórico	riñón bovino	epidídimo bovino	referencia
<b>1</b> (o2a)	$6,8 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$		4
<b>3</b> (t2a)	$4,5 \times 10^5$	$8,4 \times 10^5$	$4,2 \times 10^5$	6
<b>21</b> (t13a)	$1,2 \times 10^4$	$7,7 \times 10^4$		117
<b>11</b> (t32a)	$5,9 \times 10^5$	$9,6 \times 10^4$		6
<b>13</b> (t33)	$1,4 \times 10^4$	$7,8 \times 10^4$	$6,9 \times 10^4$	6
<b>14</b> (t34)	$1,1 \times 10^4$	$1,7 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	6
<b>15</b> (t35)	$1,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	6

fucosidasa del epidídimo bovino. El valor de la fucosa, sin embargo está sobrestimado. La 5-tio-D-arabinopiranososa (**21** –t13a–) presenta un valor que sí refleja la tendencia experimental, que indica que la presencia del grupo 6-metilo en la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa, es crucial para el enlace con el centro activo de la proteína<sup>117</sup>. Lo mismo cabría esperar de la 5-tio- $\alpha$ -L-galactopiranososa (**11** –t32a–), como indican también los datos experimentales; sin embargo, en este caso, los valores calculados no concuerdan los datos empíricos.

Por último, en la figura **figura** 7.26, se muestran las mejores posturas de la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**3,4**) y de su homóloga natural  $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**1,2**), así como de la del compuesto con mejor valor de  $K_i$  (**28**).

Se observa que el aumento del poder de inhibición (que entra el rango nanomolar), de varios análogos al ácido 6-tiosialico, se debe al incremento del número de enlaces de hidrógeno con los residuos del centro activo. Mientras que la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucosa (que como se ha comentado, tiene una buena inhibición de la  $\alpha$ -L-fucosidasa) presenta 5 enlaces de hidrógeno con la proteína, estos análogos llegan a tener de 7 a 9, sin duda porque tienen una mayor cantidad de dadores y aceptores para dichos enlaces.

Con respecto a los datos experimentales disponibles, en la tabla 7.15, se muestran comparados con los valores aquí calculados, aunque se trata de diferentes variedades de  $\alpha$ -L-fucosidasa. No obstante, sí aparece la 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa como la que muestra mejor valor de inhibición y similar al valor experimental de inhibición de la  $\alpha$ -L-



**Figura 7.26:** Ilustración con las mejores posturas de la  $\alpha, \beta$ -L-fucopiranososa y su 5-tioderivado (compuestos 1 al 4), así como del compuesto 28, mostrando las interacciones con la proteína.

## 7.8. Dinámica molecular de los complejos

Con el mismo protocolo, utilizado para la simulación de la  $\alpha$ -L-fucosidasa, se han realizado cálculos de dinámica molecular, con las mejores posturas encontradas en los cálculos de *docking*, para los compuestos de configuración L-fuco: **1** (o2a), **2** (o2b), **3** (t2a) y **4** (t2b), así como de la mejor postura (con una  $K_i$ , calculada en el *docking*, en el rango nanomolar) del compuesto **28** (t19e1), análogo del ácido 6-tiosialico.

**Tabla 7.16:** Evolución de la forma del anillo de piranososa durante la simulación de los complejos estudiados.

Compuesto	Autodock	Inicio equilibrado	Final equilibrado	Producción
<b>1</b> (o2a)	<sup>3</sup> O <sub>B</sub>	<sup>3</sup> O <sub>B</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>
<b>2</b> (o2b)	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	<sup>2,5</sup> B	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>
<b>3</b> (t2a)	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>
<b>3</b> (t2a-1C4)	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>
<b>4</b> (t2b)	B <sub>1,4</sub>	<sup>5</sup> E	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>
<b>28</b> (t19e1)	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	<sup>2,5</sup> B	<sup>2,5</sup> B/ <sup>2</sup> S <sub>S</sub>	<sup>2,5</sup> B/ <sup>2</sup> S <sub>S</sub>

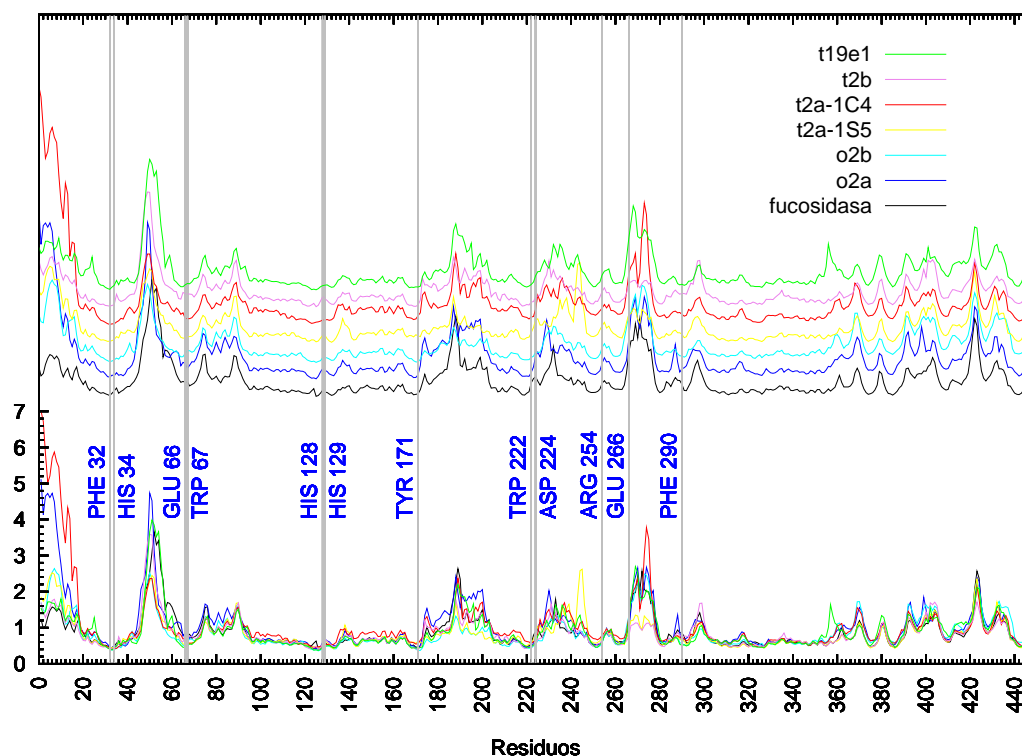
Adicionalmente, también se ha realizado la simulación del complejo en el que el sustrato es la mejor postura de la conformación <sup>1</sup>C<sub>4</sub> de **3** (t2a), debido a que para el resto de compuestos de configuración L-fuco, tal como se puede observar en la tabla 7.16, la forma del anillo ha evolucionado desde las formas de bote y bote torcido hacia dicha conformación de silla, lo cual está de acuerdo con la evidencia experimental de rayos X, que indica que, para su homóloga natural, es la forma <sup>1</sup>C<sub>4</sub> la que aparece formando el complejo con la proteína.

Por su parte, la conformación del anillo del análogo al ácido 6-tiosialico **28** (t19e1), se mantiene, desde el principio hasta el final de la simulación, en un equilibrio entre dos formas de bote torcido (<sup>2,5</sup>B/<sup>2</sup>S<sub>S</sub>), formas no muy definidas, si nos atenemos al valor promedio de los coeficientes de las formas canónicas principales, que es de un 60 %.

Un aspecto a considerar es la comparación del movimiento de la estructura de la proteína aislada con respecto a los complejos. En la **figura 7.27** se grafían las fluctuaciones atómicas en la dinámica, para todos los complejos y para la  $\alpha$ -L-fucosidasa. Como se puede observar, el perfil que presentan es bastante similar entre ellos, con algunas pequeñas discrepancias. En general, se puede decir que la estructura de la proteína no se altera por la introducción del inhibidor, salvo para **3** (t2a-1C4) y su homóloga natural **1** (o2a), en los tramos iniciales de la secuencia (residuos 1 al 19).

De otro lado, los residuos del centro activo permanecen en las zonas de valores más bajos de dichas fluctuaciones (hay que tener en cuenta que los datos se refieren al esqueleto de los residuos, no a las ramificaciones), con la excepción de GLU 266, que presenta algo más de movimiento, aunque también coincidente en los complejos y en la proteína.

Con respecto al efecto exoanomérico, en los cuatro compuestos L-fuco, el hidroxilo anomérico se mantiene durante toda la simulación en una orientación «no-exo» que, en el caso de **2** (o2b), en la etapa de equilibrado ha evolucionado desde la orientación «exo-anti». Si recordamos los resultados descritos para estos compuestos en disolución, esta orientación es la contraria a aquella en la que el resultado claramente indica que el efecto exoanomérico está favorecido. Es decir, en el complejo, este efecto no tiene la



**Figura 7.27:** Fluctuaciones atómicas del esqueleto de los complejos y de la proteína aislada, durante la simulación. En la parte inferior aparecen todas las gráficas superpuestas y en la parte superior se ilustran desplazadas para facilitar la comparación.

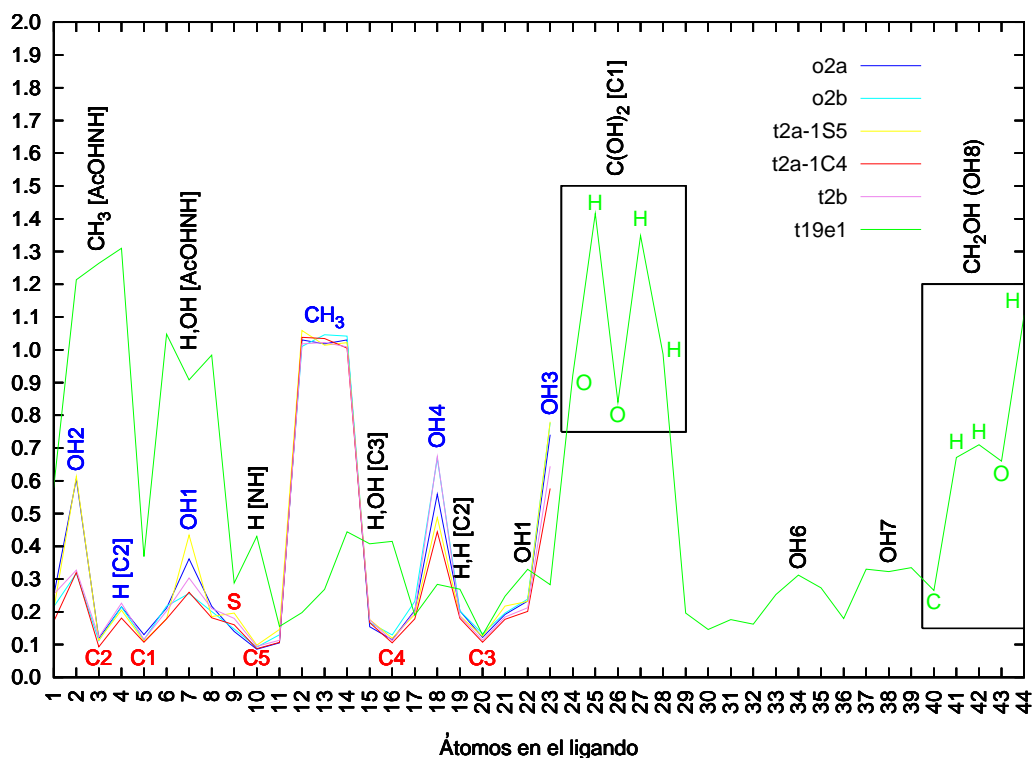
fuerza suficiente para quedar estabilizado.

Por contra, en el caso del análogo al ácido 6-tiosialico, es el efecto favorable «exo-anti» el que está presente en toda la simulación. Esto se justifica por la existencia de una interacción estabilizante  $\text{OH} \cdots \text{O}$ , entre uno de los OH del diol y el oxígeno anomérico.

En lo tocante a los ligandos, el gráfico de la **figura 7.28**, nos da una buena indicación de como se han movido los átomos de cada inhibidor en el centro activo de la proteína.

Si nos centramos en la 5-tio- $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**3,4**) (t2a, t2a-1C4 y t2b) y en su homóloga natural  $\alpha,\beta$ -L-fucopiranososa (**1,2**) (o2a, o2b), encontramos que el perfil que presentan, en los cuatro casos, es muy similar, salvo con alguna excepción bastante indicativa. El pico central, en forma de meseta, se corresponde a los hidrógenos del grupo  $\text{CH}_3$ , que está unido al C5 del anillo, lo cual nos indica el libre giro del mismo durante la simulación, que, por otra parte, es lo esperado.

El resto de los picos pronunciados de la gráfica, se corresponden con los grupos hidroxilos, en los que es el hidrógeno el que se está moviendo, lo que nos indica que hay un giro constante de los mismos, durante la simulación. Pero aquí sí hay unas diferencias, muy indicativas, entre las formas  $\alpha$  y  $\beta$ . Si nos fijamos en el OH(2), el pico es mucho menos pronunciado para las dos formas  $\beta$ , en las que este grupo permanece, mayoritariamente, en una disposición favorable para interaccionar con los residuos del centro activo (2t), mientras que las formas  $\alpha$  de este grupo presentan alternancias en su orientación. Sin embargo, para **3** (t2a-1C4), este grupo hidroxilo permanece en orientación fija (2t)



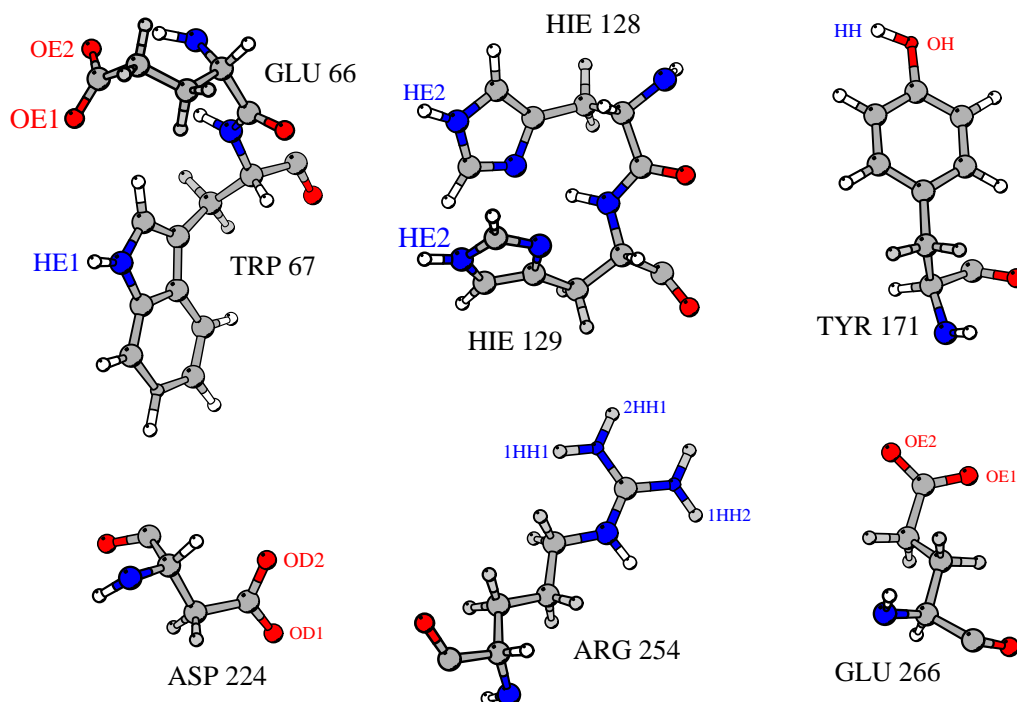
**Figura 7.28:** Fluctuaciones atómicas de los átomos de cada inhibidor estudiado. El texto encima de los picos de la gráfica (en negro para **t19e1** y azul para el resto) indica el grupo funcional al que pertenece. En rojo se indican los átomos del anillo de la configuración L-fuco.

durante la simulación y por eso tiene un perfil similar a las formas  $\beta$ .

En cuanto a los átomos del anillo, estos permanecen en los valles de la gráfica, indicando que, prácticamente, no se han movido, salvo el heteroátomo que sí lo hace, más pronunciadamente, en el caso de **3** (t2a) y **4** (t2b). Aparece también un pequeño pico en 4, perteneciente al H del C2. Esto podría obedecer a las acomodaciones de la forma del anillo, que, aunque se estabiliza en una forma determinada, sí presenta oscilaciones en los porcentajes de la forma pura.

Respecto al análogo del ácido 6-tiosialico (**28** -t19e1-), aparecen tres picos principales, que otra vez se corresponden a cuatro rotaciones en las ramificaciones del anillo. De izquierda a derecha de la gráfica: el grupo metilo terminal del acetoaminoalcohol en C4, los H,OH del mismo grupo anterior, el  $\text{CH}_2(\text{OH})_2$  del carbono anomérico (que nos indica un libre giro, tanto del C1-C, como de cada OH del diol) y, por fin, al final de la gráfica, el grupo hidroximetileno de la ramificación en C5.

Aparecen otros picos, de menor intensidad (también de izquierda a derecha): el correspondiente al hidrógeno del nitrógeno del acetoaminoalcohol (por lo tanto, este grupo tendría un libre movimiento de giro en los enlaces finales del grupo, pero con menos movilidad en su unión al anillo); otros dos, que se corresponden a los átomos H,OH en C3, por un lado y a los dos H unidos a C2, por otro, reflejando, en este caso la alternancia observada entre las formas de bote y bote torcido, que se observa en este compuesto; y por último, aparecen tres picos correspondientes a grupos hidroxilos, el OH anomérico

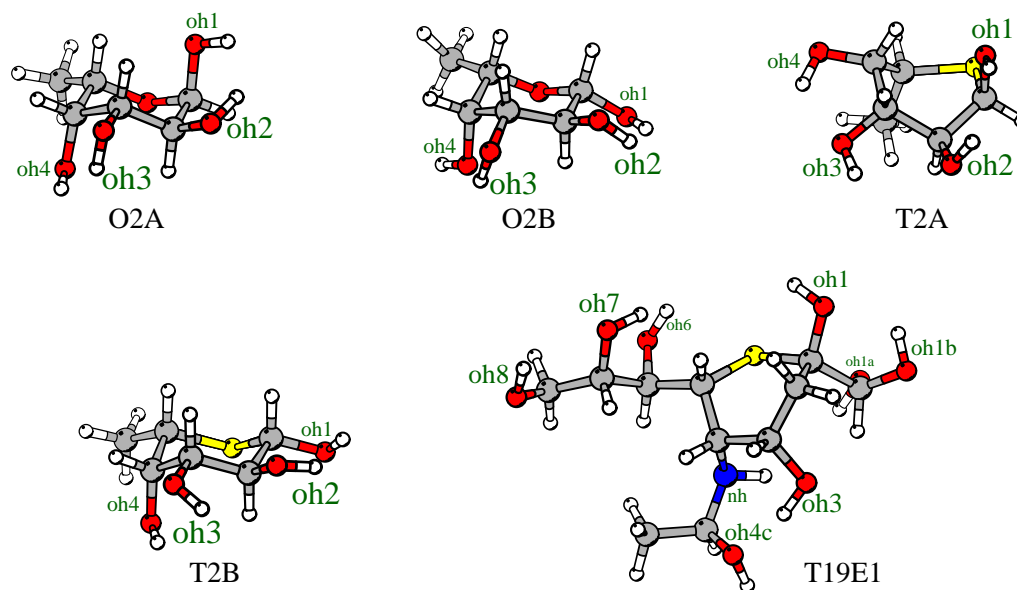


**Figura 7.29:** Átomos, de los residuos del C.A., implicados en enlaces de hidrógeno.

y los hidroxilos no terminales de la ramificación en C5.

Por otra parte, en las tablas 7.17 y 7.18, se recogen los datos correspondientes a los porcentajes de participación de interacciones tipo enlace de hidrógeno, entre los inhibidores estudiados y los residuos del C.A.

Centrándonos en la configuración L-fuco, nos encontramos lo siguiente: actuando los OH del inhibidor como aceptor, se observa que son los hidroxilos anoméricos y del



**Figura 7.30:** Átomos, de los inhibidores estudiados, implicados en enlaces de hidrógeno.

**Tabla 7.17:** Enlaces de hidrógeno, entre los inhibidores estudiados y el centro activo de la  $\alpha$ -L-fucosidasa, cuando actúa como aceptor (véanse las figuras 7.29 y 7.30, para la denominación de los átomos implicados).

residuo	interacción	1 (o2a)		2 (o2b)		3 (t2a)		3 (t2a-1C4)		4 (t2b)		28 (t19e1)	
		%	Å	%	Å	%	Å	%	Å	%	Å	%	Å
GLU 66	oh1-OE1	3,7	2,778	48,5	2,652	45,1	2,698	82,5	2,637	24,7	2,699		
	oh1-OE2	77,1	2,617	52,1	2,654	69,9	2,660	21,9	2,690	75,8	2,672	95,0	2,673
	oh2-OE1	26,1	2,705	50,9	2,658	59,0	2,720	83,1	2,673	46,4	2,793		
	oh2-OE2	77,6	2,673	54,0	2,651	47,4	2,744	15,8	2,748	84,6	2,707		
	oh3-OE2	12,6	2,628										
	oh6-OE1											99,7	2,590
	oh7-OE1											97,2	2,670
TYR 171	oh3-OH	0,6	2,778	5,9	2,852	5,1	2,887	2,7	2,872	0,3	2,902		
	oh4-OH	0,3	2,946			0,1	2,894						
	oh1b-OH											0,3	2,922
ASP 224	oh2-OD2					4,6	2,709						
	oh3-OD1	16,7	2,69	15,7	2,715	0,2	2,648	35,2	2,703	15,2	2,727		
	oh3-OD2	23,3	2,719	9,7	2,714	16,8	2,712	37,8	2,706	21,0	2,713	0,3	2,930
	oh4-OD1	16,2	2,670	20,5	2,740	0,7	2,868	45,3	2,660	19,1	2,707		
	oh4-OD2	23,4	2,700	11,4	2,739	8,7	2,741	42,6	2,656	26,6	2,716		
	oh1a-OD1											39,4	2,732
	oh1b-OD1											3,1	2,754
	nh-OD1											2,0	2,903
	oh4c-OD1											0,9	2,794
	oh1a-OD2											17,5	2,713
	oh1b-OD2											1,7	2,721
	nh-OD2											4,4	2,877
	oh4c-OD2											0,9	2,850
GLU 266	oh3-OE1			0,2	2,666	21,3	2,663						
	oh4-OE1	6,5	2,760	3,0	2,797	17,5	2,690	0,7	2,778	1,1	2,675		
	oh3-OE1											80,6	2,701
	oh4c-OE1											1,1	2,911
	oh3-OE2			0,4	2,652	0,1	2,991						
	oh4-OE2			1,4	2,736					0,3	2,579		
	oh4c-OE2											2,8	2,736
Participación total de los OH													
	oh1	80,8		100,6		115,0		104,4		100,5		95,0	
	oh2	103,7		104,9		111,0		98,9		131,0			
	oh3	53,2		31,9		43,5		75,7		36,5		0,3	
	oh4	46,4		36,3		27,0		88,6		47,1			
	oh1a											56,9	
	oh1b											5,1	
	nh											6,4	
	oh4c											5,7	
	oh6											99,7	
	oh7											97,2	
	total	284,1		273,7		296,5		367,6		315,1		366,3	

C2 los que llevan el mayor peso en las interacciones con el centro activo, lo cual está de acuerdo con lo observado experimentalmente<sup>493</sup> en las interacciones monosacáridos-glicosidasas. Los dos OH restantes participan bastante menos, salvo para el caso de t2a-1C4, como se puede apreciar en la tabla. Cuando actúan como dadores, es el OH3 el

<sup>493</sup>N. Panday, M. Meyyappan y A. Vasella *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 513-538.



**Tabla 7.18:** Enlaces de hidrógeno, entre los inhibidores estudiados y el centro activo de la  $\alpha$ -L-fucosidasa cuando actúa como dador (véanse las figuras 7.29 y 7.30, para la denominación de los átomos implicados).

residuo	interacción	1 (o2a)		2 (o2b)		3 (t2a)		3 (t2a-1C4)		4 (t2b)		28 (t19e1)	
		%	Å	%	Å	%	Å	%	Å	%	Å	%	Å
TRP 67	HE2-oh1							15,1	2,901				
	HE1-oh2							21,8	2,895				
	HE1-oh3							0,4	2,920				
	HE2-oh6											17,3	2,910
	HE1-oh7											4,3	2,915
HIE 128	HE2-oh1	8,8	2,907									1,5	2,935
	HE2-oh2	5,1	2,876	0,6	2,860					14,6	2,909		
	HE2-oh3	2,8	2,878							0,2	2,894		
HIE 129	HE2-oh1					0,1	2,952					2,8	2,900
	HE2-oh2	4,3	2,903	0,1	2,824	1,3	2,917	6,1	2,902	2,8	2,885		
	HE2-oh3	5,7	2,896	0,3	2,873			31,4	2,889				
	HE2-oh6											6,6	2,887
	HE2-s											0,3	2,994
TYR 171	HH-oh3	16,3	2,846	15,6	2,857	1,9	2,865	24	2,871	42,8	2,837		
	HH-oh4	0,6	2,927			0,3	2,891						
	HH-oh1a											42,0	2,822
ARG 254	1HH1-oh4					0,1	2,749						
	2HH1-oh3									0,1	2,806		
	1HH2-oh4					0,3	2,932						
Participación total de los OH													
	oh1	8,8				0,1		15,1				4,3	
	oh2	9,4		0,7		1,3		27,9		17,4			
	oh3	24,8		15,9		1,9		55,8		43,1			
	oh4	0,6				0,7							
	oh1a											42,0	
	oh6											23,9	
	oh7											4,3	
	s											0,3	
	total	43,6		16,6		4		98,8		60,5		74,8	

que lleva el mayor peso.

En el caso de **28** (t19e1) la situación es diferente ya que C2 no tiene ningún grupo hidroxilo. Actuando como aceptor, son el hidroxilo anomérico y los de la ramificación en C5 (oh6 y oh7) los que tienen un mayor porcentaje de participación en enlaces de hidrógeno. Sorprende que el OH terminal (oh8) de dicha ramificación no interaccione con ningún residuo del C.A. Sin embargo, sí se ha encontrado una interacción, que no se refleja en la tabla, con un residuo que no pertenece al C.A. (TYR 64), con muy poca implicación (0.15 %), aunque ésta aumenta si se es menos restrictivo con las distancias de este tipo de interacción, ampliándose en este caso al 6 %. Respecto a esto, hay que decir que hay evidencia experimental<sup>223</sup> de interacciones de este residuo, y de otros tampoco pertenecientes al centro activo, de la  $\alpha$ -L-fucosidasa con diversos inhibidores.

Por otra parte, de los OH del diol en C1, uno de ellos sí participa en interacciones de este tipo con un 56,9 %, mientras que el otro diol lo hace, tan sólo, con un 5,1 %. La razón es que este último está ocupado en interaccionar con el OH anomérico, como se

ha comentado antes.

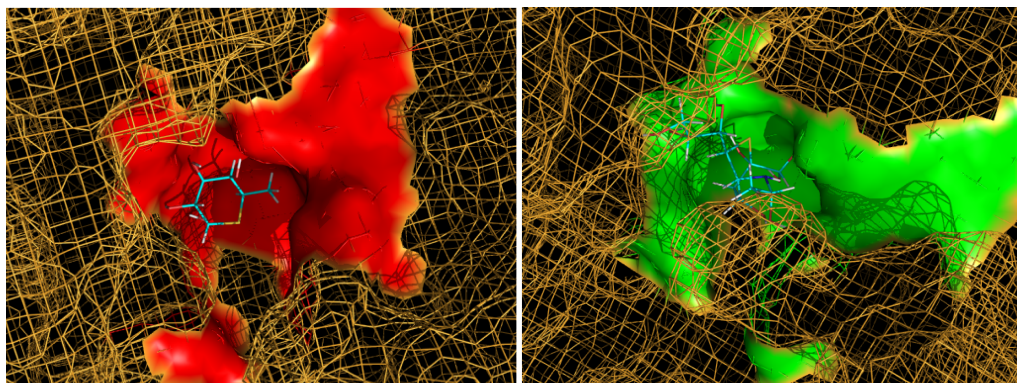
Respecto a los residuos que intervienen en estas interacciones, es, con mucho, el GLU 66 el que más participa, seguido por el ASP 224, cuando estos actúan como dadores. En el caso de **28** (t19e1), el residuo GLU 266, también tiene una gran influencia. Cuando intervienen como aceptores, los porcentajes disminuyen notablemente en los residuos que intervienen. Además, en el caso de **3** (t2a-1C4), aparecen interacciones con el residuo TRP 67, que no aparecen en el resto de compuestos.

**Tabla 7.19:** Energías libres, en kcal/mol, de interacción enzima-sustrato, calculadas, en Amber, por el método mm\_pbsa.

Compuesto	% enlaces			
	de H	PB-delphi	GB	PB
<b>2</b> (o2b)	290,3	-6,67	-8,29	-9,28
<b>3</b> (t2a-1S5)	300,5	-6,70	-10,66	-9,44
<b>1</b> (o2a)	327,7	-8,42	-11,46	-11,09
<b>4</b> (t2b)	375,6	-11,91	-11,91	-13,45
<b>28</b> (t19e1)	441,1	-16,27	-12,40	-18,98
<b>3</b> (t2a-1C4)	466,4	-17,40	-14,87	-18,48

Finalmente, si representamos la suma total de porcentajes de participación (actuando los residuos como dadores y como aceptores), y los comparamos con las energías libres de interacción calculadas (por diferentes métodos), observamos que hay una relación directa entre esta suma y el valor de las energías. Es decir, a mayor valor de la suma de porcentajes, mejor inhibición, tal como se puede observar en la tabla 7.19, con una pequeña excepción, en el método PB, que invierte la relación de energías libres entre t2a-1C4 y t19e1, a favor de éste último.

Los inhibidores con mejor valor de la energía de interacción (t2a-1C4 y t19e1) se ilustran, situados en el centro activo, en la **figura 7.31**.



**Figura 7.31:** Vista del inhibidor en el centro activo. A la izquierda: **3** (t2a-1C4) y, a la derecha: **28** (t19e1).



---

---

## CONCLUSIONES

---

1. Se ha elaborado un algoritmo para la generación y caracterización del anillo de piranosa, generalizable para cualquier tamaño de anillo, que se puede utilizar en el análisis conformacional sistemático de moléculas cíclicas.
2. Se ha desarrollado un programa, denominado CAL3JHH, para el cálculo teórico de las constantes de acoplamiento vecinales  $^3J_{H,H}$ , para el cotejo de los resultados teóricos con los experimentales, y de utilidad para el análisis conformacional, automatizándose el proceso de reconocimiento de hidrógenos acoplados, y que incluye la influencia de las poblaciones de Boltzmann. Dicho programa está disponible a la comunidad científica, de forma gratuita.
3. Se ha llevado a cabo un análisis conformacional de varias 5-tiopiranosas, en fase gaseosa y en disolución, por medio de cálculos de MM y DFT con inclusión del disolvente en forma implícita y de los resultados se concluye:
  - Al contrario que para sus homólogos naturales, es necesaria la inclusión de funciones difusas, para evitar la sobreestimación de interacciones del tipo  $\text{OH}(n)\cdots\text{S}_{\text{anillo}}$  y se evidencia que para el estudio de este tipo de compuestos es imprescindible tener en cuenta el disolvente.
  - Al incluir el disolvente en los cálculos, los diferentes rotámeros se ordenan energéticamente según el efecto exoanomérico y se reproduce el efecto «hockey-sticks», en el que las conformaciones compatibles con el mismo están estabilizadas por interacciones  $\text{OH}\cdots\text{O}$ .
  - Los cálculos de las constantes de acoplamiento  $^3J_{H,H}$ , calculadas en disolución mediante la ecuación empírica de Haasnoot-Leeuw-Altona, con el programa CAL3JHH que tiene en cuenta las poblaciones de Boltzmann, han reproducido mejor los datos experimentales que los métodos SSCC basados en cálculos *ab initio*.
4. Se ha construido un modelo tridimensional completo de la  $\alpha$ -L-fucosidasa de la *Thermotoga marítima*, a partir de la secuencia incompleta de rayos X, de la que faltaba la información estructural de 21 residuos.

5. Se ha realizado un muestreo, mediante estudios de *docking* molecular de diferentes tipos de tioazúcares, resultando ser, los análogos del ácido 6-tiosialico, prometedores inhibidores de la  $\alpha$ -L-fucosidasa, con unos valores de la constante de inhibición en el rango nanomolar.
6. Los resultados de la dinámica molecular del complejo, formado por la  $\alpha$ -L-fucosidasa y diferentes inhibidores, muestran que los mejores valores de energía de interacción corresponden a los compuestos **3** (t2a) (5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranososa (**3**), en su conformación  ${}^1C_4$ ) y **28** (t19e1). En el caso de **28**, se corrobora la conclusión anterior sobre estos compuestos análogos del ácido 6-tiosialico.

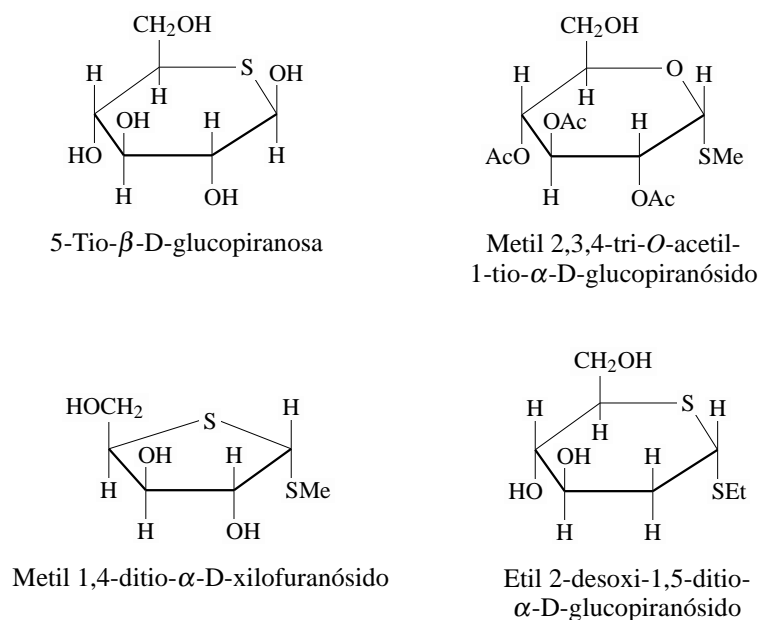
---

---

## APÉNDICE A

---

# DEFINICIÓN Y NOMENCLATURA DE LOS TIOAZÚCARES



**Figura A.1:** Ejemplos de tioazúcares

Según las recomendaciones de la IUPAC<sup>494</sup> se le da la denominación de tioazúcar a los siguientes compuestos (véase la **figura A.1**)<sup>495</sup>:

1. Aquella aldosa o cetosa en el que el oxígeno de un grupo hidroxilo, o bien el del grupo carbonilo de la forma acíclica, se sustituye por un átomo de azufre. La posición del azufre se debe indicar mediante el prefijo «tio», precedido por el localizador de la posición, antes del nombre sistemático, o del trivial de la aldosa o cetosa.

<sup>494</sup>International Union of Pure and Applied Chemistry, and International Union of Biochemistry and Molecular Biology. IUPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Nomenclature of carbohydrates (recommendations 1996). Véase en <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/2carb/>.

<sup>495</sup>IUPAC-IUBMB *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1997**, 52, 43-171, 2-Carb-15.

2. Cuando el oxígeno del anillo de la forma cíclica de una aldosa o cetosa se sustituye por un átomo de azufre. Se indicará de la misma forma anterior, siendo, en este caso, el localizador de su posición el número del carbono no anomérico adyacente al átomo de azufre del anillo.

Además, la práctica habitual es alfabetizar el prefijo «tio», al igual que se hace con otros prefijos. Por otro lado se debe observar que, aunque nos podemos encontrar casos en los que se utiliza el término tia-azúcar, la recomendación de la IUPAC es clara: el prefijo apropiado es tio, no tia, utilizándose este último, en la nomenclatura sistemática de química orgánica, para indicar la sustitución de un metileno ( $\text{CH}_2$ ) por un azufre.

---

---

## APÉNDICE B

---

# TABLAS SUPLEMENTARIAS

Además de la tabla que a continuación se recoge, otras tablas y material suplementario se pueden examinar en:

<http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre>



**Tabla B.1:** Resultados comparativos para los compuestos **5** al **10**, en fase gaseosa y en disolución, al nivel de teoría B3LYP/6-31+G\*.

Fase gaseosa				Disolución acuosa				
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> /OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> /OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← g+ ← t ← t lg+	4 ← 6	6 → S	1,6	exs	0,00	9,23
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>2</sub>	g → g → g → g → g- lg-	4 → 6		1	exs	0,06	8,30
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>3</sub>	g → g → g → g → g- tt	4 → 6		1,3,6	exs	0,06	8,29
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g-		6 → S	1,3,6	exs	0,23	6,30
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>5</sub>	t ← g+ ← t ← t g+ g-		6 → S	1,3,6	exs	0,28	5,71
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>6</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g+		6 → S	1,3,6	exs	0,29	5,63
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>7</sub>	g → g → g → g → g- g+ g+			1,3,6	exs	0,40	4,66
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>8</sub>	t ← g+ ← t ← t g+ t	4 ← 6		1,4	exs	0,71	2,78
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>9</sub>	t ← g+ ← t ← t g+ g+	4 ← 6		1,2	exs	0,81	2,36
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>10</sub>	g → g → g → g → g- g+	4 ← 6		1,2	exs	0,84	2,22
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>11</sub>	t ← g+ ← t ← t lg+			1,4,6	exs	0,87	2,11
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>12</sub>	t ← g+ ← t ← t g- t	4 → 6		1,4,6	exs	0,88	2,08
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>13</sub>	t ← g+ ← t ← t lg+	4 → 6		1,2,3,6	exs	0,89	2,06
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>14</sub>	t g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,2,3,6	exs	0,89	2,05
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>15</sub>	t g → g → g → g → g- t	4 → 6		1,2,3,6	exs	0,95	1,85
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>16</sub>	g → g → g → g → g- tt	4 → 6		1,3,4,6	exs	0,98	1,77
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>17</sub>	g → g → g → g → g- t lg+	4 → 6		1,3,4,6	exs	0,98	1,76
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>18</sub>	t g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,2,3,6	exs	0,99	1,73
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>19</sub>	t g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,2,3,6	exs	1,02	1,66
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>20</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g-	4 → 6		1,2,3,6	exs	1,06	1,55
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>21</sub>	g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,2,3,6	exs	1,09	1,46
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>22</sub>	g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,3,4,6	exs	1,09	1,45
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>23</sub>	t g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,2,3,6	exs	1,14	1,35
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>24</sub>	g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,2,3,6	exs	1,19	1,24
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>25</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g-	4 → 6		1,4,6	exs	1,23	1,16
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>26</sub>	g → g → g → g → g- g+	4 → 6		2,3	nex	1,24	1,13
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>27</sub>	t g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,3,4	exs	1,25	1,12
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>28</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g-	4 → 6		1,2,6	exs	1,26	1,10
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>29</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g-	4 → 6		1,3,4,6	exs	1,31	1,02
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>30</sub>	g+ t ← t ← t lg+	4 → 6		1,2,4	exs	1,32	1,00
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>31</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g+	4 → 6		1,2,6	exs	1,41	0,85
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>32</sub>	g → g → g → g → g- g+	4 → 6		1,3,6	exs	1,42	0,84
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>33</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g-	4 → 6		1,3,4	exs	1,47	0,77
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>34</sub>	g → g → g → g → g- g+	2 ← 4,3 → 6	6 → S	1,2,3,6	exs	1,55	0,67
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>35</sub>	t ← g+ ← t ← t g- g-	4 → 6		1,6	exs	1,61	0,61
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>36</sub>	t g → g → g → g → g- g+	4 → 6		3,4,6	nex	1,67	0,55
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>37</sub>	t ← t ← t ← t g+ g-						

5-Tio-α-D-glucopiranosas (5)

Continuación.

Fase gasosa										Disolución acuosa										
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámero	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib. <sup>f</sup>	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámero	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib. <sup>f</sup>	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	
5	38116	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		4,6	nex	6,25	0,00	5	3829	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		3,4,6	nex	1,71	0,51	
5	3944	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		1,2,3,6	exs	6,29	0,00	5	39116	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		3,4,6	nex	1,74	0,49	
5	40101	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← g <sup>+</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> tt	4 → 6			1,6	exs	6,48	0,00	5	40126	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		3,4,6	nex	1,79	0,45	
5	4197	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> g <sup>-</sup>				2,6	nex	6,50	0,00	5	41121	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				3,4,6	nex	1,80	0,44	
5	42121	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> g <sup>-</sup>				3,6	nex	6,58	0,00	5	4280	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 ← 6			2,3	nex	1,83	0,42	
5	4391	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	1,6	exs	6,59	0,00	5	4397	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		2,3,6	nex	1,85	0,40	
5	4478	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	1,6	exs	6,61	0,00	5	4476	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		3,4,6	nex	1,88	0,38	
5	45243	B <sub>1,4</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	1 ← 4,3 → 6	6 → S		2,6	nex	6,63	0,00	5	4592	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		2,3,6	nex	1,89	0,38	
5	4632	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,2,6	exs	6,81	0,00	5	4616	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 ← 6			4	nex	1,94	0,35	
5	4793	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,2,6	exs	6,89	0,00	5	4769	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		2,3,6	nex	1,95	0,34	
5	4860	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	2,6	exa	6,91	0,00	5	4810	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> tt	4 → 6			1,2,6	exs	1,96	0,34	
5	4956	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	6,95	0,00	5	49104	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		2,3,6	nex	1,99	0,32	
5	5020	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	1 ← 4,3 → 6	6 → S		1,3	exs	6,97	0,00	5	5039	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			1,3,6	nex	2,03	0,30	
5	5151	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,2,3,6	exs	6,99	0,00	5	5157	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		3,4,6	nex	2,08	0,28	
5	5272	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	7,04	0,00	5	52112	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>		6 → S		3,4,6	nex	2,08	0,27	
5	5342	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				2,6	nex	7,08	0,00	5	53113	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			1,2,6	exs	2,12	0,26	
5	54104	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	7,16	0,00	5	54101	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> tt	4 → 6			3,4	nex	2,19	0,23	
5	5586	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	7,17	0,00	5	5521	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			3,6	nex	2,24	0,21	
5	5649	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,3,6	exs	7,17	0,00	5	561	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			3	nex	2,29	0,19	
5	57112	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	4,6	nex	7,24	0,00	5	5789	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			1,2,6	exs	2,32	0,18	
5	5864	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	1,3	exs	7,25	0,00	5	5841	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			2	exa/endo	2,70	0,10	
5	5936	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	1,3	exs	7,35	0,00	5	5937	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>+</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	6 → S			2,6	exa/endo	2,82	0,08	
5	60888	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> tt	4 → 6			2,6	exs	7,52	0,00	5	6087	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>+</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			3,6	nex	2,84	0,08	
5	61123	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4	exs	7,67	0,00	5	6194	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			1,2,6	exs	2,84	0,08	
5	62115	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,3,6	exs	7,76	0,00	5	6235	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> tt	4 → 6			2,6	nex	3,07	0,05	
5	63113	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				3,4,6	nex	7,92	0,00	5	6373	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> tt	4 → 6			2,6	nex	3,65	0,02	
5	6485	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> ← g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	8,07	0,00	5	6496	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> tt	4 → 6			2,6	nex	3,65	0,02	
5	65128	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> tt	4 → 6	6 → S		6	exa/endo	8,13	0,00	5	65128	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> tt	4 → 6			2,6	exa/endo	3,97	0,01	
5	6687	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>+</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				2,6	exa/endo	8,17	0,00	5	66117	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>+</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6			2,6	exa/endo	4,17	0,01	
5	6774	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	8,27	0,00	5	6777	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6			2,6	exa	4,59	0,00	
5	6873	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> g <sup>-</sup>	4 → 6	6 → S		2,6	nex	8,29	0,00	5	6860	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g <sup>+</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> g <sup>-</sup>	2 ← 4,3 → 6			2,6	exa	4,78	0,00	
5	6979	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	8,32	0,00	5	6999	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4			2	1,3,6	exs	4,83	0,00
5	70151	B <sub>1,4</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	1 ← 4,3 → 6	6 → S		1,2,6	exs	8,33	0,00	5	70118	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g <sup>+</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6			2	2,3	exa	4,87	0,00
5	7108	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	8,35	0,00	5	7195	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4			2	1,3,6	exs	4,93	0,00
5	72117	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> tt	4 → 6	6 → S		6	exa/endo	8,69	0,00	5	72119	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4			2	1,3,6	exs	5,17	0,00
5	7363	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t <sup>-</sup> g <sup>-</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>+</sup> → g <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>				1,4,6	exs	8,77	0,00	5	7375	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g <sup>+</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4			2	2,3,6	exa	5,43	0,00
5	7499	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4	6 → S	2	1,3,6	exs	8,81	0,00	5	7491	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6			2	1,6	exs	5,49	0,00
5	7559	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	1,3	exs	8,88	0,00	5	7536	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6			2	1,3	exs	5,53	0,00
5	7658	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup> tt	2 ← 4,3 → 6	6 → S	2	1,6	exs	8,95	0,00	5	7678	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6			2	1,6	exs	5,58	0,00
5	7795	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4	6 → S	2	1,3,6	exs	8,95	0,00	5	7764	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4,3 → 6			2	1,3	exs	5,59	0,00
5	7896	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g <sup>-</sup> → t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	4 → 6	6 → S	2	2,6	nex	8,98	0,00	5	7899	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> ← t <sup>-</sup> g <sup>+</sup> g <sup>+</sup>	2 ← 4			2	1,3,6	exs	5,71	0,00

Continuación.

Fase gaseosa										Disolución acuosa									
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>		
5	79119	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ g+ tg-	2 ← 4		2	1,3,6	8,99	0,00	5	79127	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ g+ tt	2 ← 4		2	1,3,6	exs	5,73	0,00	
5	8075	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ → g- g+ g+ tt	2 ← 4,3 → 6		2	2,6	8,99	0,00	5	80120	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t g+ t g+ g- g-	1 ← 4,3 ← 6		2	1,2,3	exs	6,04	0,00	
5	81118	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ → g- g+ g+ g-	2 ← 4,3 ← 6		2	2,3	9,42	0,00	5	8158	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ g+ tt	2 ← 4		2	1,3,6	exs	6,13	0,00	
5	82111	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t g- g- g+ g- t	1 ← 4,3 → 6		2	1,2,6	9,47	0,00	5	82124	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ tt	2 ← 4		2	1,3,6	exs	6,27	0,00	
5	8341	<sup>4</sup> C <sub>2</sub> t ← t g- tg-	4 → 6		3	1,2,6	9,49	0,00	5	8390	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t g- g+ g+ tg+	1 ← 4		2	1,2,3,6	exs	6,38	0,00	
5	84303	<sup>5</sup> S <sub>2</sub> t ← t g+ g+ tg+	4 → 6		3	1,3,4	10,07	0,00	5	84151	<sup>1</sup> S <sub>1</sub> t g- g- g+ g- g+	1 ← 4,3 → 6	6 → S		2	1,2,6	exs	6,39	0,00
5	8535	<sup>4</sup> C <sub>2</sub> t ← t g- tt	4 → 6		2	1,2,6	10,07	0,00	5	85111	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t g- g- g+ g- t	1 ← 4,3 → 6		2	1,2,6	exs	6,74	0,00	
5	8698	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> t ← t g+ → g- tg-	4 → 6		2	1,6	10,17	0,00	5	86188	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> g+ → g- g+ → g- tt	4 → 6		2	2,6	exs	6,96	0,00	
5	87124	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ → g- tt	2 ← 4		2	1,3,6	10,75	0,00	5	8798	<sup>1</sup> S <sub>1</sub> t g+ g- tg-	4 → 6		2	1,2,6	exs	7,22	0,00	
5	8805	<sup>1</sup> S <sub>5</sub> t ← t g+ → g- tt	4 → 6		2	1,6	10,89	0,00	5	88243	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> g- g- g- g+ g- g+	1 ← 4,3 → 6	6 → S		2	1,2,6	exs	7,30	0,00
5	8990	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t g- g+ g+ tg+	1 ← 4,3 ← 6		2	1,2,3	11,02	0,00	5	89105	<sup>1</sup> S <sub>1</sub> t g+ g- tt	4 → 6		2	1,2,3,6	exs	7,82	0,00	
5	90127	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ g+ tt	2 ← 4		2	1,3,6	11,43	0,00	5	90303	<sup>5</sup> S <sub>2</sub> t ← t g+ g+ tg+	4 ← 6		3	1,3,4	exs	7,95	0,00	

5-Tio-α-D-manopiranososa (6)																		
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	
6	18	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t tg+	4 ← 6	2 → S	2	1,2	0,00	79,91	6	169	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t g+ g+	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,00	6,95
6	22	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g- tg-	4 → 6	6 → S	2	1,6	1,62	5,20	6	231	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t tg+			2	1,2	exs	0,15	5,42
6	31	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g- tt	4 → 6	4 → S	2	1,6	1,97	2,86	6	365	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g+ g+	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,21	4,87
6	42	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t t ← t g+ g- g-	3 ← 6	4 → S	2	1,4	2,06	2,45	6	457	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g- g- g+	4 ← 6		2	1,2,4,6	exs	0,25	4,53
6	531	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t tg+	4 ← 6	6 → S	2	1,2	2,10	2,29	6	556	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g+ g- g+	4 ← 6		2	1,2,4,6	exs	0,31	4,12
6	657	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g- g- g+		2,6 → S	2	1,4,6	2,37	1,48	6	648	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t g- g+	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,33	4,00
6	741	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g+ g-	4 ← 6		2	1,2,6	2,56	1,07	6	729	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t g- g-	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,34	3,95
6	84	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → t ← t tg+		2,6 → S	2	1,3	2,69	0,85	6	830	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g- t	4 ← 6		2	1,2,4,6	exs	0,36	3,80
6	944	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g- g+		2 → S	2	1,2,6	2,73	0,80	6	949	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g- g+ g+	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,36	3,79
6	1030	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g- t		2 → S	2	1,2,6	2,80	0,70	6	1042	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t g+ t			2	1,2,6	exs	0,42	3,42
6	1139	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g+ t		2 → S	2	1,2,6	3,08	0,44	6	114	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → t ← t tg+	4 ← 6		2	1,3	exs	0,44	3,31
6	1265	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g+ g+		2 → S	2	1,2,6	3,12	0,41	6	1258	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t g- t	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,44	3,31
6	135	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g+ tg+	4 ← 6		2	1,4	3,14	0,40	6	138	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t tg+	4 ← 6		2	1,2	exs	0,46	3,20
6	1467	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g+ g- ← g- ← t tg+	4 ← 6		2	2	3,24	0,34	6	1427	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g+ g- g-	4 ← 6		2	1,4,6	exs	0,46	3,20
6	1518	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- t ← t tg+	4 ← 6		2	1,2,3	3,62	0,18	6	1541	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g+ g-	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,46	3,17
6	1663	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← t g+ tg+	3 ← 6	4 → S	2	1,4,6	3,90	0,11	6	1620	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → t ← t g- g+	4 ← 6		2	1,3,6	exs	0,48	3,09
6	1711	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g- g- t		2 → S	2	1,4,6	4,09	0,08	6	1745	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → t ← t g+ g+	4 ← 6		2	1,3,6	exs	0,49	3,04
6	1815	B <sub>1,4</sub> t g+ → g- g+ g- g+	1 ← 3,2 → 4,4 ← 6	1 → S	1	1	4,39	0,05	6	1811	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g- g- t	4 ← 6		2	1,2,4,6	exs	0,53	2,82
6	1921	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t g- ← t g+ g- g-	1 ← 4,3 ← 6,2 → 6	2 → S	2	1,2,6	4,66	0,02	6	1930	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g+ g+ t	4 ← 6		2	1,2,4,6	exs	0,54	2,78
6	2026	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- g+ → g- tg-	4 → 6	6 → S	2	1,2,6	4,79	0,02	6	2044	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g- g+	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,54	2,77
6	2129	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← g- ← t g+ g-	4 → 6	6 → S	2	1,2,6	4,80	0,02	6	2139	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g- ← g- ← t g+ g+	4 ← 6		2	1,2,6	exs	0,55	2,74
6	2216	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g+ g+ → g+ → g- tg-	4 → 6	6 → S	2	6	4,82	0,02	6	2214	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g- g- g-	4 ← 6		2	1,2,4,6	exs	0,63	2,40
6	2317	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t t ← t g- g- g-	3 ← 6	6 → S	2	1,4	4,86	0,02	6	235	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g- g- g-	4 ← 6		2	1,2,4,6	exs	0,64	2,34
6	2427	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g+ g- g-	4 → 6	6 → S	2	1,4,6	4,88	0,02	6	242	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g- tg-	4 → 6		2	1,2,6	exs	0,67	2,23
6	2510	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> g+ g+ → g+ → g- tt	4 → 6	6 → S	2	6	4,92	0,02	6	2532	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ g+ → g- g- t	4 → 6		2	1,2,4,6	exs	0,68	2,21
6	2614	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → g+ → g- g+ g-	4 → 6	6 → S	2	1,4,6	4,93	0,02	6	2613	<sup>4</sup> C <sub>1</sub> t g+ → t ← t g+ g-	4 → 6		2	1,3,6	exs	0,78	1,87

## Continuación.

Fase gaseosa						Disolución acuosa												
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib./	exo <sup>f</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib./	exo <sup>f</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>
6 2748	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t g- ← t g-g+		6 → S	2	1,2,6	exs	4,94	0,02	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ t ← t g+H		6 → S	2	1,2,3,6	exs	0,82	1,73
6 2820	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → t ← t g-g+		6 → S	2	1,3,6	exs	5,08	0,02	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → t ← t g-t		6 → S	2	1,3,6	exs	0,88	1,58
6 2956	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- → g+ → g- g-g+		6 → S	2	1,4,6	exs	5,09	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → g- tt		6 → S	2	1,2,6	exs	1,24	0,85
6 3028	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- → g- tt	4 → 6	2, 6 → S	2	1,2,6	exs	5,11	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t g+		4 → 6	2	1,2,3	exs	1,43	0,62
6 3123	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t ← t ← t g-g-	3 → 6		2	1,4	exs	5,12	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g+		4 → 6	2	1,2,3	exs	1,47	0,58
6 3238	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g+ → g- g-g+	2 ← 6, 1 → 4, 3 → 6	6 → S	2	1,3,6	exs	5,14	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← g- g- tt		4 → 6	2	1,2,6	exs	1,49	0,57
6 3313	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → t ← t g-g-		6 → S	2	1,3,6	exs	5,20	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g-g-		2, 6 → S	2	1,2,3,6	exs	1,54	0,52
6 3480	<sup>5</sup> S <sub>5</sub>	t g+ → t ← t g+	4 → 6		2	1,4	exa	5,20	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- g+ → g- tt		2 → S	2	1,2,6	exs	1,58	0,49
6 3524	B <sub>1,4</sub>	g+ g+ → g- t g-g+	2 ← 6, 1 → 4, 3 → 6	6 → S	2	1,6	exa	5,28	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g-t		2 → S	2	1,2,3,6	exs	1,61	0,46
6 36147	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t g- → g- g-g+	1 ← 4, 3 → 6		2	1,2,6	exs	5,31	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- g- tt		2 → S	2	1,2,3,6	exs	1,66	0,42
6 3769	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t g-g+		6 → S	2	1,2,6	exs	5,42	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g+H		2 → S	2	1,2,3,6	exs	1,68	0,41
6 3842	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t g- ← t g+H		2	2	1,2,6	exs	5,46	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- g+ → g- tt		2, 6 → S	2	1,2,6	exs	1,90	0,28
6 3953	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g+ → g- g-g-	3 → 6		2	1,4	exa	5,52	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← g- g- tt		6 → S	2	1,2,6	exs	2,03	0,23
6 4066	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g+ → g+ → g- g-g+		6 → S	2	4, 6	exa/endo	5,65	0,01	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g+ → g- g-g+		6 → S	2	2,4,6	exa/endo	2,25	0,16
6 4160	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ → t ← t g-g-	3 → 6		2	1,4	exa	5,83	0,00	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- g- tt		2, 6 → S	2	1,2,3,6	exs	2,29	0,14
6 4264	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- ← g- g- tt	4 → 6	2 → S	2	1,2,6	exs	5,87	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t g- g-g-		6 → S	2	1,2,3,4,6	exs	2,42	0,12
6 4354	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g- ← t g- g-	3 → 6, 1 → 4, 2 → 6	2 → S	2	4	exa	5,91	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ t ← t g-g-	3 → 6			1,2,4	exa	2,54	0,10
6 4458	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← g- ← t g-t		2 → S	2	1,2,6	exs	5,99	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ t ← t g- g-g-	3 → 6			1,2,4	exa	2,56	0,09
6 4550	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → g+ → g- g+H		2	2	D	exs	6,13	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t ← t g- g-g-	3 → 6			1,2,4	exs	2,66	0,08
6 4646	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g- ← t g-g-	3 → 6, 1 → 4, 2 → 6	2 → S	2	4	exa	6,17	0,00	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- ← g- ← t g+	3 → 6			2	exa/endo	2,67	0,08
6 4775	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g-g-		2, 6 → S	2	1,2,3,6	exs	6,18	0,00	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t t g-g-	3 → 6			1,4	exs	2,67	0,08
6 4819	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → t ← t g+H			2	1,3,6	exs	6,19	0,00	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t t g-g-	3 → 6			1,2,4	exs	2,69	0,07
6 4945	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → t ← t g-g+			2	1,3,6	exs	6,20	0,00	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t t g-g-	3 → 6			1,2,4	exs	2,72	0,07
6 5034	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t g+			2	1,2,3	exs	6,21	0,00	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t g- tt	4 → 6			1,2,3,4,6	exa	2,74	0,07
6 5149	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → g+ → g- g-g+	4 → 6		2	1,4,6	exs	6,22	0,00	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g+ → g- g-	4 → 6			2, 6	exa/endo	2,75	0,07
6 5236	<sup>5</sup> S <sub>5</sub>	t ← t ← t t g+	4 → 6		2	1,4	exs	6,22	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t g+ tt		4 → S	2	1,2,3,6	exs	2,77	0,06
6 5352	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t ← t t g- tt	3 → 6		2	1,4	exs	6,41	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t ← t t g- tt	4 → 6			1,2,4,6	exs	3,08	0,04
6 5481	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ ← t ← t g- tt	3 → 6		2	1,4,6	exs	6,44	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g+ → g- tt	4 → 6			1,2,3,4,6	exs	3,10	0,04
6 5561	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- ← g- g- tt	4 → 6	2, 6 → S	2	1,2,6	exs	6,44	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t g+ tt	4 → 6			2, 6	exa/endo	3,13	0,04
6 5632	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ → g+ → g- g+H			2	1,4,6	exs	6,52	0,00	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g+ → g- tt	4 → 6			1,2,4	exa	4,42	0,00
6 5779	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g-		2 → S	2	1,3,6	exs	6,64	0,00	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	g+ t ← t t g+	4 → 6			1,2,3,6	exs	4,58	0,00
6 5837	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g+H		2 → S	2	1,3,6	exs	6,65	0,00	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t t ← t t g+	4 → 6			1,4	exs	4,84	0,00
6 5978	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- t ← t g+H		2 → S	2	1,2,3,6	exs	6,81	0,00	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t g- → g- g-	2 ← 6			1,6	exs	6,04	0,00
6 6074	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t ← t t g+	3 → 6		2	1,4	exs	6,83	0,00	<sup>2</sup> S <sub>8</sub>	t g+ t g-g-	2 ← 6			1,2,3,4	exs	7,21	0,00
6 6171	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t ← t t g-g-		6 → S	2	1,4,6	exs	6,92	0,00	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g+ → g- g-g+	2 ← 6, 1 → 4, 3 → 6			2,4	exa	7,71	0,00
6 62126	<sup>6</sup> S <sub>2</sub>	t g+ → g+ → g- tt	4 → 6		2	1,6	exs	7,47	0,00	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g+ → g- g-g+	2 ← 6, 1 → 4, 3 → 6			2,4	exa	7,73	0,00
6 6370	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	t t ← t t g- tt	4 → 6		2	1,6	exs	7,95	0,00	B <sub>1,4</sub>	t g+ → g- g-g+	1 ← 4, 3 → 6			1,6	exs	7,76	0,00
6 6455	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t ← t g- g- tt	4 → 6		2	1,2,6	exs	8,06	0,00	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t g- → g- g-g+	3 → 6, 1 → 4, 2 → 6			1,6	exa	7,84	0,00
6 6576	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t t ← t t g- tt			2	1,4,6	exs	8,15	0,00	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g- t g-g-g-	3 → 6, 1 → 4, 2 → 6			3,4	exa	8,13	0,00
6 66119	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t g- g+ → g- g-	1 ← 4, 3 → 6, 2 → 6	1 → S	2	1,3	exs	8,39	0,00	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g- t g-g-	3 → 6, 1 → 4, 2 → 6			3,4	exa	8,13	0,00
6 6751	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← g- g- tt	4 → 6	6 → S	2	1,2,6	exs	8,63	0,00	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t g- t g+ g-g-	1 ← 4, 3 → 6, 2 → 6			1,3	exs	8,22	0,00

Continuación.

Fase gaseosa						Disolución acuosa								
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	% <sup>f</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	% <sup>f</sup>
6 68873	B <sub>3,5</sub>	t g+ → t ← t g-g-	2 ← 6	1,3	exs	11,17	6 68119	S <sub>3</sub>	t g- g+ g+ g-g-	1 ← 4,3 ← 6, 2 → 6	1 → S	1,3	exs	8,87
7 18	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- g- g+g-	1 ← 3,2 → 4,4 → 6	1,6	exs	0,00	7 123	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t ← t g-g+	6 → S	6 → S	1,2,6	exs	0,00
7 25	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← t ← t ← t lg-	4 → 6	1	exs	0,74	7 232	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t ← t g-g-			1,2,6	exs	0,67
7 31	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g+g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	3,6	exa/endo	1,12	7 35	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t ← t lg-	4 ← 6	4 ← 6	1,2,3	exs	0,91
7 46	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- g- g+g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1,6	exs	1,12	7 424	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t ← t g-t			1,6	exs	0,96
7 515	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- ← t ← t ← t lg-	4 → 6	1	exa	1,24	7 515	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- t t ← t lg-	4 ← 6	4 ← 6	1,2,3	exa	1,04
7 64	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g- g+g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	3,6	exa/endo	1,63	7 638	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t ← t ← t g+H			1,2,3,6	exs	1,05
7 738	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← t ← t ← t g+H	4 → 6	1,6	exs	2,08	7 749	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t g+ → g+ tg+	4 → 6	4 → 6	1,2,6	exs	1,89
7 833	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← t ← t ← t g-g+	6 → S	1,6	exs	2,10	7 850	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g- → g+ → g+ tg+	4 → 6	4 → 6	1,6	exa	1,97
7 935	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ g+g+	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1,2	exs	2,51	7 928	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- → g+ → g+ tg+	4 → 6	4 → 6	1,6	exs	2,18
7 1054	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t g+g+	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1,4	exs	2,60	7 1051	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g- → g+ → g+ tt	4 → 6	4 → 6	1,6	exa	2,54
7 1120	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- t g+g+	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1	exs	2,72	7 1153	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t g+ → g+ tt	4 → 6	4 → 6	1,2,6	exs	2,56
7 1234	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ → g- → g+ → g+ tg+	4 → 6	6	nex	2,81	7 1241	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g+ → g- tg-	4 ← 6	4 ← 6	1,2,4	nex	2,67
7 132	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g+H	1 → 3,2 → 4,4 → 6	3,6	exa/endo	2,85	7 1327	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t g-g+	1 → 3,2 → 4	6 → S	3,4,6	exa/endo	2,75
7 149	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g+ g- g- g+g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1,6	nex	2,93	7 1431	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t g- → g+ → g+ tt	4 → 6	4 → 6	1,6	exs	2,76
7 1545	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ → g- → g+ → g+ tt	4 → 6	6	nex	2,93	7 1534	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g+ → g+ tg+	4 → 6	4 → 6	1,2,6	nex	2,80
7 1618	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g- g+H	1 → 3,2 → 4,4 → 6	3,6	exa/endo	3,46	7 1632	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t g+ g- t g-t	1 → 3,2 → 4	1 → S	1,4,6	exs	2,85
7 1750	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g+ g- g- g+g-	4 → 6	1,6	exa	3,94	7 17195	<sup>2</sup> S <sub>8</sub>	t t ← t ← t lg-	1 → S	1 → S	1,2,3	exs	2,93
7 1851	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g- g- g+ → g+ g-	4 → 6	1,6	exa	4,00	7 181	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g+g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	3,6	exa/endo	3,00
7 1941	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ → g- → g+ → g+ g-	4 → 6	4	nex	4,06	7 1937	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ g-	1 → 3,2 → 4	1 → S	1,2,6	exs	3,06
7 2030	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t g-g+	1 → 3,2 → 4	1,4,6	exs	4,09	7 2025	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t tt	1 → 3,2 → 4	1 → S	1,4,6	exs	3,11
7 2125	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t tt	1 → 3,2 → 4	1,4,6	exs	4,22	7 214	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g- g+g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	3,6	exa/endo	3,14
7 2240	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ lg-	1 → 3,2 → 4	1,2,6	exs	4,32	7 2221	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t tt	1 → 3,2 → 4	6 → S	3,4,6	exa/endo	3,15
7 2332	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← t ← t ← t g-g-	1 → 3,2 → 4	1,6	exs	4,52	7 238	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- g- g+g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1,6 → S	1,6	exs	3,17
7 2411	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+ g+g+	2 → 4,1 → 3,4 → 6	2,3	exa/endo	4,54	7 2430	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t g-g+	1 → 3,2 → 4	1 → S	1,4,6	exs	3,19
7 2522	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ g+ g+g+	2 → 4,1 → 3,4 → 6	2,3	exa/endo	4,59	7 2529	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ g+g+	1 → 3,2 → 4	1,6 → S	2	exs	3,25
7 2624	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← t ← t ← t g-t	1 → 3,2 → 4	1,6	exs	4,60	7 262	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g+H	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	3,6	exa/endo	3,28
7 2752	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t g-t	1 → 3,2 → 4	1,4,6	exs	4,79	7 2747	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+ g-g+	2 → 4,1 → 3	6 → S	2	exa/endo	3,31
7 2895	<sup>2</sup> S <sub>8</sub>	t ← t ← t ← t lg-	4 → 6	1,2	exs	4,87	7 2845	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g- g+ → g+ tt	4 → 6	4 → 6	1,2,6	nex	3,36
7 2929	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ g+g+	1 → 3,2 → 4	1,2,6	exs	4,92	7 2940	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ lg-	1 → 3,2 → 4	1 → S	2	exs	3,41
7 3028	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- g- g+ → g+ g+	1 → 3,2 → 4	1,6	exs	4,97	7 3054	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t g+g+	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1,2 → S	1,6	exs	3,43
7 3131	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- g- g+ → g+ tt	4 → 6	1,6	exs	5,10	7 316	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- g- g+H	1 → 3,2 → 4,4 → 6	1,2 → S	1,4	exs	3,43
7 3236	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t ← t g- g+g-	4 → 6	1,3,6	exs	5,13	7 3217	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t g+g+	1 → 3,2 → 4,4 → 6	2 → S	3,4	exa/endo	3,44
7 3312	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ g- g+g-	2 → 4,4 → 6	1,3,6	exs	5,20	7 3339	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ tt	1 → 3,2 → 4	1 → S	2	exs	3,46
7 3437	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ g- g-t	1 → 3,2 → 4	1,2,6	exs	5,28	7 3444	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t t g+ g+g+	2 → 4,1 → 3	6 → S	2	exa/endo	3,47
7 3539	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ tt	1 → 3,2 → 4	1,2,6	exs	5,32	7 3557	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+ tt	2 → 4,1 → 3	6 → S	2	exa/endo	3,49
7 3619	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+ g+g+	2 → 4,1 → 3,4 → 6	2,3	exa/endo	5,51	7 3618	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g- g+H	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	3,6	exa/endo	3,57
7 3717	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t g+g+	1 → 3,4 → 6	3,4	exa/endo	5,58	7 3748	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ tt	2 → 4,1 → 3	2	2,3,6	exa/endo	3,62

5-Tio-α-L-idopiranosas (7)

Continuación.

Fase gasosa										Disolución acuosa									
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib./	exo <sup>f</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib./	exo <sup>f</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>
7 3826	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- tt	1 → 3,2 → 4	6 → S	2	3,4,6	exa/endo	5,66	0,00	7 3846	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+ tt	2 ← 4, 1 → 3	1 → S	2	2,3,6	exa/endo	3,65	0,09
7 3910	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ g+g+	2 ← 4, 1 → 3,4 ← 6	6 → S	2	2,3	exa/endo	5,70	0,00	7 3938	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+ g+g+	1 → 3,2 → 4	1 → S	2	1,2	exs	3,66	0,09
7 40319	<sup>4</sup> B <sub>3,5</sub>	t g- g+ → g+ g+g-	4 → 6	6 → S	2	1,6	exs	5,85	0,00	7 4026	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g- tt	1 → 3,2 → 4	1 → S	2	3,4,6	exa/endo	3,74	0,08
7 4149	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t ← t g+ → g+ g+g-	4 → 6	6 → S	2	1,6	exs	5,94	0,00	7 4110	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ g+g+	2 ← 4, 1 → 3,4 ← 6	1 → S	2	2,3	exa/endo	3,75	0,08
7 42410	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t g+ g- ← t g+g-	2 → 6	1 → S	2	1,3,6	exs	5,99	0,00	7 4211	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+ g+g+	2 ← 4, 1 → 3,4 ← 6	1 → S	2	2,3	exa/endo	3,76	0,07
7 4353	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t ← t g+ → g+ tt	4 → 6	6 → S	2	1,6	exs	6,07	0,00	7 4320	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t g- g+ g+g+	1 → 3,2 → 4, 4 ← 6	1 → S	2	1	exs	3,76	0,07
7 4421	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t tt	1 → 3,2 → 4	6 → S	2	3,4,6	exa/endo	6,18	0,00	7 4419	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+ g+g+	2 ← 4, 1 → 3,4 ← 6	1 → S	2	2,3	exa/endo	3,83	0,07
7 4546	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+ tt	2 ← 4, 1 → 3	6 → S	2	2,3,6	exa/endo	6,27	0,00	7 4522	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ g+ g+g+	2 ← 4, 1 → 3,4 ← 6	1 → S	2	2,3	exa/endo	3,86	0,06
7 4627	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t g+g+	1 → 3,2 → 4	6 → S	2	3,4,6	exa/endo	6,32	0,00	7 4656	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g+g+	1 → 3,2 → 4	6 → S	2	3,4,6	exa/endo	3,93	0,06
7 47323	<sup>3</sup> S <sub>5</sub>	t g- g+ → g- tt	4 → 6	6 → S	2	1,6	exs	6,40	0,00	7 47323	<sup>2</sup> S <sub>5</sub>	t g- g+ g- tt	1 → 3,2 → 4	6 → S	2	1,3,6	exs	3,98	0,05
7 4833	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ g- g+g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,3,6	exs	6,40	0,00	7 4812	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ g- g+g-	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,3,6	exs	4,05	0,05
7 4947	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+ g- g+g+	2 ← 4, 1 → 3	6 → S	2	2,3,6	exa/endo	6,57	0,00	7 4936	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t t t g- g+g-	4 → 6	6 → S	2	1,2,3,6	exs	4,12	0,04
7 5056	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g- g+g+	1 → 3,2 → 4	6 → S	2	3,4,6	exa/endo	6,60	0,00	7 5033	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ g- g+g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,3,6	exs	4,17	0,04
7 5157	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t t g+ tt	2 ← 4, 1 → 3	6 → S	2	2,3,6	exa/endo	6,81	0,00	7 5143	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ g+ g+g+	2 ← 4, 4 → 6	1 → S	2	1,2,3	exs	4,43	0,02
7 5234	<sup>1,4</sup> B	t g+ t ← t g+g-	2 → 6	1,6 → S	2	1,3,6	exs	7,09	0,00	7 520	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g+ g- g- g+g-	1 → 3,2 → 4, 4 ← 6	6 → S	2	1,6	nex	4,79	0,01
7 5344	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ g+g+	2 ← 4, 1 → 3	6 → S	2	2,3,6	exa/endo	7,10	0,00	7 5334	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t g+ t t g+g-	2 → 6	1,6 → S	2	1,3,6	exs	5,79	0,00
7 5448	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ tt	2 ← 4, 1 → 3	6 → S	2	2,3,6	exa/endo	7,32	0,00	7 5410	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t g+ g- t g+g-	2 → 6	1 → S	2	1,3,4,6	exs	6,09	0,00
7 5543	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ g+ g+g+	2 ← 4, 4 → 6	1 → S	2	1,2,3	exs	7,93	0,00	7 55219	<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t g- g+ → g+ g+g-	4 → 6	6 → S	2	1,2,6	exs	6,76	0,00
7 56304	<sup>3</sup> S <sub>5</sub>	t t g- t g+g+	3 → 5, 2 ← 4, 4 ← 6	1,3 → S	2	1,3	exs	7,99	0,00	7 56504	<sup>3</sup> S <sub>5</sub>	t t g- t g+g+	2 ← 4, 4 → 6	1,3 → S	2	1,3	exs	9,80	0,00

6-Desoxi-5-tio-α-L-idopiranosas (8)

8 1	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t ← t ← t ← t ← t					exs	0,00	41,08	8 1	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t t t ← t					exs	0,00	33,66
8 231	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- t g- t					exa	0,38	21,48	8 231	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g- t t ← t					exa	0,06	30,22
8 3	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t	1 ← 3,2 → 4				exs	0,50	17,56	8 321	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t t g+ → g-					exs	0,95	6,73
8 49	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- g-	1 → 3,2 → 4				exs	0,74	11,84	8 437	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ → g-					exa	1,02	6,04
8 525	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+	1 → 3,2 → 4		2	1,2	exs	1,29	4,66	8 527	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ → g-					exa	1,06	5,62
8 638	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+	1 → 3,2 → 4		2	1,2	exs	1,94	1,55	8 619	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ → g-					exa	1,18	4,58
8 723	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g+ → g- → g+ → g-			4		nex	2,61	0,51	8 723	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g+ g- g+ → g-					nex	1,65	2,07
8 811	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ g+	2 ← 4, 1 → 3		2	2,3	exa/endo	3,18	0,19	8 84	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t	1 → 3,2 → 4				exa/endo	1,94	1,26
8 94	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t	1 → 3,2 → 4		3	3,4	exa/endo	3,18	0,19	8 93	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g- t	1 → 3,2 → 4				exs	2,08	1,00
8 107	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+	2 ← 4, 1 → 3		2	2,3	exa/endo	3,26	0,17	8 107	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+	2 ← 4, 1 → 3		2	2,3	exa/endo	2,10	0,97
8 1116	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g-	1 → 3,2 → 4		3	3,4	exa/endo	3,38	0,14	8 1148	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g+ g- g- ← t					nex	2,10	0,97
8 1244	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g+ → g- → g+ → g+			4		nex	3,63	0,09	8 1225	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- g+	1 → 3,2 → 4		2	1,2	exs	2,21	0,81
8 1310	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+	2 ← 4, 1 → 3		2	2,3	exa/endo	3,64	0,09	8 1317	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ t	1 → 3,2 → 4		2	3,4	exa/endo	2,30	0,69
8 1412	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g+ g+ g+	1 → 3,2 → 4		1	1,4	nex	3,69	0,08	8 1469	<sup>2</sup> S <sub>5</sub>	t t ← t g+					exs	2,36	0,63
8 1522	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+ g+ g- g-	1 → 3,2 → 4		1	1,4	nex	3,79	0,07	8 1542	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	t g+ → g+					exs	2,39	0,59
8 1617	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ t	1 → 3,2 → 4		3	3,4	exa/endo	3,82	0,07	8 1611	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ g+	2 ← 4, 1 → 3		2	2,3	exa/endo	2,43	0,56
8 178	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+	2 ← 4, 1 → 3		2	2,3	exa/endo	3,89	0,06	8 178	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+	2 ← 4, 1 → 3		2	2,3	exa/endo	2,47	0,52
8 1827	<sup>4</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ → g-			1	1,4	exa	3,90	0,06	8 1838	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t g- g+					exs	2,53	0,47
8 1948	<sup>3</sup> S <sub>5</sub>	t t ← t t			1		exs	4,02	0,05	8 1948	<sup>2</sup> S <sub>5</sub>	t t ← t t					exs	2,56	0,45

Continuación.

Fase gaseosa								Disolución acuosa								
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	% <sup>f</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>
8	2045	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ → g- → g- ← t			3	nex	4,18	8	2010	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g- g+ g+			2	2,3	exa/endo	2,62
8	2119	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g- → g+ → g-			1,4	exs	4,61	8	2139	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g- → g+ g+				1,3,4	exs	2,63
8	2224	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ g- g- g+	1 ← 3,2 ← 4		2	nex	4,83	8	2234	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ t		2 → S		1,3,4	exs	2,96
8	2369	<sup>2,5</sup> B t ← t g+		1,4 → S	1,4	exs	5,03	8	2328	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g- g+ g+		4 → S	2	1,2,3	exs	3,10
8	2421	<sup>4</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ → g-			1,4	exs	5,18	8	2444	<sup>4</sup> C <sub>4</sub> g+ g- g+ g+				1,2,3,4	nex	3,12
8	2537	<sup>4</sup> C <sub>4</sub> g- ← t g+ → g-			1,4	exa	5,44	8	2516	<sup>4</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ g-	1 → 3,2 → 4			3,4	exa/endo	3,12
8	2641	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ t g- g+	1 ← 3,2 ← 4		2	nex	5,67	8	2640	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t t g+ g+	2 ← 4		2	1,2,3	exs	3,15
8	2739	<sup>4</sup> C <sub>4</sub> t g- → g+ → g+			1,4	exs	5,72	8	279	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g- g-	1 ← 3,2 → 4			1,4	exs	3,47
8	2842	<sup>4</sup> C <sub>4</sub> t ← t g+ → g+			1,4	exs	6,10	8	2830	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t t t				1,2,3,4	exs	3,49
8	2981	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> t t ← t		1 → S	1,2,3	exs	6,27	8	2912	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ g+ g- t	1 ← 3,2 → 4			1,4	nex	3,65
8	3035	<sup>4</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ g-	2 → 4		1,3,4	exs	6,33	8	3035	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ g-	2 → 4			1,3,4	exs	3,88
8	3128	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g- g+ g+	2 ← 4		2	exs	6,49	8	3124	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ g- g- g+	1 ← 3,2 ← 4		2	1,2	nex	3,95
8	3243	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t ← t g-			1,3,4	exs	6,55	8	3241	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ t g- g+	1 ← 3,2 ← 4		2	1,2	nex	4,03
8	33120	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> t g- g+ → g-	2 ← 4	1 → S	1,2,4	exs	6,58	8	3343	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t t g-				1,2,3,4	exs	4,34
8	3440	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ g+			2	exs	6,65	8	3422	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g+ g+ g- g-	1 ← 3,2 → 4			1,4	nex	4,54
8	3534	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ t	2 → 4		1,3,4	exs	6,89	8	35120	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> t g- g+ → g-		1 → S		1,2,4	exs	5,13
8	3630	<sup>5</sup> S <sub>1</sub> t ← t t		1 → S	1,3,4	exs	6,92	8	3681	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> t t ← t		1 → S		1,2,3	exs	5,16
8	37104	<sup>5</sup> S <sub>5</sub> t g- ← t		1,3 → S	2	exs	7,28	8	37121	B <sub>1,4</sub> t t g- t		1,3 → S		1,2,3,4	exs	5,36
8	38121	<sup>3</sup> S <sub>1</sub> t g- t	2 ← 4		1,2,3	exs	7,77	8	38104	<sup>1</sup> S <sub>3</sub> t g- t		1 → S	2	1,2,3	exs	5,60
9	11	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t g- g+ g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	6	exa/endo	0,00	9	119	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t t t ← t g-	4 ← 6			1,2	exs	0,00
9	32	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ g- g+ g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	6	exa/endo	0,40	9	231	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g+	1 → 3,2 → 4			4,6	exa/endo	0,93
9	32	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t g- g+ t	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	6	exa/endo	1,75	9	329	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g-	1 → 3,2 → 4			4,6	exa/endo	1,23
9	48	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ g- g+ t	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S	6	exa/endo	2,23	9	41	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t g- g+ g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S		6	exa/endo	1,25
9	519	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t ← t t ← t g-	4 ← 6		1	exs	2,30	9	517	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g- g+	1 → 3,2 → 4	6 → S		4,6	exa/endo	1,26
9	64	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ t g- g+	2 → 4,4 → 6	1 → S	1,6	exs	2,51	9	612	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g-	1 → 3,2 → 4	6 → S		4,6	exa/endo	1,44
9	740	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- t t g+ g+ g+	2 ← 4,1 → 3,4 ← 6		2	exa/endo	3,31	9	728	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- t t g+ g-	2 ← 4,1 → 3		2	2	exa/endo	1,57
9	86	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ g+ g+	2 ← 4,1 → 3,4 ← 6		2	exa/endo	3,33	9	82	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t g- g+ t	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S		6	exa/endo	1,63
9	106	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ t g- g+	2 → 4,4 → 6	1 → S	1,6	exs	3,77	9	93	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ g- g+ g-	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S		6	exa/endo	1,64
9	117	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g- g+ g+ g+ g+	2 → 4,1 → 3,4 ← 6		2	exa/endo	4,36	9	107	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ g- g+ g-	2 → 4,4 → 6	1 → S		1,6	exs	1,65
9	1211	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g+ g+	1 → 3,4 ← 6	2 → S	4	exa/endo	4,44	9	1132	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ t t	1 → 3,2 → 4			4,6	exa/endo	1,70
9	1310	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g- t t g+ g+	2 → 4,1 → 3,4 ← 6		2	exa/endo	4,47	9	1222	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- t t g- g+ t	2 ← 4,1 → 3	6 → S		2,6	exa/endo	1,74
9	145	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t g- t t	1 → 3,2 → 4		6	exa/endo	4,53	9	1423	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g- t g+ g-	2 → 4,4 → 6	1 → S		1,6	exs	1,76
9	1518	B <sub>1,4</sub> t ← t g- g+ g-	2 ← 4,1 → 3		2	exa/endo	4,64	9	1514	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> t g+ g+ g- g+ g-	2 ← 4,1 → 3	6 → S		1,6	exs	1,86
9	1628	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ g+ g+	4 → 6	6 → S	1,6	exs	4,88	9	1610	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t g+ g+	1 → 3,2 → 4,4 → 6	2 → S		4	exa/endo	1,87
9	1739	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g+	1 → 3,2 → 4		4,6	exa/endo	4,99	9	1724	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t g+	2 ← 4,1 → 3	4 → S		2,6	exa/endo	1,88
9	1831	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ t t t	1 → 3,2 → 4		4,6	exa/endo	5,04	9	1820	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g- t g+ g+	2 ← 4,1 → 3	6 → S		2,6	exa/endo	1,89
9	1912	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ t t	1 → 3,2 → 4		4,6	exa/endo	5,16	9	198	<sup>1</sup> C <sub>4</sub> g- g+ g+ g- g+ t	1 → 3,2 → 4,4 → 6	6 → S		6	exa/endo	2,00

3-O-Metil-5-ito-α-L-idopiranososa (9)

Continuación.

Fase gaseosa										Disolución acuosa									
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámero	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámero	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>
9 2032	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t t g- g+	1 → 3, 2 → 4	6 → S	4,6	4,6	exa/endo	5,18	0,01	9 206	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g- g+ g+	2 ← 4, 1 → 3, 4 ← 6	1 → S	2	2	exa/endo	2,01	1,27
9 2117	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ g- g+ t	2 → 4, 4 → 6	1 → S	1,6	1,6	exs	5,21	0,01	9 219	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ t g- g+ t	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,6	exs	2,02	1,25
9 2214	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t t t g-	1 → 3, 2 → 4	1 → S	4,6	4,6	exa/endo	5,26	0,01	9 221	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ t t	2 ← 4, 1 → 3	2	2	2,6	exa/endo	2,06	1,16
9 2329	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+ t t	2 → 4, 1 → 3	6 → S	2	2,6	exa/endo	5,34	0,01	9 226	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+ t t	2 → 4, 1 → 3	2	2	2,6	exa/endo	2,16	0,99
9 2426	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+ g+ g+	2 → 4, 1 → 3	6 → S	2	2,6	exa/endo	5,36	0,01	9 2439	B <sub>1,4</sub>	t t t g- g+ g-	4 → 6	6 → S	2	1,2,6	exs	2,20	0,92
9 2522	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g- g+	1 → 3, 2 → 4	6 → S	2	2	exa/endo	5,38	0,01	9 255	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ g+ g+	2 → 4, 1 → 3, 4 ← 6	2	2	2	exa/endo	2,21	0,90
9 2630	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ t g-	2 → 4, 1 → 3	6 → S	2	2	exa/endo	5,47	0,01	9 2613	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ g+ g+ g+	2 → 4, 1 → 3, 4 ← 6	2	2	2	exa/endo	2,25	0,84
9 2723	<sup>1,4</sup> B	t g+ t ← t g+ g-	2 → 6	1,6 → S	1,6	1,6	exs	5,49	0,01	9 2725	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ t g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,4	exs	2,28	0,80
9 28092	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+ t t	2 → 4, 1 → 3	4 → S	2	2,6	exa/endo	5,52	0,01	9 2818	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- t t	1 → 3, 2 → 4	2	2	6	exa/endo	2,31	0,77
9 2924	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g- t g+ g- g+	2 → 4, 1 → 3	6 → S	2	2,6	exa/endo	5,85	0,00	9 2911	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- t t	2 → 4, 4 → 6	6 → S	2	2	exa/endo	2,33	0,74
9 3020	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- t g+ g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,2	exs	5,96	0,00	9 3030	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g- g- g+	1 → 3, 2 → 4	1 → S	2	1,2	exs	2,36	0,71
9 3115	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ t t g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	1,4	1,4	exs	5,96	0,00	9 3115	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- t g+ g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,2	exs	2,48	0,57
9 3225	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+ t t	2 → 4, 1 → 3	2 → S	2	2,6	exa/endo	6,04	0,00	9 3216	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ g+ g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,2	exs	2,49	0,57
9 3321	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ → g- g- g- g+	4 → 6	6 → S	2,6	2,6	nex	6,25	0,00	9 33192	<sup>1</sup> S <sub>3</sub>	t g+ t t g+ g-	2 → 6	1,6 → S	1,6	1,6	exs	3,07	0,21
9 34111	<sup>1</sup> S <sub>3</sub>	t t t ← t t g-	4 → 6	1 → S	1,2	1,2	exs	6,37	0,00	9 3497	<sup>2</sup> S <sub>8</sub>	t g- → g+ g- g+ g-	4 → 6	1 → S	1,6	1,6	exs	3,11	0,20
9 35304	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ g+ g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	2	1,2	exs	6,76	0,00	9 35304	<sup>1</sup> S <sub>3</sub>	t t t ← t t g-	4 → 6	1 → S	1,2	1,2	exs	3,34	0,13
9 3616	<sup>2</sup> S <sub>8</sub>	t g- → g+ g- g+ g-	4 → 6	1 → S	1,6	1,6	exs	7,32	0,00	9 36111	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g- g+ g- g+ g-	4 → 6	6 → S	1,2,6	1,2,6	nex	3,35	0,13
9 3797	<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	t g+ t g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1 → S	3	1,2	exs	11,27	0,00	9 37311	B <sub>1,4</sub>	t g+ t g+ g+	4 → 6	1 → S	3	1,2,4	exs	3,63	0,08
10 128	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t ← t t t ← t	1 → 3, 2 → 4	1 → S	1	1	exs	0,00	20,12	10 139	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t t ← t	1 → 3, 2 → 4	1 → S	1,2	1,2	exa	0,00	30,37
10 2	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g-	2 → 4, 4 → 6	4 → S	4	4	exa/endo	0,08	17,60	10 228	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t t t ← t	2 → 4, 4 → 6	1 → S	1,2	1,2	exs	0,05	27,76
10 339	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- t t t ← t	1 → 3, 2 → 4	1 → S	1	1	exa	0,16	15,35	10 322	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g- g+ t	2 → 4, 4 → 6	1 → S	1	1	exa	1,12	4,61
10 444	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+	2 → 4, 1 → 3	2 → S	2	2	exa/endo	0,47	9,02	10 431	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ t	2 → 4, 1 → 3	2	1,4	1,4	exa	1,12	4,57
10 51	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t t	1 → 3, 2 → 4	2 → S	4	4	exa/endo	0,49	8,78	10 51	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t t	1 → 3, 2 → 4	2	4	4	exa/endo	1,22	3,84
10 67	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ g+	2 → 4, 1 → 3	2 → S	2	2	exa/endo	0,51	8,54	10 625	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g+ t t	2 → 4, 1 → 3	2	1,2,4	1,2,4	exs	1,31	3,34
10 79	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g-	1 → 3, 2 → 4	2 → S	4	4	exa/endo	0,54	8,12	10 720	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- t t	2 → 4, 1 → 3	2	2	2	nex	1,51	2,39
10 842	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g-	1 → 3, 2 → 4	2 → S	4	4	exa/endo	1,03	3,52	10 834	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t t g+	2 → 4, 1 → 3	2	2	2	exa/endo	1,55	2,23
10 96	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+	2 → 4, 1 → 3	2 → S	2	2	exa/endo	1,04	3,46	10 929	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g+ g-	1 → 3, 2 → 4	2	1,2,4	1,2,4	nex	1,64	1,90
10 103	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+	2 → 4, 1 → 3	2 → S	2	2	exa/endo	1,09	3,20	10 1042	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ t	1 → 3, 2 → 4	2	4	4	exa/endo	1,64	1,89
10 111	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ t g-	2 → 4, 1 → 3	2 → S	1,4	1,4	exs	2,13	0,55	10 1110	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ t t	2 → 4	2	1,4	1,4	exs	1,71	1,69
10 1220	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ → g- t ← t	2 → 4	2 → S	2	2	nex	2,22	0,48	10 1240	<sup>2</sup> S <sub>8</sub>	t g- → g+ g+	1,4 → S	1,4 → S	1,4	1,4	exs	1,72	1,66
10 1310	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ t t	2 → 4	1,4 → S	1,4	1,4	exs	2,26	0,44	10 133	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- t g+	2 → 4, 1 → 3	2	2	2	exa/endo	1,77	1,54
10 1429	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ → g- g+ g-	2 → 4	2 → S	4	4	nex	2,88	0,16	10 1418	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t t g+	2 → 4, 1 → 3	2	1,2	1,2	exs	1,79	1,49
10 1514	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- t g+	2 → 4	2 → S	2	1,2	exs	3,04	0,12	10 157	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g+ g+	2 → 4, 1 → 3	2	2	2	exa/endo	1,85	1,33
10 1618	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t t g+	2 → 4	2 → S	2	1,2	exs	3,18	0,09	10 166	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g- g+ g+	2 → 4, 1 → 3	2	2	2	exa/endo	1,86	1,31
10 1724	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← t g- ← t	2 → 4	1 → S	1	1	exs	3,26	0,08	10 1716	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ t	2 → 4	2	1,4	1,4	exs	1,95	1,13
10 1817	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+ g-	2 → 4	2 → S	1,4	1,4	exs	3,46	0,06	10 1819	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ g+	2 → 4	2	1,2	1,2	exs	2,07	0,92
10 1922	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g- → g+ ← t	2 → 4	1 → S	1	1	exa	3,50	0,05	10 1913	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ g+	2 → 4	2	1,2	1,2	exs	2,08	0,91
10 2040	<sup>2</sup> S <sub>8</sub>	t g- → g+ g+	2 → 4, 4 → 6	1,4 → S	1,4	1,4	exs	3,51	0,05	10 2014	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- t g+	2 → 4	2	1,2	1,2	exs	2,16	0,79

3-Desoxi-O-metil-5-tio-α-L-idopiranosas (10)



## Continuación.

Fase gaseosa				Disolución acuosa													
no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>	no. <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	rotámetro	nady <sup>c</sup>	S int. <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup> OH lib./	exo <sup>g</sup>	ΔE <sup>h</sup>	% <sup>i</sup>
10 2135	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g-←t g-←t				1	3,74	0,04	10 212	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ t g-				4	2,24	0,70
10 2213	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g- g+ g+	2 ← 4		2	1,2	3,82	0,03	10 2241	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t g+ t				1,4	2,30	0,63
10 2319	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t t g+ g+	2 ← 4		2	1,2	3,88	0,03	10 2324	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- ← t				1,2	2,33	0,59
10 2478	<sup>1,4</sup> B	t g+ t ← t		1,2 → S		1,4	3,91	0,03	10 249	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g-				4	2,40	0,53
10 2516	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g+ g+ t	2 → 4			1,4	3,96	0,03	10 2527	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t t t				1,4	2,44	0,50
10 2631	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- g- → g+ g-				1,4	4,30	0,01	10 2635	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- t g- ← t				1,2	2,52	0,43
10 2799	<sup>1</sup> S <sub>3</sub>	t t ← t		1 → S		1,2	4,98	0,00	10 2711	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t g+ t g-				1,4	2,73	0,31
10 2877	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t ← t g+ g+	4 → S			1,4	5,04	0,00	10 2817	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t g+ g-				1,4	2,81	0,26
10 2925	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- → g+ g-				1,4	5,06	0,00	10 29129	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t g+ g-				1,4	3,01	0,19
10 3030	<sup>1</sup> S <sub>3</sub>	t g- g+ ← t		1 → S		1,2	5,33	0,00	10 3077	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t t g+ g+				1,2,4	3,30	0,12
10 3135	B <sub>1,4</sub>	t ← t t t				1,4	5,39	0,00	10 3199	<sup>1</sup> S <sub>3</sub>	t t ← t				1,2	4,10	0,03
10 3227	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- → g- ← t				1,4	5,49	0,00	10 3233	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	t g- → g- ← t				1	4,37	0,02
10 3333	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t g+ g-				1,4	5,85	0,00	10 3378	<sup>1,4</sup> B	t g+ t ← t				1,2	4,46	0,02
10 34129	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t ← t g+ t				1,4	6,62	0,00	10 34135	<sup>1</sup> S <sub>3</sub>	t g- g+ g-				1,2,4	5,32	0,00
10 3541	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	g- t g+ g+	2 ← 4, 1 → 3		3	2	9,44	0,00	10 35182	<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	g- t g+ g+				2	10,72	0,00

<sup>a</sup> Número de rotámetro según el orden de energía. <sup>b</sup> Conformación del anillo. <sup>c</sup> Interacciones entre hidroxilos no adyacentes. <sup>d</sup> Interacción de un hidroxilo con el azufre del anillo. <sup>e</sup> Grupo hidroxilo que presenta la interacción desestabilizante *hockey-sticks*. <sup>f</sup> Grupos hidroxilo con orientación favorable para interaccionar con las moléculas del disolvente. <sup>g</sup> Orientación del grupo OH anomérico conforme al efecto exoanomérico (exs: exo-sin, exa: exo-anti y nex: no exo). <sup>h</sup> Energía relativa en kcal/mol. <sup>i</sup> Porcentaje según la población de Boltzmann.

---

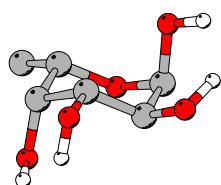
---

## APÉNDICE C

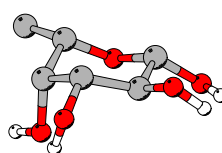
---

# COMPUESTOS ESTUDIADOS EN EL DOCKING

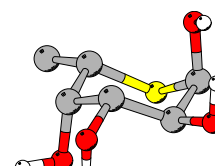
**Nota:** para una mayor claridad visual, los compuestos se ilustran sin los hidrógenos no polares.



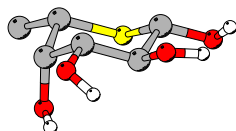
**1 (o2a)**  
 $\alpha$ -L-Fucopiranosas



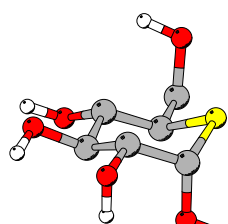
**2 (o2b)**  
 $\beta$ -L-Fucopiranosas



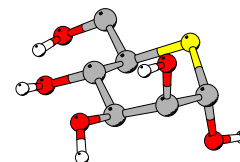
**3 (t2a)**  
5-Tio- $\alpha$ -L-fucopiranosas



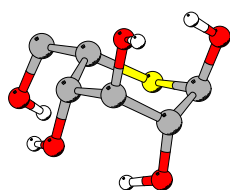
**4 (t2b)**  
5-Tio- $\beta$ -L-fucopiranosas



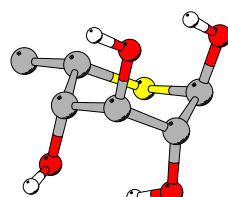
**5 (t1a)**  
5-Tio- $\alpha$ -D-glucopiranosas



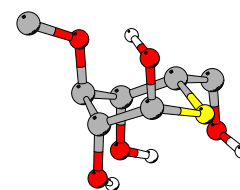
**6 (t9a)**  
5-Tio- $\alpha$ -D-manopiranosas



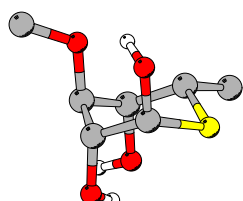
**7 (t3a)**  
5-Tio- $\alpha$ -L-idopiranosas



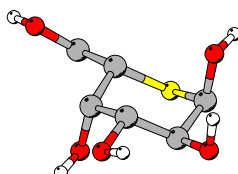
**8 (t6a)**  
6-Desoxi-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranosas



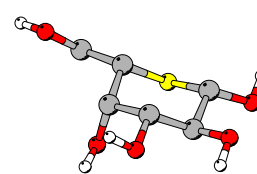
**9 (t4a)**  
3-O-Metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranosas



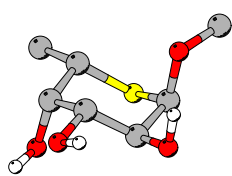
**10 (t7a)**  
6-Desoxi-3-O-metil-5-tio- $\alpha$ -L-idopiranosas



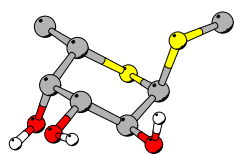
**11 (t32a)**  
5-Tio- $\alpha$ -L-galactopiranosas



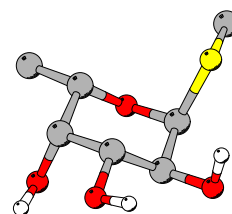
**12 (t32b)**  
5-Tio- $\beta$ -L-galactopiranosas



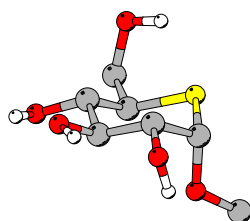
**13 (t33)**  
Metil 5-tio- $\alpha$ -L-fucopiranosido



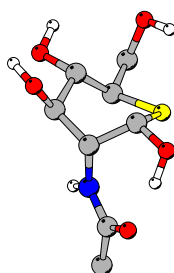
**14 (t34)**  
Metil 1,5-ditio- $\alpha$ -L-fucopiranosido



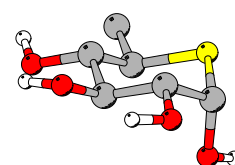
**15 (t35)**  
Metil 1-tio- $\alpha$ -L-fucopiranosido



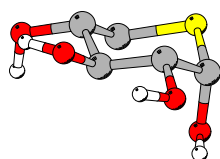
**16 (t10a)**  
Metil 5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranosido



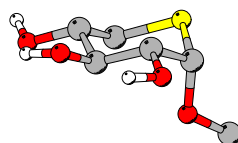
**17 (t16a)**  
2-Acetamido-2-desoxi-5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa



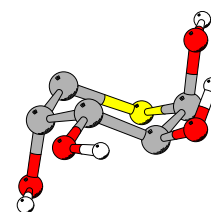
**18 (t18a)**  
6-Desoxi-5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa



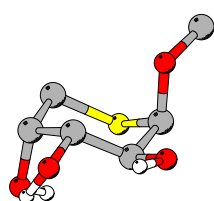
**19 (t11a)**  
5-Tio- $\alpha$ -D-xilopiranososa



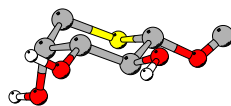
**20 (t12a)**  
Metil 5-tio- $\alpha$ -D-xilopiranosido



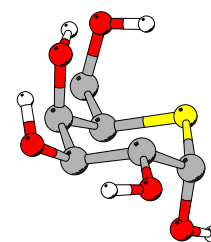
**21 (t13a)**  
5-Tio- $\alpha$ -D-arabinopiranososa



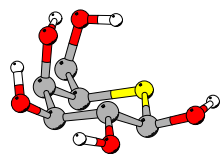
**22 (t14a)**  
Metil 5-tio- $\alpha$ -D-arabinopiranosido



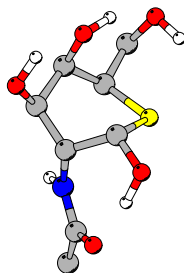
**23 (t14b)**  
Metil 5-tio- $\beta$ -D-arabinopiranosido



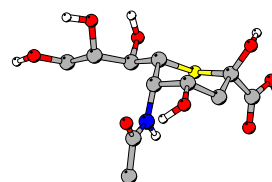
**24 (t15a)**  
5-Tio- $\alpha$ -D-galactopiranososa



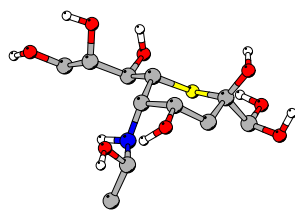
**25 (t15b)**  
5-Tio- $\beta$ -D-galactopiranososa



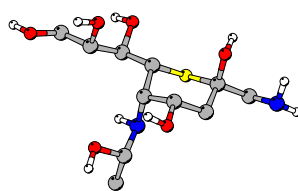
**26 (t17a)**  
2-Acetamido-2-desoxi-5-tio- $\alpha$ -D-galactopiranososa



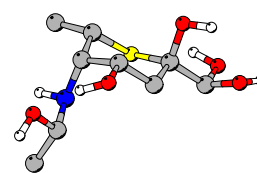
**27 (t19e)**  
Ác. 6-tiosialico (epímero 1)  
(Ác. 5-acetamido-3,5-didesoxi-6-tio-D-glicero-D-gulo-nonulosónico)



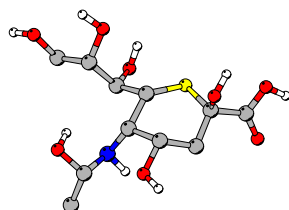
**28 (t19e1)**  
Análogo 1 del compuesto 27



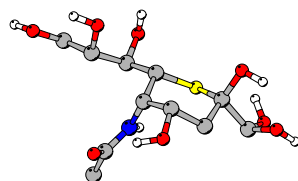
**29 (t19e1c)**  
Análogo 2 del compuesto 27



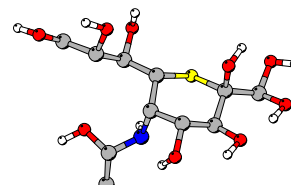
**30 (t19e1d)**  
Análogo 3 del compuesto 27



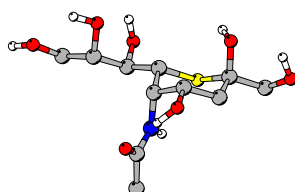
**31 (t19e2)**  
Análogo 4 del compuesto 27



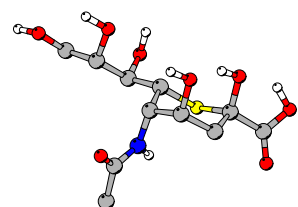
**32 (t19e3)**  
Análogo 5 del compuesto 27



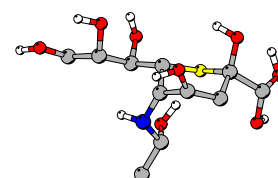
**33 (t19e4)**  
Análogo 6 del compuesto 27



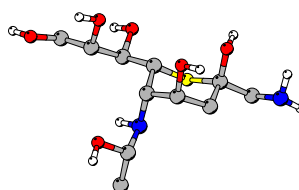
**34 (t19e5)**  
Análogo 7 del compuesto 27



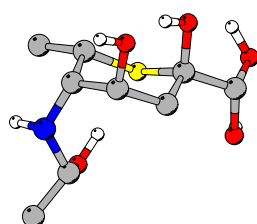
**35 (t19f)**  
Ác. 6-tiosialílico (epímero 2)  
(Ác. 5-acetamido-3,5-didesoxi-6-tio-D-  
glicero-D-ido-nonulosónico)



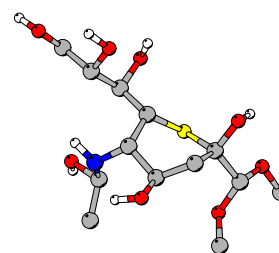
**36 (t19f1)**  
Análogo 1 del compuesto 35



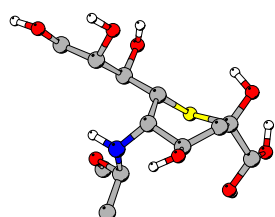
**37 (t19f1c)**  
Análogo 2 del compuesto 35



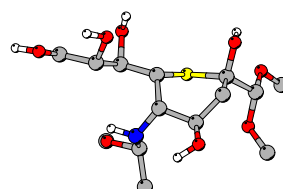
**38 (t19f1d)**  
Análogo 3 del compuesto 35



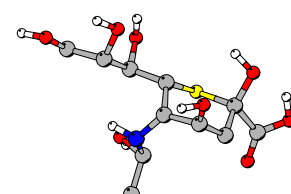
**39 (t19f1-OMe1)**  
Análogo 4 del compuesto 35



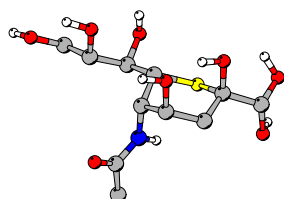
**40 (t19f1-OMe2)**  
Análogo 5 del compuesto 35



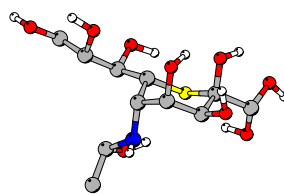
**41 (t19f1-OMe3)**  
Análogo 6 del compuesto 35



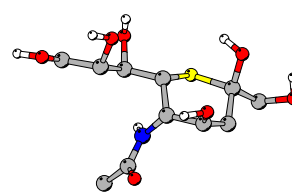
**42 (t19f2)**  
Análogo 7 del compuesto 35



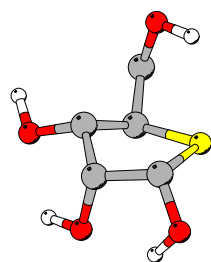
**43 (t19f3)**  
Análogo 8 del compuesto 35



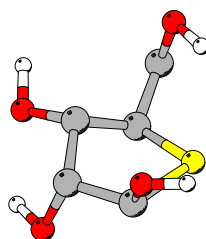
**44 (t19f4)**  
Análogo 9 del compuesto 35



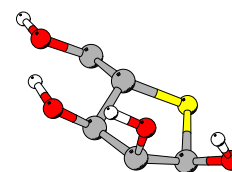
**45 (t19f5)**  
Análogo 10 del compuesto 35



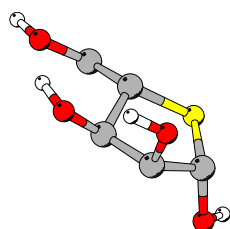
**46 (t20a)**  
4-Tio- $\alpha$ -D-ribofuranosa



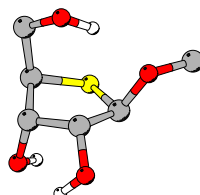
**47 (t20b)**  
4-Tio- $\beta$ -D-ribofuranosa



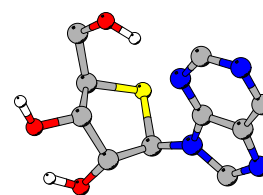
**48 (t21a)**  
4-Tio- $\alpha$ -L-ribofuranosa



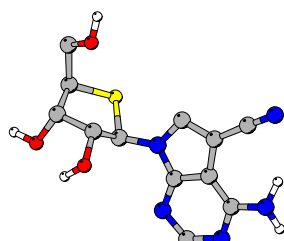
**49 (t21b)**  
4-Tio- $\beta$ -L-ribofuranosa



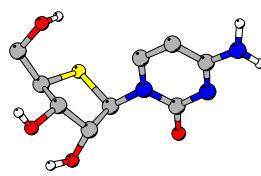
**50 (t22b)**  
Metil 4-tio- $\beta$ -D-ribofuranosido



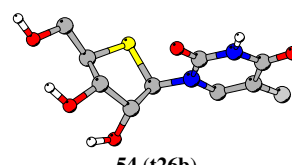
**51 (t23b)**  
9-(4-Tio- $\beta$ -D-ribofuranosil) purina



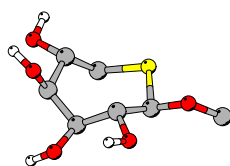
**52 (t24b)**  
4-Amino-5-ciano-7-(4-tio- $\beta$ -D-ribofuranosil)pirrol[2,3-d] pirimidina



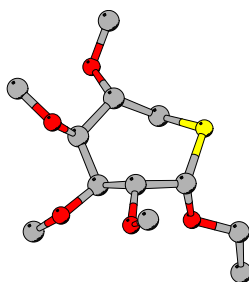
**53 (t25b)**  
4'-Tio-beta-D-ribofuranosilcitosina



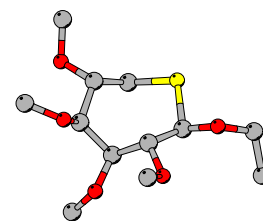
**54 (t26b)**  
4'-Tio-beta-D-ribofuranosiluracilo



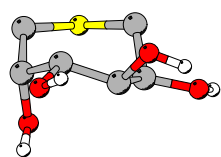
**55 (t27b)**  
Metil 6-tio- $\beta$ -D-galactoseptanósido



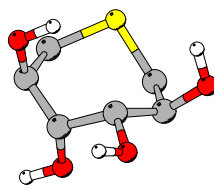
**56 (t28a)**  
Etil 1,6-anhidro-2,3,4,5-tetra-*O*-metil-6-tio- $\alpha$ -galactoseptanósido



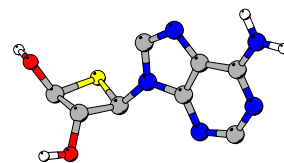
**57 (t28b)**  
Etil 1,6-anhidro-2,3,4,5-tetra-*O*-metil-6-tio- $\beta$ -galactoseptanósido



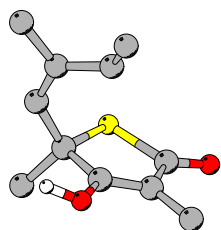
**58 (t29)**  
1,6-Tioanhidro-D-manitol



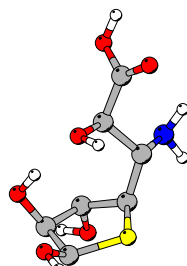
**59 (t30)**  
1,6-Tioanhidro-D-galactitol



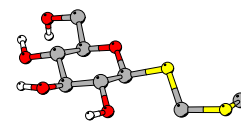
**60 (t31)**  
9-[(2',3',3')-Bis(hidroximetil)tietan-1'-ilo] adenina



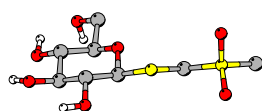
**61 (tn1)**  
Tiolactomicina



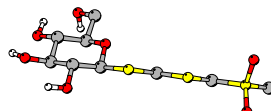
**62 (tn2)**  
Ác. 5-amino-5-desoxi-4-tio-L-glicero-L-ido-hepturónico



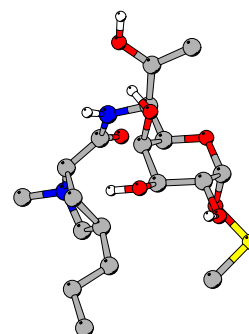
**63 (tn3)**  
Aprostiraxtiósido A  
Etiltiometil 1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido



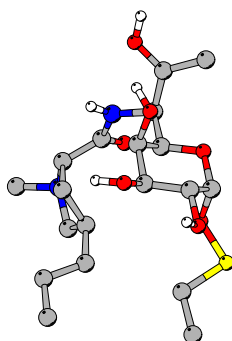
**64 (tn4)**  
Aprostiraxtiósido B  
Metilsulfonilmetil  
1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido



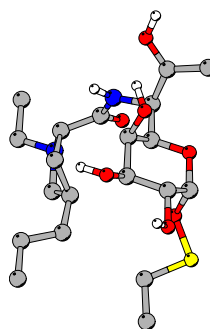
**65 (tn5)**  
Aprostiraxtiósido C  
Metilsulfonilmetiltiometil  
1-tio- $\beta$ -D-glucopiranosido



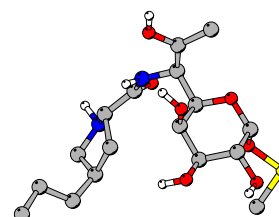
**66 (tn6)**  
Lincomicina B



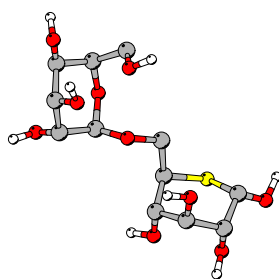
**67 (tn7)**  
Lincomicina C



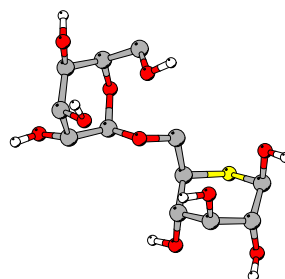
**68 (tn8)**  
Lincomicina S



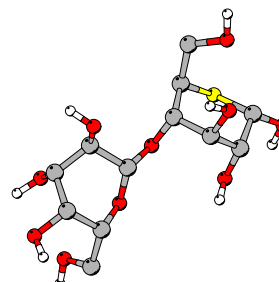
**69 (tn9)**  
Lincomicina D



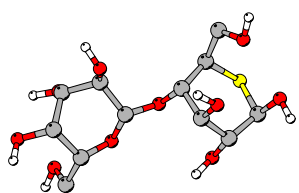
**70 (td1a)**  
 $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa



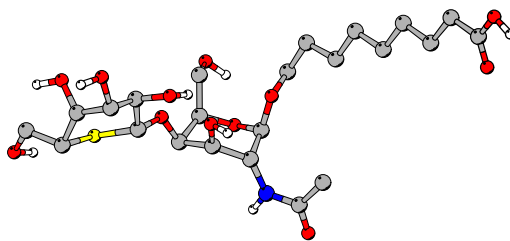
**71 (td1b)**  
 $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-5-tio- $\beta$ -D-glucopiranososa



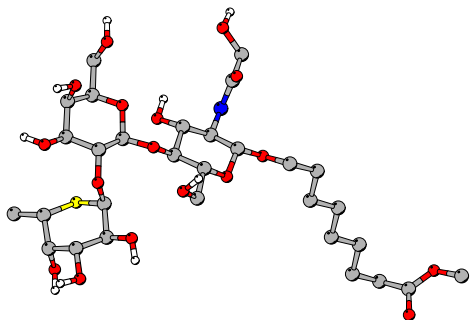
**72 (td2a)**  
 $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-5-tio- $\alpha$ -D-glucopiranososa



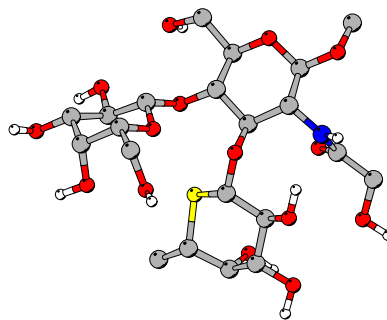
**73 (td2b)**  
 $\beta$ -D-galactopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)-5-tio- $\beta$ -  
 D-glucopiranososa



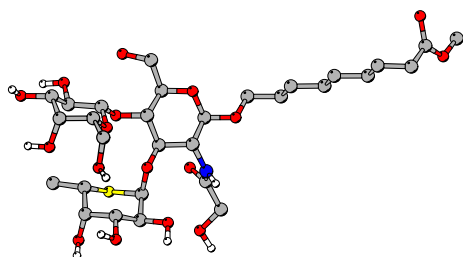
**74 (td3)**  
 Glicósido de la 5'-tio-N-acetil-lactosamina (5'-S-LacNAc-OR)  
 $5S\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\text{Glc}\beta\text{NAc-O-(CH}_2)_8\text{COOMe}$



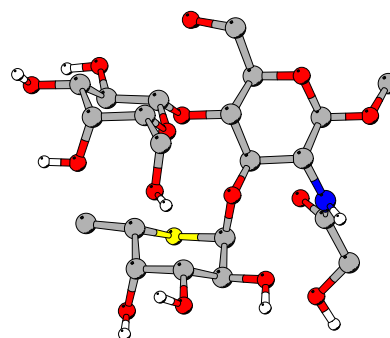
**75 (tt1)**  
 $5S\text{Fuc}\alpha(1\rightarrow2)\text{Glc}\beta(1\rightarrow4)\text{Glc}\beta\text{NAc-O-(CH}_2)_8\text{COOMe}$



**76 (tt2)**  
 $\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\{5S\text{Fuc}\beta(1\rightarrow3)\}\text{GlcNAc-OMe}$



**77 (tt3)**  
 $\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\{5S\text{Fuc}\alpha(1\rightarrow3)\}\text{GlcNAc-O-(CH}_2)_8\text{COOMe}$



**78 (tt4)**  
 $\text{Gal}\beta(1\rightarrow4)\{5S\text{Fuc}\alpha(1\rightarrow3)\}\text{GlcNAc-OMe}$

---

---

APÉNDICE D

---

ARTÍCULOS PUBLICADOS

**Artículo 1**

*«Conformational analysis of thiosugars: theoretical NMR chemical shifts and  $^3J_{\text{H,H}}$  coupling constants of 5-thio-pyranose monosaccharides»*

Alonso-Aguirre Valderrama y José A. Dobado

Journal of Carbohydrate Chemistry, **2006**, 25, 557-594





*Journal of Carbohydrate Chemistry*, 25:557–594, 2006  
Copyright © Taylor & Francis Group, LLC  
ISSN: 0732-8303 print 1532-2327 online  
DOI: 10.1080/07328300600966471



# Conformational Analysis of Thiosugars: Theoretical NMR Chemical Shifts and $^3J_{H,H}$ Coupling Constants of 5-Thio-Pyranose Monosaccharides

Alonso Aguirre-Valderrama and José A. Dobado

Grupo de Modelización y Diseño Molecular, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Granada, Spain

The conformational space of D and L, deoxy and nondeoxy, 5-thio-pyranoses with biological properties as enzymatic inhibitors was explored using MM and B3LYP/6–31 + G\* methods in gas phase and solution. The preferred ring conformation for  $\alpha$  and  $\beta$  anomers of 5-thio-L-fucopyranose was the  $^1C_4$  form (about 99%), and for 5-thio-D-glucopyranose and 5-thio-D-mannopyranose, the  $^4C_1$  one. The experimental conformational order ( $^4C_1 > ^1C_4 > ^2S_5$ ) for L-ido derivatives was reproduced only considering the solvent, though for 3-O-methyl-5-thio- $\alpha$ -L-idopyranose, the inclusion of methyl in C<sub>3</sub> changed the  $^2S_5$  form to the B<sub>1,4</sub> one.

**Keywords** Thiosugars, Thiopyranoses, 5-Thio-sugars, 5-Thiopyranoses, Conformational analysis

## INTRODUCTION

Glycosidases are important enzymes that are involved in many diseases and metabolic disorders, such as diabetes, microbial infections, and metastasis.<sup>[1]</sup> Inhibition of these enzymes is a challenging goal of carbohydrate-based therapy.<sup>[2]</sup> Saccharides, a source of those natural inhibitors, constitute

Received December 22, 2005; accepted July 4, 2006.

Address correspondence to José A. Dobado, Grupo de Modelización y Diseño Molecular, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, Spain. E-mail: dobado@ugr.es

558 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

potential therapeutic agents, but unfortunately are usually degraded in the digestive system and plasma<sup>[3,4]</sup> by glycosidases, which are abundant in organisms.<sup>[5]</sup> The use of carbohydrate mimics attempts to solve this problem, being azasugars, in which the ring oxygen is replaced by nitrogen, the most notable.<sup>[1,6]</sup> However, their nonspecificity is a disadvantage.<sup>[7]</sup>

In this sense, 5-thio-sugars<sup>[7-11]</sup> are promising because they resist hydrolysis by glycosidases, as opposed to their homologous natural saccharides. Furthermore, they occasionally show more affinity to receptors than to their natural counterparts.<sup>[12]</sup> This is the case of 5-thio- $\alpha$ -L-fucopyranose, which is a strong inhibitor of fucosidase due to the increasing hydrophobic interactions between the upper side of the ring and the protein;<sup>[7]</sup> also, the ring sulphur atom interacts with receptors.<sup>[12]</sup>

Since the first thiosugar (5-thio-D-xylopyranose) was synthesised in 1961,<sup>[13,14]</sup> a number of biologically active derivatives have been developed. For instance, 5-thio-glucopyranose<sup>[15]</sup> inhibits D-glucose transport across cell membranes,<sup>[16]</sup> cytotoxicity against hypoxic tumor cells,<sup>[17]</sup> inhibition of plant growth,<sup>[18]</sup> and other biochemical effects.<sup>[8]</sup> The 5-thio-D-arabinose<sup>[19]</sup> and 5-thio-L-galactose<sup>[20]</sup> compounds have inhibitory activity against  $\alpha$ -L-fucosidase from bovine kidney. Deoxythionojirimycin (1-deoxy-5-thio-D-glucose) is a weak inhibitor of  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-glucosidases,<sup>[21]</sup> and deoxythiomannojirimycin (1-deoxy-5-thio-D-mannose) is a weak competitive inhibitor of  $\alpha$ -D-glucosidase.<sup>[22]</sup> Thiosugars have been found also in nature as the 5-thio-D-mannopyranose<sup>[23]</sup> isolated from the marine sponge *Clathria pyramida*<sup>[24]</sup> or salacinol<sup>[25]</sup> from *Salacia reticulata*, the herb used in Indian traditional medicine for diabetes, being strong inhibitors of  $\alpha$ -glucosidases. On the other hand, unnatural oligosaccharides built up of 5-thio-glycosides have a direct application in the development of oligosaccharide-based drugs such as cancer vaccines<sup>[12]</sup> and may be used to probe the hydrophobic surface in the binding pocket of oligosaccharide-binding proteins.<sup>[7]</sup> Nevertheless, to understand these processes all conformational aspects should be considered.

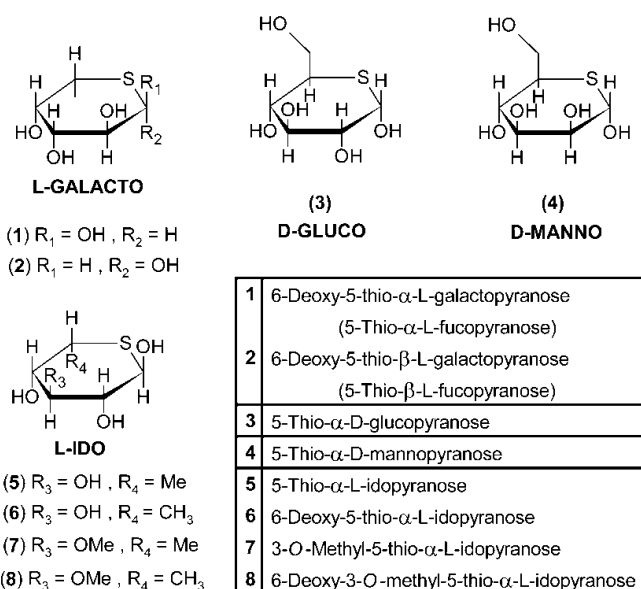
Carbohydrates are multifunctional compounds where the OH groups are used to link different target positions.<sup>[26,27]</sup> Its experimental characterization is a complex task and, therefore, theoretical information about these 5-thiosugars is critical for a rational design of oligosaccharide-based drugs.<sup>[26,28]</sup> Moreover, even for a monosaccharide structure, several effects (anomeric,<sup>[29]</sup> exo-anomeric, (The exo-cyclic O1 lone pair delocalizes into the endocyclic  $\sigma^*_{C1-O5}$  bond orbital), hockey-stick (It is defined as the repulsive 1,3 syn-diaxial interaction between the lone pair of an OR (OH in this case) group in axial overlapping with the axial orbital of  $S_{ring}$ )) determine the conformational distribution.

However, the lack of theoretical studies devoted to thiosugars is evident and, to the best of our knowledge, only one work deals with the greater sweetening power of 5-thio-D-glucose compared to D-glucose<sup>[30]</sup> and one recent paper reports on the molecular modeling by molecular mechanics (MM) of docked

structures of 5-thio-D-glucopyranosylamine and 5-thio-D-glucopyranosylamidi-  
nium bromide in the active site of the protein.<sup>[31]</sup>

We start this series of theoretical studies exploring the conformational  
analysis and spectroscopic properties of thiosugars. In the present work, we  
focus on monosaccharides. Several 5-thio-pyranoses were selected, considering  
the current trend on the design of small mimic molecules,<sup>[32]</sup> and the prefer-  
ence for the pyranose form of the free 5-thiosugars in solution.<sup>[10]</sup> The com-  
pounds studied are shown in Scheme 1, 5-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranose (**1** and **2**),  
5-thio- $\alpha$ -D-glucopyranose (**3**), 5-thio- $\alpha$ -D-mannopyranose (**4**), and four 5-thio-  
 $\alpha$ -L-idopyranose derivatives (**5–8**).<sup>[33]</sup> The nucleotide of **2** (guanosine 5'-diphos-  
pho-5-thio- $\beta$ -L-fucose), having recently been synthesized, proved to be a  
substrate for glycosyl transferases valid for the enzymatic syntheses of many  
valuable oligosaccharides.<sup>[12]</sup>

In the conformational space of pyranoses, the ring can adopt 38 different  
canonical forms. Moreover, with only a threefold rotation for each hydroxyl  
group, the number of possible conformations rises to  $38 \times 3^n$  (where  $n$  is the  
number of hydroxyl groups) for each molecule. Therefore, a key step in the con-  
formational analysis is the choice of an appropriate methodology to explore the  
potential energy surface. Thus, the conformational search was performed using  
MM methods in the first stage and extended at the B3LYP/6-31+G\* level.



**Scheme 1:** 5-Thio-pyranoses under study.

560 *A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado*

Density functional theory (DFT) methods have been shown to yield results similar to those of MP2.<sup>[34,35]</sup> Because water is essential in all biological interactions,<sup>[36]</sup> we also carried out geometrical optimizations with the Polarizable Continuum Model (PCM)<sup>[37,38]</sup> to account for the solvent effect, and the results were compared with those in the gas phase.

On the other hand, nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy is a widely used tool for the determination of complex carbohydrate structures.<sup>[39,40]</sup> Therefore, theoretical calculations of vicinal coupling constants  $^3J_{\text{H,H}}$  and NMR chemical shifts ( $\delta_{\text{H}}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) have been performed both in the gas phase and in solution, and compared with the experimental data when available. In addition, the  $^3J_{\text{H,H}}$  vicinal coupling constants have been calculated using the indirect nuclear spin–spin coupling constants (SSCC)<sup>[41,42]</sup> method at the B3LYP/6–31+G\* level, and computed with the Haasnoot-Leeuw-Altona empirical equation.<sup>[43]</sup>

## COMPUTATIONAL METHODS

### Conformational Analysis

In a preliminary step, a conformational search for compounds **1** to **8** was conducted at the MM level using the MMX force field.<sup>[44]</sup>

To explore the different stable conformers on the whole potential energy surface (PES), we generated 38 canonical ring forms (We used an in-house algorithm to generate the 38 canonical forms (ideal basic conformations) of the pyranose six-membered ring) from a single optimized structure of each molecule (**1**–**8**), and subsequently the corresponding OH rotamers (threefold rotation of 120°) for each ring form. Thus, the total number of structures generated was 3078 (38 ring forms  $\times$  3<sup>4</sup> rotamers) for deoxy molecules and 27,702 (38 ring forms  $\times$  3<sup>6</sup> rotamers) for nondeoxy. After the generation of each individual conformation, the structures were optimized at the MMX force-field method. Thus, a systematic conformational space was explored for all the compounds (**1**–**8**).

### Selection of Structures

Due to the computational cost of optimizing at the DFT level all the structures generated for compounds **1**–**8**, it was necessary to develop a systematic approach to select a subset of relevant structures representing the PES. To avoid the automatic discarding of structures of conformational relevance and to explore the PES at DFT level, we used the following strategy: the optimized MMX structures, within a 10 kcal/mol range, were grouped according to its ring form<sup>[45]</sup> and the rotamers according to the OH dihedral angle values. From each OH group with the same ring form and

dihedral classification, the lowest energy conformation was selected, giving rise to a representative set of rotamers and rejecting numerous duplicated structures in a reliable way.

Two representative sets of rotamers (A and B) were chosen, the A set being up to 5 kcal/mol and the B set from 5 to 10 kcal/mol above the minimum. All the structures from the A set were selected in the final list together with the first rotamers of the B set with the ring form not present in the A set. Although being aware that in an energy range larger than 3 kcal/mol the structures do not contribute meaningfully to the Boltzman populations, we enlarged the cut-off range to 5 kcal/mol for further geometry optimization at B3LYP/6-31G\* and B3LYP/6-31+G\* levels, with the Gaussian03 program.<sup>[46]</sup>

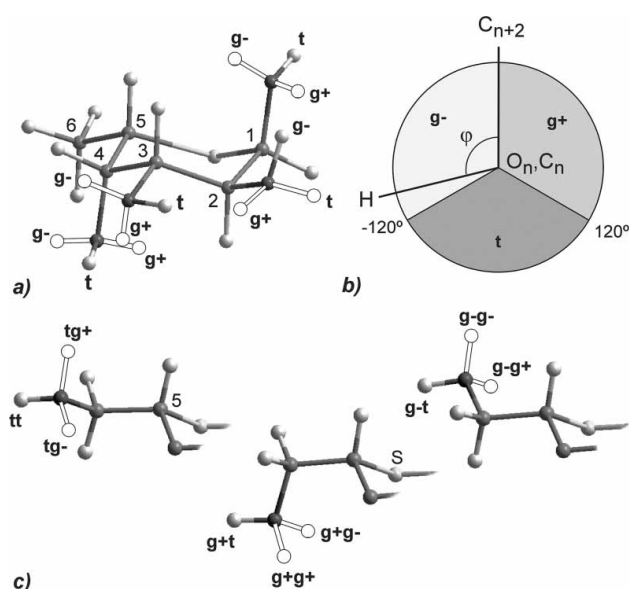
### Classification of Rotamers by Dihedral Angles

We adopted the common criteria<sup>[34,47]</sup> of assigning a letter to the dihedral  $C_{(i+1)}-C_i-O-H$  angle:  $g+$  ( $60^\circ$ ),  $t$  ( $180^\circ$ ) and  $g-$  ( $-60^\circ$ ) ( $g$  = gauche;  $t$  = anti). Therefore, each letter includes a range for the aforementioned angle,  $g+ = 0$  to  $120^\circ$ ,  $g- = 0$  to  $-120^\circ$ , and  $t = 120$  to  $-120^\circ$ . Thus, each structure is characterized by a sequence of characters (according to the ring-atom numbering) that identifies the OH dihedral (For example, t g+ t g- means OH1 = t, OH2 = g+, OH3 = t and OH4 = g-). In addition to this notation, we also added different arrows ( $\rightarrow$  and  $\leftarrow$  to indicate a possible intramolecular hydrogen bonding between contiguous OH groups, (All H...O distances closer to 2.5Å were classified as possible hydrogen bonds) pointing the arrows to the O acceptor atom), as shown in Figures 1 and 2.

### Solvent-Effect Calculations

Additional calculations that account for water as a solvent were performed for all the compounds (1-8) using the default PCM<sup>[37,38]</sup> in Gaussian03<sup>[46]</sup> at the B3LYP/6-31+G\* level. For this purpose, B3LYP/6-31G\* was discarded because the diffuse functions proved necessary for the accurate energy-order reproduction of rotamers and ring forms. Previous calculations using the PM3<sup>[48]</sup> semiempirical method with the explicit inclusion of the solvent reproduced the interchange of the chair forms of L-ido compounds in solution compared to the gas phase results in the same form as it is discussed in the next section. However, the PM3 method was unable to solve the rotamer analysis, and therefore this method was discarded. We used an implicit solvent model in Gaussian03<sup>[46]</sup> that allows NMR calculations and geometrical optimizations. The Onsager<sup>[49]</sup> method failed to reproduce the aforementioned interchange of the chair forms while the PCM

562 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado



**Figure 1:** Adopted criterion to assign the dihedral angle of rotamers. (a) The different orientations of the OH dihedrals for the 5-thio- $\alpha$ -L-fucopyranose. (b) Range values for the g+, g-, and t orientations of rotamers. (c) Illustration (only for L-Ido configuration) of the different orientations at C<sub>5</sub> when C<sub>6</sub> presents a CH<sub>2</sub>OH group.

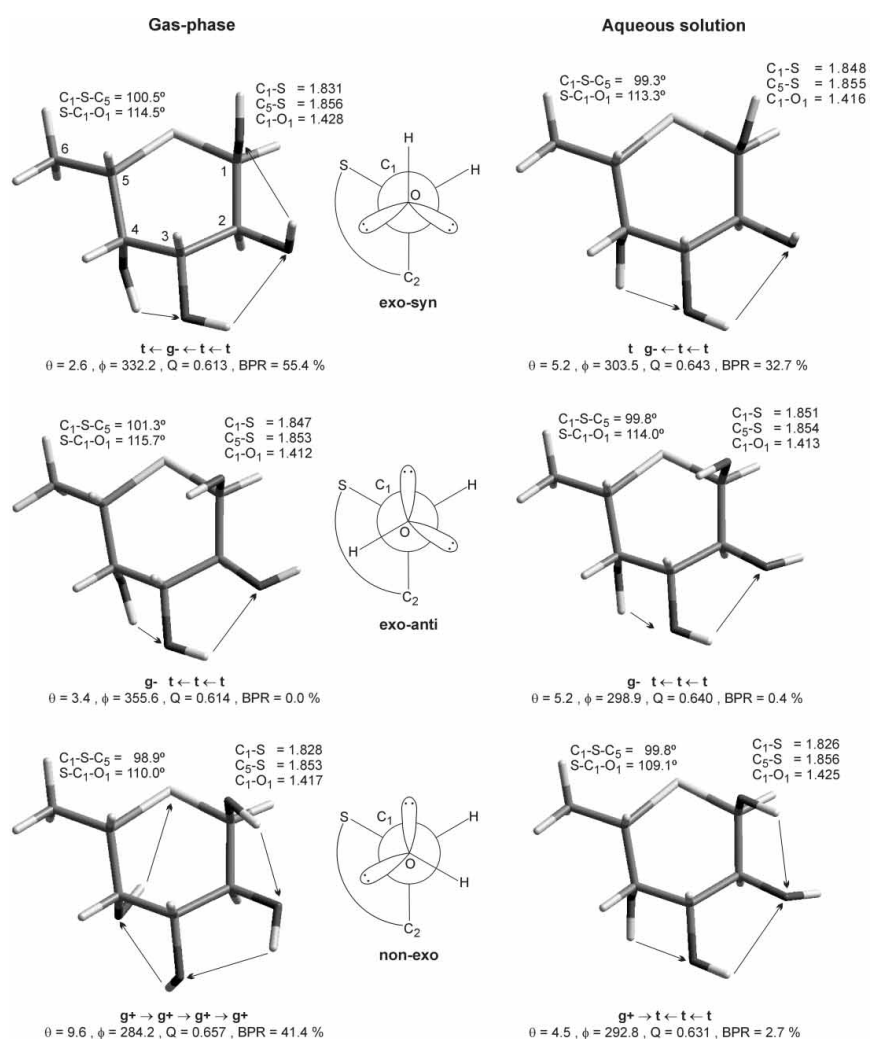
method gave good results. Other available methods do not permit geometrical optimizations.

### NMR Chemical Shifts and $^3J_{H,H}$ Calculations

The  $^3J_{H,H}$  coupling constants were computed using the implementation of indirect nuclear SSCC<sup>[41,42]</sup> with the Gaussian03<sup>[46]</sup> program at the B3LYP/6-31+G\* level, and also using the Haasnoot-Leeuw-Altona empirical equation,<sup>[43]</sup> the two methods in the gas phase and in solution, respectively.

The  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR chemical shifts were also calculated in the gas phase and in solution with the Gaussian03 program<sup>[46]</sup> by means of the GIAO method,<sup>[50]</sup> using tetramethylsilane as a reference ( $\delta_{\text{C}} = 190.8$  and  $\delta_{\text{H}} = 32.1$  ppm in solution (PCM-B3LYP/6-31 + G\*) and  $\delta_{\text{C}} = 191.4$  and  $\delta_{\text{H}} = 32.0$  ppm in gas phase at the (B3LYP/6-31 + G\*)).

For comparisons with the experimental data, the average values of both coupling constants and chemical shifts were computed using the mole fractions—populations—( $N_i$ ) given by the Boltzman distribution (Eq. (1)), where  $g_i$  is the number of identical conformations of conformer  $i$  (statistical weight)



**Figure 2:** Selected bond distances and angles (Å and degrees) for the most stable rotamers of each possible orientation of the anomeric OH for compound **1** in the gas phase and in solution, and scheme of top view of the C<sub>1</sub>-O bond (exo-syn, exo-anti, and non-exo, according to the exo-anomeric effect). Puckering coordinates ( $\theta$ ,  $\phi$ ,  $Q$ ) and Boltzman population rates (BPR) are also included. The arrows indicate OH  $\cdots$  O interaction between OH groups.

and  $\Delta E_i$  is the energy of the  $i$ th conformer.

$$N_i = \frac{g_i e^{-E_i/RT}}{\sum_i g_i e^{-E_i/RT}} \quad (1)$$



564 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

## RESULTS AND DISCUSSION

### Conformational Analysis

#### *5-Thio- $\alpha$ -L-fucopyranose (1) and 5-Thio- $\beta$ -L-fucopyranose (2)*

After completing the structure selection process at the MMX level (see Computational Methods), we obtained a final number of 185 and 238 conformations, within a 10 kcal/mol energy range, for **1** and **2**, respectively. The number of structures resulting from the refining process with B3LYP/6-31+G\*, described in the methodological section, was 37 and 31 structures for **1** and **2**, respectively.

Theoretical calculations in the gas phase of the natural counterpart  $\alpha$ -L-fucopyranose indicated that the most stable conformation presented maximal intramolecular OH...O interactions.<sup>[34,51]</sup> This behavior was reproduced only with methods that include electron correlation, and therefore this indicated that the B3LYP/6-31G\* level was a valid method for these molecules.<sup>[34]</sup>

For validation of our conformational analysis procedure, the analysis at B3LYP/6-31G\* was extended to the natural counterparts of both the  $\alpha$ - and  $\beta$ -anomers, and the results for the  $\alpha$ -anomer were compared with the aforementioned previous theoretical works,<sup>[34,51]</sup> resulting mainly in agreement. In MM methods, the only disagreement appeared for the remaining ring forms, which have a negligible conformational weight.

However, in case of 5-thio- $\alpha$ -L-fucopyranose, these calculations at the B3LYP/6-31G\* level failed to describe the exoanomeric effect (The exocyclic O1 lone pair delocalizes into the endocyclic  $\sigma^*_{C1-O5}$  bond orbital) due to the presence of stabilizing OH...S<sub>ring</sub> intramolecular interactions, as it is explained below. Therefore, considering the presence of these long-range interactions, we introduced diffuse functions to the basis set.

For example, the first two rotamers for the natural analog of **1** ( $\alpha$ -L-fucopyranose) are  $[t \leftarrow g^- \leftarrow t \leftarrow t]$  and  $[g^+ \rightarrow g^+ \rightarrow g^+ \rightarrow g^+]$   ${}^1C_4$ <sup>[34]</sup> in concordance with the exo-anomeric effect, which favors the *1t* orientation.<sup>[52]</sup> These two rotamers have the maximal numbers of OH...O interactions (anticlockwise and clockwise, respectively), which improve their stability.

Sulphur, though less electronegative than oxygen, still induces this exoanomeric effect in 5-thio-glycosides.<sup>[53]</sup> However, calculations without diffuse functions inverted the energetic order of the two main contributing conformations. This resulted probably because the 4 *g*+ orientation of  $[g^+ \rightarrow g^+ \rightarrow g^+ \rightarrow g^+]$  conformer led to a OH(4)...S<sub>ring</sub> interaction, which gave additional stabilization.<sup>[34]</sup> However, the inclusion of diffuse functions (B3LYP/6-31+G\*) yielded both rotamers in the same energy order as in the  $\alpha$ -L-fucopyranose. Other similar energy-order inversions, depending on the calculation method, were found for **1**.

Also, it is remarkable how the B3LYP/6-31G\* level yields overestimated stability to the ring-form alternative to the  ${}^1C_4$  conformation in **2**, in confrontation to the B3LYP/6-31+G\* level. These artificially stabilized ring forms are two  ${}^4C_1$  rotamers,  $[g+ g- g- \rightarrow g-]$  and  $[g+ g- g- \rightarrow t]$ , one  ${}^5S_1$   $[g+ g- g+ \leftarrow t]$ , and one  ${}^4C_1$   $[g+ g- t \leftarrow g+]$ . The common fact for these alternative ring forms are the 1  $g+$  and 2  $g-$  orientation. The first orientation gives rise to a nonadjacent OH(1)  $\rightarrow$  OH(3) interaction for  ${}^4C_1$  and a double nonadjacent interaction OH(1)  $\rightarrow$  OH(4)/OH(1)  $\leftarrow$  OH(3) for  ${}^5S_1$ . The second orientation induces overestimated stabilizing OH(2)  $\cdots$  S<sub>ring</sub> interaction, presumably caused by the absence of diffuse functions in the basis used.

In contrast to the B3LYP/6-31G\* level, the B3LYP/6-31+G\* level yields the mentioned  ${}^4C_1$  and  ${}^5S_1$  rotamers at a higher energy, strongly decreasing their population (further calculations at MP2/6-311++G\*\* level for these specific conformers supported this result, as it is shown in Table 6).

On the other hand, the results in the gas phase at B3LYP/6-31+G\* of the  $\alpha$ - and  $\beta$ - anomers of 5-thio-L-fucopyranose for the main ring form ( ${}^1C_4$ ) showed the same pattern as its natural analog; that is, the most stable rotamers are those with a maximal number of OH $\cdots$ O interactions, forming intramolecular anticlockwise or clockwise unidirectional chains of hydroxyl groups. Moreover, when these interactions were directed at one oxygen (bidirectional chains, for instance, to C<sub>2</sub> position in the  $\alpha$ - ${}^1C_4$  rotamer  $[g+ \rightarrow t \leftarrow t \leftarrow t]$ ), the resulting conformations were less stable.

Tables 1 and 2 list the conformer distribution at the B3LYP/6-31+G\* level in the gas phase and in solution for the  $\alpha$ - and  $\beta$ -thiofucopyranose. In both cases ( $\alpha$  and  $\beta$ ), when the solvent was taken into account, the ring forms were automatically classified according to their relative energy, while for calculations in the gas phase the ring forms appear mixed.

From the comparison between the gas phase and solution conformers, the relative energy range was narrower in solution. Thus, for example, the first 10 rotamers of the  $\alpha$ -anomer were in a 3.25 kcal/mol energy range in the gas phase and in a 1.67 kcal/mol range in solution, yielding for the  $\beta$ -anomer similar energy ranges of 3.33 and 1.17 kcal/mol, respectively. On the other hand, when the optimization includes the PCM method, some rotamers turn the OH groups to avoid the adjacent OH $\cdots$ O interactions with a much more favorable position for interacting with solvent molecules. For instance, the  $\alpha$ - ${}^1C_4$   $[t \leftarrow g- g+ \rightarrow g-]$  and  $\alpha$ - ${}^1C_4$   $[t \leftarrow g- g+ \rightarrow g+]$  rotamers in the gas phase (12th and 5th), after solution, break two of their adjacent OH $\cdots$ O interactions, becoming the second and third most stable rotamers. This stabilization is due to the presence of four and three free OH groups, respectively. The main rotamer for both gas phase and solution  $[t \leftarrow g- \leftarrow t \leftarrow t]$  /  $[t g- \leftarrow t \leftarrow t]$  also breaks the 1  $\leftarrow$  2 interaction (Figs. 2 and 3) for further stabilization with the solvent. Although the trend is also visible for  $\beta$ -fucopyranose, these breaks are not as evident as in the  $\alpha$ -anomer.

**Table 1:** Comparative Results for 5-Thio- $\alpha$ -L-fucopyranose (**1**) between the gas-phase and aqueous solution at the B3LYP/6-31+G\* theoretical level.

Cf <sup>b</sup>	OH rotamers <sup>c</sup>								free OH <sup>e</sup>	exo <sup>f</sup>	$\Delta E^g$	BPR <sup>h</sup>
	OH1	OH2	OH3	OH4	string <sup>c</sup>	hck <sup>d</sup>	OH <sup>e</sup>	OH <sup>e</sup>				
Gas-phase												
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	exs	0.00	55.3		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↓	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	nex	0.17	41.4		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	4	exs	2.10	1.6		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	4	nex	2.56	0.7		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	2	exs	3.25	0.2		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	2	nex	3.32	0.2		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↓	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	exs	3.34	0.2		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1,2	exs	3.41	0.2		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	3	nex	3.75	0.1		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1,4	exs	4.43	0.0		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1,3	exs	4.88	0.0		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1,4	exs	5.30	0.0		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↓	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1,2	nex	5.72	0.0		
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	↑	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	2 → S	4	3	exd	6.00	0.0		
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	↑	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	2 → S	4	4	exd	6.22	0.0		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↓	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	2 → S	4	2	exd	6.31	0.0		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	3,4	nex	6.82	0.0		
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1,2	exs	6.90	0.0		
<sup>2,5</sup> B	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	2	1	exs	7.13	0.0		
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	↓	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	2	1,4	exs	7.62	0.0		
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	↓	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	2	1,4	exs	7.69	0.0		
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	↓	g <sup>-</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	2	1,3	exs	7.87	0.0		
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	2	2,4	exd	8.16	0.0		
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	↑	g <sup>+</sup>	↑	g <sup>+</sup>	4 → S	2	2,4	exd	8.58	0.0		



Table 1: Continued.

Cf <sup>b</sup>	OH rotamers <sup>a</sup>							free OH <sup>e</sup>	exo <sup>f</sup>	ΔE <sup>g</sup>	BPR <sup>h</sup>
	OH1	OH2	OH3	OH4	string <sup>c</sup>	hck <sup>d</sup>	OH <sup>e</sup>				
4C <sub>1</sub>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	†	2 → S		4	exa	4.22	0.0	
4C <sub>1</sub>	†	g <sup>-</sup>	†	g <sup>+</sup>	2 → S		3	exa	4.26	0.0	
4C <sub>1</sub>	†	†	†	g <sup>+</sup>		2	1,2,3	exs	4.49	0.0	
1S <sub>5</sub>	†	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	†			1,2,4	exs	5.18	0.0	
1S <sub>5</sub>	†	g <sup>+</sup>	g <sup>-</sup>	†			1,4	exs	5.87	0.0	
3S <sub>1</sub>	†	†	†	†		2	1	exs	6.15	0.0	
5S <sub>1</sub>	†	†	†	†		2	1,3	exs	6.57	0.0	
5S <sub>2</sub>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	†	†			1?	exa	11.26	0.0	
5S <sub>2</sub>	†	g <sup>-</sup>	†	†			1	exs	11.47	0.0	

<sup>a</sup>Classification by dihedral angles (see text); the OH groups are numbered according to the ring carbons (see Fig. 1). The arrows indicate OH...O interaction between adjacent hydroxyls.

<sup>b</sup>Ring conformation.

<sup>c</sup>Number of ring carbons with an OH...S<sub>ring</sub> interaction.

<sup>d</sup>Number of ring carbons which shows the hockey-stick effect.

<sup>e</sup>Number of ring carbons for which the OH groups are in advantageous orientation to interact with water molecules of solvent.

<sup>f</sup>Exo-anomeric effect being exs = exo-syn, exa = exo-anti, and nex = non-exo.

<sup>g</sup>Relative energy in kcal/mol.

<sup>h</sup>Boltzmann population rate.

The exo-anomeric effect is favorable, but this orientation has 1,3 syn-diaxial steric impediment.

**Table 2:** Comparative results for 5-Thio- $\beta$ -L-fucopyranose (**2**) between the gas-phase and aqueous solution at the B3LYP/6-31+G\* theoretical level.

Cf <sup>p</sup>	OH rotamers <sup>a</sup>										free OH <sup>f</sup>	exo <sup>g</sup>	$\Delta E^h$	BPR/	
	OH1	OH2	OH3	OH4	nadj <sup>c</sup>	sring <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	OH <sup>f</sup>	OH1	OH2					
Gas-phase															
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>-</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	nex	0.00	0.40
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	exs	0.16	0.30
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	exd	0.24	0.27
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	exs	2.05	0.01
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	exs	2.57	0.01
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	4	1	exs	2.67	0.00
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>-</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	2 → S	4	4	nex	3.04	0.00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	↑	↑	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	2 → S	4	4	exd <sup>j</sup>	3.11	0.00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	↑	↑	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	2 → S	4	4	exd <sup>j</sup>	3.14	0.00
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	1	1	exd	3.33	0.00
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	1	1	exd	3.67	0.00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	↑	↑	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	2 → S	3	3	exd <sup>j</sup>	3.79	0.00
B <sub>1,4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	↑	↑	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	2 → S	3	3	exd <sup>j</sup>	3.81	0.00
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>-</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	2 → S	4	3	nex	4.21	0.00
<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	↑	↑	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	g <sup>-</sup>	2 → S	4	3	exd <sup>j</sup>	4.22	0.00
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	1 → 3	4	1,4	exd	4.37	0.00
<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	1 → 4	2	2	exd <sup>j</sup>	4.63	0.00
<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	1 → 4	2	1,2	exs	5.08	0.00
<sup>5</sup> S <sub>2</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	1 → 4	4	1,2	exs	5.28	0.00
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	2 → 5, 1 → 3	4	1,4	exs	5.33	0.00
<sup>2,5</sup> B	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	↑	↑	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	g <sup>+</sup>	4 → S	1	1	exd	5.41	0.00

(continued)

Table 2: Continued.

Cf <sup>b</sup>	OH rotamers <sup>a</sup>								free OH <sup>f</sup>	exo <sup>g</sup>	$\Delta E^h$	BPR <sup>i</sup>
	OH1	OH2	OH3	OH4	nadj <sup>c</sup>	string <sup>d</sup>	hck <sup>e</sup>	4				
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g-	+	1 → 3		4	1,3	exd	5.51	0.00	
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	+	g-	+			2	2,4	exd	5.67	0.00	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	+	+	g+	g-			4	1,4	exs	5.73	0.00	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	+	g+	g-			4	1,4	exd	5.84	0.00	
<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+	g+	g+	+	1 ← 3, 1 → 4		2	2	exd	6.02	0.00	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	+	g+	g-	+			4	1,3	exs	6.34	0.00	
<sup>1</sup> S <sub>6</sub>	+	+	g-	g+				1	exs	6.39	0.00	
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g+	g-	g-	1 → 3		2	2,4	exd	6.50	0.00	
<sup>2</sup> S <sub>6</sub>	g+	g+	g-	+	1 → 3			2,4	exd	7.82	0.00	
<sup>1</sup> S <sub>6</sub>	+	+	g-	+				1,4	exs	9.99	0.00	
Aqueous solution												
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	+	+	+			4	1	exd	0.00	0.25	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	+	+	+	+			4	1	exs	0.06	0.23	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	+	+	+	g+				1	exs	0.70	0.08	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	+	+	g+		4 → S		1	exd	0.78	0.07	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	+	+	+	g+		4 → S		1	exs	0.79	0.07	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	+	g+	g+		4 → S		1,3	exd	0.96	0.05	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	+	g+	g-			4	1,3,4	exd	1.08	0.04	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g-			4	1,4	exd	1.09	0.04	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g+	g-			4	1,4	exs	1.11	0.04	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	+	g+	g+	g+		4 → S		1	exs	1.17	0.04	
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g+	g+	g-	+			4	1,3	exd	1.19	0.03	

<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	↑	g+	↑	g-	4	1,4	exs	1,44	0,02
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	t	g+	↑	g-	↑	t		1,3	exs	1,59	0,02
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g+	↑	g+	↑	g+	4 → S	1	nex	1,73	0,01
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g+	↑	g+	↑	g-	4	1	nex	1,88	0,01
<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-	g+	↑	g-	↑	t	4	3	nex	2,02	0,01
<sup>3</sup> S <sub>1</sub>	↑	t	↓	t	↓	t		2	exd	3,49	0,00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-		t	↓	1 → 4		3	exd	4,56	0,00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	t		g-	↑	1 → 3	2 → S	2,4	exd	4,68	0,00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-		g-	↑	1 → 3	2 → S	4	exd	4,71	0,00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g+		g-	↑	1 → 3	2 → S	2,4	exd	4,79	0,00
<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+	g-		g-	↑	1 → 3	2 → S	4	exd	4,83	0,00
<sup>B</sup> <sub>1,4</sub>	g+	g-		g-	↑	1 → 4	2 → S	3	exd	5,05	0,00
<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	t	g+		g+	↑	1 → 4	2 → S	1	exs	5,49	0,00
<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	t	↓	t	↓	1 ← 4		1	exs	5,71	0,00
<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+	g+		g+	↓	1 ← 3, 1 → 4	2	2	exd	5,82	0,00
<sup>1</sup> S <sub>5</sub>	t	t	↓	t	↑			1,4	exs	5,86	0,00
<sup>S</sup> <sub>2</sub>	t	t	↓	t	↑			1,2	exs	7,42	0,00
<sup>2</sup> S <sub>5</sub>	g+	t		g-	↑	1 → 3		2,4	exd	8,64	0,00

<sup>a</sup>Classification by dihedral angles (see text); the OH groups are numbered according to the ring carbons (see Fig. 1). The arrows indicate OH . . . O interaction between adjacent hydroxyl.

<sup>b</sup>Ring conformation.

<sup>c</sup>OH . . . OH interactions between nonadjacent OH groups, the number indicating the ring carbon.

<sup>d</sup>Number of ring carbons with an OH . . . S<sub>ring</sub> interaction.

<sup>e</sup>Number of ring carbons, which show the hockey-stick effect.

<sup>f</sup>Number of ring carbons for which the OH groups are in advantageous orientation to interact with water molecules of solvent.

<sup>g</sup>Exo-anomeric effect being exs = exo-syn, exd = exo-anti, and nex = non-exo.

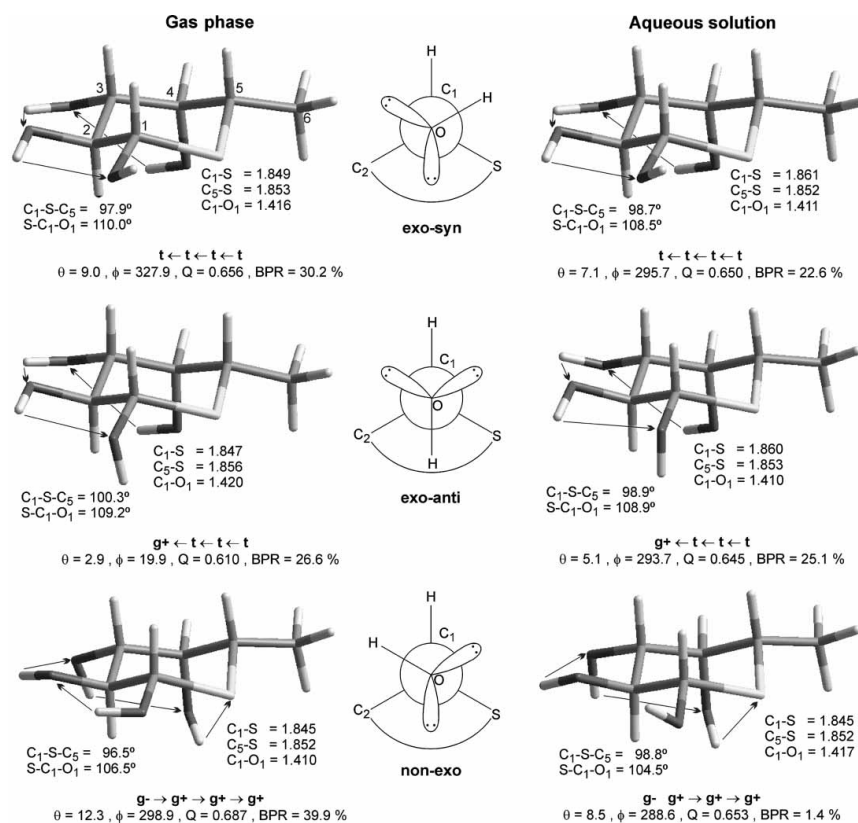
<sup>h</sup>Relative energy in kcal/mol.

<sup>i</sup>Boltzman population rate.

<sup>j</sup>The OH group is endo but is stabilized by the nonadjacent OH . . . OH interaction.



572 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado



**Figure 3:** Selected bond distances and angles ( $\text{\AA}$  and degrees) for the most stable rotamers of each possible orientation of the anomeric OH for compound **2** in the gas phase and in solution, and scheme of top view of the  $C_1$ -O bond (exo-syn, exo-anti, and non-exo, according to the exo-anomeric effect). Puckering coordinates ( $\theta$ ,  $\phi$ ,  $Q$ ) and Boltzmann population rates (BPR) are also included. The arrows indicate  $OH \cdots O$  interaction between OH groups.

The most remarkable result concerns the exo-anomeric effect. For the  ${}^1C_4$  ring forms of both  $\alpha$ - and  $\beta$ -anomers, we find that calculations in solution favorably reproduced the exo-anomeric effect, and the different rotamers are ordered (exo-syn > non-exo > exo-anti for the  $\alpha$ , and exo-syn = exo-anti > non-exo for the  $\beta$ ) according to this effect (see Tables 1 and 2). Thus, for  $\alpha$ -thiofucose, most of the forms with the  $1t$  orientation, which allows the favorable exo-syn one, are the most stable rotamers, with the exception of  $[t \ t \leftarrow t \ g^+]$  and  $[t \ t \ g^+ \rightarrow g^-]$  ones. The non-exo rotamers ( $1g^+$  orientation) are closely grouped above those exo-syn, with a relative energy greater than 1.48 kcal/mol. The exo-anti, which shows 1,3-syndiaxial repulsion of OH(1) with H(3) and H(5), is the less stable

${}^1C_4$  rotamer. However, in the gas phase the non-exo rotamers are stabilized and mixed with the exo-syn ones, the relative destabilization of the rotamer [ $g+ \rightarrow g+ \rightarrow g+ \rightarrow g+$ ] from the gas phase (2nd) to solution (10ths) being the most significant, in agreement with the exo-anomeric effect.

For the  $\beta$ -thiofucopyranose (**2**) also the exo-anomeric effect is best reproduced when the solvation effects are included. For  ${}^1C_4$  ring forms, the non-exo conformers are the less stable in the conformational distribution list. Thus, the [ $g- \rightarrow g+ \rightarrow g+ \rightarrow g+$ ] rotamer, which is the most populated one for the gas-phase calculations, becomes the 14th in solution. A similar but less pronounced behavior was noted for the [ $g- \rightarrow g+ \rightarrow g+ \rightarrow g-$ ] rotamer. Now, for the  $\beta$ -anomers, none of the exo forms (exo-syn and exo-anti) have steric interactions and therefore both are equally probable (see Table 2).

The aforementioned trend for breaking the OH...O interactions in solution is less noticeable here. For  $\beta$ -anomers, the first and second most populated rotamers in solution showed the maximum number of OH...O interactions in a unidirectional anticlockwise pattern, a feature that was kept from the corresponding conformers in the gas phase. Nevertheless, the effect of being solvated is still noticed in a slight rotation of OH groups in order to be more accessible to the solvent molecules.

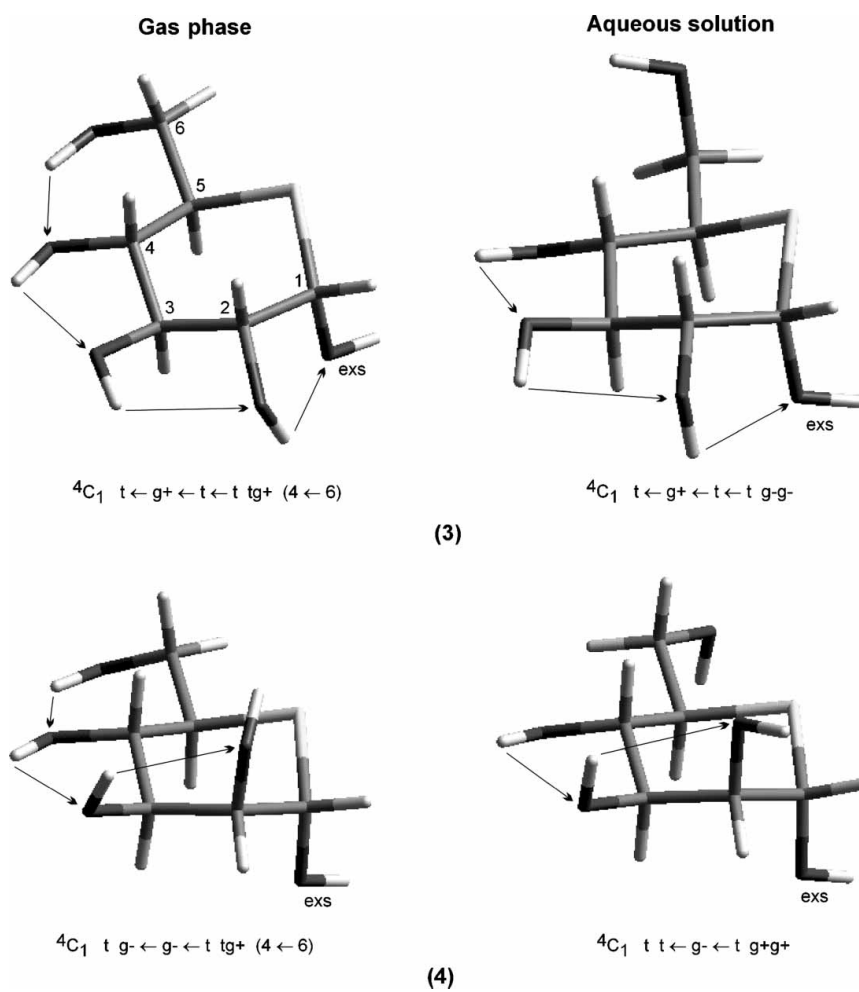
From these results, it can be concluded that calculations in solution result in breaking the intramolecular OH...O interactions, because of the stabilization with the solvent. For both  $\alpha$ - and  $\beta$ -anomers in solution, the  ${}^1C_4$  ring forms are the main rotamers. Calculations in the gas phase lead to those ring forms with indifferently clockwise or anticlockwise unidirectional intramolecular OH...O patterns to be the most stable structures. In solution, however, the clockwise forms are energetically penalized, in agreement with the exo-anomeric effect, thus concluding that the gas-phase calculations are unable to reproduce this effect.

#### *5-Thio- $\alpha$ -D-glucopyranose (3) and 5-Thio- $\alpha$ -D-mannopyranose (4)*

The CH<sub>2</sub>OH group at C<sub>6</sub>, present in **3** and **4**, caused a higher amount of rotamers. For both molecules, the situation was similar to that in **1** and **2**, in the sense that, in solution, the different ring forms appeared energetically ordered, and the most contributing conformations lay in a narrower energy range.

Figure 4 shows the most contributing rotamer for **3** and **4** in the gas phase and in solution. Both showed the same pattern as in **1** and **2**, that is, a maximal number of anticlockwise OH...O interactions between adjacent OH groups. Additionally, in the gas phase, the OH group from the hydroxymethyl group participates in the interaction chain in the same direction, but this interaction is eliminated after solution through a change in the rotations of the CH<sub>2</sub>OH group. For **3**, as in **1** and **2**, clockwise interaction patterns, after solution, are relatively destabilized, with larger  $\Delta E$  values. This is again explained with the exoanomeric effect, because these clockwise patterns coincide with

574 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado



**Figure 4:** The main rotamers for compounds **3** and **4** in the gas phase and in solution. The orientations of the anomeric OH according to the exo-anomeric effect are depicted (exs: exo-syn). The arrows indicate OH...O interaction between OH groups.

non-exo forms for **3**. However, for **4** this effect is not noticeable, due to the impossibility of a OH(1)...OH(2) interaction that could stabilize the non-exo orientation (*1g-* for **4**), as was the case for **1–3**.

#### *L-Ido derivatives (5–8)*

Four different *L*-ido derivatives were studied here, the 5-thio- $\alpha$ -*L*-idopyranose (**5**), its 6-deoxy compound (**6**), the 3-OMe derivative of **5** (**7**), and its 6-deoxy

compound (**8**). Previous experimental NMR analysis<sup>[20,54]</sup> concluded the conformational preference of **5** (and some of its derivatives also) to be  ${}^4C_1 > {}^1C_4 > {}^2S_5$ . Our current theoretical results in solution were in agreement for **5**, **6**, and **8**, whereas for **7**, the  ${}^2S_5$  skew-boat was replaced with the  $B_{1,4}$  boat in the conformational preference.

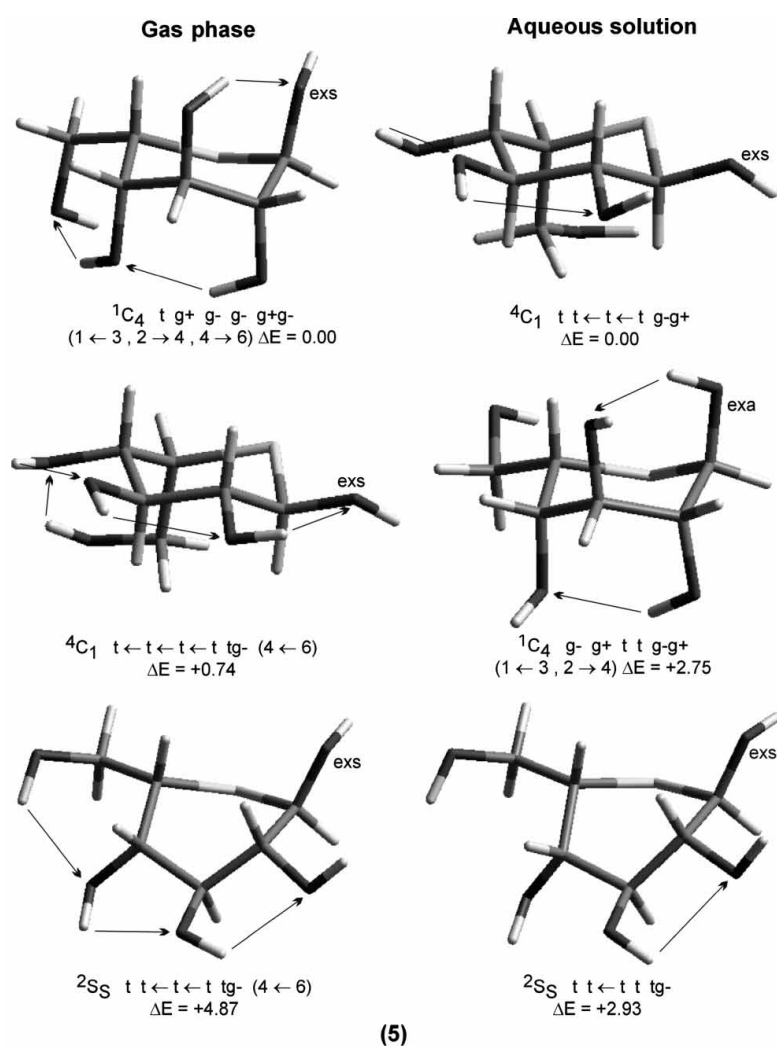
The geometries of the first rotamers for each ring form are depicted in Figures 5 to 8. The conformational analysis for deoxy molecules (both in the gas phase and in solution) reproduced the experimental energy order,  ${}^4C_1 > {}^1C_4 > {}^2S_5$ , although in the gas phase the  ${}^1C_4$  form was overestimated, as indicated by the experimental  ${}^3J_{H,H}$  data. However, for the nondeoxy structures **5** and **7**, the conformational preferences of the chair rings were interchanged in the gas phase ( ${}^1C_4 > {}^4C_1$ ), whereas calculations in solution reproduced the experimental energy order ( ${}^4C_1 > {}^1C_4$ ). Moreover, in solution, the  ${}^2S_5$  form of **5**, **6**, and **8** ( $B_{1,4}$  for **7**) increased their conformational weight.

The rotamer analysis showed remarkable results regarding the favoring of the  ${}^1C_4$  form in the gas phase. For compounds **5–8**, the  ${}^1C_4$  form (where OH...O adjacent interactions are not possible) exhibits two nonadjacent hydrogen bonds between OH(1) and OH(3) (OMe for **7** and **8**) and between OH(2) and OH(4). These interactions are responsible for its greater population rates in the gas phase. Furthermore, the nondeoxy molecules present an additional stabilization due to the hydrogen bond between OH(4) and OH(6), thus inverting the conformational preference and favoring this ring form.

On the other hand, taking into account the fact that the adjacent interactions are weaker than nonadjacent ones,<sup>[55]</sup> the  ${}^4C_1$  form is relatively destabilized with respect to the  ${}^1C_4$  form in the gas phase. Furthermore, the presence of weak unidirectional chain interactions allows, after solution, better interaction with the solvent molecules through the loss of some of these interactions, or reorientation of the OH groups. Furthermore, for the OH(6) group of nondeoxy molecules (**5** and **7**), the free form is preferred instead of its participation in the intramolecular hydrogen bonds, incrementing their relative stability in solution.

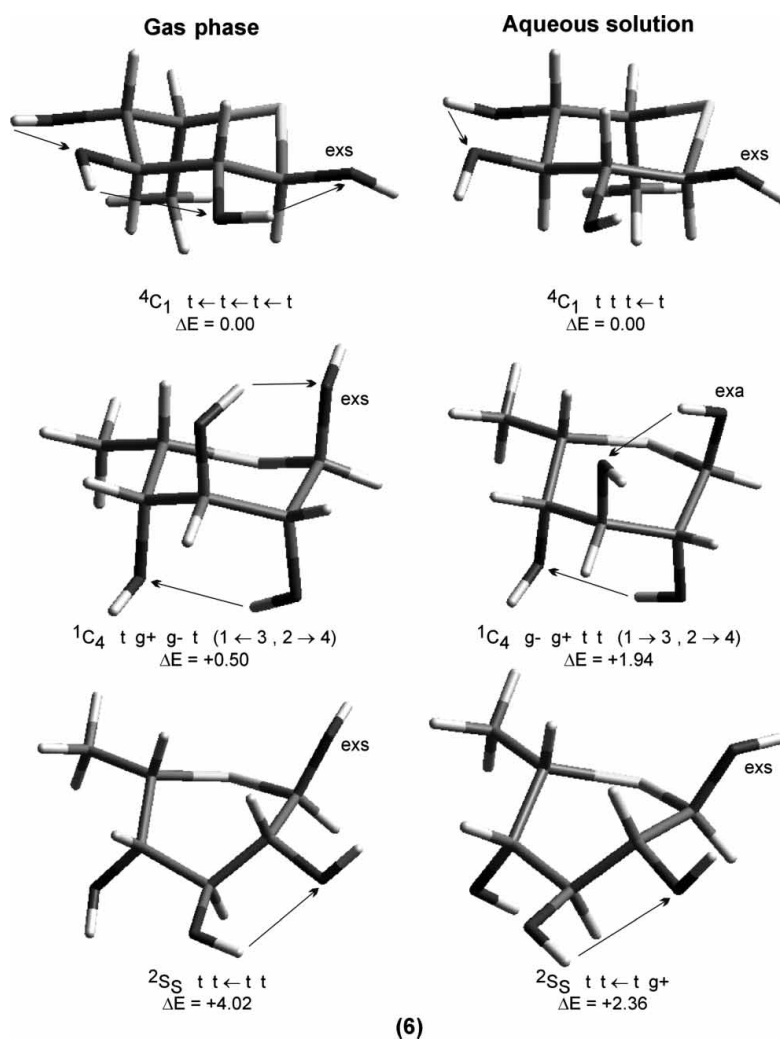
The experimental conformational order for 5-thio-L-derivatives (including **5–8**) is generally explained in terms of the “hockey-stick” effect. According to this effect, the  ${}^1C_4$  form (with a double effect at  $C_2$  and  $C_4$ ) should be less stable than the  ${}^4C_1$  ring form. Our results confirm this effect in solution, but not in the gas phase, although, in principle, the “hockey-stick” effect should be valid also for the gas phase. Even more, from our conformational study, several ring forms compatible with this effect were stabilized by intramolecular OH...O interactions, while in other conformers, the rotation of some OH groups gave rise to stabilizing OH...S<sub>ring</sub> interactions, these being incompatible with the nature of the “hockey-stick” effect.

576 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado



**Figure 5:** The main rotamers of the most significant conformations for compound **5** in the gas phase and in solution. The orientations of the anomeric OH according to the exo-anomeric effect are depicted (exs: exo-syn, exa: exo-anti). The arrows indicate OH...O interaction between OH groups (the interaction between no adjacent OH groups are noted in parentheses).

All of this indicates that, although valid, the “hockey-stick” effect may not be the determining factor for resolving the conformation in these kinds of molecules, and further studies about the relevance of this effect are necessary.

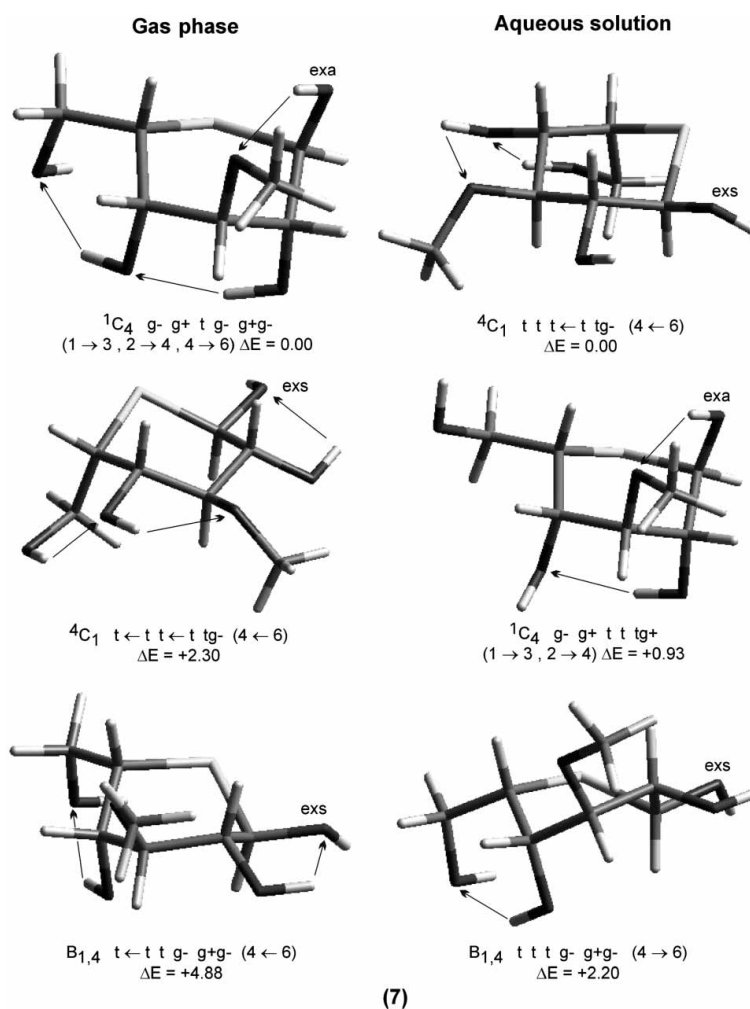


**Figure 6:** The main rotamers of the most significant conformations for compound **6** in the gas phase and in solution. The orientations of the anomeric OH according to the exo-anomeric effect are depicted (exs: exo-syn, exa: exo-anti). The arrows indicate OH...O interaction between OH groups (the interaction between no adjacent OH groups are noted in parentheses).

### Geometrical Parameters

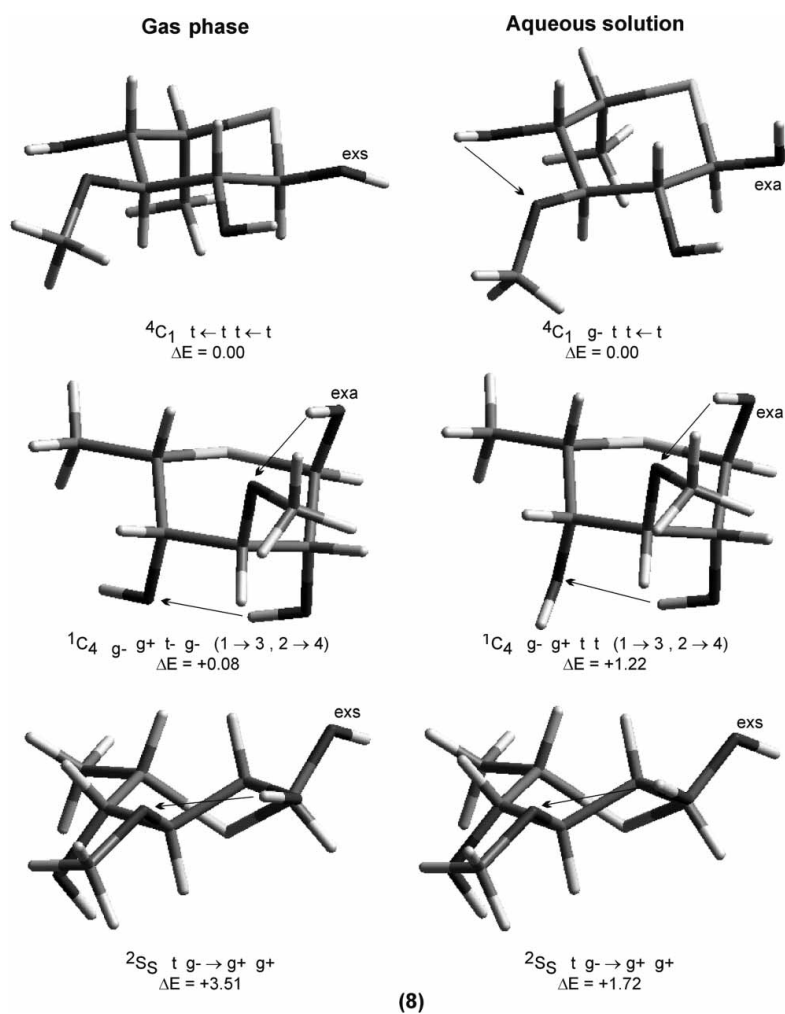
Figures 2 and 3 display a selection of geometric parameters for the most stable structures of **1** and **2**, respectively, such the bond distances, angles, and puckering parameters for each possible exo-anomeric orientation.<sup>[5]</sup>

578 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado



**Figure 7:** The main rotamers of the most significant conformations for compound **7** in the gas phase and in solution. The orientations of the anomeric OH according to the exo-anomeric effect are depicted (exs: exo-syn, exa: exo-anti). The arrows indicate OH...O interaction between OH groups (the interaction between no adjacent OH groups are noted in parentheses).

Puckering coordinates<sup>[45]</sup> were used to analyze and classify the resulting ring conformations. As expected, the thiofucose rings showed larger  $Q$  values than did fucose, signifying their higher deviation from planarity. On the other hand,  ${}^1C_4$  rings of thiofucose showed a greater twisting than in fucose, indicated by larger  $\theta$  values. This was also observed in the experimental data



**Figure 8:** The main rotamers of the most significant conformations for compound **8** in the gas phase and in solution. The orientations of the anomeric OH according to the exo-anomeric effect are depicted (exs: exo-syn, exa: exo-anti). The arrows indicate OH...O interaction between OH groups (the interaction between no adjacent OH groups are noted in parentheses).

for other thiosugars<sup>[7,9]</sup> and explained with the larger C-S<sub>ring</sub> bond distance (compared to C-O<sub>ring</sub>) and the smaller  $\angle C_1-S_{ring}-C_5$  angles.

Moreover, our results of fucopyranose agreed well with the X-ray experimental data. Although X-ray and theoretical geometries cannot be directly compared due to the different environments, their comparison can provide



580 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

valuable information on the main geometrical trends of the compounds under study and the accuracy of the calculations. The maximal deviations from experimental bond lengths in  $\alpha$ -fucopyranose were of 0.034 Å for C<sub>5</sub>-O<sub>ring</sub> and 0.046 Å for C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub>. The remaining distances were in good agreement, including the C<sub>1</sub>-O<sub>ring</sub> distance (deviation of 0.01 Å). However, the bond angles displayed larger deviations of 4.5° and 7.1° for  $\angle$ C<sub>1</sub>-O<sub>ring</sub>-H and  $\angle$ O<sub>1</sub>-C<sub>1</sub>-H<sub>1</sub>, respectively. In general, the B3LYP/6-31 + G\* method agreed well with the experimental data,<sup>[56]</sup> supporting this as a correct method for reproduction of pyranose geometries.

Focusing on the studied 5-thiofucopyranoses **1** and **2**, some noteworthy features were examined from a geometrical comparison between these  $\alpha$ - and  $\beta$ - anomers. The B3LYP/6-31 + G\* geometries, both in the gas phase and in solution, reproduced correctly the anomeric effect.<sup>[29]</sup> Thus, the C<sub>1</sub>-S distance of  $\alpha$ -thiofucopyranose was shortened with respect to the  $\beta$ -analog (average values of 1.830 Å vs. 1.836 Å in the gas phase, and 1.845 Å vs. 1.858 Å in solution) whereas the C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> distances were lengthened (1.423 Å vs. 1.406 Å and 1.412 Å vs. 1.408 Å). On the other hand, the  $\angle$  S-C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> angle was lengthened for **1** (in the gas phase 112.6 vs. 107.7° and in solution 112.5 vs. 108.3°). This was expected from the experimental data of monosaccharides<sup>[57]</sup> and was reproduced correctly, corroborating the presence of the anomeric effect in thiopyranoses.

The exo-anomeric effect in thiosugars was also experimentally evidenced.<sup>[5]</sup> The most remarkable geometrical results were found for this effect. In opposition to the anomeric one, the exo-anomeric effect for saccharides shortens the C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> bond distance and lengthens the C<sub>1</sub>-O<sub>ring</sub> one.<sup>[57]</sup> Our geometric results also indicate that calculations in solution are necessary for reproducing the exo-anomeric effect.

Table 3 lists the C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> and C<sub>1</sub>-S<sub>ring</sub> bond-length differences in exo-anomeric forms with respect to the non-exo-anomeric bond lengths, for both the gas phase and in solution. For all compounds studied, results in solution indicate a decreasing length for C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> bonds and an increasing one for C<sub>1</sub>-S<sub>ring</sub> bonds, in complete agreement with the overall behavior in monosaccharides. However, gas-phase results generally failed to reproduce the C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> bond shortening, resulting in an increase. Additionally, there was a slight agreement in the case of the lengthening of C<sub>1</sub>-S<sub>ring</sub> bond, although bond length increases were occasionally very small.

Finally, in order to allow a direct correlation between the spectroscopic and geometric data, Table 4 summarizes the main calculated structural data in solution for the most stable rotamers of each compound. It is noteworthy that the S-C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> angle allows a direct determination of the nature (axial/equatorial) of the anomeric C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> bond. Values about 113° and 108° correspond to axial and equatorial arrangements, respectively. Complementarily, this permits to identify the axial/equatorial arrangements for skew boat conformations (e.g., the <sup>2</sup>S<sub>s</sub> conformation), where the visual determination is complex.

**Table 3:** Theoretical exomeric lengthening of C<sub>1</sub>-S distance and shortening of C<sub>1</sub>-O<sub>1</sub> one, with respect to the corresponding non-exo values (in Å).

	Cf <sup>a</sup>	exo <sup>b</sup>	Gas phase		Aqueous solution	
			Δ C <sub>1</sub> -S	Δ C <sub>1</sub> -O <sub>1</sub>	Δ C <sub>1</sub> -S	Δ C <sub>1</sub> -O <sub>1</sub>
<b>1</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0.019	-0.005	+0.025	-0.012
		exs	+0.003	+0.011	+0.022	-0.009
<b>2</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0.002	+0.010	+0.015	-0.007
		exs	+0.004	+0.006	+0.016	-0.006
<b>3</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0.027	-0.008	+0.029	-0.013
		exs	+0.013	+0.007	+0.026	-0.011
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0.005	+0.006	+0.018	-0.009
		exs	+0.008	+0.004	+0.018	-0.008
<b>6</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0.038	-0.037	+0.028	-0.021
		exs	+0.016	-0.013	+0.016	-0.014
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0.008	+0.006	+0.017	-0.009
		exs	+0.012	+0.004	+0.019	-0.009
<b>8</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	exa	+0.031	-0.036	+0.028	-0.021
		exs	+0.012	-0.011	+0.018	-0.015
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	exa	+0.006	+0.007	+0.017	-0.009
		exs	+0.009	+0.005	+0.018	-0.008

<sup>a</sup>Ring conformation.<sup>b</sup>Exo-anomeric effect being exs = exo-syn and exa = exo-anti.

### Spectroscopic Properties

The <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR chemical shifts were calculated using the GIAO method in the gas phase and in solution, and the results are graphically displayed in Figure 9 and listed in Table 5.

The main differences between **1** and **2** and their natural counterparts in the gas phase were found for δ<sub>C1</sub> and δ<sub>C5</sub> chemical shifts, with a downfield displacement for these thiosugars, and displacements of 15 and 24 ppm, respectively, in the α-anomers (17 and 27 ppm in the case of β-anomers). These values reproduce the experimental trend.<sup>[33,58]</sup>

Similar results were found for the <sup>1</sup>H shifts when comparing thiosugars **1** and **2** and the fucopyranoses, the δ<sub>H5</sub> and δ<sub>H1</sub> values both being downshifted 0.5 ppm for the α-anomer. However, although similar displacements were noted for the δ<sub>H5</sub> values for the β-anomer (about 0.5 ppm), a small blueshift of about 0.2 ppm was found for δ<sub>H1</sub>. This effect of the δ<sub>H1</sub> was found both experimentally and theoretically.<sup>[33,58]</sup>

For α-anomer of thiofucose **1**, the calculated <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR data in the gas phase yielded a better agreement with the experimental data than in solution, the latter δ<sub>C1</sub> and δ<sub>C5</sub> being the most deviated chemical shifts. Similar results for the β-anomer **2** were found in the <sup>1</sup>H spectrum. The absence of <sup>13</sup>C experimental data for **2** hampers its comparison. In general, the results from calculations in solution yielded higher values than in the

582 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

**Table 4:** Selected geometrical parameters (Å and degrees) and puckering coordinates of compounds **1–8** at the B3LYP/6-31+G\* theoretical level in solution for the first rotamers of the main ring forms.

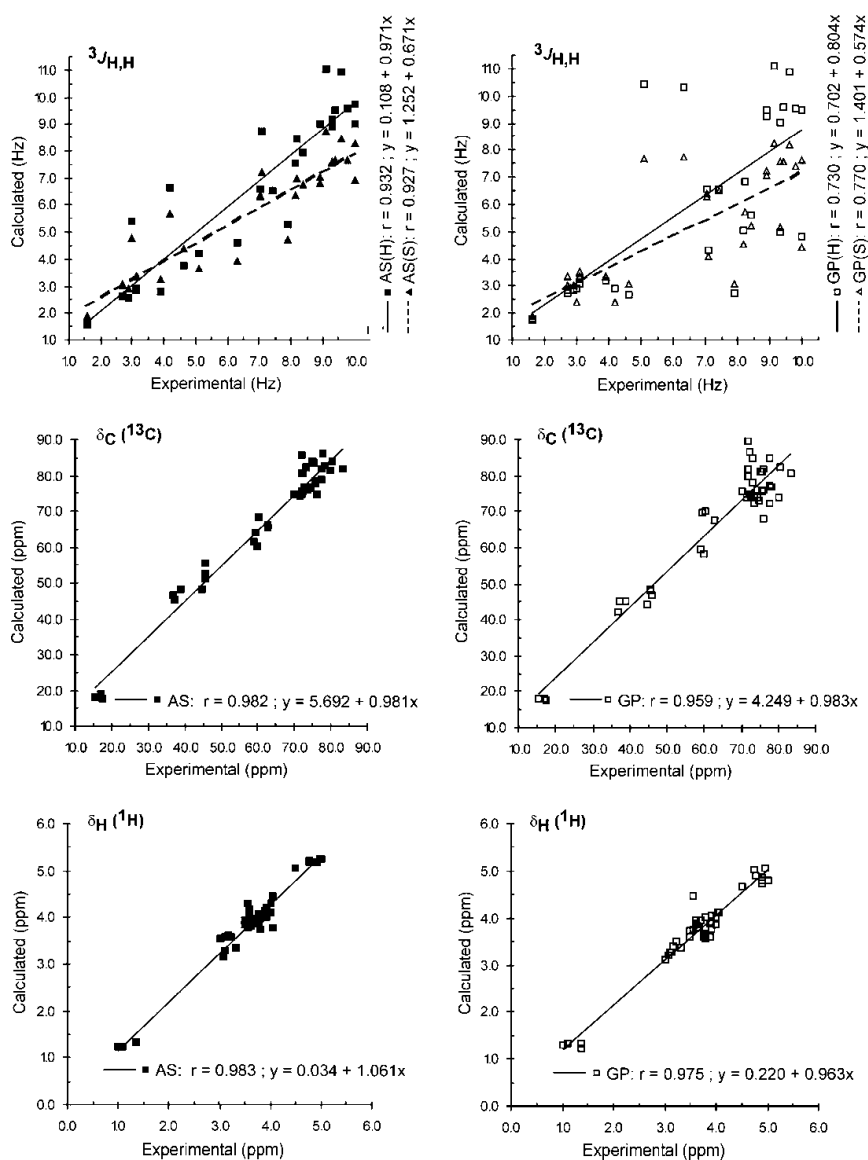
	Cf <sup>a</sup>	Puckering coordinates							
		$\theta$	$\phi$	$Q$	C <sub>1</sub> -S	C <sub>5</sub> -S	C <sub>1</sub> -O <sub>1</sub>	C <sub>1</sub> -S-C <sub>5</sub>	S-C <sub>1</sub> -O <sub>1</sub>
<b>1</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5.2	303.5	0.643	1.848	1.855	1.416	99.3	113.3
<b>2</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5.1	293.7	0.645	1.860	1.853	1.410	98.9	108.9
<b>3</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	171.0	112.2	0.661	1.848	1.848	1.413	98.9	113.7
<b>4</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	176.7	105.2	0.621	1.845	1.849	1.416	100.6	113.4
<b>5</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	171.7	117.6	0.645	1.866	1.845	1.409	99.9	107.9
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5.6	302.0	0.633	1.858	1.854	1.414	99.6	113.6
	<sup>2</sup> S <sub>s</sub>	85.2	269.5	0.886	1.863	1.850	1.414	98.2	113.3
<b>6</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	171.0	108.7	0.653	1.864	1.848	1.411	99.7	108.1
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5.2	297.9	0.631	1.856	1.856	1.416	99.9	113.4
	<sup>2</sup> S <sub>s</sub>	85.4	266.9	0.878	1.860	1.851	1.417	98.7	113.2
<b>7</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	173.4	138.6	0.639	1.864	1.842	1.409	100.6	107.5
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	6.3	294.8	0.638	1.857	1.854	1.415	99.0	113.3
	B <sub>1,4</sub>	91.4	190.8	0.769	1.870	1.861	1.411	102.4	107.3
<b>8</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	172.1	103.5	0.640	1.859	1.846	1.411	99.9	108.2
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	5.2	299.2	0.629	1.854	1.855	1.417	99.9	113.6
	<sup>2</sup> S <sub>s</sub>	82.9	267.8	0.888	1.857	1.851	1.415	98.2	112.6

<sup>a</sup>Ring conformation.

gas phase, without noticeable differences between the two anomers. The  $\delta_{C5}$  chemical shifts were similar for  $\alpha$ - and  $\beta$ - anomers in the gas phase and in solution. However, the  $\delta_{C1}$  results yielded distinct values.

Experimental analysis of the vicinal  $^3J_{H,H}$  coupling constants usually gives key structural information for these compounds. The calculated  $^3J_{H,H}$  average values by the Haasnoot-Leeuw-Altona empirical equation and by the SSCC were compared with the experimental ones. The  $^3J_{H,H}$  values of the Haasnoot-Leeuw-Altona empirical equation accurately fit the experimental data, the largest errors being about 0.5 Hz for  $J_{2,3}$  and  $J_{5,6}$ . These deviations can be considered very small, regarding the uncertainty in the experimental data (about 0.4 and 0.1 Hz, respectively). Also, it can be observed that the  $^3J_{H,H}$  values show an indirect dependence with the OH orientations. Therefore, the average  $^3J_{H,H}$  values depend not only on the ring form, but also on the energetic order of the different rotamers. According to these ideas, the computations in solution improved for both  $\alpha$ - and  $\beta$ -anomers, because of the better distribution of rotamers.

For **3** and **4**, the  $^{13}C$  results of the anomeric carbon are not as good as for **1** and **2**, although there is an improvement for the rest of the carbon atoms. The results of  $^1H$  agree with the experimental data, but, as opposed to the calculated  $^1H$  NMR data of **1** and **2**, the gas-phase results yielded better agreement than in



**Figure 9:** Calculated vs. experimental  $^1H$ ,  $^{13}C$ , and  $^3J_{H,H}$  data for compounds 1-8 together with the corresponding regression lines. AS, calculations in solution; GP, gas phase; H, calculations of  $^3J_{H,H}$  coupling constants with the empirical Haasnoot-Leeuw-Altoua equation, S,  $^3J_{H,H}$  obtained with the SSCC method. References to the experimental data are tabulated in Table 7.



<b>7</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	++++ tg-	Avg <sup>d</sup>	5.3	3.9	3.8	4.3	3.2	1.3	8.7	9.1	9.0	4.3	6.5				
			Exptl <sup>f</sup>	4.9	3.53- 3.60	3.53- 3.60	3.87- 3.95	3.06- 3.11	8.2						9.6	9.2	5.1	10.9
<b>7</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-g+t t+g+	Avg <sup>d</sup>	7.8	5.2	4.4	3.9	4.7	3.7	3.9	3.6	3.5	2.9	3.4	3.8	1.5	11.2	3.3
			Exptl <sup>f</sup>	0.9	5.8	4.1	3.6	4.6	3.7									
<b>8</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g-+++ g+g-	Avg <sup>d</sup>	5.2	4.0	3.6	4.4	3.5	4.3	3.7	3.7	8.1	8.5	8.2	4.5	10.8	2.8	
			Exptl <sup>f</sup>	30.4	5.1	3.8	3.2	4.0										3.2
<b>8</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g-g+t t	Avg <sup>d</sup>	3.8	5.1	4.4	3.8	4.3	3.8	1.4	3.5	2.8	3.5	3.7	1.6	6.6		
			Exptl <sup>f</sup>	1.7	5.1	4.0	3.2	4.0	3.8	1.4							3.7	6.4
<b>8</b>	<sup>2</sup> S <sub>s</sub>	tg-g+ g+	Avg <sup>d</sup>	5.1	3.8	3.3	4.1	3.3	1.4	3.7	8.1	8.7	8.5	4.1	6.6			
			Exptl <sup>f</sup>	4.9	3.7	3.3	4.0	4.0	1.4							8.0- 8.3	8.4	8.2- 8.6

585

<sup>a</sup>Ring conformation.<sup>b</sup>Classification by dihedral angles (see text); the OH groups are numbered according to the ring carbons (see Fig. 2).<sup>c</sup>Boltzmann population rate.<sup>d</sup>From the equivalent H(δ) methyl protons.<sup>e</sup>From ref. (33).<sup>f</sup>From ref. (33).<sup>g</sup>From ref. (59).<sup>h</sup>From ref. (24).<sup>i</sup>Averaged values of the three rotamers according to their populations rate.

586 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

solution. As a general trend, the  ${}^3J_{\text{H,H}}$  data calculated in solution, compared with those in the gas phase, clearly agreed better with the experimental data, not only for **3** and **4**, but also for all the compounds studied. Particularly for  $J_{5,6'}$ , the results failed in the gas phase, presumably due to the overestimation of the OH(6)···OH(4) interaction in the first rotamer for **3** and **4**.

For L-ido derivatives (**5–8**), although not all the signals are assigned experimentally, the  $J_{1,2}$  anomeric couplings, which give the most relevant structural information ( ${}^1\text{C}_4$  vs.  ${}^4\text{C}_1$  or  $\alpha$  vs.  $\beta$ ), agreed well with the available experimental data.<sup>[54]</sup> For both deoxy and non deoxy derivatives, only the data from calculations in solution fit correctly. For deoxy compounds, the disagreement of the gas phase results was caused by the aforementioned overestimation of the  ${}^1\text{C}_4$  ring form, while in the non deoxy compounds, the disagreement is much more evidenced, because the same overestimation leads to the inversion of the chair ring-form conformational preference. With respect to the chemical shifts of **5–8**, even though there is a lack of experimental data for **7**, the main tendencies for the  $\delta_{\text{C}}$  and  $\delta_{\text{H}}$  shifts are similar to those found for **3** and **4**.

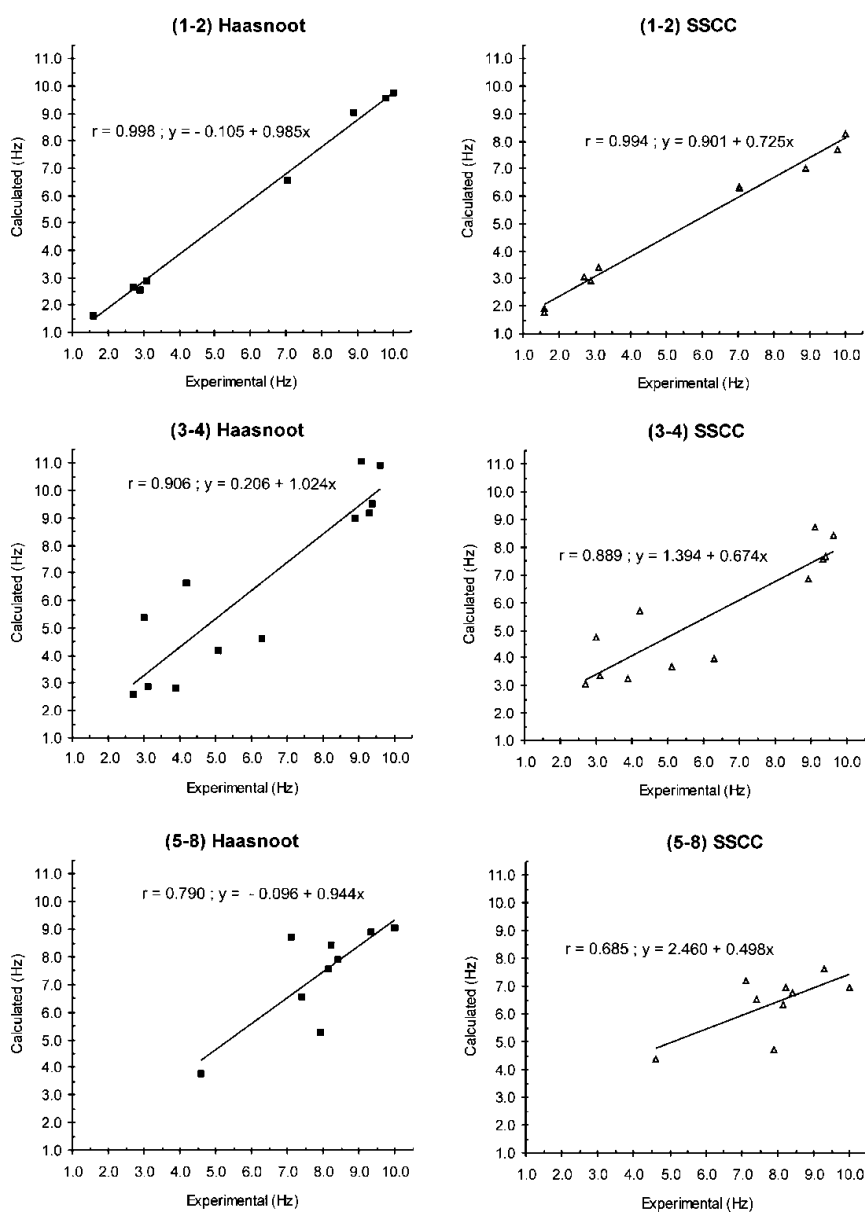
For all compounds, the SSCC method failed to reproduce the high values of  ${}^3J_{\text{H,H}}$ , giving lower values than those of the Haasnoot-Leeuw-Altona empirical equation, with the deviation of SSCC data from the experiment being much larger.

Figure 9 shows the theoretical data of  ${}^1\text{H}$ ,  ${}^{13}\text{C}$ , and  ${}^3J_{\text{H,H}}$  correlated with the experimental data when available. As reflected in Figure 9, a better agreement was consistently found for calculations in solution, with good regression values  $r$ . Moreover, in the case of  ${}^3J_{\text{H,H}}$ , the Haasnoot-Leeuw-Altona empirical equation in solution gave the best agreement with the experiment.

Figure 10 displays the correlation of the experimental  ${}^3J_{\text{H,H}}$  couplings with the calculated Haasnoot and SSCC values, respectively. In order to visualize the different degree of correlation, the graphics have been arranged in three different series. The first series includes compounds **1** and **2** and presents a high degree of correlation for both theoretical methods.

On the other hand, for the remaining series the scattering is more pronounced. In the second series, which includes compounds **3** and **4**, the scattering is caused mainly by the  $J_{5,6'}$  and  $J_{5,6''}$  couplings, which correspond to the free rotation of the  $\text{CH}_2\text{OH}$  group. In fact, for **3**, the theoretical values are improved after considering the averaged values of the seven first rotamers. All of these rotamers present the [t g+ t t] classification of dihedral angles for the ring carbon atoms, and differ only in the classification of  $\text{CH}_2\text{OH}$  group rotation. Furthermore  $J_{5,6'}$  and  $J_{5,6''}$  couplings do not contribute to the elucidation of the ring conformation ( ${}^4\text{C}_1$  chair form).

The third series (L-ido compounds **5–8**) yielded the worst correlation, undoubtedly due to the  $J_{1,2}$  value of **5** and **7**. For some of the compounds included in this series, there are scarce experimental data, avoiding a better correlation. Despite these difficulties, it can be stated that the conformational



**Figure 10:** Calculated (Haasnoot-Leeuw-Altona equation, and SSCC method) vs. experimental  $^3J_{H,H}$  coupling constants for compounds **1-8** in solution together with the corresponding regression lines. References to the experimental data are tabulated in Table 7.



588 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

**Table 6:** Comparative Results<sup>a</sup> between B3LYP/6-31+G\* and MP2/6-311++G\*\* calculations of selected structures for **2** in the gas phase, and for **6** and **8** in aqueous solution.

Cf <sup>b</sup>	CDA <sup>c</sup>	B3LYP/6-31+G*		MP2/6-311++G**		
		$\Delta E^d$	BPR <sup>e</sup>	$\Delta E^d$	BPR <sup>e</sup>	
<b>2</b>	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ g+ g+	0.00 (0.00)	95.8 (82.0)	0.00	98.0
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	†g+ g+ g+	2.05 (1.94)	3.0 (3.1)	2.32	1.9
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g- †	3.11 (1.66)	0.5 (4.9)	5.06	0.0
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- g- g-	3.14 (1.58)	0.5 (5.7)	4.73	0.0
	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g+ g- †g+	3.79 (2.53)	0.2 (1.2)	5.79	0.0
	<sup>5</sup> S <sub>1</sub>	g+ g- g+ †	4.22 (1.94)	0.1 (3.1)	7.82	0.0
<b>6</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	††††	0.00	94.7	0.00	95.2
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ ††	1.94	3.6	1.93	3.7
	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	†††g+	2.36	1.8	2.65	1.1
<b>8</b>	<sup>4</sup> C <sub>1</sub>	g- †††	0.00	84.7	0.00	65.9
	<sup>1</sup> C <sub>4</sub>	g- g+ ††	1.22	10.7	0.48	29.3
	<sup>2</sup> S <sub>S</sub>	†g- g+ g+	1.72	4.6	1.55	4.8

<sup>a</sup>In parenthesis data calculated at the B3LYP/6-31G\* level.<sup>b</sup>Ring conformation.<sup>c</sup>Classification by dihedral angles.<sup>d</sup>Relative energy in kcal/mol.<sup>e</sup>Boltzman population rate.

order is <sup>4</sup>C<sub>1</sub> > <sup>1</sup>C<sub>4</sub> > <sup>2</sup>S<sub>S</sub> (B<sub>1,4</sub> in case of **7**) for all the L-ido compounds here studied. Although in some particular cases, the comparison of the anomeric *J*<sub>1,2</sub> coupling constant (only experimentally available for **6** and **7**) could raise doubts about whether the <sup>4</sup>C<sub>1</sub> or <sup>2</sup>S<sub>S</sub> are the main ring form, the *J*<sub>3,4</sub> data clearly support the <sup>4</sup>C<sub>1</sub> form. This is additionally supported by calculations at a higher level of theory (MP2/6-311++G\*\*) for some of these structures, yielding the same conformational preference (see Table 6).

Besides, Table 5 presents the <sup>1</sup>H chemical shifts and <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> coupling constants, arranged by conformation (the most populated). This table allows a direct comparison of the spectroscopic data for the possible conformation of

**Table 7:** List of references corresponding to the sources of the NMR experimental data.

Compound	$\delta_C$ ( <sup>13</sup> C)	$\delta_H$ ( <sup>1</sup> H)	<sup>3</sup> J <sub>H,H</sub>
<b>1</b>	33	33	33
<b>2</b>	—	33	33
<b>3</b>	59	59	59
<b>4</b>	23, 24	24	24
<b>5-8</b>	33	33	33

each compound. Compounds **1–4** yielded only one main  ${}^1C_4$  or  ${}^4C_1$  conformation, in agreement with the experimental coupling constants. For L-ido compounds **5–8**, where the computed data showed three main conformations, the agreement between the averaged computed and experimental coupling constants was very good. Generally, good results are obtained with the exception of  $J_{5,6'}$  and  $J_{5,6'}$  of **3** and **4**, as it is explained above.

## CONCLUSIONS

A conformational analysis of different 5-thio-pyranose derivatives was performed by MM and DFT methods in the gas phase and in solution with the PCM. In contrast with their natural homolog, the inclusion of diffuse functions was necessary for a correct reproduction of the rotamer population, yielding the calculations without diffuse-function erroneous results on the relative energy orders, overestimating the stabilizing  $OH(n)\cdots S_{ring}$  interactions.

The calculations in solution (PCM-B3LYP/6-31 + G\*) accurately reproduced the reported experimental data, while gas-phase calculations failed. Gas-phase results showed different relative rotamer-energy orders and conformational preferences than in solution. In particular, for L-ido derivatives (**5–8**), the calculations in the gas phase did not match the experimental conformational preference, even inverting the order of the  ${}^1C_4$  and  ${}^4C_1$  chair forms for nondeoxy derivatives. Therefore, the gas-phase calculations were not suitable to describe the preferences in solution.

The OH(6) was revealed as a key element in determining the conformational order because of the additional and more stabilizing nonadjacent intramolecular interactions. Additionally, for **7**, the presence of a methyl group at C<sub>3</sub> caused the B<sub>1,4</sub> boat conformation to be preferred over the  ${}^2S_8$  skew-boat as the third ring form.

The main ring form for **1** and **2** in the gas phase presented a maximal number of OH...O intramolecular interactions. These interactions were arranged as intramolecular anticlockwise (or clockwise) unidirectional chains of the hydroxyl groups, similar to their natural counterparts. Moreover, when these interactions were directed at one oxygen (bidirectional chains), the resulting conformations became less stable. It was found that  $OH(n)\cdots S_{ring}$  interactions were a source of additional stabilization. However, the calculations in solution indicated that 5-thio-pyranose derivatives tend to break their intramolecular OH...O interactions, favoring the interaction of the OH groups with the solvent molecules. Also, the conformational analysis revealed that, after inclusion of the solvent in the calculations, the different rotamers were energetically ordered, according to the exo-anomeric effect.

From the conformation analysis, it was found that the “hockey-stick” effect is reproduced only theoretically in solution, where conformations compatible with this effect appear stabilized with OH...O interactions. Therefore, the

590 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

validity of the “hockey-stick” effect is questioned for the gas phase, and further investigation is needed.

The exo-anomeric effect is correctly reproduced only with the B3LYP/6-31+G\* method including the PCM solvation method. The bond distances related to this effect are reproduced, as well as the rotamer-energy order caused by the exo-anomeric effect. This highlights the necessity of considering the solvent for the study of these and other carbohydrates.

The GIAO-calculated NMR  $^1\text{H}$  chemical shifts accurately reproduced the experimental trends for the thiosugars studied. However,  $^{13}\text{C}$  chemical shifts were less accurate. The  $^3J_{\text{H,H}}$  coupling constants calculated in solution with the Haasnoot-Leeuw-Altona empirical equation also matched the experimental data. However, the  $^3J_{\text{H,H}}$  calculations with SSCC were in disagreement for high coupling-constant values, these being lower than those obtained with the Haasnoot-Leeuw-Altona equation. It is worth mentioning that, for an accurate reproduction of spectroscopic properties, it is necessary to take into account the Boltzman population rates.

## SUPPLEMENTARY DATA

Pdb files of the rotamers for compounds **1–8**, computed at the PCM-B3LYP/6-31+G\* theoretical level, are available at [www.ugr.es/local/gmdm/supinf/thio1.htm](http://www.ugr.es/local/gmdm/supinf/thio1.htm).

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported from the Junta de Andalucía (FQM-174). Computing time has been provided by the University of Granada (Spain). We are grateful to Professor F. Santoyo and Dr. S. Melchor for invaluable advice and comments on the manuscript, and to Professor J. Isac for help on NMR discussion. Mr David Nesbitt reviewed the original English manuscript.

## REFERENCES

- [1] Ganem, B. Inhibitors of carbohydrate-processing enzymes: design and synthesis of sugar-shaped heterocycles. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 340–347.
- [2] Yuasa, H.; Saotome, C.; Kanie, O. Design syntheses of inhibitors of glycoenzymes. *Trends Glycosci. Glyc.* **2002**, *14*, 231–251.
- [3] Simanek, E.E.; McGarvey, G.J.; Jablonowski, J.A.; Wong, C.H. Selectin-carbohydrate interactions: from natural ligands to designed mimics. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833–862.
- [4] Sears, P.; Wong, C.H. Carbohydrate mimetics: a new strategy for tackling the problem of carbohydrate-mediated biological recognition. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2300–2324.

- [5] Yuasa, H.; Hashimoto, H. Recent advances in the development of unnatural oligosaccharides. Conformation and bioactivity. *Trends Glycosci. Glyc.* **2001**, *13*, 31–55.
- [6] Atsushi, K.; Noriko, K.; Erika, K.; Isao, A.; Kyoko, I.; Liang, Y.; Tadashi, O.; Yasunori, B.; Hidekazu, O.; Hiroki, T.; Naoki, A. Biological properties of D- and L-1-deoxyzasugars. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2036–2044.
- [7] Yuasa, H.; Hashimoto, H. Replacing the ring oxygen of carbohydrates with sulfur: its biological and chemical consequences. *Rev. Heteroatom. Chem.* **1999**, *19*, 35–65.
- [8] Fernández-Bolaños, J.G.; Al-Masoudi, N.A.L.; Maya, I. Sugar derivatives having sulfur in the ring. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2001**, *57*, 21–98.
- [9] Robina, I.; Vogel, P.; Witzcak, Z.J. Synthesis and biological properties of monothiosaccharides. *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 1177–1214.
- [10] Paulsen, H.; Todt, K. Cyclic monosaccharides having nitrogen or sulfur in the ring. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1968**, *23*, 115–232.
- [11] Robina, I.; Vogel, P. The synthesis of disaccharides, oligosaccharides and analogues containing thiosugars. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6*, 471–491.
- [12] Tsuruta, O.; Yuasa, H.; Hashimoto, H.; Sujino, K.; Otter, A.; Li, H.; Palcic, M.M. Synthesis of GDP-5-thiosugars and their use as glycosyl donor substrates for glycosyltransferases. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6400–6406.
- [13] Schwarz, J.C.P.; Yule, K.C. D-xylothiapyranose - a sugar with sulphur in ring. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 417.
- [14] Adley, T.J.; Owen, L.N. Thio-sugars with sulphur in ring. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 418.
- [15] Whistler, R.L.; Nayak, U.G. Improved syntheses of 5-thio-D-glucose. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 97–100.
- [16] Hellman, B.; Lemmark, Å.; Sehlin, J.; Taljedal, I.B.; Whistler, R.L. Accumulation of collagen in the uterus of the immature rat administered estradiol-17 $\beta$ . *Biochem. Pharmacol.* **1973**, *22*, 29–35.
- [17] Kim, J.H.; Kim, S.H.; Han, E.W.; Song, C.W. 5-Thio-D-glucose selectivity potentiates hyperthermia killing of hypoxic tumor-cells. *Science* **1978**, *200*, 206–207.
- [18] Inamori, Y.; Muro, C.; Toyoda, M.; Kato, Y.; Tsujibo, H. Inhibitory activity of 5-thio-D-glucose on plant-growth. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1994**, *58*, 1877–1878.
- [19] Izumi, M.; Tsuruta, O.; Hashimoto, H. A facile synthesis of 5-thio-L-fucose and 5-thio-D-arabinose from D-arabinose. *Carbohydr. Res.* **1996**, *280*, 287–302.
- [20] Hashimoto, H.; Kawanishi, M.; Yuasa, H. Novel conversion of aldopyranosides into 5-thioaldopyranosides via acyclic monthioacetals with inversion and retention of configuration at C-5. *Carbohydr. Res.* **1996**, *282*, 207–221.
- [21] Le Merrer, Y.; Fuzier, M.; Dosbaa, I.; Foglietti, M.J.; Depezay, J.C. Synthesis of thiosugars as weak inhibitors of glycosidases. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 16731–16746.
- [22] Cubero, I.I.; López-Espinosa, M.T.P.; Richardson, A.C.; Ortega, M.D.S. Enantiospecific synthesis of 1-deoxythiomannojirimycin from a derivative of D-glucose. *Carbohydr. Res.* **1993**, *242*, 109–118.
- [23] Yuasa, H.; Izukawa, Y.; Hashimoto, H. Synthesis of 5-thio-D-mannose. *J. Carbohydr. Chem.* **1989**, *8*, 753–763.
- [24] Capon, R.J.; MacLeod, J.K. 5-Thio-D-mannose from the marine sponge *Clathria Pyramida* (Lendenfeld). The first example of a naturally occurring 5-thiosugar. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 1200–1201.

592 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

- [25] Yuasa, H.; Takada, J.; Hashimoto, H. Synthesis of salacinol. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6615–6618.
- [26] Imberty, A.; Pérez, S. Structure, conformation, and dynamics of bioactive oligosaccharides: theoretical approaches and experimental validations. *Carbohydr. Res.* **2000**, *100*, 4567–4588.
- [27] Panday, N.; Meyyappan, M.; Vasella, A. A comparison of glucose- and glucosamine-related inhibitors: probing the interaction of the 2-hydroxy group with retaining  $\beta$ -glucosidases. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 513–538.
- [28] Wormald, M.R.; Petrescu, A.J.; Pao, Y.; Glithero, A.; Elliott, T.; Dwek, R.A. Conformational studies of oligosaccharides and glycopeptides: complementarity of NMR, X-ray crystallography, and molecular modelling. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 371–386.
- [29] The anomeric effect has been explained by decreasing the dipole-dipole repulsion between C-O bonds in the axial anomer (Edward, J.T. Stability of glycosides to acid hydrolysis - a conformational analysis. *Chem. Ind. (London)* **1955**, *36*, 1102–1104. Anderson, C.B.; Sepp, D.T Conformation and the anomeric effect in 2-oxy-substituted tetrahydropyrans. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 1707–1716) and/or from greater hyperconjugative stabilization of pyranose oxygen lone-pair density, when delocalized into the empty axial  $\sigma^*CO$  orbital (Romers, C.; Altona, C.; Buys, H.R.; Havinga E. In *Topics in Stereochemistry*; Eliel, E.L., Allinger, N.L., Eds.; Wiley: New York, **1969**; Vol. 4, 39).
- [30] Woods, R.J.; Smith, J.V.H.; Szarek, W.A.; Farazdel, A. *Ab initio* LCAO-MO calculations on  $\alpha$ -D-glucopyranose,  $\beta$ -D-fructopyranose, and their thiopyranoid-ring analogues. Application to a theory of sweetness. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 937–939.
- [31] Kavlekar, L.M.; Kuntz, D.A.; Wen, X.; Jonshton, B.D.; Svensson, B.; Rose, D.R.; Mario Pinto, B. 5-Thio-D-glycopyranosylamines and their amidinium salts as potential transition-state mimics of glycosyl hydrolases: synthesis, enzyme inhibitory activities, X-ray crystallography, and molecular modeling. *Tetrahedron: Asymm.* **2005**, *16*, 1035–1046.
- [32] Wong, C.H. Mimics of complex carbohydrates recognized by receptors. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 376–385.
- [33] Calvo-Flores, F.G.; García-Mendoza, P.; Hernández-Mateo, F.; Isac-García, J.; Santoyo-González, F. Applications of cyclic sulfates of vic-diols: synthesis of episulfides, olefins, and thio sugars. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3944–3961.
- [34] Csonka, G.I.; Éliás, K.; Csizmadia, I.G. *Ab initio* and density functional study of the conformational space of  $^1C_4$   $\alpha$ -L-fucose. *J. Comput. Chem.* **1996**, *18*, 330–342.
- [35] Csonka, G.I.; Éliás, K.; Csizmadia, I.G. Relative stability of  $^1C_4$  and  $^4C_1$  chair forms of  $\beta$ -D-glucose: a density functional study. *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *257*, 49–60.
- [36] Lemieux, R.U. How water provides the impetus for molecular recognition in aqueous solution. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 373–380.
- [37] Tomasi, J.; Persico, M. Molecular interactions in solution: an overview of methods based on continuous distributions of the solvent. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2027–2094.
- [38] Cramer, C.J.; Truhlar, D.G. Implicit solvation models: equilibria, structure, spectra, and dynamics. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2161–2200.
- [39] Duus, J.Ø.; Gotfredsen, C.H.; Bock, K. Carbohydrate structural determination by NMR spectroscopy: modern methods and limitations. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4589–4614.

- [40] Herfurth, L.; Weimar, T.; Peters, T. Application of 3D-TOCSY-trNOESY for the assignment of bioactive ligands from mixtures. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2097–2099.
- [41] Helgaker, T.; Watson, M.; Handy, N.C. Analytical calculation of nuclear magnetic resonance indirect spin-spin coupling constants at the generalized gradient approximation and hybrid levels of density-functional theory. *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 9402–9409.
- [42] Sychrovský, V.; Gräfenstein, J.; Cremer, D. Nuclear magnetic resonance spin-spin coupling constants from coupled perturbed density functional theory. *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 3530–3547.
- [43] Haasnoot, C.A.G.; De-Leeuw, F.A.A.M.; Altona, C. The relationship between proton-proton NMR coupling constants and substituent electronegativities-I (an empirical generalization of the Karplus equation). *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783–2792.
- [44] A modification of the Allinger's MM2(77) (Allinger, N.L. Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing  $V_1$  and  $V_2$  torsional terms. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8127–8134) and MMP1 programs (Allinger, N.L.; Sprague, J.T. Calculation of the structures of hydrocarbons containing delocalized electronic systems by the molecular mechanics method. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 3893–3907) by Gajewski and Gilbert implemented in the PCMODEL program (available on Serena Software, PO Box, 3076, Bloomington, IN 47402–3076, USA).
- [45] We used the Cremer and Pople puckering coordinates algorithm (see Cremer, D.; Pople, J.A. A general definition of ring puckering coordinates. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1354–1358) to classify the ring form.
- [46] Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Montgomery, J.A., Jr.; Vreven, T.; Kudin, K.N.; Burant, J.C.; Millam, J.M.; Iyengar, S.S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J.E.; Hratchian, H.P.; Cross, J.B.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R.E.; Yazyev, O.; Austin, A.J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J.W.; Ayala, P.Y.; Morokuma, K.; Voth, G.A.; Salvador, P.; Dannenberg, J.J.; Zakrzewski, V.G.; Dapprich, S.; Daniels, A.D.; Strain, M.C.; Farkas, O.; Malick, D.K.; Rabuck, A.D.; Raghavachari, K.; Foresman, J.B.; Ortiz, J.V.; Cui, Q.; Baboul, A.G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B.B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R.L.; Fox, D.J.; Keith, T.; Al-Laham, M.A.; Peng, C.Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P.M.W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M.W.; Gonzalez, C. *Gaussian 03, Revision B.05*; Gaussian, Inc: Pittsburgh, PA, 2003.
- [47] Cramer, C.J.; Truhlar, D.G. Quantum chemical conformational analysis of glucose in aqueous solution. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5745–5753.
- [48] Stewart, J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods I. *Method. J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 209–220.
- [49] Onsager, L. Electric moments of molecules in liquids. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 1486–1493.
- [50] Wolinski, K.; Hinton, J.F.; Pulay, P. Efficient implementation of the gauge-independent atomic orbital method for NMR chemical shift calculations. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8251–8260.

594 A. Aguirre-Valderrama and J. A. Dobado

- [51] Csonka, G.I.; Éliás, K.; Kolossváry, I.; Sosa, C.P.; Csizmadia, I.G. Theoretical study of alternative ring forms of  $\alpha$ -L-fucopyranose. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1219–1229.
- [52] The exo-anomeric effect is commonly defined as the stabilization favored when the substituent of the anomeric OR (R=H in this case) is gauche with respect to the O/S<sub>ring</sub> (Kirby, A.J. *The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen*; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg NewYork, **1983**), For <sup>1</sup>C<sub>4</sub> ring form of **1** this situation is done for *1t* orientation. The *1g+*, one is non-exo, and the *1g-*, although it is exo, shows 1-3-diaxial-type repulsion with axial hydrogen on C3 and C5.
- [53] Mehta, S.; Jordan, K.L.; Weimar, T.; Kreis, U.C.; Batchelor, R.J.; Einstein, F.W.B.; Mario Pinto, B. Synthesis of sulfur analogues of methyl and allyl kojibiosides and methyl isomaltoside and conformational analysis of the kojibiosides. *Tetrahedron: Asymm.* **1994**, *5*, 2367–2396.
- [54] Hughes, N.A.; Munkombwe, N.M.; Todhunter, N.D. Synthesis of derivatives of 5-thio-L-idose. *Carbohydr. Res.* **1991**, *216*, 119–139.
- [55] López de la Paz, M.; Ellis, G.; Pérez, M.; Perkins, J.; Jiménez-Barbero, J.; Vicent, C. Carbohydrate hydrogen-bonding cooperativity - intramolecular hydrogen bonds and their cooperative effect on intermolecular processes - binding to a hydrogen-bond acceptor molecule. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 840–855.
- [56] Longchambon, F.; Ohannessian, J.; Avenel, D.; Neuman, A. Structure cristalline du  $\beta$ -D-galactose et de l' $\alpha$ -L-Fucose. *Acta Cryst.* **1975**, *31*, 2623–2627.
- [57] Cramer, C.J.; Truhlar, D.G.; French, A.D. Exo-anomeric effects on energies and geometries of different conformations of glucose and related systems in the gas phase and aqueous solution. *Carbohydr. Res.* **1997**, *298*, 1–14.
- [58] Izumi, K. NMR spectra of some monosaccharides of galactopyranose series in deuterium oxide. *Agr. Biol. Chem.* **1971**, *35*, 1816–1818.
- [59] Lambert, J.B.; Wharry, S.M. Conformational analysis of 5-thio-D-glucose. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3193–3196.

**Artículo 2**

*«CAL3JHH: a Java program to calculate the vicinal coupling constants ( $^3J_{\text{H,H}}$ ) of organic molecules»*

Alonso-Aguirre Valderrama y José A. Dobado

Journal of Computer-Aided Molecular Design, **2008**, 22, 907-914





## CAL3JHH: a Java program to calculate the vicinal coupling constants ( ${}^3J_{\text{H,H}}$ ) of organic molecules

Alonso Aguirre-Valderrama · José A. Dobado

Received: 17 May 2008 / Accepted: 11 June 2008 / Published online: 10 July 2008  
 © Springer Science+Business Media B.V. 2008

**Abstract** Here, we present a free web-accessible application, developed in the JAVA programming language for the calculation of vicinal coupling constant ( ${}^3J_{\text{H,H}}$ ) of organic molecules with the H–C<sub>sp3</sub>–C<sub>sp3</sub>–H fragment. This JAVA applet is oriented to assist chemists in structural and conformational analyses, allowing the user to calculate the averaged  ${}^3J_{\text{H,H}}$  values among conformers, according to its Boltzmann populations. Thus, the CAL3JHH program uses the Haasnoot–Leeuw–Altona equation, and, by reading the molecule geometry from a protein data bank (PDB) file format or from multiple pdb files, automatically detects all the coupled hydrogens, evaluating the data needed for this equation. Moreover, a “Graphical viewer” menu allows the display of the results on the 3D molecule structure, as well as the plotting of the Newman projection for the couplings.

**Keywords** 3JHH · Coupling constant · NMR · Haasnoot equation · JAVA

### Introduction

The nuclear magnetic resonance (NMR) technique<sup>1</sup> is nowadays a powerful tool to elucidate the structure of organic molecules. Moreover, the vicinal proton–proton coupling constants<sup>2</sup> ( ${}^3J_{\text{H,H}}$ ) contribute strongly [1] to this

effort (conformational analysis of macromolecules), since its dependency was established with the dihedral angle between the coupled hydrogens by means of the Karplus equation [2]. For example, the utility of this approach has been proven in the conformational analysis of a six-membered puckered-ring with the substituents in the axial/equatorial arrangements [3].

In addition, to include the influence of additional molecular parameters (e.g., the electronegativity and the relative position of the substituents bonded to the H–C–H fragment) different Karplus-type equations were developed<sup>3</sup> [4]. Among those equations, the most popular one is the Haasnoot, Leeuw and Altona (HLA) [4]:

$${}^3J_{\text{H,H}} = P_1 \cos^2 \phi + P_2 \cos \phi + P_3 + \sum \Delta\chi_i [P_4 + P_5 \cos^2(\xi_i \phi + P_6 |\Delta\chi_i|)] \quad (1)$$

where the sum extends to all the  $\alpha$ -substituents attached to the H–C–H fragment. Moreover,  $\chi$  is the group electronegativity for the  $\alpha$ -substituents corrected with the electronegativity of the  $\beta$ -substituents, and defined as:

$$\Delta\chi^{\text{group}} = \Delta\chi^{\alpha\text{-substituent}} - P_7 \sum \delta\chi^{\beta\text{-substituent}} \quad (2)$$

where  $\Delta\chi_{\text{atom}} = \chi_{\text{atom}} - \chi_{\text{H}}$ , with  $\chi$  being the Huggins electronegativity [6]. The  $\xi_i$  parameter accounts for the orientation of the  $i$ -substituent (with +1 or –1 values).  $P_1$  to  $P_7$  are empirical parameters determined from 315

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s10822-008-9226-3) contains supplementary material, which is available to authorized users.

A. Aguirre-Valderrama · J. A. Dobado (✉)  
 Grupo de Modelización y Diseño Molecular, Departamento de Química Orgánica, c/ Severo Ochoa s/n, Universidad de Granada, 18071 Granada, Spain  
 e-mail: dobado@ugr.es

<sup>1</sup> Richard R. Ernst in 1991 and Kurt Wüthrich in 2002 were awarded with the Nobel price by their contributions to the development of this technique. See <http://www.nobel.se> for more information.

<sup>2</sup> The  ${}^3J_{\text{H,H}}$  is defined as the splitting between the  ${}^1\text{H}$  chemical shifts peaks, originated by the additional contributions of the magnetic fields of vicinal hydrogens to the magnetic field of each hydrogen.

<sup>3</sup> See [5] and references therein.

reference coupling constants, and the  $\phi$  symbol corresponds to the H–C–C–H dihedral angle.

This equation is frequently used in conformational-analysis studies [7], enabling the validation of the computed molecular geometries by comparison with the experimental data. Some specific computer applications [8–10] and molecular-modeling programs<sup>4</sup> utilize this equation. However, there is another significant aspect, in the conformational-analysis field, which has still not been considered in such programs: the experimental NMR data are collected normally in a liquid solution of the sample, and commonly within an equilibrium of different conformations, corresponding the experimentally measured couplings to the averaged values for all the conformations that contribute to the equilibrium.<sup>5</sup>

In this work, we present a JAVA application which allows calculations of the  ${}^3J_{\text{H,H}}$  constants for one or multiple molecules (with H–C<sub>sp3</sub>–C<sub>sp3</sub>–H fragments). Moreover, the CAL3JHH program computes the averaged  ${}^3J_{\text{H,H}}$  values for the different conformers, when the energies are supplied. Thus, the program uses the Boltzmann distribution [12] (i.e., the most probable distribution of conformers according to the energies) from the Statistical Thermodynamics to determine the conformers population:

$$\frac{N_i}{N} = \frac{e^{-E_i/kT}}{\sum_i e^{-E_i/kT}} \quad (3)$$

where  $E_i$  is the energy (Kcal/mol) of each conformer,  $k$  is the Boltzmann constant,  $T$  is the temperature (Kelvin) and  $N_i/N$  is the probability of finding the conformer with a fixed energy value  $E_i$ , (i.e., the ratio of each conformer).<sup>6</sup>

Furthermore, like other software developed by our group [13], CAL3JHH is accessible free of charge via internet from our web page [14], avoiding the difficult distribution process to maintain a multiplatform software with different installations. With this aim, we chose the JAVA programming language [15] and implemented the program as an applet. The user needs only a web browser to run it without worrying about future upgrades or installations.

<sup>4</sup> PCMODEL. Available on Serena Software, PO Box, 3076, Bloomington, IN 47402-3076, U.S.A.

<sup>5</sup> An illustrative case are the carbohydrates compounds which in liquid solution give mixture of open-chains and puckered-rings with different structures (e.g., the pyranose ring is a mixture of 38 different canonical ring forms, plus the OH hydroxyl groups which yield different rotamers). See for example: [11].

<sup>6</sup> The program computes the couplings of each conformer and those values are affected by the ratio in a proportion multiplied by one. Being the final averaged value for each constant, the sum of all the particular values multiplied by its ratio.

## Computational methods

The Java(TM) SDK 6 Standard Edition<sup>7</sup>, v1.6.0\_06, from Sun Microsystems [16] was used to develop the program. Java is an Object-Oriented Programming (OOP) language of which the main characteristics are the platform independency and ability to run in any web browser as an applet. An applet is a program which is downloaded from a HTML page and executed in the browser, provided that the browser supports the Java Virtual Machine (JVM). The CAL3JHH has been tested for MS-Explorer v6.0 and Netscape v7.0.

Performing the different reading operations from PDB files [17], the program needs reading permission on the local machine, due to the strict security of JAVA. The JAR archive containing the applet is therefore signed and the user is requested this permission before executing the program.

The CAL3JHH program implements the aforementioned HLA equation, and the different sets of  $P_1$  to  $P_7$  parameters were taken from the original work [5]. The HLA equation has r.m.s. error of 0.48 Hz, for the  ${}^3J_{\text{H,H}}$  constants.

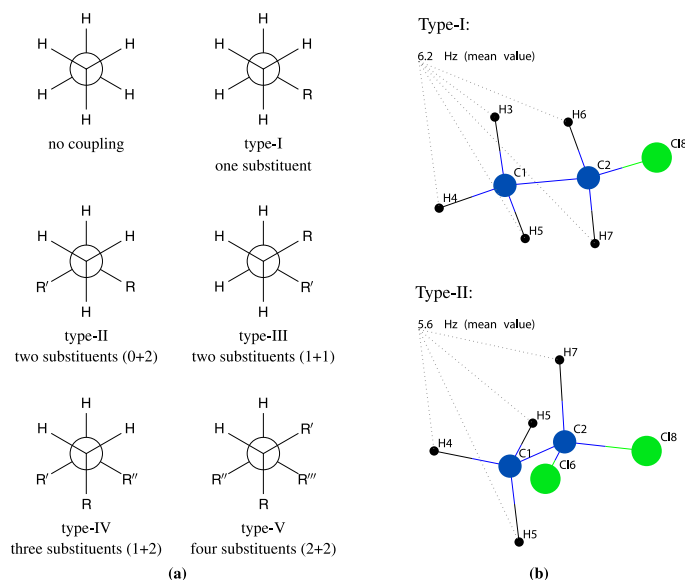
The program automatically detects all the coupled H–C<sub>sp3</sub>–C<sub>sp3</sub>–H fragments from the PDB file. The required information (atom type, coordinates and connectivity) are read from the protein data bank (PDB) file and, from those, all the necessary information (dihedral angles, electronegativity of the substituents and their relative positions) is processed to achieve the calculation of the  ${}^3J_{\text{H,H}}$  values. If connectivity is not present, the program guesses the connectivity from the atomic distances, compared with the covalent radii.

The strychnine molecule and the 1,1,2-trichloropropane conformers used for the “Compute multiple structures” menu example, were optimized at the UFF and HF/6-311G\*\*/HF/6-311G\* theoretical levels, respectively, with the GAUSSIAN program [18], and later converted in the PDB format with the Newzmat utility to be used as input to the CAL3JHH.

On the other hand, when a C<sub>sp3</sub>–C<sub>sp3</sub> bond presents several H–C–C–H couplings (e.g., methylene or methyl groups), the program also generates the mean  ${}^3J_{\text{H,H}}$  values. Due to possible free rotations around the single C–C bond, in some cases, the NMR spectrometer detects the hydrogen in an averaged environment collecting only the mean value. Figure 1a depicts the different types of proton environments dependent on the substituents: for the type-I and -II the situation is the same in both case, and the couplings constants in CH<sub>3</sub> moieties are averaged due to free rotation. For type-III and -IV, for example in the particular case of 1,2-dichloroethane (for type-III) or

<sup>7</sup> Downloaded freeware from the JAVA web page, see reference [15].

**Fig. 1** Different environments for the generic vicinal  $C_{sp^3}-C_{sp^3}$  couplings. Only the types-I and -II yields mean values. (a) Newman projection plot for the types I–V. (b) Graphical output with the mean  $^3J_{H,H}$  values generated by CAL3JHH, for the type-I (chloroethane) and type-II (1,1-dichloroethane)



1,1,2-trichloroethane (for type-IV) for which  $R = R'$  and  $R = R' = R''$ , respectively, only one signal is experimentally obtained and the CAL3JHH gives their main values in these or similar cases. Finally, in type-V, only one constant is present, and obviously there is nothing to average.

#### Description of the CAL3JHH Java program

CAL3JHH uses self-explanatory menus and elements for the sake of simplicity, and it is organized in three modules arranged in a tabbed panel: “Compute single structure” menu, “Compute multiple structures” menu, and one additional “Graphical viewer” menu to display graphically the results.

“Compute single structure” menu

Figure 2 shows the program screen after a “Compute single structure” run for the strychnine molecule. With the “Open file” button a PDB file can be selected from the user local machine, and the program automatically will compute all the couplings present in the molecule. Then, the results are displayed on the text area. At the end of the output are listed the couplings computed together with their corresponding dihedral angles and couplings identifications (for

example, the following character chain is shown in the 4th row:

```
[−C7(C3, C8, C12)][H28]; H27−C13−C22−H37;
[H38][−N21(C12, C32)]
```

where ‘H27–C13–C22–H37’ indicates the coupled protons of the C–C bond; each chain enclosed in brackets correspond to each  $\alpha$ -substituent with its  $\beta$ -substituents in parenthesis. The minus or plus signs indicate the relative position of the  $\alpha$ -substituent.<sup>8</sup>

The program supports an additional way to calculate atomic connectivity, comparing the interatomic distances with the respective covalent radii (see the “from covalent radii” menu at the bottom-right of Fig. 2), because some PDB files can be generated by other programs without the atom connectivity (‘CONNECT’ records<sup>9</sup>). In this particular case, a warning message, in the output results together with the calculated new connectivity in a PDB format, notifies the user to check it carefully for consistency.

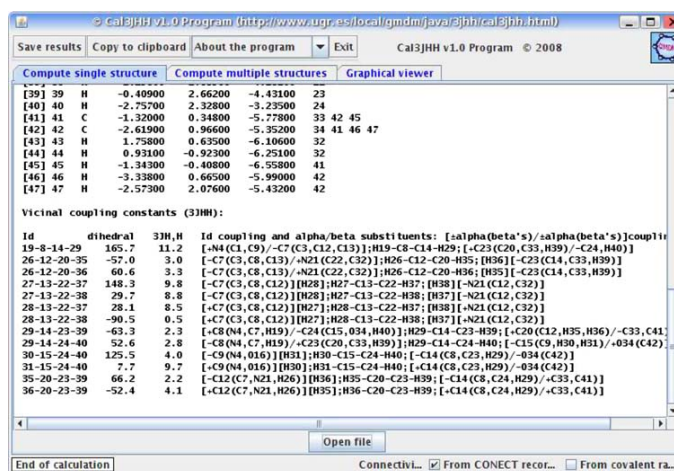
<sup>8</sup> The sign is not listed when the substituent is hydrogen since it does not participate, because the HLA equation accounts for the relative electronegativity ( $\Delta Z_{\text{atom}} = Z_{\text{atom}} - Z_{\text{H}}$ ) of the substituents.

<sup>9</sup> The ‘CONNECT’ records define the bonds not included in the standard residue connectivity table.

910

J Comput Aided Mol Des (2008) 22:907–914

**Fig. 2** View of the “Compute single structure” menu of CAL3JHH, for the strychnine molecule



Furthermore, this program presents an additional menu (Fig. 2 up-left) that allows the user to “Save results” to a text file, “Copy results to clipboard”, to find out “About” the program, and “Exit”. Finally, on the bottom-left corner a label provides information on the final status of the program with text messages.

“Graphical” viewer menu

The Fig. 3 depicts the CAL3JHH “Graphical viewer” menu with a frame displaying the previous calculations of strychnine molecule (see Fig. 2). The module includes viewers for the molecule in 3D<sup>10</sup> and the corresponding plot in the Newman projection (where all the torsion angles involved in the constants are displayed), for the selected couplings. We developed a very simple viewer, in order to gain speed in the molecule rotation with slow PCs, resulting in a small JAR file that decreases the Internet download process. By clicking on the “Couplings” list, the user can select the different couplings from the molecule, while the numerical value is listed in the 3D panel. An additional menu (bottom-right) allows the user to show/hide the atom labels.

“Compute multiple structures” menu

Finally, as an example, Fig. 4 shows a “Compute multiple structures” run for the three gauche conformers of the 1,1,2-trichloropropane. This menu includes a table (left) of

<sup>10</sup> Rotation and zoom operations are available through pressing the x, y, z and t letter in keyboard while dragging the mouse.

four columns, with the list of molecules (conformers) to compute together with their energies<sup>11</sup>, where the different molecules can be selected/unselected or Energy values edited. Molecules can be deleted/appended from this table with the bottom menus “Add molecules to table”, “Clear table” and “Invert table selection”.

Once the molecules to be computed are selected, the “Compute” button runs the calculations. If all the energy values are provided and all the molecules are the corresponding conformers of the same molecule, the program will calculate the  $^3J_{H,H}$  averaged values, after prompting for the temperature. On the contrary, the program calculates only the  $^3J_{H,H}$  values for each molecule from the list.<sup>12</sup>

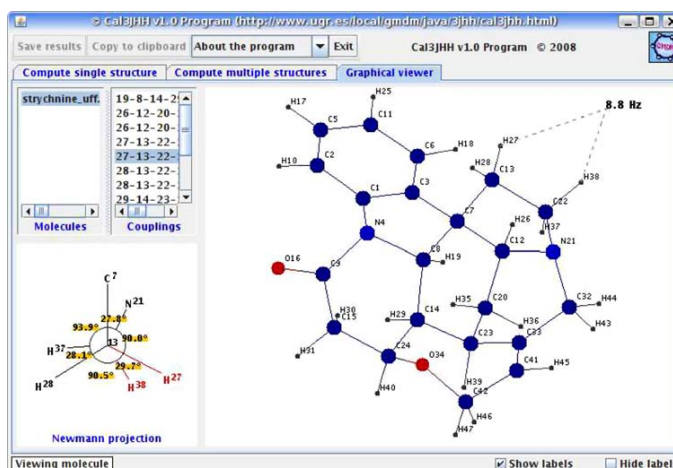
When the averaged values are computed a final table is listed in the output with the relative energies, Boltzmann population (%) and the couplings for each conformer (see the Fig. 4 bottom).

After computing the couplings, the “Graphical viewer” displays (see Fig. 5) the corresponding result for the 1,1,2-trichloropropane. As mentioned above, the molecule can be rotated with its corresponding couplings, but now the “Molecules” list includes the different conformers that can be chosen by mouse clicking on the list.

<sup>11</sup> The energies are only needed to compute the averaged values among conformers. The input of the energy values for the different conformers can be set manually in this table—the E(kcal/mol) values in the corresponding column can be edited, or by default the energy values are read from each PDB file when a ‘REMARK’ record is found beginning with the text ‘ENERGY(KCAL/MOL)=value’, (where value means the energy data).

<sup>12</sup> The CAL3JHH has no restrictions on the number of molecules (or the file size) that can handle, except for the local hardware limitations.

**Fig. 3** Graphical viewer menu of CAL3JHH displaying the results for the strychnine molecule



**Fig. 4** View of a “Compute multiple structures” menu for the 1,1,2-trichloropropane conformers

Set	File	E(kcal/mol)	IE
<input type="checkbox"/>	trichlorop...-938158.../hd		
<input type="checkbox"/>	trichlorop...-938158.../hd		
<input checked="" type="checkbox"/>	trichlorop...-938160.../hd		

Vicinal coupling constants (3JHH):

Id	dihedral	3JH,H	Id	coupling and alpha/beta substituents:
10-1-2-5	-63.6	2.5	[-C14/-C111];H10-C1-C2-H5;[-C3(H7,H8,H9)/-	
5-2-3-7	54.4	4.4	[-C1(C14,H10,C111)/+C16];H5-C2-C3-H7;[H8/H	
5-2-3-8	174.5	12.3	[-C1(C14,H10,C111)/+C16];H5-C2-C3-H8;[H7/H	
5-2-3-9	-64.6	1.7	[-C1(C14,H10,C111)/+C16];H5-C2-C3-H9;[H7/H	
5-2-3-7,8,9		6.2	mean value from the 3 last ones	

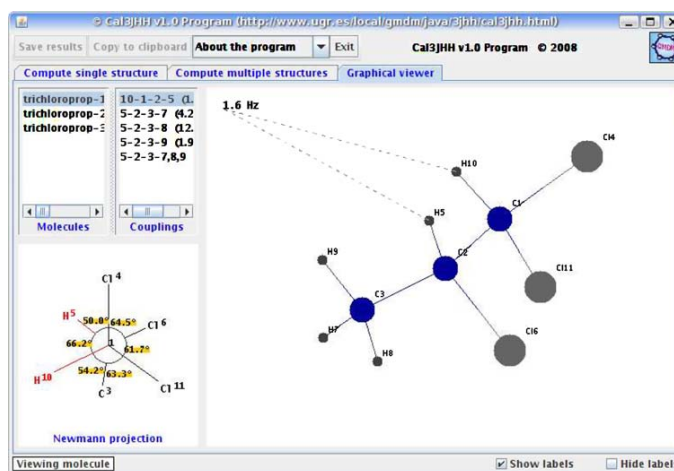
Summary of results and average values according to the Boltzmann population  
T = 25.0 °C

no	id	IE	%	10-1-2-5	5-2-3-7	5-2-3-8	5-2-3-9	5-2-3-7,8,9				
				θ 3JH,H	θ 3JH,H	θ 3JH,H	θ 3JH,H	θ 3JH,H				
1	/supplen/trichloroprop-3.pdb	0.00	83.70	-63.6	2.5	54.4	174.5	-63.6	2.5	54.4		
2	C:\trichloroprop-2.pdb	1.20	11.04	-171.4	6.2	62.5	3.0	-178.2	12.6	-57.0	2.8	6.1
3	C:\trichloroprop-1.pdb	1.64	5.26	66.2	1.6	55.9	4.2	176.1	12.4	-63.1	1.9	6.2
	GLOBAL				3.1		4.3		12.3		1.9	6.2

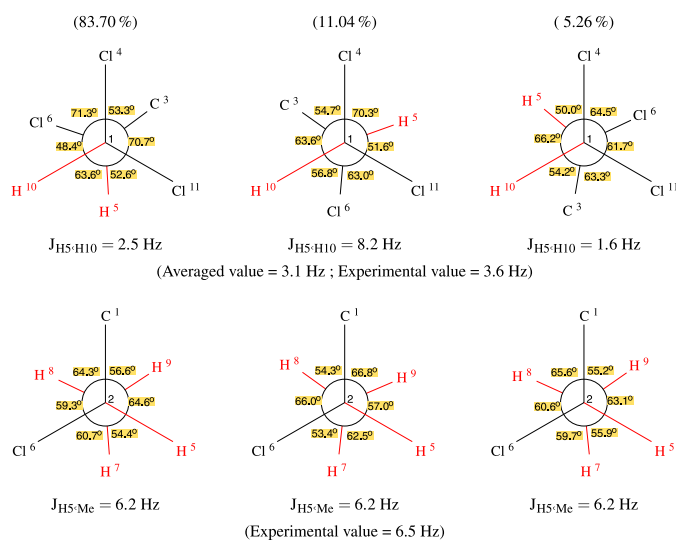
The importance of accounting the conformers population is evident after comparing the experimental and the calculated couplings. Figure 6 plots the Newman projections together with the experimental data [19] for the three

forementioned calculated conformers. As can be seen from the  $J_{H5,H10}$  coupling, the calculated value agrees with the experimental one, when the three conformers are considered.

**Fig. 5** “Graphical viewer” with the results for the 1,1,2-trichloropropane



**Fig. 6** Newman projection plot for the different 1,1,2-trichloropropane conformers together with their energies (experimental values from ref. [19])



#### Additional examples

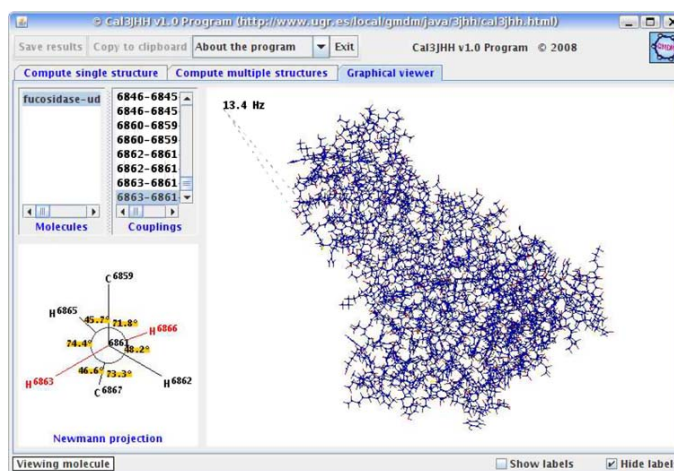
In order to highlight the usefulness of the CAL3JHH program, in this section is included two additional illustrative examples.

In the first example (see Fig. 7) we show the screenshot of the “Graphical Viewer” with the results of the  $^3J_{H,H}$

calculations of the  $\alpha$ -fucosidase protein (unit A) [20].<sup>13</sup> The protein (unit A), with all the non-polar hydrogens added,

<sup>13</sup> Although, the protein backbone has no H-Csp3-Csp3-H torsion angles, and the calculation of vicinal coupling constants are applicable only to the substituents, we include this example to illustrate the power of calculation of CAL3JHH program to automatically recognize such coupling constants for large PDB files.

**Fig. 7** “Graphical viewer” with the results for the unit A of the  $\alpha$ -fucosidase



has 6872 atoms, and only from the PDB information the program automatically calculated the connectivity, and then recognized and computed 2385 couplings constants, and 214 averaged values.<sup>14</sup>

Also, the calculation can be restricted to a determined region of the molecule by previously defining the corresponding specific connectivity, and using the “From CONECT record” option. For instance, in the case that the PDB file has information about a ligand such as a carbohydrate, this option could be useful.

The second additional example stresses how this program provides substantial help in the conformational analysis. We recently reported a conformational study of thiopyranoses, where CAL3JHH has been successfully used [21]. The determination of the vicinal coupling constants, for these structures, is essential to elucidate the ring conformation, the anomeric configuration  $\alpha/\beta$ , and the influence of the rotamers of the hydroxyl groups.

As an example, Table 1 shows the calculated data computed by the CAL3JHH program for the 6-deoxy-3-*O*-methyl-5-thio- $\alpha$ -L-idopyranose, and the available experimental values [22]. The experimental evidence for L-ido-thiopyranose configuration indicates the existence of a mixture of ring conformations in solution:  ${}^4C_1$ ,  ${}^1C_4$ , and  ${}^2S_5$  [23].

Table 1 clearly shows how the averaged values are in a better agreement than the values for the different conformations ( ${}^4C_1$ ,  ${}^1C_4$  or  ${}^2S_5$ ). This fact underlines the importance to take into account the rotamers populations,

<sup>14</sup> This process, performed in a notebook with the Intel Core 2 Duo processor (1,5 GHz, 667 MHz, 2 MB), lasted six seconds.

**Table 1** Summary of results for the  ${}^3J_{H,H}$  (Hz) of the 6-deoxy-3-*O*-methyl-5-thio- $\alpha$ -L-idopyranose, made with the CAL3JHH PROGRAM

Conformation	%	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$
${}^4C_1$	84.57	8.9	9.3	9.3	4.4
${}^1C_4$	10.79	2.8	3.5	3.7	1.6
${}^2S_5$	4.64	6.4	10.1	5.0	3.5
Averaged values		8.1	8.7	8.5	4.1
Averaged values for the 35 rotamers		7.6	8.0	7.9	3.8
Experimental data [22]		8.0–8.3	8.4	8.2–8.6	4.6

and the utility of the program to automatically carry out the calculations.

## Conclusions

The CAL3JHH program for the vicinal  ${}^3J_{H,H}$  coupling constants, here presented, shows its utility in the conformational analysis, because it accounts for the averaged  ${}^3J_{H,H}$  values of the Boltzmann populations. Besides the user-friendly design, the introduction of a graphical viewer converts the CAL3JHH into a practical tool for the conformational analysis of a single or multiple molecules. Furthermore, its development in a JAVA programming language together with the free web access facilitates information exchange throughout the scientific community.

**Acknowledgements** We thank Dr. S. Melchor for its support on the 3D viewer algorithm. Junta de Andalucía is also acknowledged for



their financial support (FQM-174). We also thank D. Nesbitt for reviewing the language of the English manuscript.

### References

1. Eberstadt M, Gemmecker G, Mierke DF, Kessler H (1995) *Angew Chem Int Ed* 34:1671
2. Karplus M (1959) *J Chem Phys* 30:11
3. Duus JØ, Gotfredsen CH, Bock K (2000) *Chem Rev* 100:4589
4. Altona C, Francke R, De Haan R, Ippel JH, Daalmans GJ, Hoekzema AJAW, Van Wijk J (1994) *Magn Reson Chem* 32:670
5. Hassnoot CAG, De Leeuw FAAM, Altona C (1980) *Tetrahedron* 36:2783
6. Huggins ML (1953) *J Am Chem Soc* 75:4123
7. Abraham RJ, Fisher J, Lofitus P (1997) *Introduction to NMR spectroscopy*. Wiley
8. (a) Osawa E, Jaime C, 3JHH Program, Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan; (b) Keisuke I, Osawa E, 3JHH2 Program, Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan; (c) Petillo PA, Osawa E, Jaime C, 3JHHPC Program, Department of Chemistry, University of New Hampshire, Durham, New Hampshire 03824 and Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan
9. Cerda-García-Rojas CM, Zepeda LG, Joseph-Nathan PA (1990) *Tetrahedron Comput Method* 3:113
10. Balacco G (1996) *J Chem Inf Comput Sci* 36:885
11. Cramer CJ, Truhlar DG (1993) *J Am Chem Soc* 115:5745
12. Tinoco I, Jr., Sauer K, Wang JC (1978) *Physical chemistry: principles and applications in biological sciences*. Prentice Hall, New Jersey
13. Melchor S, Dobado JA (2004) *J Chem Inf Comput Sci* 44:1639. CONTUB program: available on <http://www.ugr.es/~gmdm/java/contub/contub.htm>
14. <http://www.ugr.es/local/gmdm/java/3jhh/cal3jhh.html>
15. <http://java.sun.com>
16. <http://www.sun.com>
17. <http://www.rcsb.org/pdb>
18. Gaussian 98, revision A.7 (1998) Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA
19. SDBS Database, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba, Ibaraki, Japan, <http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menu-e.html>
20. Sulzenbacher G, Bignon C, Nishimura T, Tarling CA, Withers SG, Henrissat B, Bourne Y (2004) *J Biol Chem* 279:13119
21. Aguirre-Valderrama A, Dobado JA (2006) *J Carbohydr Chem* 25:557
22. Isac-García J, Calvo-Flores FG, Hernández-Mateo F, Santoyo-González F (1999) *Chem Eur J* 5:1512
23. Hughes NA, Munkombwe NM, Todhunter ND (1991) *Carbohydr Res* 216:119

---

## APÉNDICE E

---

# REFERENCIAS Y NOTAS

- 1 Para una definición de tioazúcar véase el apéndice A.
- 2 Uno de los problemas de los sacáridos es que tienen una afinidad débil por sus receptores, debido seguramente a la falta de grupos hidrofóbicos y con carga.
- 3 Por ejemplo, un simple anillo de piranosa puede tener 38 formas básicas y  $3^n$  rotámeros, si consideramos 3 posibles rotaciones, siendo  $n$  el número de grupos OH.
- 4 H. Yuasa y H. Hashimoto «Replacing the ring oxygen of carbohydrates with sulfur: Its biological and chemical consequences», *Rev. Heteroatom. Chem.*, **1999**, *19*, 35-65.
- 5 Z. J. Witzak y J. M. Culhane «Thiosugars: new perspectives regarding availability and potential biochemical and medicinal applications», *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2005**, *69*, 237-244.
- 6 H. Yuasa, M. Izumi y H. Hashimoto «Thiasugars: potential glycosidase inhibitors», *Curr. Topics Med. Chem.*, **2009**, *9*, 76-86.
- 7 A. L. Raymond «Thio- and seleno-sugars», *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1945**, *1*, 129-145.
- 8 S. M. Iqbal y L. N. Owen «Dithiols. Part XXI. Dithiols from cyclic trithiocarbonates», *J. Chem. Soc.*, **1960**, 1030-1036 y artículos anteriores.
- 9 L. D. Hall, L. Hough y R. A. Pritchard «The epoxide-episulphide transformation», *J. Chem. Soc.*, **1961**, 1534-1545.
- 10 J. C. P. Schwarz y K. C. Yule «D-Xylothiopyranose: a sugar with sulphur in the ring», *Proc. Chem. Soc.*, **1961**, 417.
- 11 T. J. Adley y L. N. Owen «Thio-sugars with sulphur in the ring», *Proc. Chem. Soc.*, **1961**, 418.
- 12 R. L. Whistler, M. S. Feather y D. L. Ingles «Introduction of a new hetero atom into a sugar ring», *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, *84*, 122.
- 13 D. L. Ingles y R. L. Whistler «Preparation of several methyl D-pentothiopyranosides», *J. Org. Chem.*, **1962**, *27*, 3896-3898.
- 14 M. S. Feather y R. L. Whistler «Derivatives of 5-deoxy-5-mercapto-D-glucose», *Tetrahedron Lett.*, **1962**, *No 15*, 667-668.
- 15 R. M. Rowell y R. L. Whistler «Derivatives of  $\alpha$ -D-glucothiopyranose», *J. Org. Chem.*, **1966**, *31*, 1514-1516.
- 16 U. G. Nayak y R. L. Whistler «Improved syntheses of 5-thio-D-glucose», *J. Org. Chem.*, **1969**, *34*, 97-100.
- 17 R. L. Whistler y R. M. Rowell «Preparation of methyl L-arabinothiopyranoside and disulfide derivatives of 5-mercapto-L-arabinose», *J. Org. Chem.*, **1964**, *29*, 1259-1261.
- 18 H. Hashimoto, T. Fujimori y H. Yuasa «Synthesis of 5-thio-L-fucose and its inhibitory effect on fucosidase », *J. Carbohydr. Chem.*, **1990**, *9*, 683-694.
- 19 J. E. N. Shin y A. S. Perlin «Synthesis of 5-thio-D-Galactose», *Carbohydr. Res.*, **1979**, *76*, 165-176.
- 20 H. Akira, K. Yoshibumi, K. Hisashi y K. Makoto «Synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-5-thio-D-glucopyranose», *Carbohydr. Res.*, **1978**, *63*, 131-137.

- 21 E. Tanahashi, M. Kiso y A. Hasegawa «Synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-5-thio- $\alpha$ -D-galactopyranose», *J. Carbohydr. Chem.*, **1983**, 2, 129-137.
- 22 H. Mack y R. Brossmer «Synthesis of 6-thiosialic acids and 6-thio-N-acetyl-D-neuraminic acid», *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 191-194.
- 23 N. A. Hughes, N. M. Munkombwe y N. D. Todhunter «Synthesis of derivatives of 5-thio-L-idose», *Carbohydr. Res.*, **1991**, 216, 119-139.
- 24 F. G. Calvo-Flores, P. García-Mendoza, F. Hernández-Mateo, J. Isac-García y F. Santoyo-González «Applications of cyclic sulfates of vic-diols: synthesis of episulfides, olefins, and thio sugars», *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 3944-3961.
- 25 C. J. Clayton y N. A. Hughes «5-Thio-D-ribose», *Carbohydr. Res.*, **1967**, 4, 32-41.
- 26 J. Harness y N. A. Hughes «A novel synthesis of benzyl 1,5-dithio- $\alpha$ - and - $\beta$ -L-arabinopyranosides from 5-O-toluene-*p*-sulphonyl-L-arabinose dibenzyl dithioacetal», *J. Chem. Soc. D, Chem. Commun.*, **1971**, 811.
- 27 M. Chmielewski, M. Chen y R. L. Whistler «6-Thio- $\beta$ -D-fructopyranose», *Carbohydr. Res.*, **1976**, 49, 479-481.
- 28 A. K. M. Anisuzzaman y R. L. Whistler «5-Thio-L-rhamnose», *Carbohydr. Res.*, **1977**, 55, 205-214.
- 29 H. Paulsen y K. Todt «Cyclic monosaccharides having nitrogen or sulfur in the ring», *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1968**, 23, 115-232.
- 30 E. J. Reist, D. E. Gueffroy y L. Goodman «Synthesis of 4-thio-D- and -L-ribofuranose and the corresponding adenine nucleosides», *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, 86, 5658-5663.
- 31 R. L. Whistler, W. E. Dick, T. Ingle, R. M. Rowell y B. Urbas «Metil 4-deoxy-4-mercapto-D-ribofuranoside», *J. Org. Chem.*, **1964**, 29, 3723-3725.
- 32 E. J. Reist, D. E. Gueffroy y L. Goodman «4-Thio-L-ribose: a thiofuranose sugar», *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 3715.
- 33 M. Bobek, R. L. Whistler y A. Bloch «Preparation and activity of the 4'-thio derivatives of some 6-substituted purine nucleosides», *J. Med. Chem.*, **1970**, 13, 411-413.
- 34 M. Bobek, R. L. Whistler y A. Bloch «Synthesis and biological activity of 4'-thio analogs of the antibiotic toyocamycin», *J. Med. Chem.*, **1972**, 15, 168-171.
- 35 N. Ototani y R. L. Whistler «Preparation and antitumor activity of 4'-thio analogs of 2,2'-anhydro-1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine», *J. Med. Chem.*, **1974**, 17, 535-537.
- 36 M. Bobek, A. Bloch, R. Parthasarathy y R. L. Whistler «Synthesis and biological activity of 5-fluoro-4'-thiouridine and some related nucleosides», *J. Med. Chem.*, **1975**, 18, 784-787.
- 37 G. Benz, T. Schröder, J. Kurz, C. Wünsche, W. Karl, G. Steffens, J. Pfitzner y D. Schmidt «Constitution of the defferiform of the albomycins  $\delta_1$ ,  $\delta_2$  and  $\epsilon$ », *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1982**, 21, 527-528.
- 38 R. L. Whistler y C. S. Campbell «Synthesis of septanose derivatives of 6-deoxy-6-mercapto-D-galactose», *J. Org. Chem.*, **1966**, 31, 816-818.
- 39 J. M. Cox y L. N. Owen «Cyclic hemithioacetals: analogues of thiosugars with sulphur in the ring», *J. Chem. Soc. C*, **1967**, 1130-1134.
- 40 M. Jarman y L. J. Griggs «The formation of 1,6-thioanhydrohexitols from the 1,6-di-O-mesyl derivatives of D-mannitol and galactitol», *Carbohydr. Res.*, **1975**, 44, 317-320.
- 41 M. Fuzier, Y. L. Merrer y J. Depezay «Thiosugars from D-mannitol», *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 6443-6446.
- 42 Y. L. Merrer, M. Fuzier, I. Dosbaa, M. Foglietti y J. Depezay «Synthesis of thiosugars as weak inhibitors of glycosidases», *Tetrahedron*, **1997**, 53, 16731-16746.
- 43 E. Ichikawa, S. Yamamura y K. Kato «Synthesis and biological activity of unusual nucleosides having 3,4-bis(hydroxymethyl) thietane ring as a sugar moiety», *Nucleic acid and Symposium Series*, **1999**, 42, 5-6.
- 44 I. Robina, P. Vogel y Z. J. Witczak «Synthesis and biological properties of monothiosaccharides», *Curr. Org. Chem.*, **2001**, 5, 1177-1214.

- 45 J. G. Fernández-Bolaños, N. A. L. Al-Masoudi e I. Maya «Sugar derivatives having sulfur in the ring», *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **2001**, *57*, 21-98.
- 46 I. Robina y P. Vogel «The synthesis of disaccharides, oligosaccharides and analogues containing thiosugars», *Curr. Org. Chem.*, **2002**, *6*, 471-491.
- 47 C. Wong, T. Kracha, C. G. Narvor, Y. Ichikawa, G. C. Look, F. Gaeta, D. Thompson y K. Nicolaou «Synthesis of novel disaccharides based on glycosyltransferases:  $\beta$ -1,4-galactosyltransferase», *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *32*, 4867-4876.
- 48 H. Yuasa, O. Hindsgaul y M. M. Palcic «Chemical-enzymatic synthesis of 5'-thio-N-acetylglucosamine: the first disaccharide with sulfur in the ring of the nonreducing sugar», *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 5891-5892.
- 49 J. Isac-García, F. G. Calvo-Flores, F. Hernández-Mateo y F. Santoyo-González «Synthesis of disaccharides, containing sulfur in the ring of the reducing monosaccharide unit, through a nonglycosylating chemical strategy», *Chem. Eur. J.*, **1999**, *5*, 1512-1525.
- 50 M. Izumi, O. Tsuruta, H. Hashimoto y S. Yazawa «Synthesis of 5-thio-L-fucose-containing blood group antigens H-type 2 and Lewis X (Le<sup>X</sup>)», *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 1809-1812.
- 51 O. Tsuruta, H. Yuasa, H. Hashimoto, S. Kurono y S. Yazawa «Affinity of 5-thio-L-fucose-containing Lewis X (Le<sup>X</sup>) trisaccharide analogs to anti-Le<sup>X</sup> monoclonal antibody», *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 1019-1022.
- 52 H. Yuasa, S. Matsuura y H. Hashimoto «Synthesis of 5-thiomannose-containing oligomannoside mimics: binding abilities to concanavalin A», *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 1297-1300.
- 53 O. Tsuruta, H. Yuasa, S. Kurono y H. Hashimoto «Syntheses of two trimannose analogs each containing C-mannosyl or 5-thio-C-mannosyl residue: their affinities to concanavalin A», *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**, *9*, 807-810.
- 54 Z. J. Witczak «Thio sugars: biological relevance as potential new therapeutics», *Curr. Med. Chem.*, **1999**, *6*, 165-178.
- 55 H. Oishi, T. Noto, K. Suzuki, T. Hayashi, H. Okazaki, K. Ando y M. Sawada «Thiolactomycin, a new antibiotic. I. Taxonomy of the producing organism fermentation and biological properties», *J. Antibiotics.*, **1982**, *35*, 391-395.
- 56 M. S. Chambers y E. J. Thomas «Total synthesis of (5S)-thio-lactomycin-revision of the absolute configuration of the natural products», *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1989**, 23-24.
- 57 L. Kremer, J. D. Douglas, A. R. Baulard, C. Morehouse, M. R. Guy, D. Alland, L. G. Dover, J. H. Lakey, W. R. Jacobs, Jr., P. J. Brennan, D. E. Minnikin y G. S. Besra «Thiolactomycin and related analogues as novel anti-mycobacterial agents targeting KasA and KasB condensing enzymes in *Mycobacterium tuberculosis*», *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*, 16857-16864.
- 58 J. M. McFadden, G. L. Frehywot y C. A. Townsend «A flexible route to (5R)-thiolactomycin, a naturally occurring inhibitor of fatty acid synthesis», *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 3859-3862.
- 59 R. A. Slayden, R. E. Lee, J. W. Armour, A. M. Cooper, I. M. Orme, P. J. Brennan y G. S. Besra «Antimycobacterial action of thiolactomycin: an inhibitor of fatty acid and mycolic acid synthesis», *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1996**, *40*, 2813.
- 60 R. J. Capon y J. K. MacLeod «5-Thio-D-mannose from the marine sponge *Clathria Pyramida* (Lendenfeld). The first example of a naturally occurring 5-thiosugar», *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 1200-1201.
- 61 H. Yuasa, Y. Izukawa y H. Hashimoto «Synthesis of 5-thio-D-mannose», *J. Carbohydr. Chem.*, **1989**, *8*, 753-763.
- 62 G. Cimino, A. Crispino, S. D. Stefano, M. Gavagnin y G. Sodano «A naturally-occurring analog of methylthioadenosine (MTA) from the nudibranch mollusc *Doris verrucosa*», *Experientia*, **1986**, *42*, 1301-1302.
- 63 M. D. Lee, G. A. Ellestad y D. B. Borders «Calicheamicins: discovery, structure, chemistry, and interaction with DNA», *Acc. Chem. Res.*, **1991**, *24*, 235-243.
- 64 M. Yoshikawa, T. Murakami, H. Shimada, H. Matsuda, J. Yamahara, G. Tanabe y O. Muraoka «Salacinol, potent antidiabetic principle with unique thiosugar sulfonium sulfate structure from the ayurvedic traditional medicine *Salacia reticulata* in Sri Lanka and India», *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 8367-8370.

- 65 M. Yoshikawa, T. Murakami, K. Yashiro y H. Matsuda «Kotalanol, a potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitor with thiosugar sulfonium sulfate structure, from antidiabetic ayurvedic medicine *Salacia reticulata*», *Chem. Pharm. Bull.*, **1998**, *46*, 1339-1340.
- 66 El salacinol y el kotalanol, han sido aislados a partir de la *Salacia reticulata*, que es una hierba (llamada *Kotala himbutu* en singalés) que se cría en los bosques de Sri Lanka y la India, y que se utiliza ampliamente para el tratamiento de la diabetes en la medicina tradicional india, denominada Ayurvédica.
- 67 H. Yuasa, J. Takada y H. Hashimoto «Synthesis of salacinol», *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 6615-6618.
- 68 H. Matsuda, T. Morikawa y M. Yoshikawa «Antidiabetogenic constituents from several natural medicines», *Pure Appl. Chem.*, **2002**, *74*, 1301-1308.
- 69 A. Ghavami, K. S. Sadalapure, B. D. Johnston, M. Lobera, B. B. Snider y B. Mario Pinto «Improved syntheses of naturally occurring glycosidase inhibitor salacinol», *Synlett*, **2003**, 1259-1262.
- 70 A. N. Ngane, M. Lavault, D. Séraphin, A. Landreau y P. Richomme «Three 1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosides from the seeds of *Afrostryax lepidophyllus* Mildbr.», *Carbohydr. Res.*, **2006**, *341*, 2799-2802.
- 71 J. W. Fahey, A. T. Zalcmann y P. Talalay «The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants», *Phytochemistry*, **2001**, *56*, 5-51.
- 72 B. A. Halkier y J. Gershenzon «Biology and biochemistry of glucosinolates», *Annu. Rev. Plant Biol.*, **2006**, *57*, 303-333.
- 73 Las mirosinasas son enzimas capaces de hidrolizar tioglicósidos bajo condiciones extremadamente suaves.
- 74 Se llama efecto anomérico, a la tendencia del sustituyente del C1 (carbono anomérico) a situarse en disposición axial en preferencia a la ecuatorial. Se explica por la disminución de la repulsión dipolo-dipolo entre enlaces C-O en posición axial (J. T. Edward *Chem. Ind. (London)*, **1955**, *36*, 1102-1104. C. B. Anderson y D. T. Sepp *Tetrahedron*, **1968**, *24*, 1707-1716) y/o por la mayor estabilización hiperconjugativa de la densidad del par suelto de electrones del oxígeno del anillo de la piranosa, cuando se deslocaliza en un orbital axial vacío,  $\sigma_{CO}^*$  (C. Romers, C. Altona, H. R. Buys y E. Havinga en «Topics in Stereochemistry» E.L. Eliel y N. L. Allinger editores, Wiley: New York, **1969**, Vol. 4, 39).
- 75 J. B. Lambert y S. M. Wharry «Conformational analysis of 5-thio-D-glucose», *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 3193-3196.
- 76 È. Bozó, S. Boros, J. Kuzsmann y E. Gács-Baitz «Synthesis of 6-deoxy-5-thio-D-glucose», *Carbohydr. Res.*, **1996**, *290*, 159-173.
- 77 M. Suzuki y R. L. Whistler «1,2,3,4,6-Penta-O-5-thio- $\beta$ -D-glucopyranose», *Carbohydr. Res.*, **1972**, *22*, 473-476.
- 78 L. Vegh y E. Hardegger «Zur kenntnis der 4-thiogluucose», *Helv. Chim. Acta*, **1973**, *56*, 2020-2025.
- 79 Al probar el sabor de sus cristales en la punta de la lengua, inicialmente hay un efecto astringente, como de alumbre, seguido de una sensación algo dulce.
- 80 R. J. Woods, V. H. Smith, Jr., W. A. Szarek y A. Farazdel «*Ab Initio* LCAO-MO calculations on  $\alpha$ -D-glucopyranose,  $\beta$ -D-fructopyranose, and their thiopyranoid-ring analogues. Application to a theory of sweetness», *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 937-939.
- 81 D. Cicero y O. Varela «Pseudorotational analysis of 4-thiohexofuranose derivatives from  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  coupling constants», *Tetrahedron*, **1990**, *46*, 8019-8024.
- 82 T. Kajimoto, K. K. Liu, R. L. Pederson, Z. Zhong, Y. Ichikawa, J. A. Porco Jr. y C. Wong «Enzyme-catalyzed aldol condensation for asymmetric synthesis of azasugars: synthesis, evaluation, and modeling of glycosidase inhibitors», *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 6187-6196.
- 83 El efecto exoanomérico es un efecto estabilizante que ocurre cuando el par suelto de electrones del O1 exocíclico se deslocaliza en el orbital del enlace endocíclico  $\sigma_{C1-O5}^*$ . Está favorecido cuando el sustituyente del OR anomérico está en disposición gauche con respecto al oxígeno o al azufre del anillo (A. J. Kirby «The anomeric effect and related stereoelectronic effects at oxygen» Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, New York, **1983**).

- 84 J. L. Questel, N. Mouhous-Riou y S. Pérez «Molecular structure of [4-(4-cyanobenzoyl) phenyl] 1,5-dithio- $\beta$ -D-xylopyranoside (naroparcil) in the solid state and in solution: an investigation by X-ray crystallography, molecular mechanics calculations, and NMR spectroscopy», *Carbohydr. Res.*, **1996**, 284, 35-49.
- 85 E. E. Machado de Domenech y A. Sols «Specificity of hexokinases towards some uncommon substrates and inhibitors», *FEBS Lett.*, **1980**, 119, 174-176.
- 86 G. E. Racagni y E. E. Machado de Domenech «Characterization of *Trypanosoma Cruzi* hexokinase», *Mol. Biochem. Parasitol.*, **1983**, 9, 181-188.
- 87 J. E. Wilson y V. Chung «Rat brain hexokinase: further studies on the specificity of the hexose and hexose 6-phosphate binding sites», *Arch. Biochem. Biophys.*, **1989**, 269, 517-525.
- 88 H. Hüdig y W. Hengstenberg «The bacterial phosphoenolpyruvate dependent phosphotransferase system (PTS)», *FEBS Lett.*, **1980**, 114, 103-106.
- 89 M. Chen y R. L. Whistler «Action of 5-thio-D-glucose and its 1-phosphate with hexokinase and phosphoglucomutase», *Arch. Biochem. Biophys.*, **1975**, 169, 392-396.
- 90 H. R. Levy, M. Christoff, J. Ingulli y E. M. L. Ho «Glucose-6-phosphate dehydrogenase from *Leuconostoc mesenteroides*: revised kinetic mechanism and kinetics of ATP inhibition», *Arch. Biochem. Biophys.*, **1983**, 222, 473-488.
- 91 A. A. Bushway y T. W. Keenan «5-Thio-D-glucose is an acceptor for UDP-galactose : D-glucose 1-galactosyltransferase», *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1978**, 81, 305-309.
- 92 M. P. Dale, H. E. Ensley, K. Kern, K. A. R. Sastry y L. D. Byers «Reversible inhibitors of  $\beta$ -glucosidase», *Biochemistry*, **1985**, 24, 3530-3539.
- 93 R. L. Whistler y W. C. Lake «Inhibition of cellular transport processes by 5-thio-D-glucopyranose», *Biochem. J.*, **1972**, 130, 919-925.
- 94 R. Eisenthal, S. Game y G. Holman «Specificity and kinetics of hexose transport in *Trypanosoma brucei*», *Biochim. Biophys. Acta*, **1989**, 985, 81-89.
- 95 E. Tetaud, S. Chabas, C. Giroud, M. P. Barrett y T. Baltz «Hexose uptake in *Trypanosoma cruzi*: structure-activity relationship between substrate and transporter», *Biochem. J.*, **1996**, 317, 353-359.
- 96 A. R. Walmsley, G. E. M. Martin y P. J. F. Henderson «8-Anilino-1-naphthalenesulfonate is a fluorescent probe of conformational changes in the D-galactose-H symport protein of *Escherichia coli* », *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 17009-17019.
- 97 A. Collyer, K. Henrick y D. M. Blow «Mechanism for aldose-ketose interconversion by D-xylose isomerase involving ring opening followed by a 1,2-hydride shift», *J. Mol. Biol.*, **1990**, 212, 211-235.
- 98 S. Mehta, K. L. Jordan, T. Weimar, U. C. Kreis, R. J. Batchelor, F. W. B. Einstein y B. Mario Pinto «Synthesis of sulfur analogues of methyl and allyl kojibiosides and methyl isomaltoside and conformational analysis of the kojibiosides», *Tetrahedron: Asymmetry*, **1994**, 5, 2367-2396.
- 99 M. Izumi, Y. Suhara y Y. Ichikawa «Design and synthesis of potential inhibitors of Golgi endo- $\alpha$ -mannosidase: 5-thio-D-glucopyranosyl- $\alpha$ (1  $\rightarrow$  3)-1-deoxymannojirimycin and methyl 5-thio-D-glucopyranosyl-(1  $\rightarrow$  3)-5-thio- $\alpha$ -D-mannopyranoside», *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 4811-4816.
- 100 H. Hashimoto, M. Kawanishi y H. Yuasa «Synthesis of methyl 5'-thio- $\alpha$ -isomaltoside via an acyclic monothioacetal and its behavior toward glucoamylase», *Chem. Eur. J.*, **1996**, 2, 556-560.
- 101 J. H. Naismith y R. A. Field «Structural basis of trimannoside recognition by concanavalin A», *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 972-976.
- 102 J. Eusebio y C. Gabriel «Recent studies of the anomeric effect», *Tetrahedron*, **1992**, 48, 5019-5087.
- 103 S. Vishveshwara y V. S. R. Rao «Anomeric effect in sulfur-containing systems: an *ab-initio* study», *Carbohydr. Res.*, **1982**, 104, 21-32.
- 104 S. Wolfe, M. Whangbo y D. J. Mitchell «On the magnitudes and origins of the "anomeric effects", "exo-anomeric effects", "reverse anomeric effects", and C-X and C-Y bond lengths in XCH<sub>2</sub>YH molecules», *Carbohydr. Res.*, **1979**, 69, 1-26.
- 105 H. Yuasa, Y. Kamata y H. Hashimoto «Relative nucleophilicity of the two sulfur atoms in 1,5-dithioglucopyranoside», *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1997**, 36, 868-870.

- 106 M. J. Cook, T. J. Howe y A. Woodhouse «The effect of para-substituents on the conformational behaviour 2-aryloxytetrahydropyran», *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 471-474.
- 107 N. A. L. Al-Masoudi y N. A. Hughes «5-Thiopyranoses. Part 11. Isopropylidene acetals of 5-thio-D-glucose, 5-thio-D-allose, and 5-thio-D-altrose and some of their methyl glycosides», *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1987**, 1413-1420.
- 108 M. E. Evans, F. W. Parrish y L. Long, Jr. «Acetal exchange reactions», *Carbohydr. Res.*, **1967**, 3, 453-462.
- 109 S. Ikegami, T. Asai, K. Tsuneoka, S. Matsumura y S. Akaboshi «The roles of hetero atoms in solvolytic reactions—II», *Tetrahedron*, **1974**, 30, 2087-2092.
- 110 B. Hellman, Åke Lernmark, J. Sehlin, I. Täljedal y R. L. Whistler «The pancreatic  $\beta$ -cell recognition of insulin secretagogues—III: Effects of substituting sulphur for oxygen in the D-glucose molecule», *Biochem. Pharmacol.*, **1973**, 22, 29-35.
- 111 R. L. Whistler y W. C. Lake «Inhibition of cellular transport processes by 5-thio-D-glucopyranose», *Biochem. J.*, **1972**, 130, 919-925.
- 112 J. R. Zysk, A. A. Bushway, R. L. Whistler y W. W. Carlton «Temporary sterility produced in male mice by 5-thio-D-glucose», *J. Reprod. Fertil.*, **1975**, 45, 69-72.
- 113 J. H. Kim, S. H. Kim, E. W. Han y C. W. Song «5-Thio-D-glucose selectivity potentiates hyperthermia killing of hypoxic tumor-cells», *Science*, **1978**, 200, 206-207.
- 114 Y. Inamori, C. Muro, M. Toyoda, Y. Kato y H. Tsujibo «Inhibitory activity of 5-thio-D-glucose on plant-growth», *Biosci. Biotech. Biochem.*, **1994**, 58, 1877-1878.
- 115 N. A. Al-Masoudi, Y. A. Al-Soud y W. A. Al-Masoudi «Thiosugar nucleosides. Synthesis and biological activity of 1,3,4-thiadiazole, thiazoline and thiourea derivatives of 5-thio-D-glucose», *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **2004**, 23, 1739-1749.
- 116 F. Bellamy, V. Barberousse, N. Martin, P. Masson, J. Millet, S. Samreth, C. Sepulchre, J. Theveniaux y D. Horton «Thioxyloside derivatives as orally active venous antithrombotics», *Eur. J. Med. Chem. Suppl., Proc. 13th Intern. Symp. Med. Chem.*, **1995**, 30, 101-105.
- 117 M. Izumi, O. Tsuruta y H. Hashimoto «A facile synthesis of 5-thio-L-fucose and 5-thio-D-arabinose from D-arabinose», *Carbohydr. Res.*, **1996**, 280, 287-302.
- 118 H. Hironobu, K. Masashi y Y. Hideya «Novel conversion of aldopyranosides into 5-thioaldopyranosides via acyclic monthioacetals with inversion and retention of configuration at C-5», *Carbohydr. Res.*, **1996**, 282, 207-221.
- 119 O. Tsuruta, H. Yuasa y H. Hashimoto «(p)-Nitrophenyl 1,5-dithio- $\alpha$ -L-fucopyranoside: a novel sulfur based fucosidase inhibitor», *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6, 1989-1992.
- 120 T. Osamu, Y. Hideya, H. Hironobu, S. Keiko, O. Albin, L. Hong y M. M. Palcic «Synthesis of GDP-5-thiosugars and their use as glycosyl donor substrates for glycosyltransferases», *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 6400-6406.
- 121 Y. Le Merrer, M. Fuzier, I. Dosbaa, M. J. Foglietti y J. C. Depezay «Synthesis of thiosugars as weak inhibitors of glycosidases», *Tetrahedron*, **1997**, 53, 16731-16746.
- 122 H. Yuasa, T. Kajimoto y C. Wong «Synthesis of iminothiasugar as a potential transition-state analog inhibitor of glycosyltransfer reactions», *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 8243-8246.
- 123 H. Akira, T. Eiji, H. Yuichi y K. Makoto «Synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-5-thio- $\alpha$ -D-mannopyranose», *Carbohydr. Res.*, **1983**, 122, 168-173.
- 124 B. Jonas, K. Ingemar, S. S. C. T. C. Björn y S. Bertil «A new synthesis of 4-thiofuranosides via regioselective opening of an episulfide with allylmagnesium bromide», *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4430-4432.
- 125 B. Jonas, K. Ingemar, N. Gunilla, S. C. Svensson, C. Björn y S. Bertil «Synthesis of 2',3'-dideoxy-3'-C-(hydroxymethyl)-4'-thionucleosides as potential inhibitors of HIV», *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 1783-1788.
- 126 R. J. Young, S. Shaw-Ponter, J. B. Thomson, J. A. Miller, J. G. Cumming, A. W. Pugh y P. Rider «Synthesis and antiviral evaluation of enantiomeric 2',3'-dideoxy-and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-4'-thionucleosides», *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5, 2599-2604.

- 127 H. Ait-sir, N. Fahmi, G. Goethals, G. Ronco, B. Tber, P. Villa, D. F. Ewing y G. Mackenzie «Synthesis and configurational assignments of 3-substituted 2-deoxy-4-thio-D-erythro-pentofuranose derivatives», *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1996**, 1665-1671.
- 128 Y. Yoshimura, K. Kitano, K. Yamada, S. Sakata, S. Miura, N. Ashida y H. Machida «Synthesis and biological activities of 2'-deoxy-2'-fluoro-4'-thioarabinofuranosylpyrimidine and -purine nucleosides», *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, 8, 1545-1558.
- 129 M. R. Dyson, P. L. Coe y R. T. Walker «An improved synthesis of benzyl 3,5-di-O-benzyl-2-deoxy-1,4-dithio-D-erythro-pentofuranoside, an intermediate in the synthesis of 4'-thionucleosides», *Carbohydr. Res.*, **1992**, 216, 237-248.
- 130 N. A. V. Draanen, G. A. Freeman, S. A. Short, R. Harvey, R. Jansen, G. Szczech y G. W. Koszalka «Synthesis and antiviral activity of 2'-deoxy-4'-thio purine nucleosides», *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 538-542.
- 131 S. G. Rahim, N. Trivedi, M. V. Bogunovic-Batchelor, G. W. Hardy, G. Mills, J. W. T. Selway, W. Snowden, E. Littler, P. L. Coe, I. Basnak, R. F. Whale y R. T. Walker «Synthesis and anti-herpes virus activity of 2'-deoxy-4'-thiopyrimidine nucleosides», *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 789-795.
- 132 J. A. Secrist, K. N. Tiwari, J. M. Riordan y J. A. Montgomery «Synthesis and biological activity of 2'-deoxy-4'-thio pyrimidine nucleosides», *J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 2361-2366.
- 133 L. Messini, K. N. Tiwari, J. A. Montgomery y J. A. Secrist III «Synthesis and biological activity of 4'-thio-2'-deoxy purine nucleosides», *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **1999**, 18, 683-685.
- 134 L. S. Jeong, H. R. Moon, Y. J. Choi, M. W. Chun y H. O. Kim «A short and efficient synthesis of L-thioarabinose derivative: a versatile synthon for the synthesis of L-2'-deoxy-2',2'-disubstituted-4'-thionucleosides», *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 4821-4825.
- 135 J. Uenishi, K. Takahashi, M. Motoyama, H. Akashi y T. Sasaki «Syntheses and antitumor activities of D- and L-2'-deoxy-4'-thio pyrimidine nucleosides», *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, **1994**, 13, 1347-1361.
- 136 A. H. Siriwardena, A. Chiaroni, C. Riche, S. El-Daher, B. Winchester y D. S. Grierson «(1R,2S,4S,7aR)-1,2-Dihydroxy-7-thia-3a-thioniaperhydropentalene chloride: a new, biologically active pyrrolizidine alkaloid analogue», *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1992**, 1531-1533.
- 137 L. Svansson, B. D. Johnston, J. Gu, B. Patrick y B. Mario Pinto «Synthesis and conformational analysis of a sulfonium-ion analogue of the glycosidase inhibitor castanospermine», *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 10769-10775.
- 138 M. A. Clement y S. H. Berger «Biological and antitumor activity of a series of 4'-thio- $\beta$ -D-ribofuranosyl pyrimidines», *Med. Chem. Res.*, **1992**, 2, 154-164.
- 139 J. B. Lambert, R. G. Keske y D. K. Weary «Conformational characterization of simple group VI heterocycles», *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 5921-5924.
- 140 M. G. Lindley, R. S. Shallengerger y R. L. Whistler «Comparison of the sweetness of glucose and fructose with their ring-thio analogs», *J. Food. Sci.*, **1976**, 41, 575-577.
- 141 R. S. Shallenberger y M. G. Lindley «A lipophilic-hydrophobic attribute and component in the stereochemistry of sweetness», *Food. Chem.*, **1977**, 2, 145-153.
- 142 L. M. Kavlekar, D. A. Kuntz, X. Wen, B. D. Jonshton, B. Svensson, D. R. Rose y B. Mario Pinto «5-Thio-D-glycopyranosylamines and their amidinium salts as potential transition-state mimics of glycosyl hydrolases: synthesis, enzyme inhibitory activities, X-ray crystallography, and molecular modeling», *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, 16, 1035-1046.
- 143 J. G. Aston, S. C. Schumann, H. L. Fink y P. M. Doty «The structure of alicyclic compounds», *J. Am. Chem. Soc.*, **1941**, 63, 2029-2030.
- 144 J. G. Aston, H. L. Fink y S. C. Schumann «The heat capacity and entropy, heats of transition, fusion and vaporization and the vapor pressures of cyclopentane. Evidence for a non-planar structure», *J. Am. Chem. Soc.*, **1943**, 65, 341-346.
- 145 J. Y. Beach «The electron diffraction investigation of the molecular structures of tetrahydrofuran, 2,5-dihydrofuran, furan, diosadiene and p-dioxene», *J. Chem. Phys.*, **1941**, 9, 54-55.
- 146 J. E. Kilpatrick, K. S. Pitzer y R. Spitzer «The thermodynamics and molecular structure of cyclopentane», *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, 69, 2483-2488.



- 147 K. Pitzer y W. E. Donath «Conformations and strain energy of cyclopentane and its derivatives», *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, *81*, 3213-3218.
- 148 W. J. Adams, H. J. Geise y L. S. Bartell «Structure, equilibrium conformation, and pseudorotation in cyclopentane. An electron diffraction study», *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 5013-5019.
- 149 H. J. Geise, W. J. Adams y L. S. Bartell «Electron diffraction study of gaseous tetrahydrofuran», *Tetrahedron*, **1969**, *25*, 3045-3052.
- 150 J. B. Hendrickson «Molecular geometry. I. Machine computation of the common rings», *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, *83*, 4537-4547.
- 151 J. B. Hendrickson «Additions and corrections», *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *79*, 4059.
- 152 J. B. Hendrickson «Molecular geometry. IV. The medium rings», *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, *86*, 4854-4866.
- 153 J. B. Hendrickson «Molecular geometry. VII. Modes of interconversion in the medium rings», *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 7047-7061.
- 154 H. J. Geise, C. Altona y C. Romers «The relations between torsional and valency angles of cyclopentane», *Tetrahedron Lett.*, **1967**, *15*, 1383-1386.
- 155 C. Altona, H. J. Geise y C. Romers «Conformation of non-aromatic ring compounds—XXV Geometry and conformation of ring D in some steroids from X-ray structure determinations», *Tetrahedron*, **1972**, *24*, 13-32.
- 156 C. Altona y M. Sundaralingam «Conformational analysis of the sugar ring in nucleosides and nucleotides. A new description using the concept of pseudorotation», *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 8205-8212.
- 157 S. Lifson y A. Warshel «Consistent force field for calculations of conformations, vibrational spectra, and enthalpies of cycloalkane and n-alkane molecules», *J. Chem. Phys.*, **1968**, *49*, 5116-5129.
- 158 H. R. Buys y H. J. Geise «Conformation of non-aromatic ring compounds, part I. (1). Boat/twist-boat pseudorotation in six-membered ring compounds», *Tetrahedron Lett.*, **1968**, *54*, 5619-5624.
- 159 J. D. Dunitz «Approximate relationships between conformational parameters in 5- and 6-membered rings», *Tetrahedron*, **1972**, *28*, 5459-5467.
- 160 J. D. Dunitz y J. Waser «Geometric constraints in six- and eight-membered rings», *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 5645-5650.
- 161 H. M. Pickett y H. L. Strauss «Symmetry and conformation of the cycloalkanes», *J. Chem. Phys.*, **1971**, *55*, 324-334.
- 162 D. Cremer y J. A. Pople «A general definition of ring puckering coordinates», *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 1354-1358.
- 163 J. C. A. Boeyens y D. G. Evans «Group theory of ring pucker», *Acta Cryst.*, **1989**, *B45*, 577-581.
- 164 N. S. Zefirov, V. A. Palyulin y E. E. Dashevskaya «Stereochemical studies. XXXIV. Quantitative description of ring puckering via torsional angles. The case of six-membered rings», *J. Phys. Org. Chem.*, **1990**, *3*, 147-158.
- 165 C. A. G. Haasnoot «The conformation of six-membered rings described by puckering coordinates derived from endocyclic torsion angles», *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 882-886.
- 166 A. Y. Zotov, V. A. Palyulin y N. S. Zefirov «RICON—The computer program for the quantitative investigations of cyclic organic molecule conformations», *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1997**, *37*, 766-773.
- 167 F. H. Cano, C. Foces-Foces y S. García-Blanco «A model for describing the conformations of flexible 6-membered rings—I. The non-chair conformations», *Tetrahedron*, **1977**, *33*, 797-802.
- 168 C. Altona, H. J. Geise y C. Romers «Conformation of non-aromatic ring compounds—XXV», *Tetrahedron*, **1968**, *24*, 13-32.
- 169 W. M. J. Flapper y C. Romers «The pseudorotation of cycloheptane—I», *Tetrahedron*, **1975**, *31*, 1705-1713.
- 170 E. Díez, Á. L. Esteban, J. Guilleme y F. L. Bermejo «Relationship between torsional angles and ring-puckering coordinates», *J. Phys. Chem.*, **1981**, *70*, 61-64.

- 171 E. Díez, Á. L. Esteban y F. J. Bermejo «Relationships between torsional angles and ring-puckering coordinates. Part II», , **1984**, *125*, 49-65.
- 172 F. A. A. M. De Leeuw, P. N. Van Kampen, C. Altona, E. Díez y Á. L. Esteban «Relationships between torsion angles and ring-puckering coordinates. Part III. Application to heterocyclic puckered five-membered rings», , **1984**, *125*, 67-88.
- 173 Á. L. Esteban, E. Ruiz, E. Díez y J. San-Fabán «Relationships between torsional angles and ring-puckering coordinates. 5. Application to six-membered rings», *J. Phys. Chem.*, **1994**, *98*, 10440-10446.
- 174 F. Pavelčík «A computer program for calculating the ring-puckering parameters for any five-membered ring from endocyclic torsion angles», *J. Appl. Cryst.*, **1993**, *26*, 462-465.
- 175 C. A. G. Haasnoot «Conformational analysis of six-membered rings in solution ring puckering coordinates derived from vicinal NMR proton-proton coupling constants», *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 1460-1468.
- 176 A. Bérces, D. M. Whitfield y T. Nukada «Quantitative description of six-membered ring conformations following the IUPAC conformational nomenclature», *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 477-491.
- 177 A. R. Ionescu, A. Bérces, M. Z. Zgierski, D. M. Whitfield y T. Nukada «Conformational pathways of saturated six-membered rings. A static and dynamical density functional study», *J. Phys. Chem. A.*, **2005**, *109*, 8096-8105.
- 178 W. Klyne y V. Prelog «Description of steric relationships across single bonds», *Experientia*, **1960**, *16*, 521-523.
- 179 A. D. Hill y P. J. Reilly «Puckering coordinates of monocyclic rings by triangular decomposition», *J. Chem. Inf. Model.*, **2007**, *47*, 1031-1035.
- 180 D. Cremer «On the correct usage of the Cremer-Pople puckering parameters as quantitative descriptors of ring shapes - a reply to recent criticism by Petit, Dillen and Geise», *Acta Cryst.*, **1984**, *B40*, 498-500.
- 181 F. Tobiasson, G. Vergoten y J. Mazurier «Predicting carbohydrate chain and heterocyclic ring coupling constants in monosaccharides using GMMX conformational searching», *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **1997**, *395*, 173-185.
- 182 G. I. Csonka, K. Éliás e I. G. Csizmadia «Ab initio and density functional study of the conformational space of <sup>1</sup>C<sub>4</sub> α-L-fucose», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *18*, 330-342.
- 183 G. I. Csonka, K. Éliás, I. Kolossváry, C. Sosa e I. G. Csizmadia «Theoretical study of alternative ring forms of α-L-fucopyranose», *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*, 1219-1229.
- 184 R. P. Millane y E. U. Nzewi «Constructing rings of specified pucker», *J. Appl. Cryst.*, **1989**, *22*, 138-143.
- 185 M. K. Dowd, A. D. French y P. J. Reilly «Modeling of aldopyranosyl ring puckering with MM3(92)», *Carbohydr. Res.*, **1994**, *264*, 1-19.
- 186 A. D. French y M. K. Dowd «Analysis of the ring-form tautomers of psicose with MM3 (92)», *J. Comput. Chem.*, **1994**, *15*, 561-570.
- 187 A. D. French, M. K. Dowd y P. J. Reilly «MM3 modeling of fructose ring shapes and hydrogen bonding», *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **1997**, *395-396*, 271-287.
- 188 M. K. Dowd, W. M. Rockey, A. D. French y P. J. Reilly «MM3 modeling of aldopentose pyranose rings», *J. Carbohydr. Chem.*, **2002**, *21*, 11-25.
- 189 W. M. Rockey, M. K. Dowd, P. J. Reilly y A. D. French «Modeling of deoxy- and dideoxyaldohexopyranosyl ring puckering with MM3(92)», *Carbohydr. Res.*, **2001**, *335*, 261-273.
- 190 D. A. Navarro y C. A. Stortz «Modeling ring puckering in strained systems: application to 3,6-anhydroglycosides», *Carbohydr. Res.*, **2005**, *340*, 2030-2038.
- 191 M. V. Hosur «FRDICT - ab initio generation of FRODO dictionary», *J. Appl. Cryst.*, **1991**, *24*, 1079.
- 192 D. Cremer «Calculation of puckered rings with analytical gradients», *J. Phys. Chem.*, **1990**, *94*, 5502-5509.

- 193 M. Karplus «Contact electron-spin coupling of nuclear magnetic moments», *J. Chem. Phys.*, **1959**, *30*, 11-15.
- 194 M. Karplus «The analysis of molecular wave functions by nuclear magnetic resonance spectroscopy», *J. Phys. Chem.*, **1960**, *64*, 1793-1798.
- 195 M. Karplus «Vicinal proton coupling in nuclear magnetic resonance», *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2870-2871.
- 196 R. J. Abraham y K. G. R. Pachler «The proton magnetic resonance spectra of some substituted ethanes. The influence of substitution on CH-CH coupling constants», *Mol. Phys.*, **1964**, *7*, 165-182.
- 197 P. L. Durette y D. Horton «Conformational studies on pyranoid sugar derivatives by NMR spectroscopy. Correlations of observed proton - proton coupling constants with the generalized Karplus equation», *Org. Magn. Res.*, **1971**, *3*, 417-427.
- 198 K. N. Slessor y A. S. Tracey «Couplings into methylene groups: a new nuclear magnetic resonance approach to stereochemistry», *Can. J. Chem.*, **1971**, *49*, 2874-2884.
- 199 K. G. R. Pachler «Extended Hückel theory MO calculations of proton-proton coupling constants. The substituent effect in fluoroethane», *Tetrahedron Lett.*, **1970**, *22*, 1955-1958.
- 200 C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. De-Leeuw y C. Altona «The relationship between proton-proton NMR coupling constants and substituent electronegativities-I (an empirical generalization of the Karplus equation)», *Tetrahedron*, **1980**, *36*, 2783-2792.
- 201 M. L. Huggins «Bond energies and polarities», *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, *75*, 4123-4126.
- 202 C. Altona, R. Francke, R. de Haan, J. H. Ippel, G. J. Daalmans, A. J. A. Westra Hoekzema y J. van Wijk «Empirical group electronegativities for vicinal NMR proton-proton couplings along a C—C bond: solvent effects and reparameterization of the Haasnoot equation», *Magn. Reson. Chem.*, **1994**, *32*, 670-678.
- 203 J. L. Marshall, S. R. Walter, M. Barfield, A. P. Marchand, N. W. Marchand y A. L. Segre «Reasons for the nonequivalence of the exo-exo and endo-endo vicinal NMR coupling constants in norbornanes», *Tetrahedron*, **1976**, *32*, 537-542.
- 204 W. A. Thomas «Unravelling molecular structure and conformation—the modern role of coupling constants», *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.*, **1997**, *30*, 183-207.
- 205 K. Imai y E. Osawa «An empirical extension of the Karplus equation», *Magn. Res. Chem.*, **1990**, *28*, 668-674.
- 206 J. Mullay «Atomic and group electronegativities», *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 5842-5847.
- 207 J. Mullay «Calculation of group electronegativity», *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 7271-7275.
- 208 E. Osawa, T. Ouchi, N. Saito, M. Yamato, S. Lee y M. Seo «Critical evaluation of an empirically modified Karplus equation», *Magn. Res. Chem.*, **1992**, *30*, 1104-1110.
- 209 E. Díez, J. San-Fabián, J. Guilleme, C. Altona y L. A. Donders «Vicinal proton-proton coupling constants I. Formulation of an equation including interactions between substituents», *Mol. Phys.*, **1989**, *68*, 49-63.
- 210 J. Guilleme, J. San-Fabián, E. Díez, F. Bermejo y Á. L. Esteban «Vicinal proton-proton coupling constants. II. Analysis of the effect of interaction between geminal substituents upon vicinal couplings to methyl groups», *Mol. Phys.*, **1989**, *68*, 65-85.
- 211 M. Barfield y W. B. Smith «Internal H-C-C angle dependence of vicinal  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  coupling constants», *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 1574-1581.
- 212 W. B. Smith y M. Barfield «Predictions of  $^3\text{J}(\text{HH})$  near  $180^\circ$  - reparameterization of the  $\text{sp}^3$ — $\text{sp}^3$  equation», *Magn. Res. Chem.*, **1993**, *31*, 696-697.
- 213 C. Altona y C. A. G. Haasnoot «Prediction of anti and gauche vicinal proton-proton coupling constants in carbohydrates: A simple additivity rule for pyranose rings», *Org. Magn. Reson.*, **1980**, *13*, 417-429.
- 214 C. Daniel y V. Oscar «Additivity constants for the prediction of H,H-coupling constants in thiopyranose derivatives», *J. Chem. Research (S)*, **1991**, 140-141.
- 215 M. Hricováni y F. Bízík «Relationship between structure and three-bond proton-proton coupling constants in glycosaminoglycans», *Carbohydr. Res.*, **2007**, *342*, 779-783.

- 216 B. J. Honas, U. M. Glassman y T. J. Wiese «Enzymatic activity of  $\alpha$ -L-fucosidase and L-fucokinase across vertebrate animal species», *Comparative Biochem. Physiol., Part B*, **2009**, *153*, 359-364.
- 217 M. W. Ho, A. G. W. Norden, J. A. Alhadeff y J. S. O'Brien «Glycosphingolipid hydrolases: properties and molecular genetics», *Mol. Cell. Biochem.*, **1977**, *17*, 125-140.
- 218 G. Di Mateo, M. A. Orfeo y G. Romeo «Human  $\alpha$ -fucosidase purification and properties», *Biochim. Biophys. Acta*, **1976**, *429*, 527-537.
- 219 G. Di Mateo, P. Durand, R. Gatti, A. Maresca, M. Orfeo, F. Urbano y G. Romeo «Human  $\alpha$ -fucosidase. Single residual enzymatic form in fucosidosis», *Biochim. Biophys. Acta*, **1976**, *429*, 538-545.
- 220 D. Junlin y O. Chaowei «Research progress on  $\alpha$ -L-fucosidase», *Guoji Jianyan Yixue Zazhi*, **2008**, *29*, 731-732.
- 221 O. J. Cordero, A. Merino, M. Páez de la Cadena, B. Bugía, M. Nogueira, J. E. Viñuela, V. S. Martínez-Zorzano, A. de Carlos y F. J. Rodríguez-Berrocal «Cell surface human  $\alpha$ -L-fucosidase», *Eur. J. Biochem.*, **2001**, *268*, 3321-3331.
- 222 G. Sulzenbacher, C. Bignon, T. Nishimura, C. A. Tarling, S. G. Withers, B. Henrissat y Y. Bourne «Crystal structure of *Thermotoga maritima*  $\alpha$ -L-fucosidase: insights into the catalytic mechanism and the molecular basis for fucosidosis», *J. Biol. Chem.*, **2004**, *279*, 13119-13128.
- 223 C. Ho, Y. Lin, C. Chang, S. Li, Y. Wu, C. Wu, C. Chang, S. Liu, Y. Li y C. Lin «Discovery of different types of inhibition between the human and *Thermotoga maritima*  $\alpha$ -fucosidases by fuconojirimycin-based derivatives», *Biochemistry*, **2006**, *45*, 5695-5702.
- 224 M. Nagae, A. Tsuchiya, T. Katayama, K. Yamamoto, S. Wakatsuki y R. Kato «Structural basis of the catalytic reaction mechanism of novel 1,2- $\alpha$ -L-fucosidase from *Bifidobacterium bifidum*», *J. Biol. Chem.*, **2007**, *282*, 18497-18509.
- 225 K. J. Gregg, R. Finn, D. W. Abbott y A. B. Boraston «Divergent modes of glycan recognition by a new family of carbohydrate-binding modules», *J. Biol. Chem.*, **2008**, *283*, 12604-12613.
- 226 N. L. Allinger and U. Burkett *Molecular Mechanics* American Chemical Society, Washington DC (**1982**).
- 227 B. B. Donald y K. B. Lipkowitz «Molecular Mechanics. The method and its underlying philosophy», *J. Chem. Educ.*, **1982**, *59*, 269-274.
- 228 P. M. Morse «Diatomic molecules according to the wave mechanics. II. Vibrational Levels», *Phys. Rev.*, **1929**, *34*, 57-64.
- 229 N. L. Allinger «Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing  $V_1$  and  $V_2$  torsional terms», *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 8127-8134.
- 230 N. L. Allinger, Y. H. Yuh y J. Lii «Molecular Mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 1», *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 8551-8566.
- 231 B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan y M. Karplus «CHARMM: a program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations», *J. Comput. Chem.*, **1983**, *4*, 187-217.
- 232 N. L. Allinger, M. T. Tribble, M. A. Miller y D. H. Wertz «Conformational analysis. LXIX. An improved force field for the calculation of the structures and energies of hydrocarbons», *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, *93*, 1637-1648.
- 233 J. Lii y N. L. Allinger «Molecular Mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 2. Vibrational frequencies and thermodynamics», *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 8566-8575.
- 234 J. Lii y N. L. Allinger «Molecular Mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 3. The van der Waals' potentials and crystal data for aliphatic and aromatic hydrocarbons», *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 8576-8582.
- 235 N. L. Allinger, K. Chen y J. Lii «An improved force field (MM4) for saturated hydrocarbons», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 642-668.
- 236 N. Nevins, K. Chen y N. L. Allingers «Molecular Mechanics (MM4) calculations on alkenes», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 669-694.
- 237 N. Nevins, J. Lii y N. L. Allinger «Molecular Mechanics (MM4) calculations on conjugated hydrocarbons», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 695-729.

- 238 N. L. Allinger, K. Chen, J. A. Katzenellenbogen, S. R. Wilson y G. M. Anstead «Hyperconjugative effects on carbon-carbon bond lengths in Molecular Mechanics (MM4)», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 747-755.
- 239 N. L. Allinger y J. T. Sprague «Calculation of the structures of hydrocarbons containing delocalized electronic systems by the Molecular Mechanics method», *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 3893-3907.
- 240 S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta Jr. y P. Weiner «A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins», *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *106*, 765-784.
- 241 W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, Jr., D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell y P. A. Kollman «A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules», *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 5179-5197.
- 242 W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell y J. Tirado-Rives «Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids», *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 11225-11236.
- 243 T. A. Halgren «Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 490-519.
- 244 T. A. Halgren «Merck molecular force field. II. MMFF94 van der Waals and electrostatic parameters for intermolecular interactions», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 520-552.
- 245 T. A. Halgren «Merck molecular force field. III. Molecular geometries and vibrational frequencies for MMFF94», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 553-586.
- 246 T. A. Halgren y R. B. Nachbar «Merck molecular force field. IV. Conformational energies and geometries for MMFF94», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 587-615.
- 247 T. A. Halgren «Merck molecular force field. V. Extension of MMFF94 using experimental data, additional computational data, and empirical rules», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 616-641.
- 248 T. A. Halgren «MMFF VI. MMFF94s option for energy minimization studies», *J. Comput. Chem.*, **1999**, *20*, 720-729.
- 249 T. A. Halgren «MMFF VII. Characterization of MMFF94, MMFF94s, and other widely available force fields for conformational energies and for intermolecular-interaction energies and geometries», *J. Comput. Chem.*, **1999**, *20*, 730-748.
- 250 A. K. Rappé, C. J. Casewit, K. S. Colwell, W. A. Goddard III y W. M. Skiff «UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations», *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10024-10035.
- 251 S. L. Mayo, B. D. Olafson y W. A. Goddard III «DREIDING: a generic force field for molecular simulations», *J. Phys. Chem.*, **1990**, *94*, 8897-8909.
- 252 P. Ren y Y. W. Ponder «Consistent treatment of inter- and intramolecular polarization in molecular mechanics calculations», *J. Comput. Chem.*, **2002**, *23*, 1497-1506.
- 253 S. Pérez, A. Imberty, S. B. Engelsen, J. Gruza, K. Mazeau, J. Jiménez-Barbero, A. Poveda, J. Espinosa, B. P. van Eyck, G. Johnson, A. D. French, M. L. C. E. Kouwijzer, P. D. J. Grootenuis, A. Bernardi, L. Raimondi, H. Senderowitz, V. Durier y G. Vergotengly «A comparison and chemometric analysis of several molecular mechanics force fields and parameter sets applied to carbohydrates», *Carbohydr. Res.*, **1998**, *314*, 141-155.
- 254 R. J. Woods, R. A. Dwek, C. J. Edge y B. Fraser-Reid «Molecular mechanical and molecular dynamical simulations of glycoproteins and oligosaccharides. I. GLYCAM\_93 parameter development», *J. Phys. Chem.*, **1995**, *99*, 3832-3846.
- 255 E. Schrödinger «Quantisierung als eigenwertproblem», *Ann. Physik.*, **1926**, *384*, 361-376.
- 256 D. R. Hartree «The wave mechanics of an atom with a non-coulomb central field. I. Theory and methods», *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, **1928**, *24*, 89-110.
- 257 J. C. Slater «The theory of complex spectra», *Phys. Rev.*, **1929**, *34*, 1293-1322.
- 258 C. C. J. Roothaan «New developments in molecular orbital theory», *Rev. Mod. Phys.*, **1951**, *23*, 69-89.
- 259 J. S. Binkley, J. A. Pople y W. J. Hehre «Self-consistent molecular orbital methods. 21. Small split-valence basis sets for first-row elements», *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 939-947.

- 260 M. S. Gordon, J. S. Binkley, J. A. Pople, W. J. Pietro y W. J. Hehre «Self-consistent molecular-orbital methods. 22. Small split-valence basis sets for second-row elements», *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, 2797-2803.
- 261 P. Hohenberg y W. Kohn «Inhomogeneous electron gas», *Phys. Rev. B*, **1964**, *136*, 864-871.
- 262 A. D. Becke «Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior», *Phys. Rev. A*, **1988**, *38*, 3098-3100.
- 263 A. D. Becke «Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange», *J. Chem. Phys.*, **1993**, *98*, 5648-5652.
- 264 C. Lee, W. Yang y R. G. Parr «Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density», *Phys. Rev. B*, **1988**, *37*, 785-789.
- 265 C. Møller y M. S. Plesset «Note on an approximation treatment for many-electron systems», *Phys. Rev.*, **1934**, *46*, 618-622.
- 266 R. Ditchfield «Molecular orbital theory of magnetic shielding and magnetic susceptibility», *J. Chem. Phys.*, **1972**, *56*, 5688-5691.
- 267 P. B. Karadakov «*Ab initio* calculation of NMR shielding constants», *Modern Magnetic Resonance (Ed. Springer Netherlands)*, **2006**, 59-66.
- 268 T. Helgaker, M. Jaszuński y K. Ruud «*Ab initio* methods for the calculation of NMR shielding and indirect spin-spin coupling constants», *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 293-352.
- 269 R. Ditchfield «Self-consistent perturbation theory of diamagnetism I. A gauge-invariant LCAO method for N.M.R. chemical shifts», *Mol. Phys.*, **1974**, *27*, 789-807.
- 270 K. Wolinski, J. F. Hinton y P. Pulay «Efficient implementation of the gauge-independent atomic orbital method for NMR chemical shift calculations», *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 8251-8260.
- 271 S. A. Smith, W. E. Palke y J. T. Gerig «The hamiltonians of NMR. part I», *Concepts Magn. Reson.*, **1992**, *4*, 107-144.
- 272 C. J. Jameson «Understanding NMR chemical shifts», *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **1996**, *47*, 135-169.
- 273 R. J. Abraham y M. Mobli «The prediction of  $^1\text{H}$  NMR chemical shifts in organic compounds», *Spectroscopy Europe*, **2004**, *16*, 16-22.
- 274 N. F. Ramsey «Electron coupled interactions between nuclear spins in molecules», *Phys. Rev.*, **1953**, *91*, 303-307.
- 275 T. Helgaker, M. Watson y N. C. Handy «Analytical calculation of nuclear magnetic resonance indirect spin-spin coupling constants at the generalized gradient approximation and hybrid levels of density-functional theory», *J. Chem. Phys.*, **2000**, *113*, 9402-9409.
- 276 V. Barone, J. E. Peralta, R. H. Contreras y J. P. Snyder «DFT calculation of NMF  $J_{\text{FF}}$  spin-spin coupling constants in fluorinated pyridines», *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 5607-5612.
- 277 B. J. Alder y T. E. Wainwright «Phase transition for a hard sphere system», *J. Chem. Phys.*, **1957**, *27*, 1208-1209.
- 278 B. J. Alder y T. E. Wainwright «Studies in Molecular Dynamics. I. General method», *J. Chem. Phys.*, **1959**, *31*, 459-466.
- 279 A. Rahman «Correlations in the motion of atoms in liquid argon», *Phys. Rev.*, **1964**, *136*, A405-A411.
- 280 F. H. Stillinger y A. Rahman «Improved simulation of liquid water by molecular dynamics», *J. Chem. Phys.*, **1974**, *60*, 1545-1557.
- 281 J. A. McCammon, B. R. Gelin y M. Karplus «Dynamics of folded proteins», *Nature*, **1977**, *267*, 585.
- 282 M. P. Allen. «Introduction to molecular dynamics simulation» Computational soft matter: from synthetic polymers to proteins, lecture notes, Norbert Attig, Kurt Binder, Helmut Grubmüller, Kurt Kremer (Eds.), John von Neumann Institute for Computing, Jülich, NIC Series, Vol. 23, ISBN 3-00-01264-4, pp. 1-28, **2004**.
- 283 L. Verlet «Computer "experiments" on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules », *Phys. Rev.*, **1967**, *159*, 98-103.

- 284 L. Verlet «Computer "experiments" on classical fluids. II. Equilibrium correlation functions», *Phys. Rev.*, **1968**, *165*, 201-214.
- 285 M.P. Allen and D.J. Tildesley, «Computer simulation of liquids», Clarendon Press, Oxford (**1989**).
- 286 W. C. Swope, H. C. Andersen, P. H. Berens y K. R. Wilson «A computer simulation method for the calculation of equilibrium constants for the formation of physical clusters of molecules: application to small water clusters», *J. Chem. Phys.*, **1982**, *76*, 637-649.
- 287 Y. Duan y P. A. Kollman «Pathways to a protein folding intermediate observed in a 1-microsecond simulation in aqueous solution», *Science*, **1998**, *282*, 740-.
- 288 R. Car y M. Parrinello «Unified approach for molecular dynamics and density-functional theory », *Phys. Rev. Lett.*, **1985**, *55*, 2471-2474.
- 289 D. K. Remler y P. A. Madden «Molecular dynamics without effective potentials via the Car-Parrinello approach», *Molec. Phys.*, **1990**, *70*, 921-966.
- 290 E. Pellegrini y M. J. Field «A generalized-Born solvation model for macromolecular hybrid-potential calculations», *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 1316-1326.
- 291 K. Nam, J. Gao y D. M. York «An efficient linear-scaling Ewald method for long-range electrostatic interactions in combined QM/MM calculations», *J. Chem. Theory Comput.*, **2005**, *1*, 2-13.
- 292 T. Krüger, M. Elstner, P. Schiffels y T. Frauenheim «Validation of the density-functional based tight-binding approximation method for the calculation of reaction energies and other data», *J. Chem. Phys.*, **2005**, *122*, 114110-114115.
- 293 M. Elstner, D. Porezag, G. Jungnickel, J. Elstner, M. Haugk, Th. Frauenheim, S. Suhai y G. Seifert «Self-consistent-charge density-functional tight-binding method for simulations of complex materials properties», *Phys. Rev. B*, **1998**, *58*, 7260-7268.
- 294 H. C. Andersen «Rattle: a "velocity" version of the Shake algorithm for molecular dynamics calculations», *J. Comput. Phys.*, **1983**, *52*, 24-34.
- 295 B. Quentrec y C. Brot «New method for searching for neighbors in molecular dynamics computations», *J. Comput. Phys.*, **1973**, *13*, 430-432.
- 296 J. S. Sims y N. Martys «Simulation of sheared suspensions with a parallel implementation of QDPD», *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, **2004**, *109*, 267-277.
- 297 M. Orozco y F. J. Luque «Theoretical methods for the description of the solvent effect in biomolecular systems», *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 4187-4225.
- 298 J. Tomasi y M. P. Maurizio «Molecular interactions in solution: an overview of methods based on continuous distributions of the solvent», *Chem. Rev.*, **1994**, *94*, 2027-2094.
- 299 C. J. Cramer y D. G. Truhlar «Implicit solvation models: equilibria, structure, spectra, and dynamics», *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2161-2200.
- 300 J. Tomasi, B. Mennucci y R. Cammi «Quantum mechanical continuum solvation models», *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 2999-3093.
- 301 A. Ben-Naim «Standard thermodynamics of transfer. Uses and misuses», *J. Phys. Chem.*, **1978**, *82*, 792-803.
- 302 A. Ben-Naim y Y. Marcus «Solvation thermodynamics of nonionic solutes», *J. Chem. Phys.*, **1984**, *81*, 2016-2027.
- 303 P. Kollman «Free energy calculations: applications to chemical and biochemical phenomena», *Chem. Rev.*, **1993**, *93*, 2395-2417.
- 304 W. L. Jorgensen «Free energy calculations: a breakthrough for modeling organic chemistry in solution», *Acc. Chem. Res.*, **1989**, *22*, 184-189.
- 305 R. P. Muller y A. Warshel «Ab initio calculations of free energy barriers for chemical reactions in solution», *J. Phys. Chem.*, **1995**, *99*, 17516-17524.
- 306 M. Freindorf y J. Gao «Optimization of the Lennard-Jones parameters for a combined *ab initio* quantum mechanical and molecular mechanical potential using the 3-21G basis set», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 386-395.

- 307 J. Bentzien, R. P. Muller, J. Florián y A. Warshel «Hybrid ab initio quantum mechanics/molecular mechanics calculations of free energy surfaces for enzymatic reactions: the nucleophilic attack in subtilisin», *J. Phys. Chem. B*, **1998**, *102*, 2293-2301.
- 308 R. A. Bryce, M. A. Vincent e I. H. Hillier «Binding energy of F(H<sub>2</sub>O)- and the simulation of fluoride water clusters using a hybrid QM/MM (fluctuating charge) potential», *J. Phys. Chem. A*, **1999**, *103*, 4094-4100.
- 309 M. Strnad, M. T. C. Martins-Costa, C. Millot, I. Tuñón, M. F. Ruiz-López y J. L. Rivail «Molecular dynamics simulations of elementary chemical processes in liquid water using combined density functional and molecular mechanics potentials. II. Charge separation processes», *J. Chem. Phys.*, **1997**, *106*, 3643-3657.
- 310 P. Amara, A. Volbeda, J. C. Fontecilla-Camps y M. J. Field «A hybrid density functional theory/molecular mechanics study of nickel-iron hydrogenase: investigation of the active site redox states», *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 4468-4477.
- 311 H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera y T. P. Straatsma «The missing term in effective pair potentials», *J. Phys. Chem.*, **1987**, *91*, 6269-6271.
- 312 W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey y M. L. Klein «Comparison of simple potential functions for simulating liquid water», *J. Chem. Phys.*, **1983**, *79*, 926-935.
- 313 J. D. Bernal y R. H. Fowler «A theory of water and ionic solution, with particular reference to hydrogen and hydroxyl ions», *J. Chem. Phys.*, **1933**, *1*, 515-548.
- 314 W. L. Jorgensen y J. D. Madura «Temperature and size dependence for Monte Carlo simulations of TIP4P water», *Mol. Phys.*, **1985**, *56*, 1381-1392.
- 315 F. H. Stillinger y A. Rahman «Improved simulation of liquid water by molecular dynamics», *J. Chem. Phys.*, **1974**, *60*, 1545-1557.
- 316 M. W. Mahoney y W. L. Jorgensen «A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions», *J. Chem. Phys.*, **2000**, *112*, 8910-8922.
- 317 S. T. Wlodek, T. W. Clark, L. R. Scott y J. A. McCammon «Molecular dynamics of acetylcholinesterase dimer complexed with tacrine», *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 9513.
- 318 E. C. Sherer, S. A. Harris, R. Soliva, M. Orozco y C. A. Laughton «Molecular dynamics studies of DNA A-Tract structure and flexibility», *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 5981-5991.
- 319 M. Karplus y J. N. Kushick «Method for estimating the configurational entropy of macromolecules», *Macromolecules*, **1981**, *14*, 325-332.
- 320 B. Jayaram, D. Sproys, M. A. Young y D. L. Beveridge «Free energy analysis of the conformational preferences of A and B forms of DNA in solution», *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 10629-10633.
- 321 J. Srinivasan, T. E. Cheatham III, P. Cieplak, P. A. Kollman y D. A. Case «Continuum solvent studies of the stability of DNA, RNA, and phosphoramidate-DNA helices», *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 9401-9409.
- 322 J. Åqvist, C. Medina y J. Samuelsson «A new method for predicting binding affinity in computer-aided drug design», *Protein Eng.*, **1994**, *7*, 385-391.
- 323 J. Åqvist y T. Hansson «On the validity of electrostatic linear response in polar solvents», *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 951.
- 324 L. Onsager «Electric moments of molecules in liquids», *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, *58*, 1486-1493.
- 325 J. Tomasi «Cavity and reaction field: “robust” concepts. Perspective on “Electric moments of molecules in liquids”», *Theor Chem Acc*, **2000**, *103*, 196-199.
- 326 V. Luzhkov y A. Warshel «Microscopic models for quantum mechanical calculations of chemical processes in solutions: LD/AMPAC and SCAAS/AMPAC calculations of solvation energies», *J. Comput. Chem.*, **1992**, *13*, 199.
- 327 J. B. Foresman, T. A. Keith, K. B. Wilberg, J. Snoonian y M. J. Frisch «Solvent effects. 5. Influence of cavity shape, truncation of electrostatics, and electron correlation on ab Initio reaction field calculations», *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 16098-16104.
- 328 C. Amovilli y R. McWeeny «Shape and similarity: two aspects of molecular recognition», *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **1991**, *227*, 1.



- 329 E. Małolepsza y L. Piela «Pauli hardness study of the methane, ammonia, water and hydrogen fluoride molecules», *J. Phys. Chem. A*, **2003**, *107*, 5356-5360.
- 330 A. Bondi «Van der Waals volumes and radii», *J. Phys. Chem.*, **1964**, *68*, 441.
- 331 R. S. Rowland y R. Taylor «Intermolecular nonbonded contact distances in organic crystal structures: comparison with distances expected from van der Waals radii», *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 7384-7391.
- 332 Pauling, L. «The nature of the chemical bond», 3rd ed.; Cornell University Press: Ithaca, NY, **1960**.
- 333 S. Miertuš, E. Scrocco y J. Tomasi «Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of AB initio molecular potentials for the prevision of solvent effects», *Chem. Phys.*, **1981**, *55*, 117-129.
- 334 M. Cossi y V. Barone «Analytical second derivatives of the free energy in solution by polarizable continuum models», *J. Chem. Phys.*, **1998**, *109*, 6246-6254.
- 335 J. B. Foresman, T. A. Keith, K. B. Wiberg, J. Snoonian y M. J. Frisch «Solvent effects. 5. Influence of cavity shape, truncation of electrostatics, and electron correlation on ab initio reaction field calculations», *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 16098-16104.
- 336 K. B. Wiberg, T. A. Keith, M. J. Frisch y M. Murcko «Solvent effects on 1,2-dihaloethane gauche/trans ratios», *J. Phys. Chem.*, **1995**, *99*, 9072-9079.
- 337 A. Klamt y G. Schürmann «COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient», *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1993**, 799-805.
- 338 A. Klamt «Conductor-like screening model for real solvents: a new approach to the quantitative calculation of solvation phenomena», *J. Phys. Chem.*, **1995**, *99*, 2224-2235.
- 339 E. C. B. Mennucci, y J. Tomasi «A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics», *J. Chem. Phys.*, **1997**, *107*, 3032-3041.
- 340 B. M. E. Cancès, y J. Tomasi «Evaluation of solvent effects in isotropic and anisotropic dielectrics and in ionic solutions with a unified integral equation method: theoretical bases, computational implementation, and numerical applications», *J. Phys. Chem. B*, **1997**, *101*, 10506-10517.
- 341 E. Cancès y B. Mennucci «New applications of integral equations methods for solvation continuum models: ionic solutions and liquid crystals», *J. Math. Chem.*, **1998**, *23*, 309-326.
- 342 D. M. Chipman «Charge penetration in dielectric models of solvation», *J. Chem. Phys.*, **1997**, *106*, 10194-10206.
- 343 D. M. Chipman «Energy correction to simulation of volume polarization in reaction field theory», *J. Chem. Phys.*, **2002**, *116*, 10129-10138.
- 344 C. A. Brebbia y J. Dominguez «Boundary element methods for potential problems», *Appl. Math. Mod.*, **1977**, *1*, 372-378.
- 345 J. G. Kirkwood «On the theory of strong electrolyte solutions», *J. Chem. Phys.*, **1934**, *2*, 767-781.
- 346 J. G. Kirkwood «The dielectric polarization of polar liquids», *J. Chem. Phys.*, **1939**, *7*, 911-919.
- 347 M. W. Wong, M. J. Frisch, y K. B. Wiberg «Solvent effects. 1. The mediation of electrostatic effects by solvents», *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 4776-4782.
- 348 M. W. Wong, K. B. Wiberg y M. J. Frisch «Solvent effects. 2. Medium effect on the structure, energy, charge density, and vibrational frequencies of sulfamic acid», *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 523-529.
- 349 <http://www.gaussian.com>.
- 350 M. Born «Volumen und hydrationswärme der ionen», *Z. Phys.*, **1920**, *1*, 45-48.
- 351 W. C. Still, A. Tempczyk, R. C. Hawley y T. Hendrickson «Semianalytical treatment of solvation for molecular mechanics and dynamics», *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 6127-6129.
- 352 R. Car y M. Parrinello «Unified approach for molecular dynamics and density-functional theory», *Phys. Rev. Lett.*, **1985**, *55*, 2471-2474.

- 353 M. C. Payne, M. P. Teter, D. C. Allan, T. A. Arias y J. D. Joannopoulos «Iterative minimization techniques for *ab initio* total-energy calculations molecular dynamics and conjugate gradients», *Rev. Mod. Phys.*, **1996**, *100*, 12878-1097.
- 354 M. E. Tuckerman, P. J. Ungar, T. von Roseninge y M. L. Klein «*Ab Initio* molecular dynamics simulations», *J. Phys. Chem.*, **1996**, *100*, 12878-12887.
- 355 M. Botta, F. Corelli, F. Manetti y A. Tafi «Molecular modeling as a powerful technique for understanding small-large molecules interactions», *Il Farmaco*, **2002**, *57*, 153-165.
- 356 V. Mohan, A. C. Gibbs, M. D. Cummings, E. P. Jaeger y R. L. DesJarlais «Docking: successes and challenges», *Curr. Pharmacol. Des.*, **2005**, *11*, 323-333.
- 357 Anglicismo que podríamos traducir por acoplamiento.
- 358 S. Ekins, J. Mestres y B. Testa «*In silico* pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling», *Br. J. Pharmacol.*, **2007**, *152*, 9-20.
- 359 S. Ekins, J. Mestres y B. Testa «*In silico* pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond», *Br. J. Pharmacol.*, **2007**, *152*, 21-37.
- 360 H. Alonso, A. A. Bliznyuk y J. E. Gready «Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design», *Curr. Med. Chem.*, **2006**, *26*, 531-568.
- 361 S. F. Sousa, P. A. Fernandes y M. J. Ramos «Protein-ligand docking: current status and future challenges», *Proteins*, **2006**, *65*, 15-26.
- 362 N. Brooijmans e I. D. Kuntz «Molecular recognition and docking algorithms», *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **2003**, *32*, 335-373.
- 363 I. D. Kuntz, J. M. Blaney, S. J. Oatley, R. Langridge y T. E. Ferrin «A geometric approach to macromolecule-ligand interactions», *J. Mol. Biol.*, **1982**, *161*, 269-288.
- 364 D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. Furr y J. Bajorath «Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications», *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2004**, *3*, 935-949.
- 365 G. Klebe «Recent developments in structure-based drug design», *J. Mol. Med.*, **2000**, *78*, 269-281.
- 366 A. E. Cho, V. Guallar, B. J. Berne y R. Friesner «Importance of accurate charges in molecular docking: quantum mechanical/molecular mechanical (QM/MM) approach», *J. Comput. Chem.*, **2005**, *26*, 915-931.
- 367 R. L. DesJarlais, R. P. Sheridan, G. L. Seibel, J. S. Dixon, I. D. Kuntz y R. Venkataraghavan «Using shape complementarity as an initial screen in designing ligands for a receptor binding site of known three-dimensional structure», *J. Med. Chem.*, **1988**, *31*, 716-722.
- 368 M. Rarey, B. Kramer, T. Lengauer y G. Klebe «A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm», *J. Mol. Biol.*, **1996**, *261*, 470-489.
- 369 G. Jones, P. Willett, R. C. Glen, A. R. Leach y R. Taylor «Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking», *J. Mol. Biol.*, **1997**, *267*, 727-748.
- 370 J. C. Cole, C. W. Murray, J. W. M. Nissink, R. D. Taylor y R. Taylor «Comparing protein-ligand docking programs is difficult», *Proteins*, **2005**, *60*, 325-332.
- 371 G. Schneider y H. Böhm «Virtual screening and fast automated docking methods», *DDT*, **2002**, *7*, 64-70.
- 372 R. D. Taylor, P. J. Jewsbury y J. W. Essex «A review of protein-small molecule docking methods», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **2002**, *16*, 151-166.
- 373 Z. Li y H. A. Scheraga «Monte Carlo-minimization approach to the multiple-minima problem in protein folding», *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1987**, *84*, 6611-6615.
- 374 F. R. Salemme «An hypothetical structure for an intermolecular electron transfer complex of cytochromes *c* and *b<sub>5</sub>*», *J. Mol. Biol.*, **1976**, *102*, 563-568.
- 375 B. K. Shoichet e I. D. Kuntz «Predicting the structure of protein complexes: a step in the right direction», *Chem. Biol.*, **1996**, *3*, 151-156.
- 376 S. J. Wodak, M. De Crombrughe y J. Janin «Computer studies of interactions between macromolecules», *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **1987**, *49*, 29-63.
- 377 M. L. Connolly «Analytical molecular surface calculation», *J. Appl. Crystallogr.*, **1983**, *16*, 548-558.

- 378 H. A. Gabb, R. M. Jackson y M. J. E. Sternberg «Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information», *J. Mol. Biol.*, **1997**, *272*, 106-120.
- 379 F. Jiang y S. Kim «“Soft docking”: Matching of molecular surface cubes», *J. Mol. Biol.*, **1991**, *219*, 79-102.
- 380 R. Norel, S. L. Lin, H. J. Wolfson y R. Nussinov «Shape complementarity at protein-protein interfaces», *Biopolymers*, **1994**, *34*, 933-940.
- 381 M. D. Miller, S. K. Kearsley, D. J. Underwood y R. P. Sheridan «FLOG: A system to select ‘quasi-flexible’ ligands complementary to a receptor of known three-dimensional structure», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1994**, *8*, 153-174.
- 382 D. S. Goodsell y A. J. Olson «Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing», *Proteins*, **1990**, *8*, 195-202.
- 383 E. C. Meng, B. K. Shoichet e I. D. Kuntz «Automated docking with grid-based energy evaluation», *J. Comput. Chem.*, **1992**, *13*, 505-524.
- 384 D. R. Westhead, D. E. Clark y C. W. Murray «A comparison of heuristic search algorithms for molecular docking», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1997**, *11*, 209-228.
- 385 C. A. Baxter, C. W. Murray, D. E. Clark, D. R. Westhead y M. D. Eldridge «Flexible docking using tabu search and an empirical estimate of binding affinity», *Proteins*, **1998**, *33*, 367-382.
- 386 R. S. Judson, Y. T. Tan, E. Mori, C. Melius, E. P. Jaeger, A. M. Treasurywala y A. Mathiowetz «Docking flexible molecules: A case study of three proteins», *J. Comput. Chem.*, **1995**, *16*, 1405-1419.
- 387 D. K. Gehlhaar, G. M. Verkhivker, P. A. Rejto, C. J. Sherman, D. R. Fogel, L. J. Fogel y S. T. Freer «Molecular recognition of the inhibitor AG-1343 by HIV-1 protease: conformationally flexible docking by evolutionary programming», *Chem. Biol.*, **1995**, *2*, 317-324.
- 388 G. M. Morris, D. S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew y A. J. Olson «Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function», *J. Comput. Chem.*, **1998**, *19*, 1639-1662.
- 389 M. Vieth, J. D. Hirst, B. N. Dominy, H. Daigler y C. L. Brooks III «Assessing search strategies for flexible docking», *J. Comput. Chem.*, **1998**, *19*, 1623-1631.
- 390 S. J. Teague «Implications of protein flexibility for drug discovery», *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **2003**, *2*, 527-541.
- 391 I. Luque y E. Freire «Structural stability of binding sites: Consequences for binding affinity and allosteric effects», *Proteins*, **2000**, *41*, 63-71.
- 392 M. Vieth, J. D. Hirst, A. Kolinski y C. L. Brooks III «Assessing energy functions for flexible docking», *J. Comput. Chem.*, **1998**, *19*, 1612-1622.
- 393 G. Wu, D. H. Robertson, C. L. Brooks III y M. Vieth «Detailed analysis of grid-based molecular docking: a case study of CDOCKER - A CHARMM-based MD docking algorithm», *J. Comput. Chem.*, **2003**, *24*, 1546-1562.
- 394 V. Schnecke y L. A. Kuhn «Virtual screening with solvation and ligand-induced complementarity», *Perspect. Drug. Discov. Des.*, **2000**, *20*, 171-190.
- 395 V. Schnecke, C. A. Swanson, E. D. Getzoff, J. A. Tainer y L. A. Kuhn «Screening a peptidyl database for potential ligands to proteins with side-chain flexibility», *Proteins*, **1998**, *33*, 74-87.
- 396 S. Kumar, B. Ma, C. J. Tsai, N. Sinha y R. Nussinov «Folding and binding cascades: dynamic landscapes and population shifts», *Protein Sci.*, **2000**, *9*, 10-19.
- 397 J. R. Schames, R. H. Henchman, J. S. Siegel, C. A. Sotriffer, H. Ni y J. A. McCammon «Discovery of a novel binding trench in HIV integrase», *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 1879-1881.
- 398 P. J. Goodford «A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules», *J. Med. Chem.*, **1985**, *28*, 849-857.
- 399 H. Claussen, C. Buning, M. Rarey y T. Lengauer «FlexE: efficient molecular docking considering protein structure variations», *J. Mol. Biol.*, **2001**, *308*, 377-395.
- 400 B. Q. Wei, L. H. Weaver, A. M. Ferrari, B. W. Matthews y B. K. Shoichet «Testing a flexible-receptor docking algorithm in a model binding site», *J. Mol. Biol.*, **2004**, *337*, 1161.

- 401 L. Pauling y M. Delbrück «The nature of the intermolecular forces operative in biological processes», *Science*, **1940**, *92*, 77-79.
- 402 W. Kauzmann «Some factor in the interpretation of protein denaturation», *Adv. Protein Chem.*, **1959**, *14*, 1-63.
- 403 M. S. Head, J. A. Given y M. K. Gilson «"Mining minima": direct computation of conformational free energy», *J. Phys. Chem. A*, **1997**, *101*, 1609-1618.
- 404 V. Helms, a. R. C. Wade y R. C. Wade «Computational alchemy to calculate absolute protein-ligand binding free energy», *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 2710-2713.
- 405 S. D. Pickett y M. J. E. Sternberg «Empirical scale of side-chain conformational entropy in protein folding», *J. Mol. Biol.*, **1993**, *231*, 825-839.
- 406 A. Nicholls y B. Honig «A rapid finite difference algorithm, utilizing successive over-relaxation to solve the Poisson-Boltzmann equation», *J. Comput. Chem.*, **1991**, *12*, 435-445.
- 407 D. Bashford y D. A. Case «Generalized Born models of macromolecular solvation effects», *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **2000**, *51*, 129-152.
- 408 I. Massova y P. A. Kollman «Computational alanine scanning to probe protein-protein interactions: a novel approach to evaluate binding free energies», *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 8133-8143.
- 409 Y. N. Vorobjev, J. C. Almagro y J. Hermans «Discrimination between native and intentionally misfolded conformations of proteins: ES/IS, a new method for calculating conformational free energy that uses both dynamics simulations with an explicit solvent and an implicit solvent continuum model», *Proteins*, **1998**, *32*, 399-413.
- 410 S. Huo, I. Massova y P. A. Kollman «Computational alanine scanning of the 1:1 human growth hormone-receptor complex», *J. Comput. Chem.*, **2002**, *23*, 15-27.
- 411 C. M. Reyes y P. A. Kollman «Investigating the binding specificity of U1A-RNA by computational mutagenesis», *J. Mol. Biol.*, **2000**, *295*, 1-6.
- 412 S. Huo, J. Wang, P. Cieplak, P. A. Kollman e I. D. Kuntz «molecular dynamics and free energy analyses of cathepsin D-inhibitor interactions: insight into structure-based ligand design», *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 1412-1419.
- 413 I. Halperin, B. Ma, H. Wolfson y R. Nussinov «Principles of docking: and overview of search algorithms and a guide to scoring functions», *Proteins*, **2002**, *47*, 409-443.
- 414 J. Åqvist «Calculation of absolute binding free energies for charged ligands and effects of long-range electrostatic interactions», *J. Comput. Chem.*, **1996**, *17*, 1587-1597.
- 415 N. A. McDonald, H. A. Carlson y W. L. Jorgensen «Free energies of solvation in chloroform and water from a linear response approach», *J. Phys. Org. Chem.*, **1997**, *10*, 563-576.
- 416 T. Hansson, J. Marelus y J. Åqvist «Ligand binding affinity prediction by linear interaction energy methods », *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1998**, *12*, 27-35.
- 417 J. Marelus, T. Hansson y J. Åqvist «Calculation of ligand binding free energies from molecular dynamics simulations», *Int. J. Quantum Chem.*, **1998**, *69*, 77-78.
- 418 R. Zhou, R. A. Friesner, A. Ghosh, R. C. Rizzo, W. L. Jorgensen y R. M. Levy «New linear interaction method for binding affinity calculations using a continuum solvent model», *J. Phys. Chem. B*, **2001**, *105*, 10388-10397.
- 419 H. Böhm «The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1994**, *8*, 243-256.
- 420 H. Böhm «Prediction of binding constants of protein ligands: A fast method for the prioritization of hits obtained from de novo design or 3D database search programs», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1998**, *12*, 309-323.
- 421 Z. Weng, S. Vajda y C. Delisi «Prediction of protein complexes using empirical free energy functions», *Protein Sci.*, **1996**, *5*, 614-626.
- 422 L. Schaffer y G. M. Verkhivker «Predicting structural effects in HIV-1 protease mutant complexes with flexible ligand docking and protein side-chain optimization», *Proteins*, **1998**, *33*, 295-310.
- 423 J. R. Tame «Scoring functions: a view from the bench», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **1999**, *13*, 99-108.

- 424 P. S. Charifson, J. J. Corkery, M. A. Murcko y W. P. Walters «Consensus scoring: a method for obtaining improved hit rates from docking databases of three-dimensional structures into proteins», *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 5100-5109.
- 425 W. Sippl, J. Contreras, I. Parrot, Y. M. Rival y C. G. Wermuth «DOCK 4.0: Search strategies for automated molecular docking of flexible molecule databases», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **2001**, *15*, 411-428.
- 426 G. M. Verkhivker, D. Bouzida, D. K. Gehlhaa, P. A. Rejto, S. Arthurs, A. B. Colson, S. T. Freer, V. Larson, B. A. Luty, T. Marrone y P. W. Rose «Deciphering common failures in molecular docking of ligand-protein complexes», *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, **2000**, *14*, 731-751.
- 427 Programa PCMODEL. Disponible en Serena Software, PO Box, 3076, Bloomington, IN 47402-3076, U.S.A.
- 428 En esta primera parte, pudiera darse la impresión de que se utiliza un programa y un campo de fuerzas obsoleto. Téngase en cuenta que la presente tesis se inició allá por el año 1997, pero por diversas circunstancias ésta se ha dilatado (hay que reconocerlo) demasiado en el tiempo; sobre todo porque el desarrollo de la misma se ha tenido que compatibilizar con las actividades profesionales del doctorando y también, en gran medida, por el fallecimiento del recordado Pepe Molina. Durante este largo periodo de tiempo el doctorando ha podido conocer nuevos métodos y programas; de hecho diversos campos de fuerzas se han probado con posterioridad. Sin embargo, el doctorando está en condiciones de afirmar que el campo de fuerzas MMX ha resistido muy bien el paso del tiempo, si tenemos en cuenta los resultados a la hora de describir determinados aspectos de la química de tioazúcares, resultados que superan en precisión a los de otros campos de fuerza de más reciente desarrollo.
- 429 Gaussian 03, Revision B.05, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez y J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
- 430 G. I. Csonka, K. Éliás e I. G. Csizmadia «Relative stability of  ${}^1C_4$  and  ${}^4C_1$  chair forms of  $\beta$ -D-glucose: a density functional study», *Chem. Phys. Lett.*, **1996**, *257*, 49-60.
- 431 C. J. Cramer y D. G. Truhlar «Quantum chemical conformational analysis of glucose in aqueous solution», *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 5745-5753.
- 432 Disponible, gratuitamente, en <http://www.ugr.es/~gmdm/java/3jhh/cal3jhh.html>.
- 433 <http://www.sun.com/java>.
- 434 <http://www.rcsb.org/pdb>.
- 435 D.A. Case, T.A. Darden, T.E. Cheatham, III, C.L. Simmerling, J. Wang, R.E. Duke, R. Luo, K.M. Merz, D.A. Pearlman, M. Crowley, R.C. Walker, W. Zhang, B. Wang, S. Hayik, A. Roitberg, G. Seabra, K.F. Wong, F. Paesani, X. Wu, S. Brozell, V. Tsui, H. Gohlke, L. Yang, C. Tan, J. Mongan, V. Hornak, G. Cui, P. Beroza, D.H. Mathews, C. Schafmeister, W.S. Ross y P.A. Kollman, **2006**, AMBER 9, University of California, San Francisco..
- 436 Autodock 4.0: programa disponible gratuitamente en <http://autodock.scripps.edu>. G. M. Morris, D. S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew y A. J. Olson *J. Comput. Chem.*, **1998**, *19*, 1639-1662.
- 437 G. Osanjo, M. Dion, J. Drone, C. Solleux, V. Tran, C. Rabiller y C. Tellier «Directed evolution of the  $\alpha$ -L-fucosidase from *Thermotoga maritima* into an  $\alpha$ -L-transfucosidase», *Biochemistry*, **2007**, *46*, 1022-1033.
- 438 <http://dx.doi.org/10.2210/pdb1h19/pdb>.
- 439 <http://dx.doi.org/10.2210/pdb1h18/pdb>.
- 440 <http://dx.doi.org/10.2210/pdb10du/pdb>.
- 441 Datos para el residuo KCX se pueden encontrar en [http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical\\_id=6915491](http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical_id=6915491) y en <http://xray.bmc.uu.se/hicup/KCX/index.html>.

- 442 [http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical\\_id=6915491](http://cdb.ics.uci.edu/CHEM/Web/cgi-bin/ChemicalDetailWeb.py?chemical_id=6915491).
- 443 XRED: programa disponible gratuitamente en <http://www.u-picardie.fr/labo/lbpd/RED/>.
- 444 H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola y J. R. Haak «Molecular dynamics with coupling to an external bath», *J. Chem. Phys.*, **1984**, *81*, 3684-3690.
- 445 J. Ryckaert, G. Ciccotti y H. J. C. Berendsen «Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes», *J. Comput. Phys.*, **1977**, *23*, 327-341.
- 446 J. Gasteiger y H. Saller «Calculation of the charge distribution in conjugated systems by a quantification of the resonance concept», *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1985**, *24*, 687-689.
- 447 M. F. Sanner «Python: a programming language for software integration and development», *J. Mol. Graphics. Mod.*, **1999**, *17*, 57-61.
- 448 R. Luo, L. David y M. K. Gilson «Accelerated Poisson-Boltzmann calculations for static and dynamic systems», *J. Comput. Chem.*, **2002**, *23*, 1244-1253.
- 449 B. Honig y A. Nicholls «Classical electrostatics in biology and chemistry», *Science*, **1995**, *26*, 1144-1149.
- 450 W. Humphrey and A. Dalke and K. Schulten «VMD - Visual Molecular Dynamics», *J. Molec. Graphics*, **1996**, *14*, 33-38. (Disponible gratuitamente en <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>).
- 451 DeLano, Warren L. «The PyMol molecular graphics system» **2008**. DeLano Scientific, Palo Alto, California, USA. <http://www.pymol.org>.
- 452 Y. Sun, S. Y. I. Hwang y T. Wu «A 500-ps molecular dynamics simulation trajectory of cardiotoxin II from Taiwan Cobra Venom in solution: correlation with NMR and X-ray crystallography data», *J. Comput. Chem.*, **1998**, *20*, 546-562.
- 453 X. Luo, R. Kato y J. R. Collins «Dynamic flexibility of protein-inhibitor complexes: a study of the HIV-1 protease/KNI-272 complex», *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 12410-12418.
- 454 X. Huang y R. Powers «Validity of using the radius of gyration as a restraint in NMR protein structure determination», *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 3834-3835.
- 455 M. Yu. Lobanov, N. S. Bogatyreva, y O. V. Galzitskaya «Radius of gyration as an indicator of protein structure compactness», *Mol. Biol.*, **2008**, *42*, 623-628.
- 456 G. N. Ramachandran, C. Ramakrishnan y V. Sasisekharan «Stereochemistry of polypeptide chain configurations», *J. Mol. Biol.*, **1963**, *7*, 95-99.
- 457 R. A. Laskowski, M. W. MacArthur, D. S. Moss y J. M. Thornton «PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures», *J. Appl. Cryst.*, **1993**, *26*, 283-291.
- 458 <http://ugrgrid.ugr.es>.
- 459 G. A. Jeffrey y J. H. Yates «Stereographic representation of the Cremer-Pople ring-puckering parameters for pyranoid rings», *Carbohydr. Res.*, **1979**, *74*, 319-322.
- 460 J. C. A. Boeyens y D. G. Evans «Conformational analysis of ring pucker», *Acta Cryst.*, **1989**, *B45*, 581-590.
- 461 A. Navarro-Vázquez, J. C. Cobas y F. J. Sardina «A graphical tool for the prediction of vicinal proton-proton  $^3J_{HH}$  coupling constants», *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2004**, *44*, 1680-1685.
- 462 El programa PCMODEL (véase la cita 427) también permite el cálculo de las constantes de acoplamiento, así como, de forma un tanto rudimentaria, la página web <http://www.intermnet.ua.es/interMNet/calculadores/Haasnoot-Altona.htm>.
- 463 E. Osawa y C. Jaime. 3JHH program, Department of Chemistry, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo 060, Japan **1982**.
- 464 C. M. Cerda-García-Rojas, L. G. Zepeda y R. A. Joseph-Nathan «A PC program for calculation of dihedral angles from  $^1H$  NMR data», *Tetrahedron Comput. Method.*, **1990**, *3*, 113-118.
- 465 G. Balacco «A desktop calculator for the Karplus equation», *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1996**, *36*, 885-887.

- 466 Disponible en <http://www.mestrec.com/index.php>.
- 467 Janocchio Program v1.0.1. Eli Lilly and Co. Available on <http://janocchio.sourceforge.net>.
- 468 K. Neidig, M. Geyerb, A. Görler, C. Antz, R. Saffrich, W. Beneicke y H. R. Kalbitzer «AURELIA, a program for computer-aided analysis of multidimensional NMR spectra», *J. Biomol. NMR*, **1995**, *6*, 255-270.
- 469 P. Padrta y V. Sklenár «Program MULDER - A tool for extracting torsion angles from NMR data», *J. Biomol. NMR*, **2002**, *24*, 339-349.
- 470 D. Flamm «Ludwig Boltzmann and his influence on science», *Stud. Hist. Philos. Sci.*, **1983**, *14*, 255-278.
- 471 SDBS Database. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba, Ibaraki, Japan. <http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/menu-e.html>.
- 472 C. H. Wong «Mimics of complex carbohydrates recognized by receptors», *Acc. Chem. Res.*, **1999**, *32*, 376-385.
- 473 H. M. Flowers «Chemistry and biochemistry of D- and L-fucose», *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1981**, *39*, 279-345.
- 474 P. T. Vanhooren y E. J. Vandamme. «L-Fucose: occurrence, physiological role, chemical, enzymatic and microbial synthesis», *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **1999**, *74*, 479-497.
- 475 Los resultados completos de la búsqueda sistemática, para los compuestos **1** al **2**, se pueden consultar en <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-MMX.pdf>.
- 476 Los resultados completos, para los compuestos **1** al **2**, están disponibles <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-B3LYP.pdf>.
- 477 F. Longchambon, J. Ohannessian, D. Avenel y A. Neuman. «Structure cristalline du  $\beta$ -D-galactose et de l' $\alpha$ -L-fucose», *Acta Cryst.*, **1975**, *31*, 2623-2627.
- 478 T. E. Walker, R. E. London, T. W. Whaley, R. Barker y N. A. Matwiyoff «Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of [1- $^{13}$ C] enriched monosaccharides. Signal assignments and orientational dependence of geminal and vicinal carbon-carbon and carbon-hydrogen spin-spin coupling constants», *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 5807-5813.
- 479 K. Izumi «NMR spectra of some monosaccharides of galactopyranose series in deuterium oxide», *Agr. Biol. Chem.*, **1971**, *35*, 1816-1818.
- 480 Consúltese la tabla suplementaria <http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-B3LYP.pdf>.
- 481 El efecto *hockey-sticks* se define como una interacción repulsiva 1,3-sindiaxial, debida al solapamiento del par de electrones no compartidos de un grupo OR (OH en este caso), con el orbital axial del azufre del anillo.
- 482 N. S. Zefirov, V. S. Blagoveshchensky, I. V. Kazimirchik y N. S. Surova «Stereochemical investigations-XII. Conformation of 2-substituted 1,4-oxathians», *Tetrahedron*, **1971**, *27*, 3111-3118.
- 483 J. A. Pople «Quantum Chemical Models (Nobel Lecture)», *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, *38*, 1894-1902.
- 484 a) R. F. W. Bader, *Atoms in Molecules: a Quantum Theory*, Clarendon, Oxford. **1990**. b) R. F. W. Bader, *Chem. Rev.*, **1991**, *91*, 893-928.
- 485 Cálculos semiempíricos PM3 previos, realizados con disolvente explícito, utilizando el método MMH, revelaron la importancia capital de dicha influencia. Sin embargo, se descartó continuar con esta metodología de trabajo debido a los problemas que presenta el método PM3, y otros métodos semiempíricos, de no ser capaces de establecer un adecuado orden energético de rotámeros y de dar lugar a falsas interacciones H $\cdots$ H del soluto con las moléculas del disolvente.
- 486 M. López de la Paz, G. Ellis, M. Pérez, J. P. Jesús, Jiménez-Barbero y C. Vicent «Carbohydrate hydrogen -bonding cooperativity - Intramolecular hydrogen bonds and their cooperative effect on intermolecular processes - Binding to a hydrogen-bond acceptor molecule», *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 840-855.
- 487 H. Yuasa y H. Hashimoto «Recent advances in the development of unnatural oligosaccharides. Conformation and bioactivity», *Trends Glycosci. Glyc.*, **2001**, *13*, 31-55.

- 488 C. J. Cramer, D. G. Truhlar y A. D. French «Exo-anomeric effects on energies and geometries of different conformations of glucose and related systems in the gas phase and aqueous solution», *Carbohydr. Res.*, **1997**, 298, 1-14.
- 489 Los resultados completos de geometría están disponibles  
<http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-geomresto.pdf>.
- 490 Los resultados completos de los desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se pueden consultar en  
<http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-rmn.pdf>.
- 491 Para consultar los resultados completos de  $^3J_{\text{H,H}}$ , véase  
<http://www.ugr.es/~gmdm/theses/aaguirre/ts-jota.pdf>.
- 492 Se hicieron cálculos previos de docking que confirman que los resultados obtenidos en ambas unidades son similares.
- 493 N. Panday, M. Meyyappan y A. Vasella «A comparison of glucose- and glucosamine-related inhibitors: probing the interaction of the 2-hydroxy group with retaining  $\beta$ -glucosidases», *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 513-538.
- 494 International Union of Pure and Applied Chemistry, and International Union of Biochemistry and Molecular Biology. IUPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). Nomenclature of carbohydrates (recommendations 1996). Véase en  
<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/2carb/>.
- 495 IUPAC-IUBMB «Nomenclature of carbohydrates», *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1997**, 52, 43-171, 2-Carb-15.