

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado  
Kimikako Gradua / Grado en Química

# **Molekula organikoen laser espektroskopia jet supersonikoan**

Interes biologikodun azukre malguen egitura eta bere  
aldagarritasuna sistema desberdinetan

Egilea/Autor/a:

**Aran Insausti Beiro**

Zuzendaria/Director/a:

**Jose Andrés Fernández González**

Zuzendariordea/Coodirector/a:

**Imanol Usabiaga Gutierrez**

Saila/Departamento:

**Kimika-fisikoa**

## AURKIBIDEA:

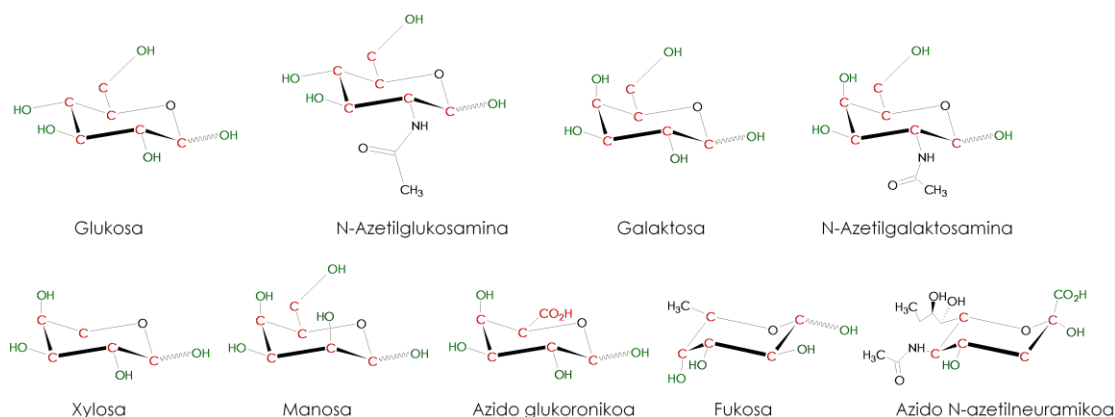
1. SARRERA: .....	1
2. METODOLOGIA ESPERIMENTALA:.....	6
3. KALKULU TEORIKOAK:.....	9
4. EMAITZAK:.....	11
4.1. <b>GlcNAc</b> .....	11
4.2. <b>GlcNAc···PhOH</b> .....	18
4.3. <b>GlcNAc···PhGlc</b> .....	26
4.4. <b>LOTURA DISTANTZIEN KONPARAKETA</b> .....	33
5. ONDORIOAK:.....	35
6. BIBLIOGRAFIA:.....	36
ERANSKINAK.....	42

## 1. SARRERA

### 1. SARRERA:

Izaki bizidunen kimika ulertzea gizakiaren erronka nagusietariko bat da. Azken urteetako aurrerapen teknologikoei esker, ezagutzak izugarritzko garapenak jasan dituen arren, gure baitan dagoen kimika guztiz argitaratzea eskurazina dirudi. Izaki bizidunen kimika aztertuz, izugarritzko konposatu eta erreakzio desberdin ematen direla ikusi da. XX. mendearen erdialdean, genetika eta proteomikaren garapena izakien funtzionamenduaren azalpena emateko gai izango zela zirudien. Funtzio biologiko nagusiak, orokorrean, proteomika eta genetikaren kontu direla hartu diren arren, glikobiologiaren ezagutzak, ikerkuntza munduaren ikuspuntua aldatu du.

Glikobiologia, azukreek gorputzean duten funtzio eta kimika aztertzeaz arduratzen den zientzia da. Azukreak, oso molekula malguak eta moldagarriak dira. Bere funtzio biologikoak oso anitzak dira, hala nola, energetikoa, estrukturala, errekonozimendu zelularra eta zenbait konposatuen garraioa.<sup>1</sup> Azukre mota asko dauden arren, ornodunen azukre piranosiliko nagusiak [1. irudian](#) adierazi dira.



1. Irudia- Ornodunen azukre monomero nagusiak. Moldatuta.<sup>2</sup>

Monomero horien homopolimero edo heteropolimeroek izaki horien sistema glikomikoa eratzen dute.<sup>2</sup>

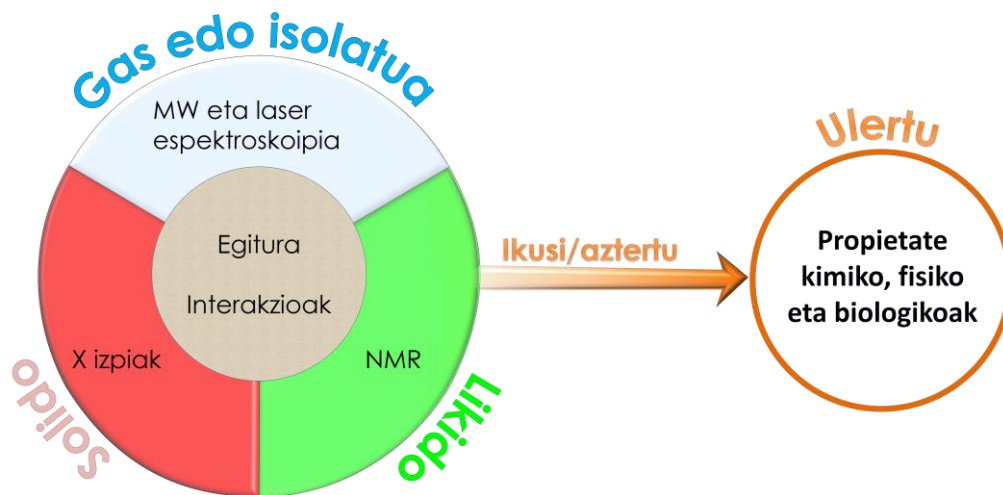
Azukreak, aldakortasun handiko molekulak dira<sup>3</sup> eta bizitzarako ezinbestekoak diren zenbait molekulen egituraren zati bat eratzen dute, besteak beste, N eta O loturen bidez. Adibide garrantzitsuen DNA katean dagoen zati bat da<sup>4</sup>

Azukre monomero eta oligomeroen konformazio eta interakzioak aztertzeko zenbait teknika desberdin erabitzen dira, nagusienak, disoluzioan RMN eta solidoan X-izpien difrakzioa direnak.<sup>5</sup> Bi teknika hauek oso erabilgarriak dira molekulen informazio ugari

## 1. SARRERA

eskuratzeko. Hala ere, X-izpiak, egitura kristalino perfektuak behar dituzte informazioa eskuratzeko, eta, lortutako informazioa, fase solido eta molekulen inguruko simetria eta errepikakortasunera mugatuta dago. RMN-n berriz, molekulen batz besteko egitura baten hurbilketa ematen den arren, lortutako egituren erabateko konformazioaren esleipena ezintasuna dela eta, ezin da behin betiko teknika bezala hartu, askotan informazio asko emateko gai den arren.<sup>6</sup> Aurreko bi metodoetan, nahiz eta informazio iturri garrantzitsua izan, lortutako egiturak ingurunearen menpe egongo dira. Bi teknika horiek azukreek zenbait inguruetan dituzten egiturak eta propietateak bereizteko aproposak dira eta, beste alde batetik, gas fasean edo fase isolatuan aztertzen badira, aukeratutako molekulak edo konplexuak berez eratzen dituen egitura eta ezaugarriak desberdindu daitezke. Teknika esperimental zehatzenen artean, mikrouhin eta laser espektroskopia daude.<sup>7</sup> Kalkulu mekanokuantikoen bidez informazio asko lortu daiteke: molekulen egitura, energia mailen hurbilpenak, infragorri espektro teorikoak eta abar. Gaur egun gehiena erabiltzen diren kalkuluak, DFT metodoak dira.<sup>8-10</sup> Horiei esker, molekula handi, konplexuen edo zenbait molekulen ( $N_{at}>5-10$ ) simulazioak egin daitezke pisu konputazional txikiarekin.

Teknika desberdin bakoitzak ematen duten informazioa aztertu ondoren, propietate fisiko, kimiko eta biologikoen zergatiaren ulerpenera hurbildu daiteke (2. Irudia).



2. Irudia- Egituren eta interakzioen ezagutzak eman gaitzakeen informazioa.

Azukreak, molekula nahiko erreaktiboak dira, besteak beste, zetona edo aldehidoak dituztelako. Gainera, hidroxilo talde anitzek konposatu nahiko polarrak izatea eragiten dute. Hori dela eta, ez da erraza konposatu horiek gas fasera eramatea, izan ere, beroketaren bidez, normalean lurrundu aurretik deskonposatu egiten dira, hau da,

## 1. SARRERA

---

molekula termolabilak dira.<sup>11,12</sup> Azukreak, deskonposatu gabe gas fasera igarotzeko, ablazio laser sistemak garatu dira.<sup>13</sup> Sistema horietan, azukrea laser argia xurgatzen duen matrize batean jarri, eta laser baten bitartez matrizea “eztandarazten” da, bertan dauden azukre molekulak gas fasera igarotzen direlarik. Laser bidezko ablazioan, prozesua oso denbora laburrean ematen denez, plasma bat eratu eta molekula termolabilak isolatzea ahalbidetzen du.<sup>14</sup>

Fase isolatuko azukre monomeroen eta oligomeroen ikerkuntza esperimentalean azken urteetan lan handia egin den arren, laser espektroskopiak egitura aromatiko baten beharra duenez eta MW espektroskopiaren detekzio mugak nahiko handiak direnez, azukre sistema desberdinen interakzioak gaur egungo erronka nagusietarikoak dira, sistema konplexuagoen ulerpenera iristeko. Talde horren barruan, MW espektroskopiaren bidez monomero askoren determinazioa egin da.<sup>15-17</sup> Hala ere, teknikaren detekzio mugaren eta termolabilitatearen arazoak direla eta, ez da lortu zenbait konposaturen determinazio esperimentalik egitea. Laser espektroskopiaren arazo nagusia gune aromatiko batean beharra den arren, gune aromatikoa duen azukre eta azukre kluster askoren determinazio teoriko eta esperimentalak egin da.<sup>7,19-22</sup>

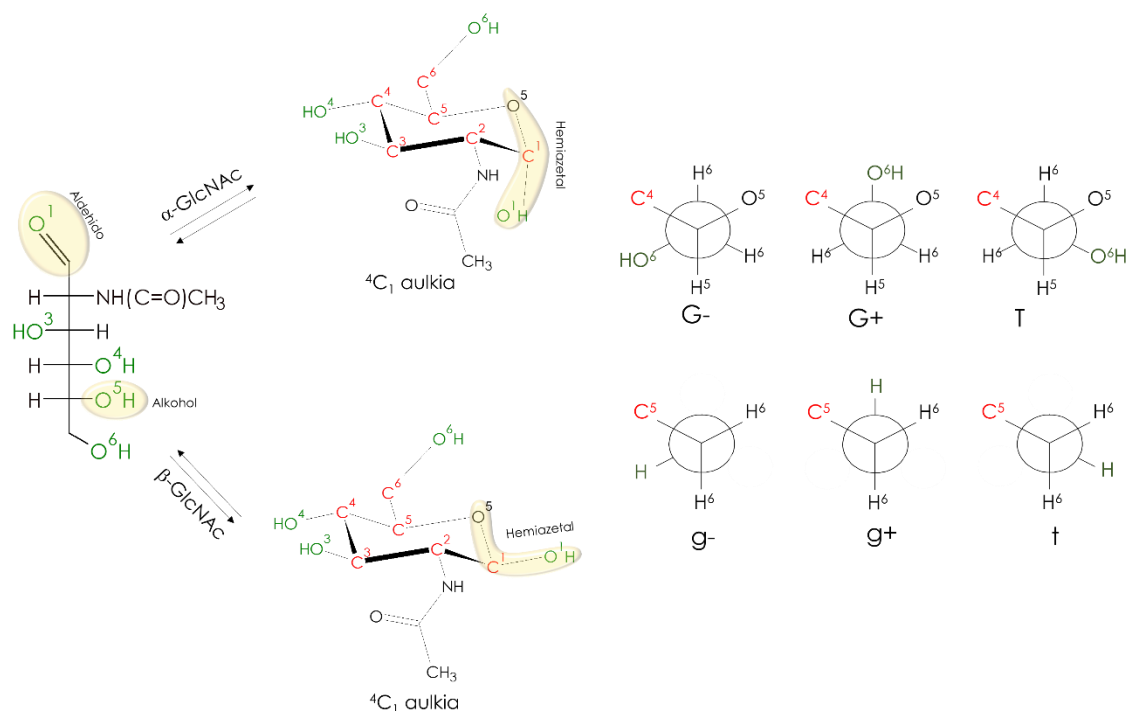
Horretaz gain, azukreek ingurune biologikoetan duten seinale garraiatzaile funtzioagatik,<sup>23</sup> substratu eta errezeptoreen arteko interakzioen bilakaera ezagutzeko, fase isolatuan, azukre eta errezeptoreen hurbilketa erredukzionista moduan joka dezaketen zenbait konposatuekin dituzten interakzioen ikerketak, oinarritzko informazio ugari ematen dute.

N-Azetil-D-glucosamina (3. irudian egitura begiratu) (2-azetamido-2-deoxi-D-glukosa) (GlcNAc moduan izendatuta lan honetan), lurrazalean dagoen azukre monomero ugarienetarikoak da. Kitinaren unitate monomerikoa da, hau bigarren biopolimero natural nagusia izanik, glukosak eratzen duen zelulosaren ondoren. Kitina, artropodoen exoeskeletoaren osagai nagusia izateaz gain, erabilera asko dituen biopolimero natural eta garbia da.<sup>24,25</sup>

GlcNAc, beste azukre aldohexosen moduan, sei katebegietako egitura  ${}^4C_1$  zikliko moduan aurkitzen da, RMN eta X-izpien bidez egindako ikerkuntzetan ikusten den moduan,  $C^1-O^5-C^5$  atomoek eraztuna ixten dutelarik (3. irudia begitaru).<sup>26,27</sup> GlcNAc molekula ziklikoaren,  $C^1$  zentro estereogenikoaren konfigurazio absolutuari esker, bi anomero (diastereoisomero) desberdin ditu,  $\alpha$  eta  $\beta$ . Orokorrean,  $C^1$ -ean OH taldea

## 1. SARRERA

duten zikloaldosetan, anomero nahaste bat aurkitzen da, aldehido-alkohol intramolekular eta hemiazetal orekaren ondorioz (3. irudia begiratu).



3. Irudia- GlcNAc aldehido-alkohol eta hemiazetal tautomeria.  ${}^4C_1$  aulkiaren konformazioa eta atomoen izendapena (atomo bakoitzean goi indize moduan). GlcNAc-ren anomero eta konformeroak eta diedroen izendapenen Newman proiektzioa.

GlcNAc-k, glukosaren moduan, egitura ziklikoan (karbono anomerikoaren hidroxiloa alde batera utzita) ordezkatzailerak guztiak posizio ekuatorialean ditu. Gainera, bi horiek (Glc eta GlcNAc), ordezkatzailerak ekuatorialean ditzuten piranosa egitura nagusiak dira. Zikloaldosa moduko azukre monomeroen egitura aztertuta, oso molekula malgua dela ikusi daiteke, berez, hidroxilo eta hidroximetilo taldeen zein eraztunaren biraketa askatasunagatik.<sup>28</sup>

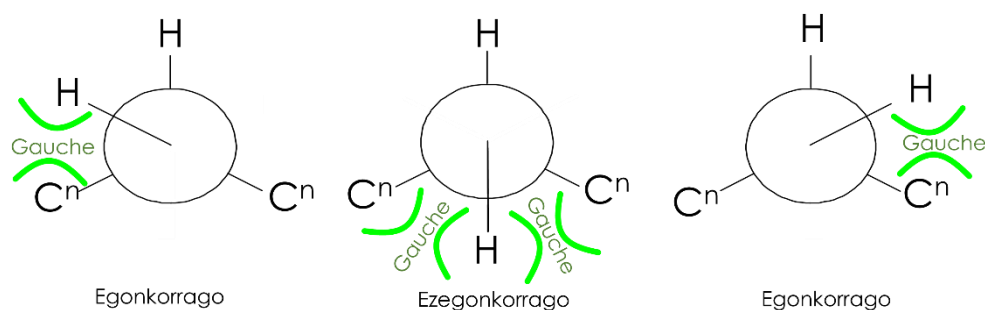
Orokorrean, edozein azukre konformeroren egitura zehazteko, zenbait laburdura erabiltzen dira. Lan honetan, konformeroren izen laburbilduetan atomoen posizio erlatiboa adierazteko, “G” *gauche* eta “T” *anti* laburdurak erabili dira. Egituren konformazioaren laburdurretan, lehenik hidroximetiloaren kokapena C<sup>4</sup>-C<sup>5</sup>-C<sup>6</sup>-O<sup>6</sup> diedroaren angeluaren arabera zehazteko G<sup>-</sup>, G<sup>+</sup> eta T (letra larria) erabili dira eta, horren ostean, letra xeheaz, C<sup>5</sup>-C<sup>6</sup>-O<sup>6</sup>H diedroarenak adierazi dira (begiratu 3. irudia). Normalean azukreek hidrogeno zubi kooperatiboak eratzen dituzte. Zubi horien norabidearen arabera, *cc* O<sup>4</sup>H···O<sup>3</sup>H···O<sup>2</sup>H eta *cl* O<sup>2</sup>H···O<sup>3</sup>H···O<sup>4</sup>H moduan izendatzen dira. GlcNAc-ren kasuan, analogia erabiliz *cc* O<sup>4</sup>H···O<sup>3</sup>H···O(=C) eta *cl*

## 1. SARRERA

---

$\text{NH}\cdots\text{O}^3\text{H}\cdots\text{O}^4\text{H}$  zubi kooperatiboa izendatzeko erabili dira. Azkenik,  $\text{O}^5\text{-C}^1\text{-O}^1\text{H}$  diedroaren angeluak  $g^-(\approx -60^\circ)$ ,  $g^+(\approx 60^\circ)$ ,  $t(\approx 180^\circ)$  letra xehez adierazi dira. Nomenklatura hau monomeroen kasuan erabili da nagusiki. Dimerioetan, molekulen arteko interakzioa dela eta, bitarteko egiturak lortu daitezke eta, kasu horretan, nomenklatura horrek ez du molekulen arteko elkarrekintzen informaziorik ematen.

Normalean, ordezkatzailerak guztiak hidroxiloak dituzten aldohexosetan, gas faseko molekulen konformazioa, H zubi eta *gauche* aldarapen esterikoen arteko lehiaren arabera da. *Gauche* aldarapenak, hidroxiloaren protoiaren eta karbonoaren arteko elkarrekintzen bidez eratzen dira (4. irudia). Aipatzekoa da fase isolatuan ez dela ohikoa konformazio eklipsaturik behatzea.



4. Irudia- hidroxiloen errotamero desberdinen egonkortasuna newmanen proiektzioaren bidez iruditatuta.

Hau guztia esanda, lan honetan, aurretik fase isolatuan esperimentalki ikertu gabe dagoen GlcNAc aztertu da hiru sistema desberdinetan:

Lehenengo, monomeroak ez duenez funtsezko laser espektroskopiaren bidez neurtu ahal izateko kromoforoa, DFT kalkulu mekanokuantikoen bidez, bere egituraren azterketa egin da. Horretaz gain, bibliografiarekin lagunduta, fase desberdineko GlcNAc eta Glc monomeroen egituren konparaketa orokor bat egin da.

GlcNAc molekulak zenbait entzimaren tirosinarekin duen interakzioa ikusita,<sup>29,30</sup> GlcNAc eta fenolaren (PhOH), tirosinaren gune aktiboa, arteko interakzioak modu teoriko eta esperimentalean aztertu dira. Horrekin, esperimentalki neurtutako anomero nagusia zein den identifikatu eta, teorikoki, anomero bakoitzaren interakzioen ideia zabal bat lortu da. Horretaz gain, fenola H lotura eratzeko joera duen molekula zurruna denez, GlcNAc anomero desberdinetan ikusten den H zubien bilakaera nola eraldatzen den aztertu da.

## 1. SARRERA

---

Azkenik, GlcNAc-k glukosarekin (Glc) dituen interakzioak aztertu dira. Aurretik esan den moduan, ionizazio laser espektroskopia erabiltzeko molekulak edo klusterraren molekula batek gune aromatikoa eduki behar duenez, Glc-ren ordean, fenil  $\beta$ -D-glukopiranosoa ( $\beta$ -PhGlc) erabili da hurbilketa moduan. Horrekin, alde batetik sistemaren kalibrazio egokia egin da, izan ere,  $\beta$ -PhGlc sistemaren erreferentzia moduan erabili daiteke.<sup>31</sup> Glc deribatuen dimeroen gas faseko ikerkuntza ugari daudenez, GlcNAc $\cdots$ Glc aztertuz, GlcNAc molekularen propietate molekularrak ikusi dira, Glc $\cdots$  $\beta$ -PhGlc sistemarekin aurretik beste ikerkuntzetan lortutako informazioarekin konparatuz. Gainera,  $\beta$ -PhGlc H loturak eratzeke joera duen molekula malgua da.

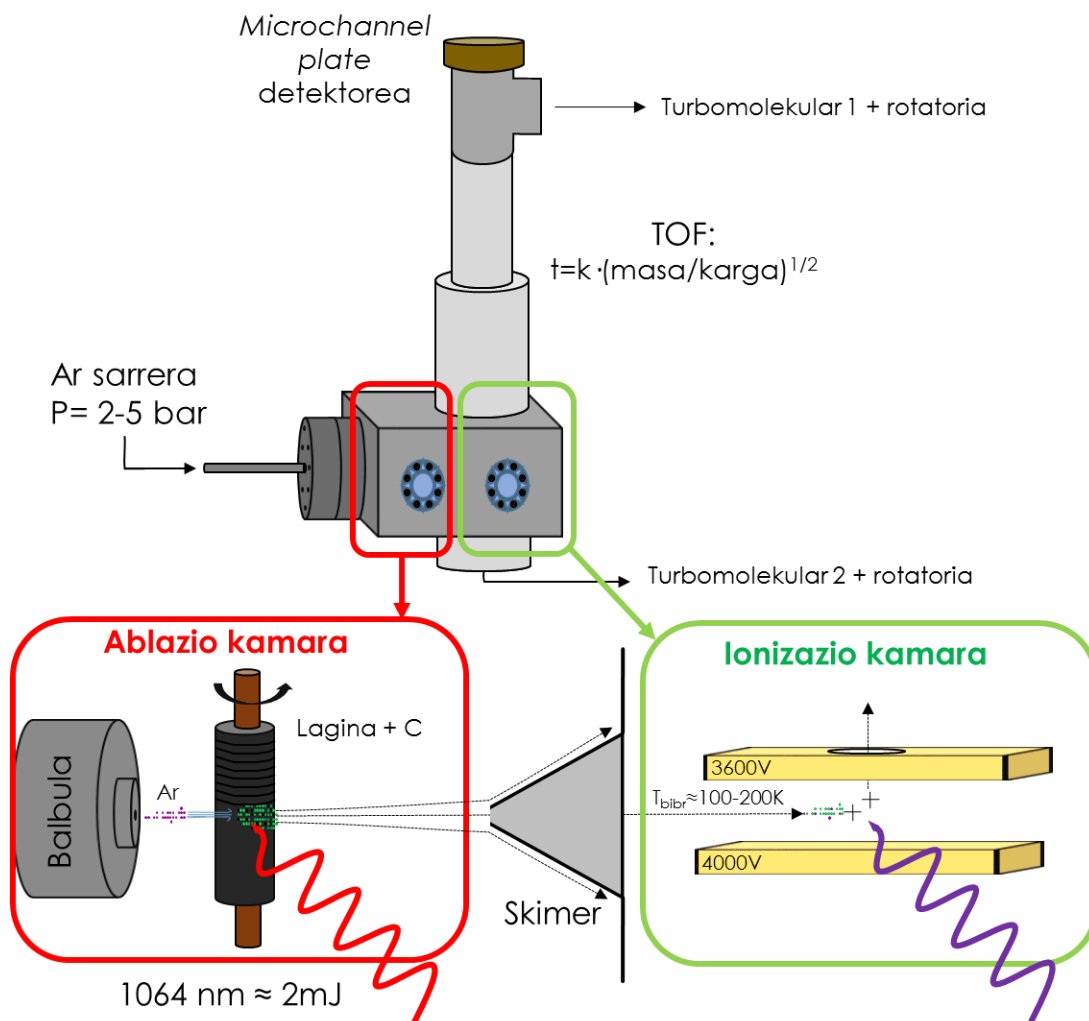
Beraz, sistema konkretuen interakzioaz gain, GlcNAc-rekin  $\beta$ -PhGlc molekula malgu eta PhOH molekula zurrun batekin nola interakzionatzen duen aztertu eta konparatu da.

## 2. METODOLOGIA ESPERIMENTALA:

Laser espektroskopia esperimentuak egiteko, EHU-ko laser espektroskopia laborategiko [5. irudiko](#) sistema esperimental erabili da. Sistemak, lagina karbono nano-tutuekin (>90%, 10-30 mm diametroan, Multi-Walled Carbon Nanotubes, Sun Nanotech Co. Ltd) nahastuta (karbono  $\approx$ 20v/v) grafitozko zilindro baten gainazalean homogeneoki depositatu da. Karbono nano-tutuak ablazio laserraren uhina xurgatzen duen matrizea da. Sistema itxi eta gero, hutsa egiten da, bomba *birakor* eta turbomolekularren bidez, barneko presioa  $10^{-7}$  bar inguru izatea lortu arte. Sistemak, pultsuka egiten du lan 10Hz-ko abiadurarekin, egoera horretan sistemaren presioa  $10^{-5}$ - $10^{-4}$  bar inguruan finkatzen delarik. Gertaera batean (0.1s), [6. irudian](#) kronograma labur batean antzeman daitekeen moduan, lehenengo gas garraiatzaile (Ar) balbula ireki, eta irekita dagoen bitartean ablazio laserrak *tiro* egiten du laginaren kontra. Orduan, gas garraiatzaileak ablazio laserrak gas egoerara igarotako molekulak narratzen ditu ionizazio ganbarara *skimmer* baten bitartez, bere abiadura minimoa *Mach 1.8* izanik ([6. irudia](#)). *Skimmerrak*, ionizazio ganbarara *jet*-aren parte hotza selektiboki bakarrik igarotzea ahalbidetzen du, erresoluzio espektroskopikoa handituz.<sup>32,33</sup>



## 2. METODOLOGIA ESPERIMENTALA

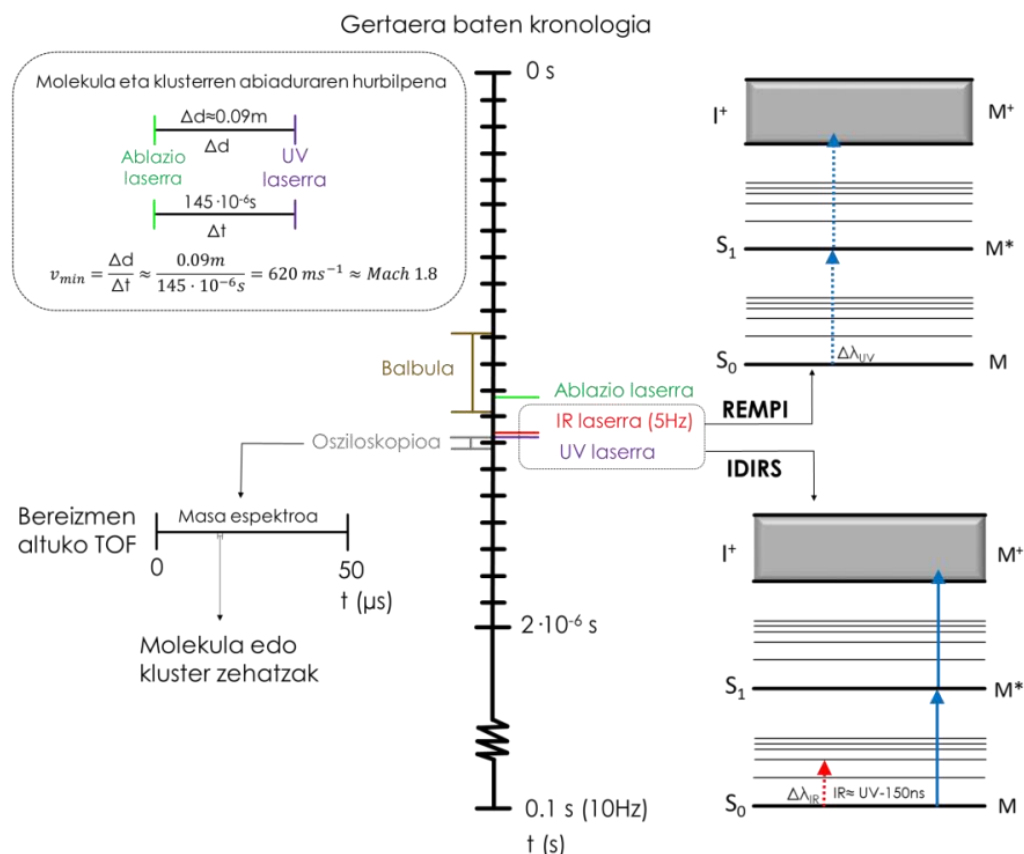


5. Irudia- Lan honetan erabilitako Espektroskopia laborategiko sistema experimentalaren eskema laburbildua.

Ionizazio ganbaran 6. irudian agertzen diren bi esperimentuak eraman dira aurrera, REMPI eta IDIRS deritzonak. REMPI esperimentuan ultramore (UV) laserrarekin ekorketa egiten da, laserraren uhin luzerak trantsizio batekin bat egitean seinalea ikusten delarik. Bigarren esperimentuan, IDIRS (IR/UV espektroa), REMPI esperimentuarekin aurretik detektatutako trantsizio batean 10Hz-tan lan egiten duen UV laserraren uhin luzera finkatu eta 5Hz lan egiten duen IR laser baten bidez IR ekorketa egiten da. Horrela IDIRS esperimentuan 2 seinale jasoko dira, alde batetik UV bakarrik emandako seinalea eta beste alde batetik, aurretik IR bidez kitzikatuta izan den gertakariarena. Bi seinaleen kenketa eginez, IR espektroa bildu da, non IR trantsizio bat lortzen denean, IR-ak aurretik duen gertakariaren seinalea txikiagoa izango den UV-ak bakarrik duenarekin konparatuta. Seinale jaitsiera hori,  $M$  eta  $M^*$  mailen bibrazio mailen arteko energia diferentzia desberdina delako ematen da, eta IR laserrarekin  $M$  maila

## 2. METODOLOGIA ESPERIMENTALA

elektronikoko molekula bibrasionalki kitzikatzean, UV fotoiak ez du trantsizio batekin bat egiten. Aurreko ikerkuntza askotan ikusi den moduan, OH eta NH-en seinaleak selektibo eta espezifikoak dira konformero bakoitzarentzat, haien egitura zehazteko aukera ematen dutelarik.<sup>7</sup> Horrela molekula edo kluster isolatuen UV eta IR espektroak jaso dira.



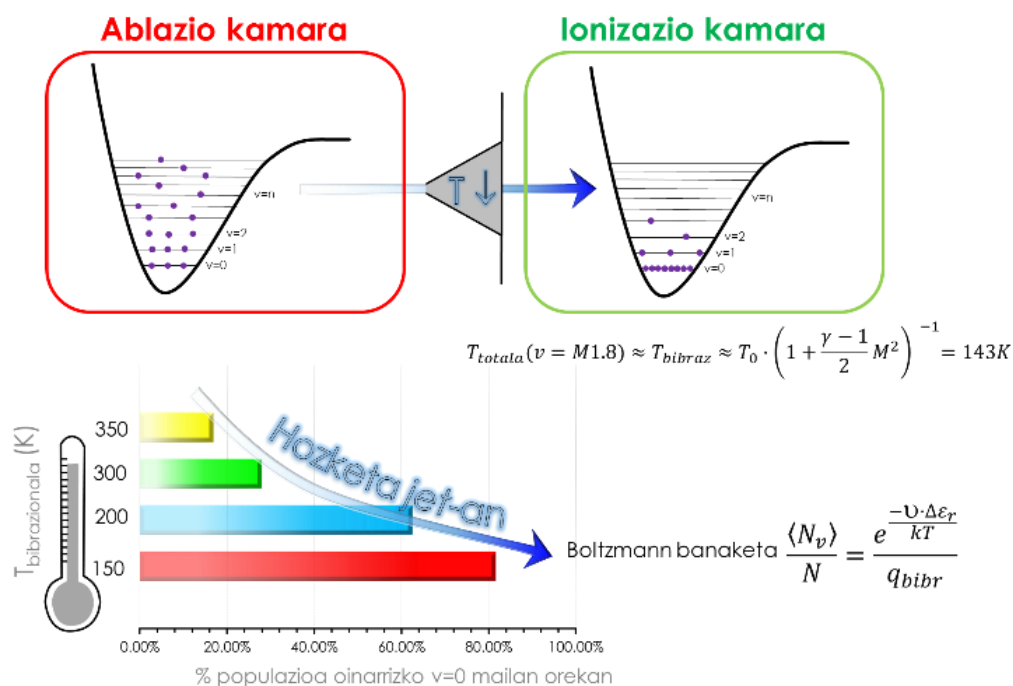
6. Irudia: Sistema esperimentalaren gertaera baten kronologia laburbildua. Egindako REMPI eta IDIRS esperimentuen eskema teorikoa. Molekula eta klusterren abiaduraren hurbilpena osziloskopioa erabilia kalkulatu.

REMPI eta IDIRS esperimentuak egiteko, UV laser moduan Nd:YAG (355 nm) laser baten bidez bonbeatutako koloratzaile laserrak erabili dira (*Q-Scan* eta *FineAdjustment*). IR erradiazioa lortzeko, 2800-3800 cm<sup>-1</sup> bitartean OPO/OPA (*LaserVision*) laserra erabili da (±10 cm<sup>-1</sup>), Nd/YAG (1064 nm) laser bonbeo batekin pulsatuta (*Continuum*, *Surelite II*). Erabilitako konposatuak, GlcNAc (Sigma Aldrich, %99) eta β-PhGlc (Sigma Aldrich, %97) izan dira. PhOH, ablazioak berez eragindako β-PhGlc-ren bidezko desintegrazioaren bidez lortzen da.

Fase isolatuko laser espektroskopiaren berezitasun bat, lortutako jet-molekularraren tenperatura txikia da.<sup>32,33</sup> Gas garraiatzailearen talkak ahalbidetutako molekula oso

## 2. METODOLOGIA ESPERIMENTALA

hotzak, errotazionalki molekularak 1-10K tenperatura inguruan egotea eta traslazonalki ere ia 0K tenperaturako molekularak lortzea ahalbidetzen du.<sup>34</sup> Aurretik ezaguna den moduan, normalean molekularak oinarritzko egoera elektronikoan aurkituko dira, non tenperatura elektronikoaren kontribuziorik ez den izango. Iskanbila handiagoa tenperatura bibrazionalarekin dago, zenbait artikulutan ikusi daitekeen moduan, baina lan honetan bibliografian topatutako tenperaturaren hurbilketa teoriko bat egin da.<sup>35</sup>



7. Irudia- Goian, ablazio eta ionizazio ganbaran dagoen bibrazio mailen populazioaren eskema. Behean, sistemaren tenperaturaren hurbilketa. Fenolaren populazioa  $v=0$  bibrazio mailan tenperatura bibrazional desberdinetan.

7. irudian, bibliografian oinarritutako tenperatura bibrazionalaren hurbilpen bat egin da. Bertan ere fenolaren  $v=0$  bibrazio mailaren populazioa kalkulatu da, *Gaussian 09* programaren tenperatura bibrazionalaren balioak eta Boltamann-en banaketa erabilia. Gogoratu beharra dago bibrazioak modu teorikoan kalkulatzeko ez dela anharmonizitatea kontuan hartu, eta, printzipioz oinarritzko maila energetikoan akats txikia suposatzen duen arren, bibrazioaren partiketa funtzioa hurbilpena besterik ez da.

## 3. KALKULU TEORIKOAK:

IDIRS esperimentuarekin eskuratutako infragorri espektroarekin bat datozen konformero eta egiturak egokitzeko, DFT metodoan oinarritutako kalkuluak erabili dira.<sup>36,37</sup> Jatorritzko egituren bilaketa, mekanika molekularren bidez egin da, MacroModel softwarraren (MacroModel v.9.3.518, Schrödinger) barneko Monte Carlo<sup>38</sup>

### 3. KALKULU TEORIKOAK

---

minimizazio prozedura erabiliz, bertan indar eremu desberdinak erabili direlarik (MMFFs, AMBER, OPLS, MM3) (E1. irudian indar eremu desberdinak erabiltzearen justifikazioa dago).<sup>39-45</sup> Monte Carlo prozedurak, metodo erdiestokastikoen bidez, atomoen arteko distantziak eta angeluak aldatzen ditu eta ondoren mekanika molekularren bidez energiak eskuratzen dira. Programaren bidez, intereseko energia leihoa dauden molekulak eskuratzen dira. Mekanika molekularrak hurbilpen moduan erabili den arren, zenbait egitura intuizio kimikoaren bidez irudikatu behar izan dira Monte Carlo prozedura erdiestokastikoak ausazkoak baitira.

Mekanika molekularren bidez eskuratutako egituren kopurua, sistemaren konplexutasunaren arabera desberdina izan da eta M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatu dira.<sup>46</sup> Optimizazioak era arruntean egin dira, lortutako emaitzak eskuz aztertu eta zero puntuko energia (ZPE) zuzenketa aplikatu zaie. Gainezarmen akatsa zuzentzeko, M06-2X/6-311++G(d,p) mailan, *Counterpoise* zuzenketa metodoa erabili da.<sup>47</sup> Molekulen konformeroen energia langan ekorketak (*Scan*), M06-2X/6-311++G(d,p) mailan egin dira, egituraren ZPE erabili gabe. Konformeroen langan ekorketetan bi mekanismo desberdin agertzen dira. Alde batetik, mekanismo kontzertatuan, non intereseko diedroa mugitu da eta molekularren bestelako guneak mugimendu horretara egokitzen dira. Beste alde batetik, etapan bidezko mekanismoan, intereseko diedroa mugitu aurretik, molekularren bestelako gune edo ordezkatzailen biraketaren ekorketak egin dira eta, ondoren, intereseko diedroa mugitzeko askeago dagoenean, bere ekorketa eginte da.

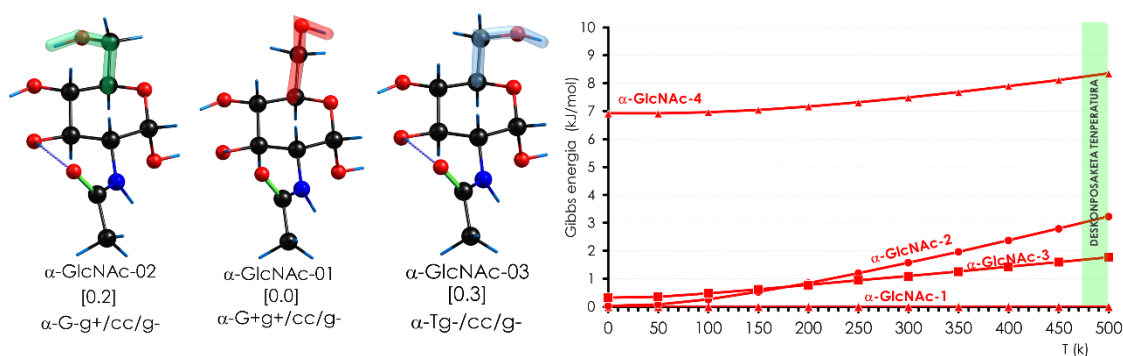
DFT kalkuluak guztiak EHU-ko SGiker-en Ikerkuntzarako Aplikaturako Informatika Zerbitzu Orokorrak duen *Gaussian09* programarekin egin dira.<sup>48</sup>

Molekulen entropia eta Gibbs-en energia askearen kalkuluak egiteko, Gaussian09-ren *output*-a eta NIST-ek ahalbidetutako erremintak erabili dira.<sup>20</sup> Lan honetan, *antzekotasun handieneko* Gibbs grafikoan (aurrerago emaitzetan ikusgai), Gibb-en energia askea, lotura energia moduan erabiliko da. Normalean, egoera makromolekularrean, molekulen arteko interakzioen indarrak entalpiaren bidez determinatzen dira. Molekula isolatuetan berriz, entropia estatistikoaren parametroa sartzea interesgarria da. Entropia estatistikoak, energia mailen populazioaren distribuzioa tenperatura desberdinetan ematen du eta beraz fase isolatuko emaitzak fase makroskopikora estrapolatzeko egokiagoa da Gibbs-en energia erabiltzeak.

## 4. EMAITZAK:

## 4.1. GlcNAc

Hasteko,  $\alpha$ -GlcNAc aztertu da. 8. irudiko konformeroak egonkorrenak dira, energia erlatiboa (ER) zero puntuko energia zuzenketa erabilita (energia handiagoko  $\alpha$ -GlcNAc konformero batzuk eta bere energia E2. irudian daude) . Bertan ikusi daiteke, kalkuluen arabera, egitura egonkorrenak  $\omega$  moduko egiturak direla, non hidrogeno lotura kooperatiboa  $O^4H \cdots O^3H \cdots O(=C)NH \cdots O^1H$  den. Printzipioz, egitura egonkorrenak 1kJ/mol leioan daude, hau da, haien energia oso antzekoa da. Hiru egitura horien desberdintasun bakarra hidroximetiloaren posizioa da. Egitura egonkorrenen artean ez dago H lotura kooperatiboa  $\omega$  moduan duen konformeroarik.

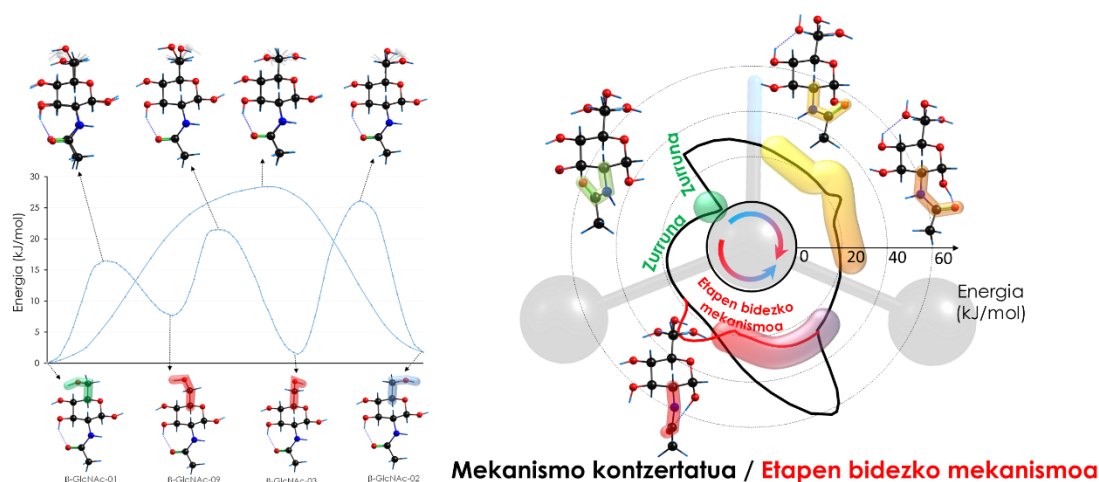


8. Irudia- MO6-2X basea eta 6-311++G(d,p) mailan Gaussian 09 -ren bidez lortutako energia minimodun konformeroak. Amidaren posizio desberdina duten G+g+/cl egituren energia. Gibbs energia erlatiboa temperatura desberdinetan. Hidroximetiloaren konformazioaren arabera berdea (G-) gorria (G+) urdian (T) markatu dira

Horretaz gain, molekula bakoitzaren Gibbs energia erlatiboek temperaturarekiko duten aldaketa kalkulatu da (8. irudia). Bertan ikusi daiteke nola energetikoki faboratuen dauden egiturak, Gibbs energian ere minimoenak direla temperatura tarte osoan.  $\alpha$ -GlcNAc-01 egiturak, hidroximetiloa G+g+ moduan du eta Gibbs energia erlatibo minimoa du temperatura tarte osoan. Aldiz, GlcNAc-02 egitura, non hidroximetiloa G-g+ konformazioa duen, temperatura handitzean, faktore entropikoa dela eta, Gibbs energia handitzen da.

Aurretik esan den moduan, egitura egonkorrenak aldohexosetan, hidroxiloen protoiak txandakatuta dituztenak dira. Kasu honetan, azetamidaren ondorioz aurkitu daitekeen  $C^1-C^2-N-C(=O)$  eta, horren ondorioz,  $C^4-C^3-O^3H$  diedroaren angelua apur bat bereziak dira, izan ere,  $O^3H$  lotura  $C^2-C^3$  loturarekiko eklipsatua geratzen da hidrogeno lotura intramolekularraren ondorioz. Azetamida taldearen errotazioaren PGS sinplikatua 9. irudian aurkezten da (E3. irudian hidroximetiloaren G+, G- eta T konformazioen

amidaren errotazioa aurkezten da). 9. irudiko PGS hidroximetiloaren hiru konformeroen batuz besteko energiek egin da, irudia sinplifikatzeko. Azetamidaren errotazioaren grafikoan bi mekanismo sinplifikatu adierazi dira. Pentsa daitekeen moduan, etapan bidez eman daitekeen mekanismo anitz dauden arren, 9. irudian, energia minimodun mekanismo bat adierazi da, eskuineko irudian gorritz adierazita.



9. Irudian- PGS grafikoak. Ezkerrean, hidroximetiloaren errotazioa. Eskuinean N-C2 Newmanen proiektzioaren bidez, amidaren errotazioaren PGS mekanismo kontzertatu sinplifikatua eta etapan bidezko mekanismoa erabilia. Newman proiektzioaren posizio errotazionala, karboniloak finkatzen du. E3. irudian hidroximetiloa G+,G- eta T moduan duten egituren amidaren errotazioaren PGS osatuagoa dago.

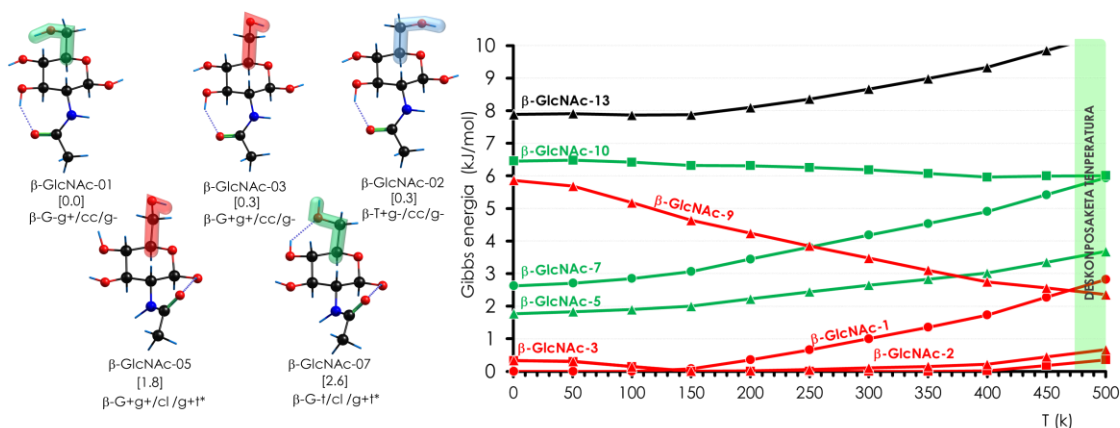
Hidroximetiloaren biraketaren energia behatuz grafikoan (9. irudia begiratu), bere errotazioa mekanismo kontzertatuaren bidez gas fasean ez dagoela ahalbidetuta ikusi daiteke, izan ere, energia langak 10kJ/mol baina handiagoak baitira kasu guztietan. Hori dela eta, normalean MW eta laser espektroskopiaren bidez, antzeko molekuletan hiru errotamero egonkorrenak detektatzen dira.<sup>49,31</sup>

PGS diagraman, energetikoki oso faboratuta ez dauden arren, aurretik esandako hiru egitura egonkorrenez gain, badaude bestelako egitura batzuk, energia minimo lokaletan. Beraz, lau familia egonkor/metaegonkor daude, 9. irudian berdez, gorritz, laranja eta horiz adierazi direnak. PGS aztertuz, egonkorrenak diren egiturak, putzu energetiko sakon batean daudela ikusi daiteke. Horrekin esan daiteke, egitura egonkorrenek *zurruntasun* berezi bat dutela. Egitura egonkorretik erlojuen norantzako biraketan, langa energetiko oso handi bat ikusi daiteke mekanismo kontzertatuaren amidaren biraketan. Etapan bidezko mekanismoan langa askoz txikiagoa da. 9. irudian horiz eta laranja markatuta, energia maila antzekoan eta langa energetiko txiki batez banatuta bi konformero daude. Azken horien arteko interkonbertsioa energetikoki faboratuta dago.

Orokorrean, amidak, alboko karbonoetan dauden hidroxiloen posizioa baldintzatzen du H lotura intramolekularraren bidez. Horretaz gain, amidak, hidroxiloaren antzera, gas fasean, hidrogeno zubi kooperatiboak eratzea ahalbidetzen du. Konformeroei deritzola, *cl* motako konformeroak ez daude energetikoki faboratuta.

Aztertutako bigarren azukre monomeroa  **$\beta$ -GlcNAc** izan da.  $\alpha$  eta  $\beta$  azukreen arteko desberdintasuna C<sup>1</sup> karbonoaren estereokimika da. Kasu honetan, azukrearen ordezkatzailerik guztiak ekuatorialean daude <sup>4</sup>C<sub>1</sub> aulkiko konfigurazioan. Artikulu askotan ikusi da nola karbono anomerikoaren (C<sup>1</sup>) konfigurazioak izugarritzko eragina duen molekularen hodei elektronikoan,<sup>19</sup> efektu anomeriko desberdinak direla eta.

7kJ/mol baino gutxiago duten 10 egitura aurkitu dira. Horietako egitura nagusiak, **10. irudian** daude adierazita (bestelako egiturak **E4. irudian** daude).



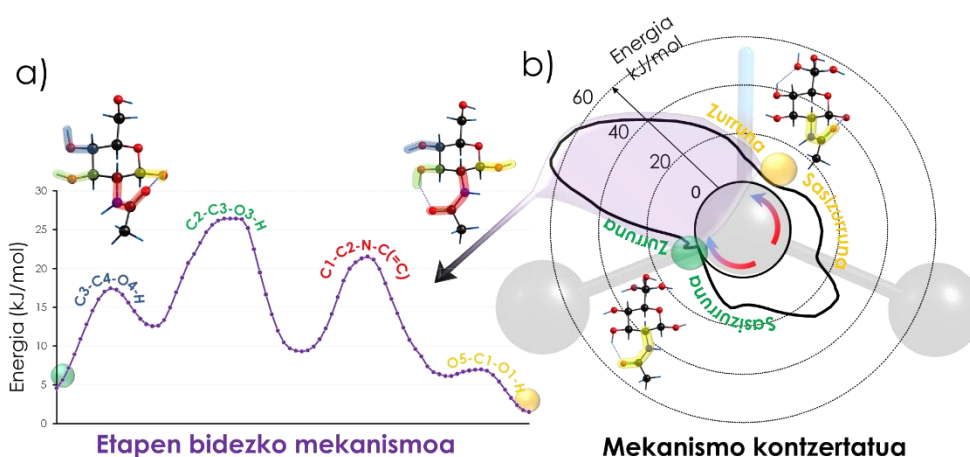
10. Irudia- Energia minimodun konformero adierazgarrienak (bestelakoak **E4. irudian**). Energia eskuratzeko M06-2X 6-311++G(d,p) erabili da ZPE gehituta. Eskuineko grafikoko Gibbs energia erlatiboa temperatura desberdinetan, diagrama laburbildua (**E5. irudian** osatua). Hidroximetiloaren konformazioaren arabera berdea (G-) gorria (G+) urdian (I) markatu dira.

**10. irudiko** lehenengo lerroko egiturak  $\alpha$  egitura egonkorrenak dira eta bigarren lerroan, amidaren posizio desberdina duten *cl* egitura egonkorrenak daude. Egiturak aztertuz, <3kJ/mol energia tartean,  $\alpha$  zein *cl* egiturak daudela ikusi daiteke. Horretaz gain,  $\alpha$  egituretan hidroximetiloaren posizio desberdinek energia nahiko antzekoa duten arren, *cl* egituretan, energia diferentzia handiagoa dela ikusi daiteke.

Gibbs-en energia erlatibo grafiko sinplifikatua aztertuta (**10. irudia** begiratu) 10kJ/mol azpitik zenbait konformero familia agertzen dira. Familia horien barruan, gorri, energiatan egonkorrenak diren  $\alpha$ , berdez, *cl* eta, beltzez, twist egiturak daude (begiratu **E4. irudia** konformeroen egiturak ikusteko).  $\alpha$  anomeroan gertatzen den bezala,  $\beta$  anomeroan, hidroximetiloaren posizioa G- moduan duten konformeroetan, tenperatura

igotzean Gibbs-en energia erlatiboa handitzen da. Twist egitura nahiko interesgarria da, izan ere, egitura horretan hidrogeno lotura kooperatiboak egitura osoan zehar hedatzen baita. Gibbs-en grafikoan energiaren minimoenak diren lehenengo hiru egiturak energia absolutuan minimoak diren arren,  $\beta$ -GlcNAc\_01 egituraren, non hidroximetiloa G-g+ konformazioa duen, tenperatura altuan nahiko egonkortzen dela ikusi daiteke faktore entropikoaren ondorioz.

Aurreko anomeroarekin bezala, azetamidaren errotazioaren PGS egin da (11. irudia). Hidroximetiloaren errotazioaren langa energetiko  $\alpha$  anomeroaren oso antzekoak dira (E6. irudian ikusgai). PGS diagrama kalkulatuak egiteko, hidroximetiloaren G+ eta T posizioen errotazioaren batz besteko balioak erabili dira. (E7. irudian eta E8. irudian hidroximetilo G+ eta T posizioen amidaren errotazioaren grafikoa garatuago). PGS diagraman, bi familia nagusi daudela ikusi da. Lehenengo familia osatzen duten  $\omega$  egiturak egonkorrenak dira eta bigarren familia  $\omega'$  (gibbs-en diagraman berdez adierazita daudenak) egiturak dituztenak dira. Bitartekoak familia horietara erlaxatzeko duten joera oso handia izango da, hau da, termodinamikoki erdi faboratuta egon daitezkeen arren zinetikoki ez dira faboratuta egongo.

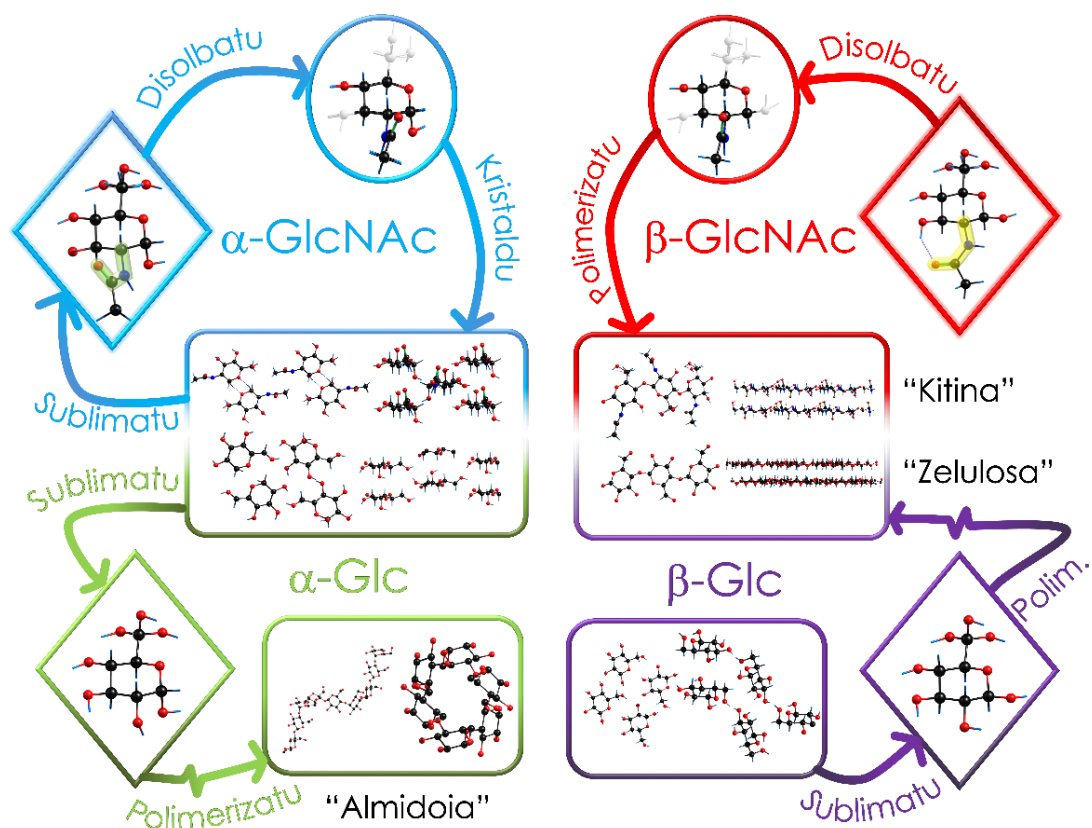


11. Irudia- Eskuinean N-C<sup>2</sup> atomoen Newman proiektzioaren bidez irudikatutako mekanismo kontzertatua eta egitura egonkorrenen irudiak. Newmanen proiektzioaren posizioa karboniloak finkatzen du. Ezkerrean, mekanismo kontzertatua langa handieneko interkonbertsioaren etapen bidezko mekanismoa eta mugitutako diedroak.

Amidaren errotazioak, mekanismo kontzertatuaren bidez langa oso handia duen arren, etapen bidezko mekanismoan, langa hori askoz txikiagoa dela ikusi daiteke (11a. irudia). Hau da, amidak errotatzeko beharrezkoa duen energia molekularren bestelako ordezkatzailen posizioaren arabera konformazioak inposatutakoa izango da.



Bi anomeroan aurkezpena egin eta gero, bien artean lortutako emaitzak eta beste fase batean lortutakoak glukosarekin konparatu dira.



12. Irudia- fase desberdinetan eta anomero desberdinen GlcNAc, Glc eta bere polimeroen egiturak.

12. irudian GlcNAc eta Glc, fase solido, likido eta isolatuan agertzen diren molekula nagusiak irudikatuta daude.<sup>27,49-54</sup> Erronboetan, gas egoerako egiturak adierazi dira Glc MW-ren bidez zalantzarik gabe egindako identifikazioa eta GlcNAc lan honetan kalkuluaren bidez landua; borobilak, RMN eta dinamika molekularren bidez lortutako egitura nahasteak dira ingurune urtsuan eta, laukietan, egitura polimerikoak eta egitura kristalografikoak adierazi dira, neutroien eta X-izpien difrakzio bidez identifikatuak.

Lehenik eta behin **gas faseko**  $\alpha$ -GlcNAc eta  $\beta$ -GlcNAc molekula bakoitzaren egitura egonkorrenen artean  $\approx 9$ kJ/mol-eko langa dagoela ikusi da (E9. irudian anomeroen energia erlatiboaren konparaketa), anomero egonkorrena  $\alpha$  delarik.  $\alpha$  anomeroa, normalean gas fasean egonkorrena den arren besteak beste efektu anomerikoa dela eta,<sup>3,19</sup> zenbait ikerketek erakutsi dute nola, adibidez, Glc-ren kasuan disoluzioan egonkorrena  $\beta$  anomeroa dela.<sup>55</sup> Bi anomeroen GPS ikusita, azetil amidaren biraketa askea mekanismo kontzertatuaren bidez faboratua ez dagoela ondorioztatu daiteke.

Anomero bakoitzak duen C<sup>1</sup>-C<sup>2</sup>-N-C(=O) diedroaren posizio egonkorak desberdinak dira. Mekanismo sinplifikatua den arren, esan daiteke,  $\alpha$ -ren egitura egonkorrenak  $\beta$ -renak baino zurrunagoak direla. Izan ere, kalkulu eta GPS-rekin konfirmatu da,  $\beta$  anomeroan energia leiho txikiago batean konformero asko daudela eta egitura malguagoa dela. Horretaz gain, anomero aldaketak efektu handia dauka GlcNAc molekula osoan zehar, hau da, hidroxilo anomerikoak, domino piezen antzera, molekularen “*beste aldean*” dagoen hidroxilo baten posizioan eraginak ditu, ez bakarrik alboko atomoetan. Hau, molekula oso malgua delako gertatzen da, molekula zurrunetan (atomoen arteko biraketa ahalbidetuta ez dagoen egituretan) ez dira horrelako efektuak molekulan zehar *garraiatzen*.

Fase solidoan, bakarrik  $\alpha$ -GlcNAc monomeroaren egitura kristalografikoa idenfifikatu da.<sup>27</sup>  $\beta$ -GlcNAc berriz, kitinaren monomero moduan ikusi da.<sup>51</sup> Fase likidoan, bi anomeroen nahasteak egon oi dira.<sup>52</sup> Beraz, arraroa dirudi, naturan  $\alpha$ -GlcNAc monomeroarekin polimeroren bat edo  $\beta$ -GlcNAc monomeroaren kristalik ez aurkitzea. Hala ere, Glc-ren kasuan, adibidez, bi anomeroen kristal zein polimeroak identifikatu dira (12. irudia). Zergatia ezezaguna den arren, sistema bakoitzean ikusten dena azaldu eta gas fasean ikusitakoarekin konparatu da.

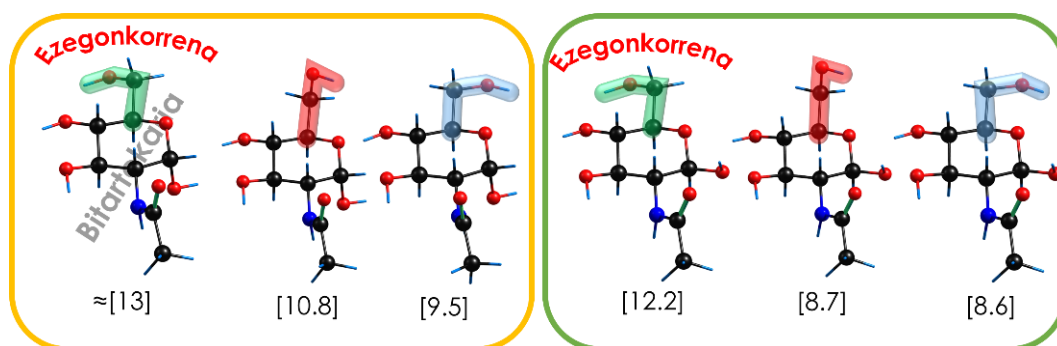
12. irudiaren begirada azkar batekin, ingurunearen arabera eratzen den konformeroa oso desberdina dela esan daiteke, hau da, molekularen egitura oso baldintzatua dago ingurunearekin.

**Fase solidoko** egitura kristalinoan, ingurunekeo molekulen kokapenak eta H loturek monomeroaren egituren izugarriko eragina dute. Hala ere,  $\alpha$ -Glc eta  $\alpha$ -GlcNAc-ren egitura kristalografikoak nahiko antzekoak dira, monomeroak xafletan antolatuta daude eta xafla horiek paraleloki ordenatuta daude, non monomeroak xaflen artean txandakatuta agertzen diren. GlcNAc-n gainjarritako xaflen artean, besteak beste, C=O $\cdots$ HN lotura intermolekularra ematen da.  $\beta$ -Glc-ren egitura kristalografikoan ikusten da glukosak ez daudela guztiz gainezarrita eta  $\beta$ -GlcNAc egitura horren antzekoa lortzekotan ez litzatekela C=O $\cdots$ HN H lotura eratzerik izango. Fase isolatuan kalkuluen bidez lortutako emaitzekin konparatuta, GlcNAc baten inguruan bestelako molekulak jartzean H lotura intermolekularra intramolekularra baino

faboratuago dagoela ikusten da. Egitura kristalografikoan hidroximetiloak ez du G-konfiguraziorik hartzen.

$\beta$ -GlcNAc monomeroaren kristalaren determinazio estrukturalik lortu ez den arren, kitina polimeroaren (poli- $\beta$ -GlcNAc) egitura kristalografikoa aztertuz, geruzetan antolatzen dela ikusi daiteke. Egitura xafladun horrek, antzekotasun handia dauka  $\beta$ -Glc polimeroarekin (zelulosa). Glukosa eta kitinak funtzio estrukturala dute, batak landareetan eta, besteak, artropodoen exoeskeletoan eta hondoetan.

**RMN eta dinamiken** bidez determinatutako egiturak, nahiko malguak direla ikusi daiteke. 12. irudian erronboetako egituretan zuriz irudikatutako atomoak, *mugikorrak* dira. Aipatu beharra dago, hidroximetiloaren G- egituraren kontribuzioa hutsala dela eta, gogoratu beharra dago aurretik Gibbs-en grafikoan ikusi dela hidroximetiloaren G-errotameroak, normalean tenperaturarekin Gibbs-en energia erlatiboa ezegonkortzen direla. Horretaz gain, fase urtsuan eta gas fasean agertzen diren egiturak nahiko antzekoak diren arren, amidak, fase urtsuan, H lotura kooperatiboa apurtzen du, eraztunarekiko *perpendikular* jarriz ( $H^2-C^2-N-H$ :  $\approx 180^\circ$ ). Beraz, urak, amidaren karboniloarekin elkarrekintzak eratzeko erraztasuna du, gas fasean aurretik ikusi den moduan.<sup>56</sup> Gogoratu beharra dago, amidaren erresonantzia aztertuta, karboniloaren oxigenoan karga partzial negatibo bat dagoela, eta horrek, ziurrenik interakzioak eratzeko joera nahiko handia ematen dio. Aurretik amidaren errotaioak nolabaiteko zurruntasuna duela esan da, baina hori egoera isolatuan gertatuko litzatekeenaren hurbilpen bat da, hori guztiz aldatzen baita molekulen arteko elkarrekintzen bidez. Dinamiken bidez determinatutako kontribuzio handiena duten egiturak gas fasean egotekotan, 13. irudiko ikuspegia lortuko lirateke.



13. Irudia: RMN-ren bidez eskuratutako egiturak gas fasean edukiko lukeen energia MO6-2X basea eta 6-311++G(d,p) mailan optimizatuta ZPE erabilita.

Gas fasean, molekulak berez, hidroximetiloaren G- posizioa ezinduago dago tenperatura handiagoan ere bai faktore entropikoaren ondorioz.

Orokorrean, ondorio moduan esan daiteke, C<sup>2</sup>-ra atxikitutako amidak, Glc-rekin konparatuta, H lotura kooperatiboan eragin nabariak dituela. Gainera, anomeroaren aldaketaren efektua molekula osoan zehar hedatzen da, domino fitxen antzera eta, horren aldaketak, adibidez,  $\beta$  anomeroan *c/* egitura egonkorrek egotea ahalbidetzen du,  $\alpha$  anomeroa ezegonkorrek diren bitartean.

Orokorrean alde batetik, gas fasean egitura egonkorretan, karboniloa edo alboko O<sup>3</sup>H posizio derrigortu batean finkatzen den arren (C<sup>2</sup>-C<sup>3</sup>loturarekin eklipsatuta), zenbait ingurunetan, amida eraztunarekiko perpendikularrago finkatzen da, H lotura kooperatiboa eraldatuz eta O<sup>3</sup>H askeago utziz. Gas fasean hidroximetiloak hiru posizio egonkor dituen arren (G-, G+ eta T) bestelako faseetan ez da G- errotameroaren kontribuziorik ematen Gibbs-en diagramak auresan duen moduan. Beraz, gas fasean GlcNAc monomeroak Glc-rekin antzekotasun handia duen arren, argi dago molekularen konformazioa bestelako ingurunetan asko aldatzen dela.

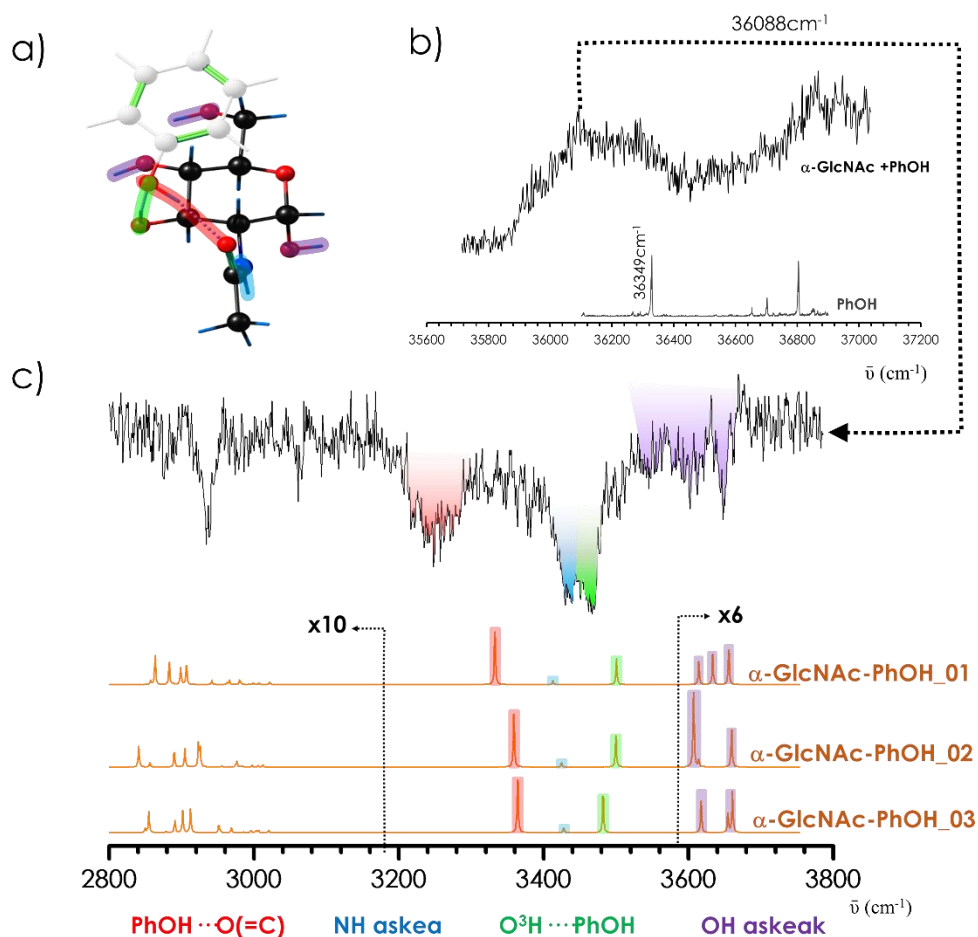
#### 4.2. GlcNAc...PhOH

Laser espektroskopiaren bidez esperimentalki aztertu daitekeen GlcNAc dimero sinpleenetariko GlcNAc...PhOH dimeroa da. Gainera, fenolak H lotura intermolekularra eratzeko duen joeragatik, sistemaren konformeroaren zalantzarik gabeko determinazio konformazionala erraz egiteko probabilitate handia dago, izan ere, H lotura zuzena eratzen duten hidroxiloen seinaleak gorrirantz desplazatuko baitira. PhOH molekula zurruna denez, GlcNAc monomeroan ikusitako anomero bakoitzaren bilakaerak, molekula zurrun batekin nolakoa den ikusi da.

Horretaz gain, PhOH, tirosina aminoazidoaren gune aktiboa da, eta entzima eta bestelako egitura asko aurkitzen dira non PhOH eta GlcNAc-ak edo bere polimeroak interakzionatzen duten.<sup>29,30</sup> Beraz, interesgarria da kluster horren determinazio teoriko zein esperimentala egitea, horrela bi molekula horiek duten interakzioa aztertu, monomeroaren kalkuluen egokitasuna balioztatu eta H lotura kooperatiboak duen bilakaera aztertu da. Erositako azukre monomeroa bi diasteroisomeroren nahaste moduan saltzen da, baina salgai dagoen konposatuaren RMN eta kristalografia artikuluetan anomero nagusia  $\alpha$  dela adierazten dutenez, hasiera batean esperimentalki

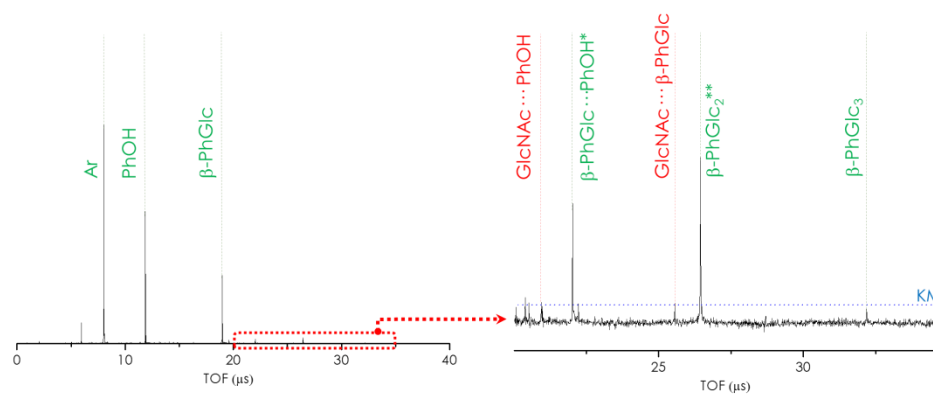
neurtutakoa bakarrik  $\alpha$  anomeroa dagoela kontsideratu da. Aurrerago, kluster honen bidez, esperimentalki nagusiki  $\alpha$  anomeroa dagoela ondorioztatu da (E14. irudian  $\beta$ -GlcNAc···PhOH espektro teorikoak esperimentalarekin konparatuta). Lortutako espektro gehienak nahiko zaratatsuak izatearen zergatia, besteak beste, sartutako konposatuak diastereoisomero nahaste bat izatea izan daiteke. Hala ere, GlcNAc-aren bi diastereoisomero kalkuluak egin dira. Horrekin, fase isolatuan zein anomero dagoen identifikatu, kalkulu teoriko eta esperimentalen arteko konparaketa egin eta bi anomeroen klusterren arteko konparaketa egin da.

Aztertutako lehen sistema  $\alpha$ -GlcNAc···PhOH izan da. Esperimentalki lortutako emaitzak 14. irudian ikusi daitezke (E10. irudian PhOH monomeroaren REMPI eta IDIRS espektro teoriko eta esperimetala eta PhOH molekularen irudia jarri da).



14. Irudia- a) Esleitutako konformazioa, berez hidroximetiloaren hiru errotameroak egon daitezke baina irudian bakarrik G- adierazi da, besteak 16. irudian daude. Energia txikiko esleitu gabeko konformeroen espektro teorikoak E11. irudian daude. Koloretan espektro esperimetalean esleitzen diren seinaleak. b) PhOH eta  $\alpha$ -GlcNAc:PhOH REMPI esperimentala. c) IR/UV espektro esperimetala eta esleitutako hiru egituren espektro teoriakoa.

REMPI espektroan eskuratutako intentsitate maximoko uhin zenbakian,  $36088\text{cm}^{-1}$ , non  $\alpha\text{-GlcNAc}\cdots\text{PhOH}$  dimeroaren trantsizio erresonante bat ematen den, masa espektroa jaso da (15. irudia). Neurtutako sistemaren konplexutasuna masa espektroan antzeman daiteke. Lan honetan  $\text{GlcNAc}\cdots\text{PhOH}$  eta  $\text{GlcNAc}\cdots\beta\text{-PhGlc}$  dimeroak esperimenterki neurtu dira, 15. irudian gorri markatuta daudenak. Ikusten den moduan, dimeroaren trantsizio erresonante batean jasotzen den seinalea, justu kuantifikazio muga (KM) gaineratzen dago. KM hori,  $32,5\text{-}35\mu\text{s}$  tarteko oin lerroaren BBZ (bataz bestekoa) +  $10\cdot\text{DE}$  (desbideratze estandarra) eginez lortu da. Hori dela eta, jasotako IR/UV espektroek s/z oso txikia dute.



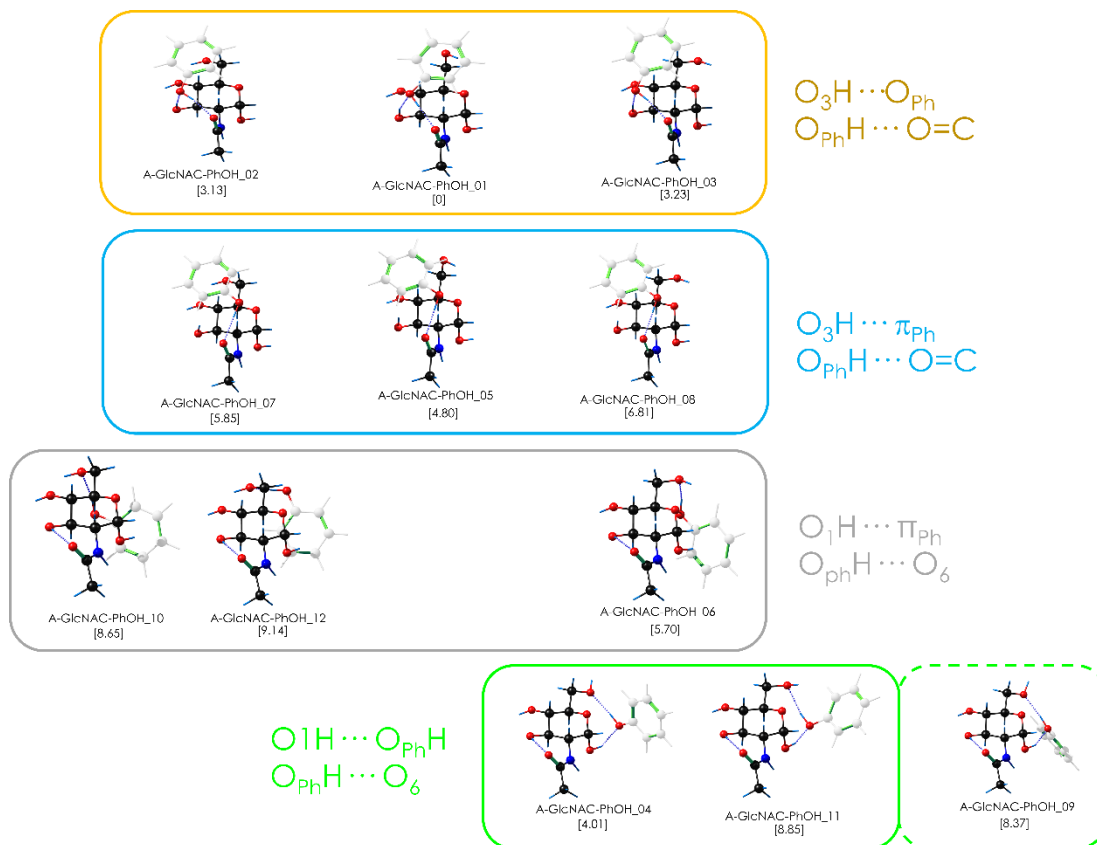
15. Irudia- Neurtutako egun batean eskuratutako masa espektroa  $\text{GlcNAc}\cdots\text{PhGlc}$  trantsizio batean. Gorri, neurtutako sistemen seinaleak. Berdez, aurretik argitaratutako sistemen seinaleak. Kuantifikazio muga (KM) oin lerroaren BBZ +  $10\cdot\text{DE}$ -ren bidez kalkulatu da.

REMPI espektroa nahiko zabala dela ikusten da (14. irudian begiratu). Seinale horren zabalera frekuentzia baxuko bibrazio moduen akoplamentuaren ondorioz ematen da. Horretaz gain,  $\text{PhOH}$ -rekiko gorrirantz desplazatuta agertzen da, fenilo eraztunaren interakzioa dela eta. Bi gailur zabal gainjarrita agertzen dira, trantsizio desberdinen ondorioz. Gailur bakoitza,  $\text{PhOH}$ -ren trantsizio bakoitzari dagokio, 14. irudian  $\text{PhOH}$  monomeroaren trantsizio bakoitzean dimeroaren trantsizioak ikusten dira.

IDIRS espektroa  $36088\text{cm}^{-1}$  uhin zenbakian hartu da, REMPI espektroko lehen gailurreko puntu maximoan. Ikusi daitekeen moduan, lortutako IR espektroaren s/z nahiko txikia da eta horrek, seinaleen identifikazioa nekez lortzea eragiten du zenbait kasutan, adibidez, OH askeen gunean. Hala ere,  $3250\text{cm}^{-1}$ -ean agertzen den seinale zabala, bakarrik  $\text{PhOH}\cdots\text{O}=\text{C}$  interakzioak ematen du, izan ere, amidaren oxigenoak

dentsitate elektroniko handia duenez, hidroxilo batek berarekin interakzionatzean seinalea asko desplazatzen da gorrirantz, H lotura oso sendoa delako. Lotura horren sendotasunak, bibrazio energia jasiten du, IR seinalea gorrirantz desplazatuz eta anharmonizitatea handitzen du, seinalea zabalduz eta kalkulu teorikoan errore handiagoa emanez.  $3450\text{ cm}^{-1}$  inguruan bi maximo dituen gailur zabal bat ikusten da. Bi maximo horiek, NH askearen ( $\approx 3425\text{ cm}^{-1}$ ) eta OH lotzaile ( $\approx 3450\text{ cm}^{-1}$ ) baten seinaleak dira. NH askeak, normalean seinale nahiko estuak ematen ditu baina, kasu honetan OH lotzailearen gainean ematen duenez, seinalea apur bat zabalagoa da. OH askeen gunean,  $3550\text{-}3750\text{ cm}^{-1}$ , argi, bakarrik seinale bat ikusten da eta ezin da ondo esleitu espektro teorikoekin. CH gunean ( $2800\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$  inguruan) seinale estu bat ikusten da. Sisteman CH asko daudenez, ezin da aurrean zeini dagokion seinale hori. Batez ere  $3250\text{ cm}^{-1}$  seinaleari esker, besteak beste, esperimentalki ikusitako konformeroak identifikatu dira, [15. irudiko](#) lehen lerroko egiturak direnak  $\alpha\text{-GlcNAc}\cdots\beta\text{-PhOH}_{01, 02}$  eta  $03$ . Egitura horien artean ezin da bereiztu zein lortu den, baina ziurrenik hiruren kontribuzioa dago. Egitura horietan, H zubi kooperatiboa bi molekulen artean hedatzen dela ikusten da.

Teorikoki lortutako egitura egonkorrenak familatan multzokatuta [16. irudian](#) ikus daiteke.

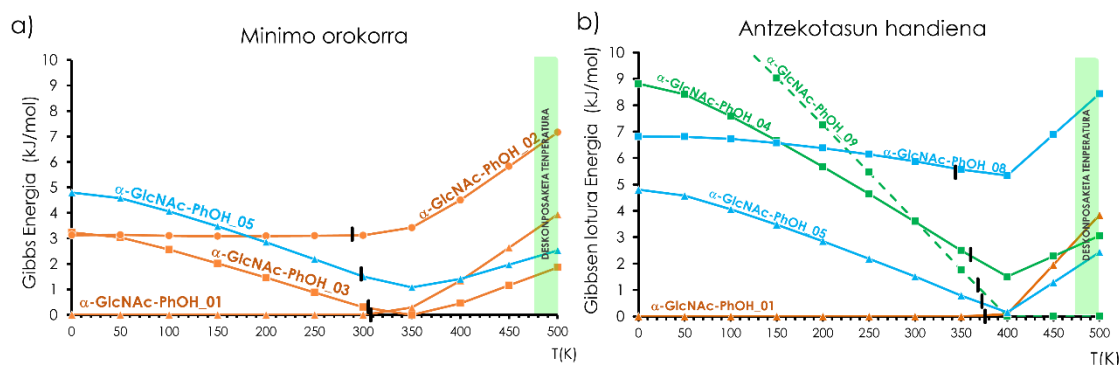


16. Irudia- Egitura egonkorrenak interakzio intermolekularraren bidez antolatuta koloretan eta zutabeka, hidroximetiloaren posizioa. Egitura bakoitzaren izendapena eta bere energia (MO6-2X 6-311++(d,p)) ZPE eta *Counterpoise* zuzenketa aplikatuta.

10 kJ/mol energia leihoan, lau monomero mota nagusi daude. Familiak koloretan multzokatu dira, aurrerago dagoen Gibbs diagramarekin bat datozenak. Egitura egonkorrenen azukre monomero guztiek  $\alpha$  moduko egiturak direla ikusi daiteke,  $\alpha$ -GlcNAc anomeroan egonkorrenak diren berdinak.

Egitura egonkorrenak aztertuz, fenolak, GlcNAc-k H lotura planarretik desbideratuen dauden hidroxiloekin interakzionatzen duela ikusi daiteke. Hau da, H zubi planarra distortsionatzen duten zubiekin  $O_3H \cdots O(=C)$ ,  $O_1H \cdots O_5$ , eta  $O_6H \cdots O_5$  interakzionatzeko joera handiagoa du.

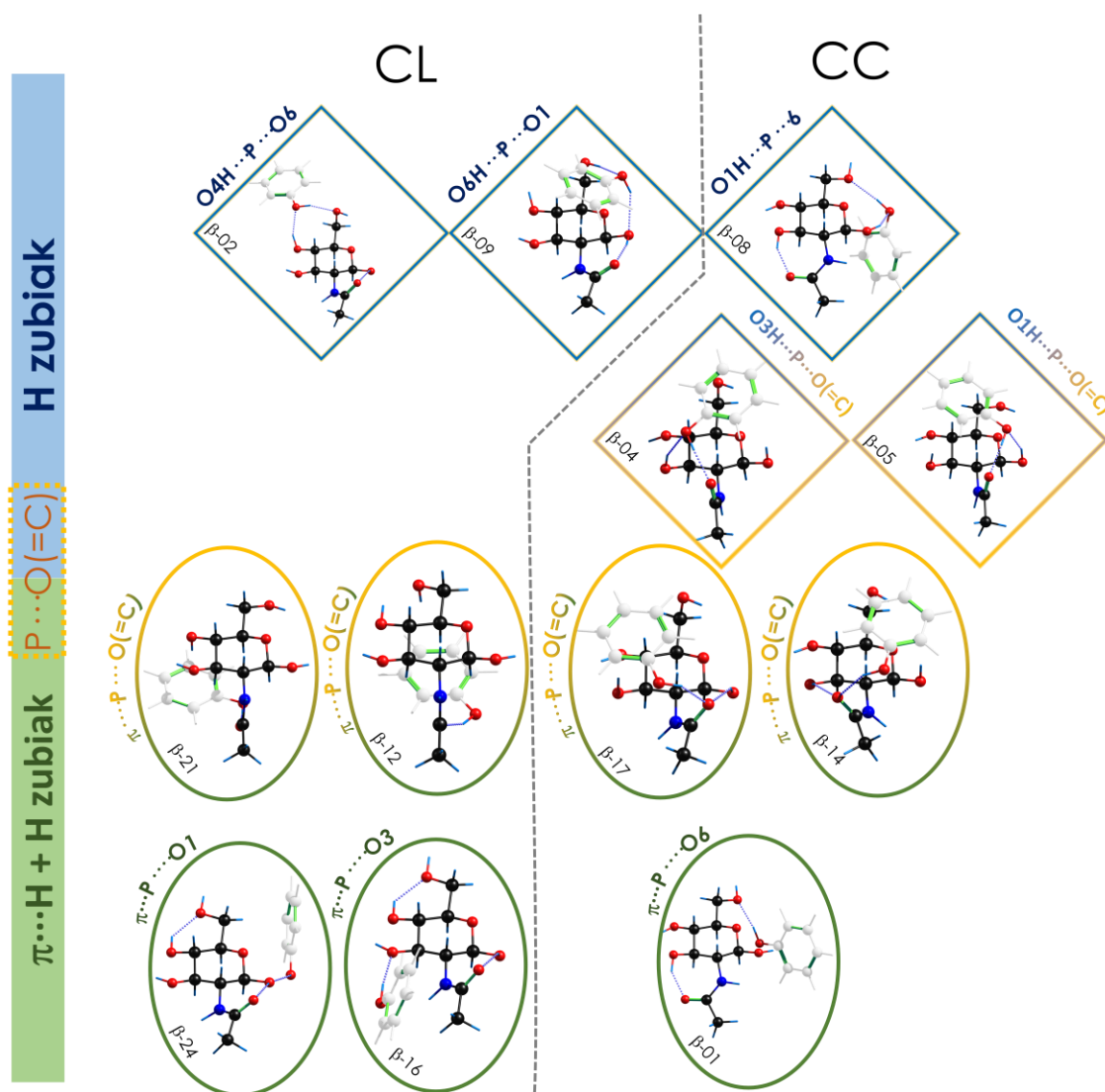




17. Irudia- Gibbs-en energia erlatiboaren diagrama laburbildua, minimo orokorreko eta antzekotasun handieneko monomeroak erabilia. Kolorean 20. irudiko familiekin bat datoz. Marka beltza  $\Delta G=0$  egiten den temperatura da. Temperatura horretatik behera klusterren eraketa termodinamikoki faboratuta dago. Diagrama osoa E12. irudian dago.

Gibbs-en diagramak aztertuz, energia txikiena dutenak familia laranjako egiturak dira (17. irudia). Antzekotasun handieneko diagraman, 1 eta 5 egiturak dira nagusiak, hau da, bere lotura energia handiena da. 1 eta 5 egituretan, hidroximetiloaren orientazioa G+g+ moduan dago. Emaitza horien arabera, G+g+ egituraren interakzioak PhOH-rekin, aparteko lotura energia bat ematen dio dimeroari  $\text{CH}\cdots\pi$  interakzioaren bidez. Gainera, Gibbs diagraman G- egituretan, temperaturarekin Gibbs energia erlatiboa handitzen dela ikusi daiteke. Monomeroaren RMN-aren emaitzetan ikusi da, ematen den hidroximetiloaren errotamero nagusiak G+ egitura daukala eta G- ren kontribuziorik ez dagoela. Emaitza hau, adibidez, errekonozimendu zelularrean, non errezeptore eta ligandoaren interakzioak egitura zehatz batzuetarako izan behar diren, hidroximetiloaren errotamero egonkorrenak nolabait hori ahalbidetzeko gai izan daitezke.

Beste GlcNAc diastereoisomeroarekin,  $\beta$ -GlcNAc···PhOH dimeroaren azterketa egin da. Kasu honetan,  $\beta$ -GlcNAc lagin komertzialik ez dagoenez salgai, atal hau bakarrik teorikoki landu da.  $\alpha$ -anomeroaren kalkuluak ondo egin direnez eta espektro esperimentalarekin ondo doitzen direnez, eta  $\beta$  anomeroarekin antzeko datu tratamendua egin denez, ondo egongo direla pentsa daiteke.



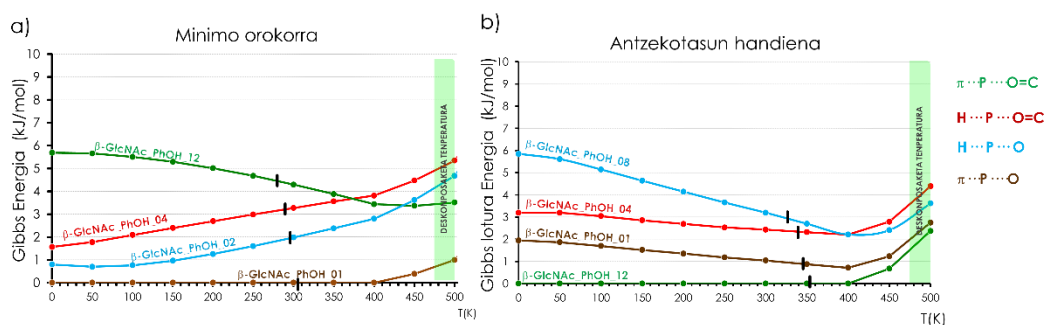
18. Irudia- GlcNAc·PhOH dimeroaren egitura egonkorren antolaketa. Horizontalean interakzio intermolekularra eta bertikalean GLcNAc monomeroaren H zubi kooperatiboaren norabidea. Erlojuen orrantzen norantzaren kontra CC eta orratzen norantzan CL. M06-2X/6-311++G(d,p) ZPE eta *Counterpoise* erabilia <10kJ/mol energia duten egituren interakzio gune, jatorrizko monomero eta energiak E1. taulan daude adierazita.

Kasu honetan, <10 kJ/mol duten egitura asko topatu dira. 30 inguru, non fenolak, azukre monomeroarekin interakzionatzen duen gune desberdinetatik. Egitura horiek familatan sailkatu dira (18. irudian). Orokorrean, fenolak protoi emaile moduan jokatu du, baina protoi hartzaile moduan ere joka dezake, oxigenoaren zein  $\pi$  interakzioaren bidez. Kasu honetan, non azukrearen ordezkatzailak ekuatorialean dauden, fenolak ez dauka interakzionatzeko afinitate handieneko gunerik, hori bai, egitura gehienetan azukrearen hidrogeno lotura kooperatiboa mantentzen laguntzen du.

Egitura egonkorren artean, *c* eta *cl* egitura asko daudela ikusi daiteke.  $\beta$ -GlcNAc monomeroaren kalkuluetan ere ikusi da  $\beta$  anomeroaren *c* eta *cl* egiturak energia

antzekoan dutela eta, dimeroan ere, gauza bera ikusten da. Dimero honen kasuan, amidaren posiziori erreparatuz, monomeroarekiko egitura oso desberdinak eratzeko aukera ematen duela ikusi daiteke. Hidroximetiloa G- konformazioan duten  $\beta$ -GlcNAc...PhOH egituretan, Gibbs-en energia erlatiboa egonkortuta dago tenperatura handietan OH... $\pi$  eta CH... $\pi$  interakzioa ematen den egituretan, adibidez,  $\beta$ -GlcNAc...PhOH\_12 eta  $\beta$ -GlcNAc...PhOH\_24 egituretan.

19. irudian, familia bakoitzeko egitura egonkorrena dago Gibbs grafikoan irudikatuta.



19. Irudia- Minimo orokorra eta antzekotasun handieneko Gibbs diagrama sinplifikatuak. Koloreen bidez interakzio bakoitzaren Gibbs energia minimodun konformeroa adierazi da. E13. irudian Gibbs energien grafiko osoak irudikatu dira. Marka beltza  $\Delta G=0$  egiten den tenperatura da

Gibbs-en diagrametan, (19. irudia, E13. irudia) adierazgarriena ziurrenik, interakzio oso desberdineko konformeroek, Gibbs energia erlatibo zein Gibbs lotura energia erlatibo oso antzekoa dutela ikusi daiteke (E13. irudian Gibbs diagrama osoak). Horretaz gain, aipagarria da lotura indarririk handieneko dimeroa ez dela 2 H zubi intermolekular eratzten dituen, baizik eta H zubi bat eta askotan ahulagoa kontsideratzen den OH... $\pi$  interakzio bat eratzten duten dimeroak direla. Gainera,  $\pi$  interakzioei deritzola, interakzio desberdinak ematen dira, OH... $\pi$ , CH... $\pi$  eta O=C... $\pi$  besteak beste. Interakzio horien sendotasuna esperimentalki ezagutzeko oso zaila den arren, OH interakzioek sendotasun berezi bat dutela ikusten da, adibidez energia minimodun egituretan, edo lotura energia handieneko egituretan.

Aurretik esan den moduan, klusten honen bidez  $\beta$ -GlcNAc anomeroaren kontribuziorik ez dagoela ondorioztatu da. E14. irudian energia minimodun  $\beta$ -GlcNAc...PhOH dimeroaren espektro teorikoak eta esperimentalak daude. Bertan ikusi daiteke  $\alpha$ -GlcNAc...PhOH dimeroa hobeto esleitzen dela espektro teorikoarekin.  $\beta$ -GlcNAc...PhOH\_11 konformeroaren baztertze espektro esperimentala eta teorikoa

bat datorrenez, berez energia nahiko handia duenez, familia energia gutxiagoko konformeroren bat agertu beharko litzateke eta argi dago ez dagoela horrelakorik.

Orokorrean, fenolarekin aztertutako bi sistemak konparatzen badira,  **$\alpha$ -GlcNAc···PhOH eta  $\beta$ -GlcNAc···PhOH**,  $\alpha$  anomeroaren dimeroa, selektiboagoa dela esan daiteke, batez ere bere interakzioak  $O^1H-O^6H$  eta  $O^3H-O(=C)$  gunean ematen direlako.  $\beta$  anomeroan, interakzioa askeagoa da, hau da, monosakaridoaren gune desberdinetan interakzionatzeko joera du. Monomeroen emaitzak gogoratu,  $\beta$  monomeroak konformero egonkor gehiago ditu. Horrek,  $\beta$ -GlcNAc···PhOH dimeroan energia PhOH GlcNAc-rekin gune oso desberdinetatik lotzea ahalbidetzen du. Hau da, monomeroan ikusten den efektu anomerikoa, dimeroan ere ematen da.

Horretaz gain, monomeroetan fase desberdinetan ikusi den moduan, hidroximetiloaren G- konformazioa galarazita dago  $\pi$  interakzioen bidez  $C^6H$  ez bada egonkotzen.

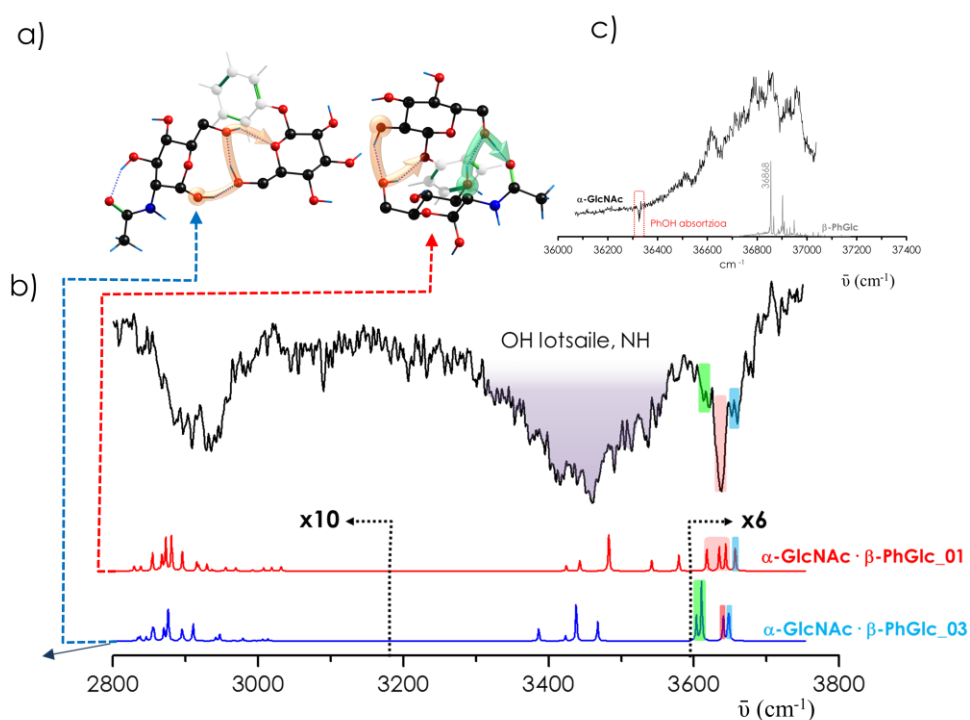
#### 4.3. GlcNAc···PhGlc

Aipatu den moduan, bi azukre monomero nagusiak naturan Glc eta GlcNAc dira. Zenbait sistema biologikoetan, biek antzeko interakzioak jasaten dituztela ikusi da.<sup>29</sup> Hortaz, gas fasean beraien arteko interakzioak aztertu dira, horrekin haien interakzio puntu nagusiak eta afinitatea aztertzeko. Glukosa deribatuen anomero desberdinen ikerkuntza ugari egin direnez, Glc GlcNAc batetekin ordezkatzean ematen den aldaketak ikusi dira, horrekin amidak duen eragina ikusteko.

$\beta$ -PhGlc monomeroaren azterketa experimental zein teorikoa aurretik eginda dagoenez,<sup>31</sup>(E15. irudian  $\beta$ -PhGlc REMPI eta uhin luzeera batean IR/UV espektroak eta egitura egonkorrenak adierazi dira) ez da aparteko aipamenik egingo horri buruz. Hala ere,  $\beta$ -PhGlc-ren REMPI espektroa erreferentzia moduan erabili dela sistemaren funtzionamendu egokia bermatzeko (E15. irudian).

Komertzialki aurkitzen den GlcNAc, anomero (diastereoisomero) nahaste bat moduan saltzen den arren, GlcNAc···PhOH klusterrean dagoen anomero nagusia  $\alpha$  dela ondorioztatu denez,  $\alpha$ -GlcNAc··· $\beta$ -PhGlc dimeroa teorikoki eta experimentalki aztertu da eta  $\beta$ -GlcNAc··· $\beta$ -PhGlc dimeroa bakarrik teorikoki. Horrela  $\alpha/\beta$  eta  $\alpha/\alpha$  dimeroen arteko konparaketa egin da, anomeroaren arabera ematen diren eraldaketak ikusteko eta Glc··· $\beta$ -PhGlc-ren anomero desberdinekin konparatzeko.

$\alpha$ -GlcNAc... $\beta$ -PhGlc dimeroaren esperimentalki lortutako REMPI eta IDIRS espektroak 20. irudian daude ikusgai. REMPI espektroan ikusi daiteke  $\beta$ -PhGlc REMPI espektroarekiko gorrirantz desplazaturik dagoela,  $\beta$ -PhGlc S0-S1 trantsizioa  $36868\text{ cm}^{-1}$  dagoelako. Horrek, dimeroan eraztun aromatikoarekiko interakzioak daudela adierazten du. Horretaz gain, dimeroaren REMPI espektroa zabala da. Seinale horren zabalera frekuentzia baxuko bibrazio moduen akoplamenduaren ondorioz ematen da. Hala ere, REMPI espektroan zenbait gailur sasi diskretu identifika daitezke.



20. irudia- a) esperimentalki esleitutako egiturak. b) UV/IR esperimentala eta esleitutako egituren espektro teorikoa (M06-2X/6-311++G(d,p)). c)  $\beta$ -PhGlc eta klusterraren REMPI espektroak. Bestelako egitura egonkorren IR espektro teorikoak E16. irudian daude.

Azkenik REMPI espektroari deritzola, aipatzekoa da  $36349\text{ cm}^{-1}$  uhin zenbakian seinale jaitsiera oso bortitz bat dagoela, ziurrenik *jet* molekularrean dagoen fenolak laser erradiazioa xurgatzen duelako.

REMPI espektroaren gailur intentsuenean  $36922\text{ cm}^{-1}$  IR/UV espektroa jaso da. IDIRS espektroa uhin luzera desberdinetan jasotzea interesgarria izan litzatekeen arren, gailurrik intentsuenean lortutako s/z eta seinale txikiagatik, bestelako uhin luzeratan KM-tik behera egon da. Hala ere,  $36922\text{ cm}^{-1}$  uhin zenbakian, lortutako IDIRS espektroa nahiko konplexua da, sistemaren OH/NH kantitatea eta sistema konketuaren konplexutasunagatik, eskuratutako seinalea oso txikia delako. IR/UV espektroa,

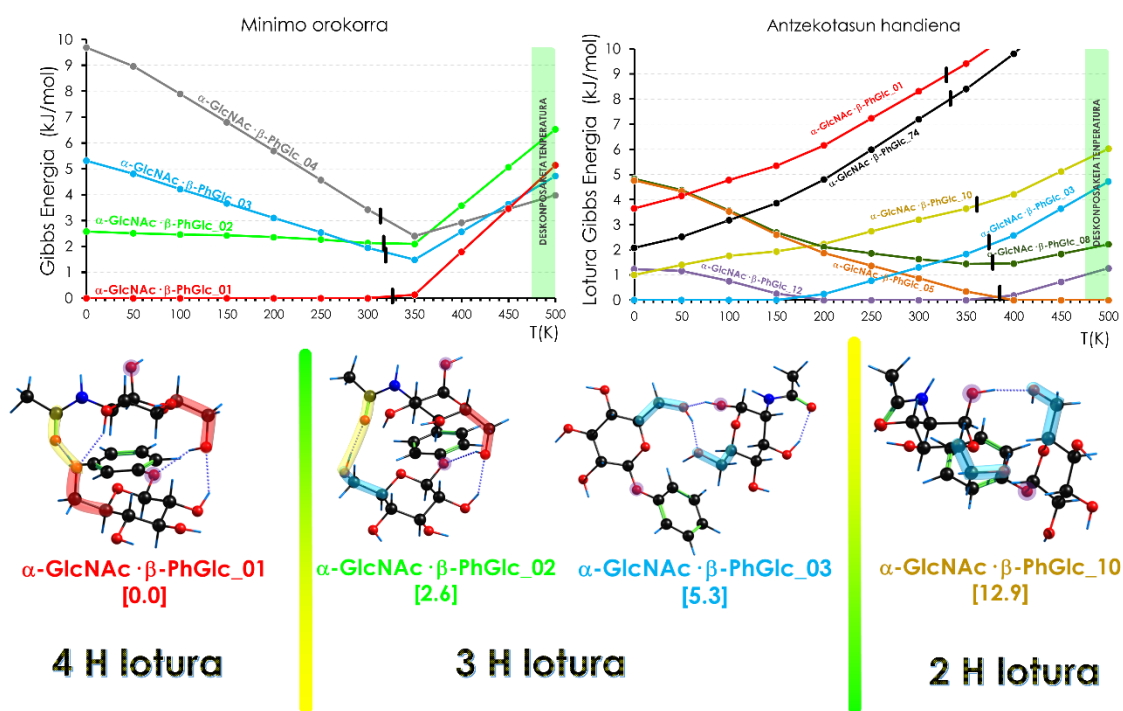
zaratatsua eta konplexua denez, bere erabateko esleipena ezinezkoa da. Hala ere, kalkuluen laguntzaz, espektroaren seinale guztiak esleitzeko beharrezkoak diren konformeroak, edo konformero familiak adierazi dira. Horrelako arazoak ohikoak dira konformero asko edo seinale asko dituen sistema batean. Beraz, orokorrean, espektro esperimentalak informazio gutxi emango duen arren, teoriaren bidez lortutako konformero egonkorrenekin konparatu da, emaitzen koherentzia baieztatzeko.

CH guneko 2800-3100  $\text{cm}^{-1}$  seinaleek informazio oso gutxi ematen dute. 3250-3550  $\text{cm}^{-1}$ -ean ikusten den seinale zabala NH aske eta OH lotzaileei dagozkienak dira. OH lotzaileek, normalean, lotura ahulagoak eratzen dituzte eta bere baitan bibrazio modu ahulak dituztenez, bibrazioaren anharmonizitatea handitu egiten da. Horren ondorioz, H lotzaileen seinaleak gorriantz desplazatu eta seinaleak zabalagoak bihurtzen dira. Kasu honetan, seinale diskreturik esleitu ezin den arren, seinalearen zabalera ikusita, gutxienez, 20. irudiko bi dimeroak beharrezkoak dira ondo egokitzeko esperimentalki ikusitakoa. OH askeen gunea, 3550-3750  $\text{cm}^{-1}$ , informazio gehien ematen duena da. Orokorrean, hiru seinale multzo ikusi daitezke 3700  $\text{cm}^{-1}$  inguruan, gorritz, berdez eta urdinez markatuta agertzen direnak.

Lortutako espektro esperimentalak teorikoekin konparatzen bada, egitura edo egitura multzoaren zalantzarik gabeko determinazioa egitea ezinezkoa da. Hala ere, kasu honetan, lortutako espektroaren definizio falta eta s/z erlazioa txikiarekin ere, gutxienez, 20. irudian esleitutako bi konformero familiak beharrezkoak dira espektro teorikoa guztiz doitzeko. Aurretik esan den moduan, CH, NH eta OH lotzailen gunek ematen duten informazioa ez da zehatza. Baina, orokorrean ikusi daiteke, esleitu beharreko egituren zenbait OH lotzaile egongo direla. OH lotzaileak 3300-3600  $\text{cm}^{-1}$  tarte osoa hartzen dutenez, H lotura eratzen duten izaera desberdina duten konformeroak egongo dira. Esleituriko egituretan  $\text{OH}\cdots\text{O}(=\text{C})$  eta  $\text{OH}\cdots\text{O}_\text{H}$  izaera desberdineko H loturak daude, seinale horren zabalera arrazoitzen dute. OH askeen gunean, ikusten den moduan, hiru seinale multzo antzematen dira. Alde batetik, seinale urdinak nahiko ondo esleitzen dira espektro teorikoarekin. Seinale gorria, gailur ez gausstar bat denez, bere baitan seinale desberdinen nahaste bat dagoela ondorioztatu daiteke. Seinale horren zabalera eta intentsitatea azaltzeko, gutxienez 14 irudiko bi egiturak beharrezkoak dira, non 4 H lotura ematen diren. Azkenik, seinale berdeak nahiko ondo doitzen direla ikusten da.

Kalkuluei deritzola kasu honetan, 9kJ/mol energia baino gutxiago duten (ZPE eta *Counterpoise* zuzenketa aplikatuta) hiru konformero bakarrik daude, 21. irudian Gibbs energia askea, lotura Gibbs energia askea eta egitura egonkorrenak adierazi dira (21. irudian ez dauden egiturak E17. irudian daude) Gibbs energia askearen grafikoa begiratu  $\alpha$ -GlcNAc· $\beta$ -PhGlc\_01 egitura egonkorrena dela ikusi daiteke. Gainera, konformero hori energiaren minimoa da.

*Antzekotasun handiena* grafikoa, molekulen arteko loturaren Gibbs energia erlatiboa ematen da. Kasu honetan, konformero askok indar intermolekular oso antzekoa dute.

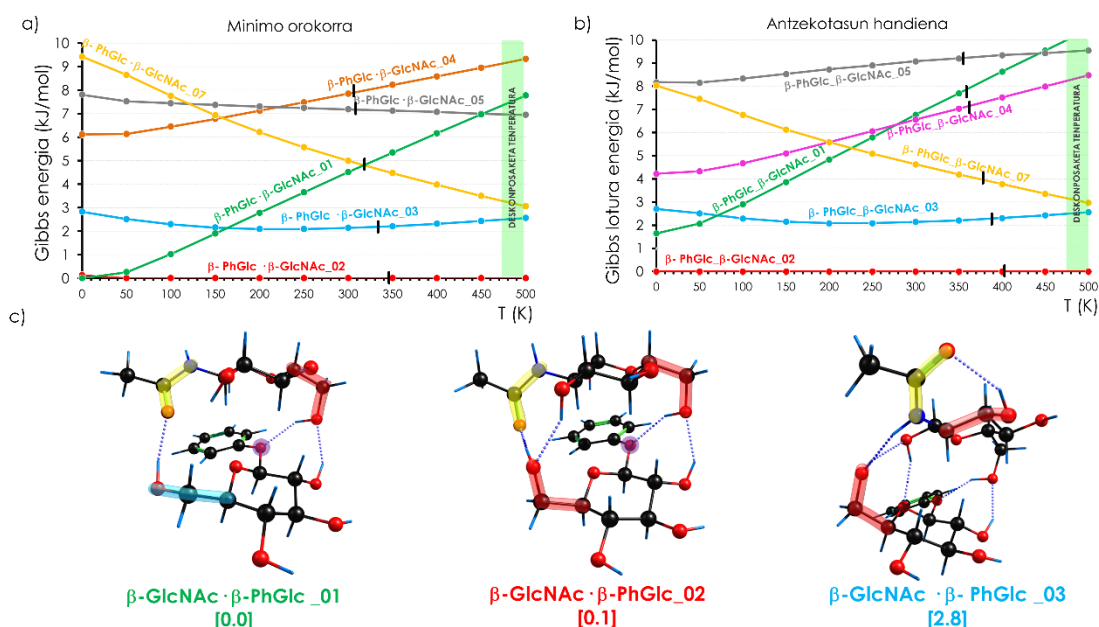


21. Irudia- Minimo orokorreko Gibbs energia erlatiboa eta antzekotasun handieneko Gibbs energia erlatiboaren diagramak. Kasu honetan, minimo orokorra  $\Delta G_{(T=0K)} > 10$  kJ/mol eta antzekotasun handiena  $\Delta G_{(T=0K)} > 7$  kJ/molez dira adierazi. H lotura koporuarekin antolatutako energia minimodun egiturak. Hidroximetiloaren konformazioaren arabera berdea (G-) gorria (G+) urdian (I) markatu dira. Bestelako egiturak eta bere energia E17. irudian daude. Marka beltza  $\Delta G=0$  egiten den tenperatura da.

$\alpha$ -GlcNAc··· $\beta$ -PhGlc dimeroaren kalkuluei begiratu, bi interakzio gune nagusi ikusten dira, O<sup>6</sup>H eta amida. Egitura egonkorretan, bi interakzioa nagusi horiek ikusten dira, eta bestelako egitura gehienetan, hidroximetiloak H loturak eratzen ditu, ziurrenik bere errotazio gaitasunagatik hoberean moldatzen duen konformazioa har dezakeelako.

Anomero honetan, fenolaren kasuan bezala, amidaren karboniloak protoi hartzaile izaera nahiko handia duela ikusi da.

Sistemaren anomero desberdinen eragina aztertzeko,  $\beta$ -GlcNAc+ $\beta$ -PhGlc dimeroaren kalkulu teorikoak egin dira. Lortutako konformero nahastea eta Gibbs grafikoak 22. irudian multzokatu dira (22. irudian agertzen ez diren egiturak E18. irudian daude adierazita).



22. Irudia-  $\beta$ -GlcNAc· $\beta$ -PhGlc Gibbs energia erlatiboak temperatura desberdinetan minimo orokorran eta antzekotasun handieneko monomeroak erabilita eta dimeroaren egitura egonkorrenak eta bere energia. Hidroximetiloaren konformazioaren arabera berdea (G-) gorria (G+) urdian (I) moduan markatu dira. E18. irudian Gibbs grafikoan agertzen diren egitura guztiak daude. Marka beltza  $\Delta G=0$  egiten den temperatura da.

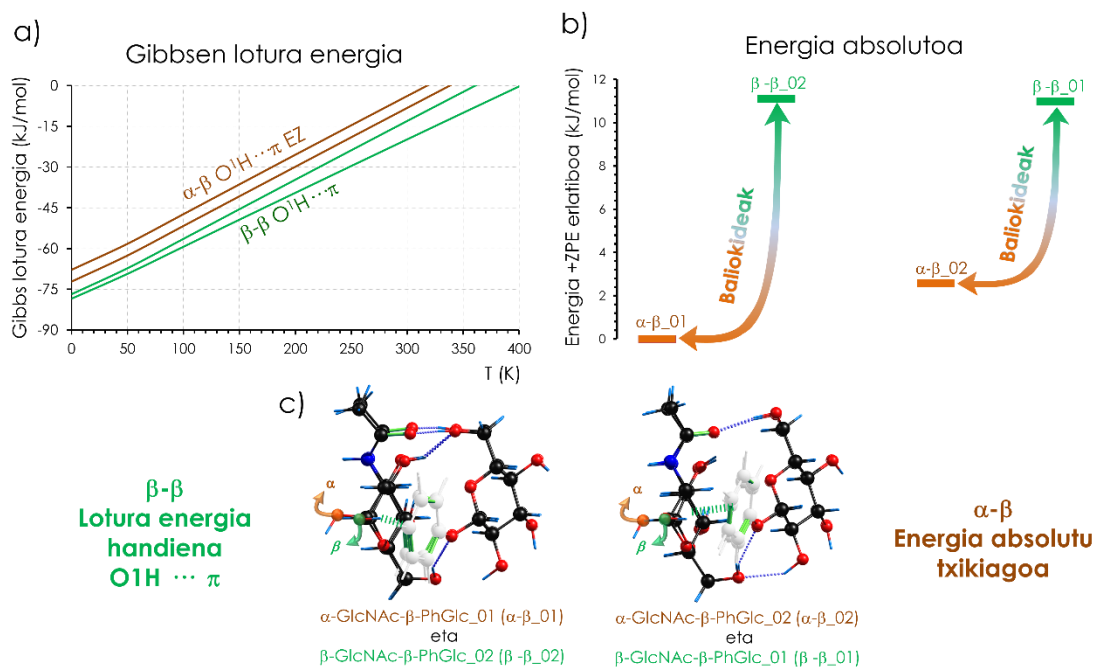
$\beta$ -GlcNAc··· $\beta$ -PhGlc dimeroan, energia absolutua (ZPE eta *Counterpoise* zuzenketan gehituta) 9 kJ/mol baino energia gutxiagoko duten bakarrik 5 egitura daude. Dimero horien interakzio gune nagusiak O<sup>6</sup>H, O<sup>1</sup>H eta O(=C) dira orokorrean  $\alpha/\beta$  anomeroan ikusten diren berdinak.

Gibbs energiaren grafikoei begiratuta, energiatan minimoak den egitura eta lotura indar handiena duen egituren berdina dela ikusi daiteke, GlcNAc··· $\beta$ -PhGlc<sub>02</sub> egitura. Egitura horrek, lau H lotura intramolekular eratzen ditu eta horrek, Gibbs lotura energia oso handia izantea ahalbidetzen du.

$\alpha$ -GlcNAc··· $\beta$ -PhGlc eta  $\beta$ -GlcNAc··· $\beta$ -PhGlc-rekin lortutako informazioaren konparaketa eginez, bi sistemetan energiatan minimoak diren bi konformeroak *berdinak* direla ondorioztatu da. 23. irudian bi konformeroen energia eta egiturak gainezarrira irudikatu dira. Glukosa anomero desberdinen ikerkuntzak egin diren arren, azukre dimero oso gutxitan aurkitzen dira anomero desberdineko baina konformazio berdineko



egiturak. Diastereoisomeroen arteko propietate fisiko-kimiko desberdinak dituzte eta kasu honetan, bi diastereoisomeroen egitura egonkorrenak bakarrik kontuan hartzen badira,  $\alpha/\beta$  egiturak energia gutxiagokoak direla ikusi daiteke, hau da egonkorragoak direla. Horretaz gain, bestelako propietate oso garrantzitsu bat, molekulen arteko interakzio indarrak dira. Horrek, adibidez, izugarritzko eragina du errezeptoreekiko interakzioan.<sup>57</sup> Kasu honetan, energiaren minimoak diren egiturak hartuta,  $\beta/\beta$  konplexuen lotura energia  $\alpha/\beta$  baino handiagoa dela ikusten da, beraz,  $\beta/\beta$  dimeroaren arteko interakzioa sendoagoa da. 23. irudian bi kasu zehatz bakarrik adierazita dauden arren, kalkulu guztiak aztertzean  $\beta/\beta$  dimeroen lotura energia handiagoa dela ikusi da, batez ere, ordezkatzailerik guztiak ekuatorialean dituen dimeroak elkarrekintza eraginkorragoak egin ditzakeelako.



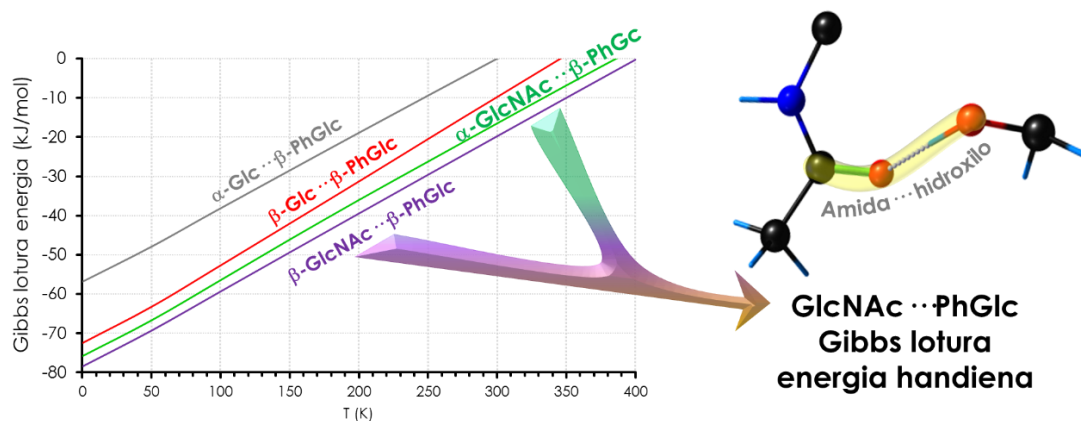
23. Irudia-  $\alpha/\beta$ -GlcNAc- $\beta$ -PhGlc energiaren minimoak diren egituren a) Gibbs-en lotura energia b) energia absolutoa c) bi anomeroen irudiak gajarrita eta OH... $\pi$  interakzioa.

$\beta$  anomeroan, hidroxilo anomerikoak, planoan egonik, beste molekularrekiko O<sup>6</sup>H... $\pi$  interakzioak eratzea ahalbidetzen du lotura energia handitzen delarik. Askotan, atomo edo molekulen arteko interakzioen sendotasuna sailkatzerakoan, lotura indarren ordena lotura kobalente > H lotura >  $\pi$  interakzioak > dispersio molekularrak bezala finkatzen da. Baina, kasu honetan bezala, ez da ahaztu behar molekula konplexuetan indar ahulek eragin oso garrantzitsua eduki dezaketela. Kasu honetan,  $\beta$ -PhGlc-rekin GlcNAc

anomero bat interakzionatzea nahi bada, Gibbs lotura energia handiagoa duen dimeroa  $\beta/\beta$  den arren, egonkorrena  $\alpha/\beta$  dela.

Orokorrean bi dimero sistemak ikertuta, molekula nahiko malguak diren arren, bi kasuetan, amida eta  $O^6H$  guneek interakzionatzeko joera handiago bat dutela ondorioztatu daiteke, ziurrenik euren malgutasunagatik.

$\beta$ -fenil-N-azetil-D-glukosaminaren··· $nH_2O$  fase isolatuko ikerkuntzetan, amidaren karboniloak H lotura intermolekularra eratzeko joera oso handia du. Horrekin, printzipioz pentsa daiteke GlcNAc-ren amidaren karboniloaren oxigenoak protoiak hartzeko joera handia duela. Orokorrean, amidarik gabeko monosakaridoetan protoi hartzaile izaera handiena  $O^6H$ -ak duen arren, kasu honetan amidaren karboniloaren oxigenoak protoi hartzaile izaera handiagoa du.



24. irudia- Glc···PhGlc eta GlcNAc···PhGlc Gibbs lotura energia minimodun Gibbs-en energiak eta GlcPhGlc amida hidroxilo H lotura.

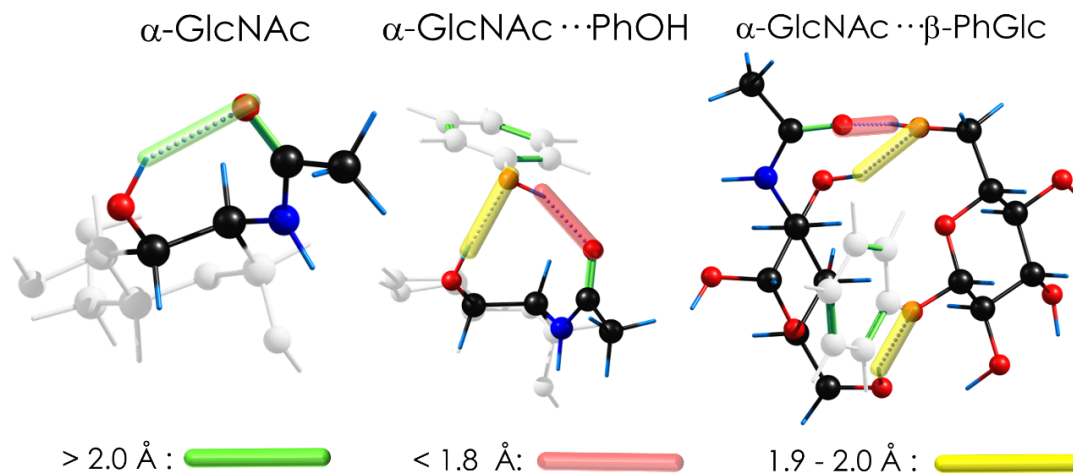
Fase isolatuko GlcNAc···PhGlc eta Glc···PhGlc-ren konparaketa orokor bat eginez, Glc···PhGlc emaitzak bibliografiatik eskuratu dira (Ref: 20)  $C^2$ -ko amidak lotura Gibbs energia handitzen duela ikusi daiteke (24. irudia). Glukosa deribatu desberdinen anomeroen ikerkuntzetan,  $\alpha/\beta$  eta  $\alpha/\alpha$  anomeroaren Gibbs lotura energia  $\beta/\beta$ -rena baino askoz txikiagoa dela ikusi da. Normalean,  $\alpha$  anomeroa duten klusterretan H lotura intermolekular gutxiago emateko gaitasuna du (normalean  $\alpha/\alpha$  eta  $\alpha/\beta \leq 3$  H zubi intermolekular eta  $\beta/\beta$  4 zubi intermolekular),  $O_1H$  axialean aurkitzen delako. Kasu honetan berriz, amidak, azukre dimeroan interakzio intramolekularrean 4 H lotura emateko gaitasuna ematen dio eta horren ondorioz, bi anomeroen arteko Gibbs lotura energia antzekoagoa da. Horretaz gain, bi sistema hauetan arreta apur bat jarriz,  $O^4H$

eta O<sup>3</sup>H-rekiko interakzioak ez daude faboratuta. O<sup>4</sup>H eta O<sup>3</sup>H-rekin interakzioak aurkitzen diren egituretan, beti, aparteko interakzio puntu sendoak daude, GlcNAc-n amidaren karboniloarekin hidrogeno lotura eta  $\beta$ -Glc-n CH... $\pi$  interakzioarekin.  $\alpha$ -Glc-n ez da O<sup>4</sup>H eta O<sup>3</sup>H-rekin interakziorik aurkitu optimizatutako egituretan.  $\beta$  anomeroan, energetikoki faboratuago dago O<sup>4</sup>H O<sup>3</sup>H loturan interakzionatzea. Hala ere, fase isolatuko  $\beta$  hexosa hidratatuetan, O<sup>4</sup>H-rekiko interakzioak nahiko faboratuak daude.

Orokorrean, monomero eta GlcNAc...PhOH sistemetan ikusitako bilakaera azukre dimeron apurtu da. Kasu honetan, GlcNAc hidroximetiloa eta amida elkarrekintzak eratzeko gune nagusiak da non molekulen artean 4 H lotura ematea ahalbidetzen den bi anomeroetan. Horren ondorioz,  $\beta$ -PhGlc, kokatzeko aukera gutxiago ditu eta, horrek zerotik hurbileko energia leihoan konformero familia gutxi egotea eragiten du.

#### 4.4. LOTURA DISTANTZIEN KONPARAKETA

$\alpha$ -GlcNAc... $\beta$ -PhGlc,  $\alpha$ -GlcNAc... $\beta$ -PhOH eta  $\alpha$ -GlcNAc egitura egonkorrenen H loturen distantzia 25. irudian dago.



25. Irudia- $\alpha$ -GlcNAc energia minimodun monomero eta klusterren OH...O(=C) lotura distantzia kololeen bidez adierazita.

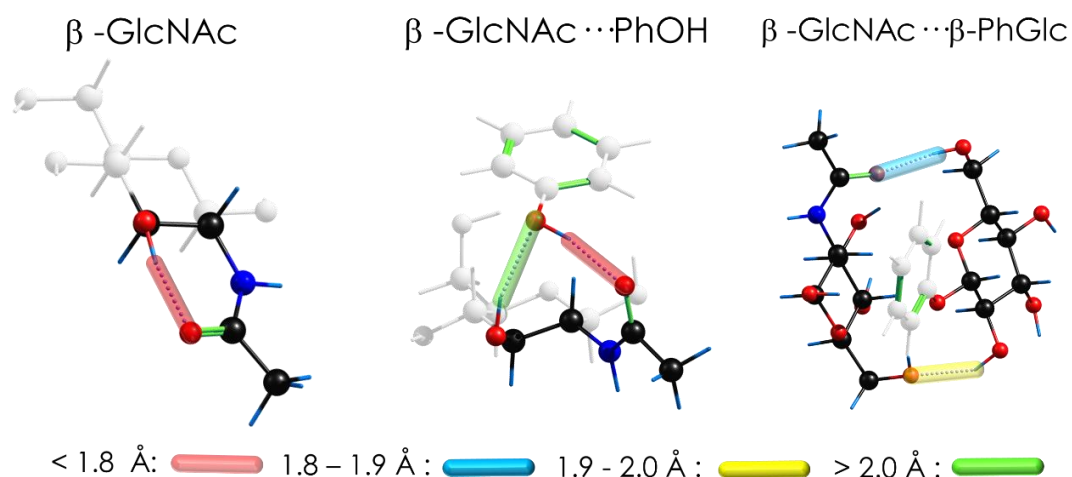
$\alpha$ -GlcNAc anomeroaren konplexuetan, H loturen amidaren karboniloak protoi hartzaile moduan jokatzen duenean, H...O distantzia < 1.8 Å dela ikusten da, hau da, izaera nahiko kobalentea duela (25. irudia). Hori ziurrenik amidaren karboniloaren oxigenoaren dentsitate elektroniko handiaren ondorioz gertatzen da.  $\alpha$ -GlcNAc monomeroan berriz, O<sup>3</sup>H...O(=C) lotura intramolekularraren distantzia laburragoa da,

#### 4. EMAITZAK - 4.4. LOTUREN DISTANTZIEN KONPARAKERA

$O^3H \cdots O(=C)NH \cdots O^1H$  lotura intramolekularra eta H lotura kooperatiboa molekula osoan hedatzeko joeragatik.

$\alpha$ -GlcNAc $\cdots\beta$ -PhGlc eta  $\alpha$ -GlcNAc $\cdots\beta$ -PhOH infragorri esperimetalak konparatzen badira, fenol dimeroaren kasuan agertzen den OH banda lotzailea, gorrirantz oso desplazatuta dagoela ikusten da. Argi ez dagoen arren, fenolaren azidotasan handiak (fenoxidoaren egonkortasuna dela eta, erresonantzia egonkortutako egitura baita), protoi hori nahiko aske egotea ahalbidetzen du, IR banda gorrirantz ohikoa den baino gehiago desplazatuz. Desplazamendu handi horrek eta loturaren anarmonizitate handiak, espektro teorikoaren doiketa desbideratuta agertzea eragin du.

$\beta$ -GlcNAc $\cdots\beta$ -PhGlc,  $\beta$ -GlcNAc $\cdots\beta$ -PhOH eta  $\beta$ -GlcNAc egitura egonkorrenen H distantziak 26. irudian adierazi dira.



26. Irudia- GlcNAc energia minimodun monomero eta  $O(=C)$ -rekin intermolekularki elkarrekintza eratzen duten energia minimodun klusterren  $OH \cdots O(=C)$  lotura distantzia.

$\beta$  anomeroaren monomero konplexuetan,  $\alpha$  anomeroan bezala, H zubi intermolekular interakzio laburrena  $OH \cdots O(=C)$  elkarrekintza da. Aurreko kasuan bezala, amidaren karboniloaren oxigenoaren soberako dentsitate elektronikoa, lotura horren hurbiltasunaren ondorioa da ziurrenik.

$\beta$ -GlcNAc monomeroa aztertuz,  $\beta$  anomeroan, H lotura intramolekular laburrago eta efektiboagoa ematen da karboniloak H lotura kooperatiboa mantentzen duelarik  $O^3H \cdots O(=C)$  distantzia hurbileko lotura eratzeko gaitasuna du. Egitura egonkorretan, amidaren H lotura intramolekularra, H lotura kooperatiboa molekula hedatzeko konformazioa hartzen du.

### 5. ONDORIOAK:

Lan honetan GlcNAc-ren bi anomeroen gas faseko ikerketa egin da. Horretarako, laser espektroskopia eta kalkulu mekanokuantikoak erabili dira. GlcNAc eta Glc-ren arteko desberdintasunak aztertuz, Glc-ren C<sup>2</sup> posizioako hidroxiloa amida batekin ordezkatzeko bada GlcNAc eratzeko, molekularen propietateak asko aldatzen dira.

GlcNAc monomeroan, anomeroen artean dauden desberdintasunak nahiko handiak direla ondorioztatu da. Gainera, Glc-rekin konparatuta ere, molekula isolatuaren egitura eta propietateak oso desberdinak dira. GlcNAc molekulan, anomeroaren aldaketak, molekularen konformazio osoan zehar eragina du, molekularen hidroxiloak H lotura kooperatiboan bidez komunikatuta baitaude.  $\alpha$  anomeroan adibidez, H lotura kooperatiboa  $\alpha$  moduan bakarrik aurkitu daitekeegonkortuta, eta  $\beta$  anomeroan, H lotura kooperatiboa  $\alpha$  eta  $\beta$  egituretan agertu daiteke. Orokorrean  $\alpha$  anomero nolbaiteko zurruntasuna arekusten dute. Horretaz gain, hidroximetiloaren G- egitura ez dago entropikoki faboratuta, eta horrek fase likido eta fase solidoan ez aurkitzearen arrazoi bat izan daiteke.

GlcNAc $\cdots$ PhOH-n anomeroaren arabera emaitzak nahiko desberdinak dira.  $\alpha$  anomeroan, fenolaren protoi azidoak egitura egonkorrenetan, CH $\cdots$  $\pi$  elkarrekintza lagunduta amidaren karboniloarekin H lotura oso sendoa sortzen du.  $\beta$  anomeroan berriz, ez dago interakzio puntu selektiborik eta orokorrean fenolak elkarrekintza intermolekularra, puntu desberdinetan eman ditzake aparteko egonkortasunik gabe. GlcNAc PhOH bezalako protoi emaile izaera duen molekula zurrun batekin elkarrekintzak ematean, monomeroetan ikusten den antzeko joera bat ematen da.  $\alpha$  anomeroan elkarrekintza selektiboa da eta egonkorak diren egitura gutxiago daude eta  $\beta$  anomeroan, elkarrekintza askeagoa da, besteak beste,  $\beta$ -GlcNAc monomeroak konformazio egonkor ugari dituelako. Hala ere, amidaren karboniloarekiko afinitate handia nabaria da bi anomeroetan.

GlcNAc $\cdots$ PhGlc klusterrean, monomeroan ikusten den tendentsia apurtu da, hau da, bi anomeroetan ematen diren interakzioak nahiko antzekoak dira. Kasu honetan, lotura putu nagusiak, O<sup>6</sup>H eta O(=C) dira. Horren ondorioz, energiatan minimoak diren H zubi intermolekular kopuru handiko azukre dimeroak eratzeko aukera gutxi daude eta horrek, energia minimodun egitura gutxi egotea eta bi anomeroetan oso antzekoak izatea

## 5. ONDORIOAK

---

eragiten du. Hala ere, bestelako glukosa dimeroen emaitzekin konparatuta, GlcNAc-n amidak bi anomeroetan, 4 H lotura intramolekular eratzeko joera handia du, eta horrek, bi anomeroen lotura energia bestelako Glc deribatuen arteko baino antzekoagoa izatea ahalbidetzen du.

Orokorrean GlcNAc molekula zurrun batekin interakzionatzean, monomeroetan ikusten den panorama konformazionala mantentzen da. Glc bezalako molekula malgu batekin interakzionatzean berriz, H lotura O(=C) eta O<sup>6</sup>H-n ematen denez, energia minimodun konformeroen sorrera baldintzatuago dago.

## 6. BIBLIOGRAFIA:

- (1) Lehninger. *Principios de bioquímica.*; 2005.
- (2) Varki, A.; Cummings, R. D.; Esko, J.; Freeze, H.; Stanley, P.; Bertozzi, C.; Hart, G.; Etzler, M. *Essentials of Glycobiology*; 1999.
- (3) Grindley, B.; Grindley, T. B. *Glycoscience*; 2008.
- (4) Suzuki, T.; Kazuaki, O.; Taniguchi, N. *Sugar Chains*; 2015.
- (5) Berman, H. M. Hydrogen bonding in biological structures. G. A. Jeffrey and W. Saenger. *Biophysical Journal*. June 1993, p 1976.
- (6) Bubb, W. A. NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: Characterizing the structural complexity. *Concepts Magn. Reson. Part A Bridg. Educ. Res.* **2003**, 19 (1), 1–19 DOI: 10.1002/cmr.a.10080.
- (7) Cocinero, E. J.; Çarçabal, P. Carbohydrates. In *Gas-Phase IR Spectroscopy and Structure of Biological Molecules*; Rijs, A. M., Oomens, J., Eds.; Springer International Publishing: Cham, 2015; pp 299–333.
- (8) Kohn, W.; Becke, A. D.; Parr, R. G. Density Functional Theory of Electronic Structure. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100 (31), 12974–12980 DOI: 10.1021/jp960669l.
- (9) Rajagopal, A. K.; Callaway, J. Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev. B* **1973**, 7 (5), 1912–1919 DOI: 10.1103/PhysRevB.7.1912.
- (10) Kohn, W.; Sham, L.J.; Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects\*. *Physical Review*. **1965**, 140 (4A), A1133-A1138. DOI: 10.1103/PhysRev.140.A1133

## 6. BIBLIOGRAFIA

---

- (11) Zhou, C.-H.; Xia, X.; Lin, C.-X.; Tong, D.-S.; Beltramini, J. Catalytic conversion of lignocellulosic biomass to fine chemicals and fuels. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (11), 5588 DOI: 10.1039/c1cs15124j.
- (12) Chen, L.; Zhao, J.; Pradhan, S.; Brinson, B. E.; Scuseria, G. E.; Zhang, Z. C.; Wong, M. S. Ring-locking enables selective anhydrosugar synthesis from carbohydrate pyrolysis. *Green Chem.* **2016**, *18* (20), 5438–5447 DOI: 10.1039/C6GC01600F.
- (13) Nir, E.; Imhof, P.; Kleinermanns, K.; De Vries, M. S. REMPI spectroscopy of laser desorbed guanosines [11]. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (33), 8091–8092 DOI: 10.1021/ja000502c.
- (14) Russo, R. E.; Mao, X. L.; Yoo, J. H.; Gonzalez, J. J. Chapter 3 – Laser Ablation. In *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*; 2007; pp 49–82.
- (15) Cocinero, E. J.; Lesarri, A.; Écija, P.; Basterretxea, F. J.; Grabow, J. U.; Fernández, J. A.; Castaño, F. Ribose found in the gas phase. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, *51* (13), 3119–3124 DOI: 10.1002/anie.201107973.
- (16) Peña, I.; Kolesniková, L.; Cabezas, C.; Bermúdez, C.; Berdakin, M.; Simão, A.; Alonso, J. L. The shape of D-glucosamine. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16* (42), 23244–23250 DOI: 10.1039/C4CP03593C.
- (17) Pena, I.; Cabezas, C.; Alonso, J. L. Unveiling epimerization effects: a rotational study of alpha-D-galactose. *Chem. Commun. (Camb)*. **2015**, *51* (50), 10115–10118 DOI: 10.1039/c5cc01783a.
- (18) Camiruaga, A.; Usabiaga, I.; Insausti, A.; León, I.; Fernández, J. A. Sugar–peptidic bond interactions: spectroscopic characterization of a model system. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, 12013–12021 DOI: 10.1039/C7CP00615B.
- (19) Cocinero, E. J.; Carcabal, P.; Vaden, T. D.; Simons, J. P.; Davis, B. G. Sensing the anomeric effect in a solvent-free environment. *Nature* **2011**, *469* (7328), 76–79 DOI: 10.1038/nature09693.
- (20) Usabiaga, I.; González, J.; Arnáiz, P. F.; León, I.; Cocinero, E. J.; Fernández, J. A. Modeling the tyrosine–sugar interactions in supersonic expansions: glucopyranose–phenol clusters. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18* (18), 12457–

## 6. BIBLIOGRAFIA

---

- 12465 DOI: 10.1039/C6CP00560H.
- (21) Usabiaga, I.; González, J.; León, I.; Arnaiz, P. F.; Cocinero, E. J.; Fernández, J. A. Influence of the Anomeric Conformation in the Intermolecular Interactions of Glucose. *J. Phys. Chem. Lett.* **2017**, *8* (6), 1147–1151 DOI: 10.1021/acs.jpcllett.7b00151.
- (22) Cocinero, E. J.; Stanca-Kaposta, E. C.; Scanlan, E. M.; Gamblin, D. P.; Davis, B. G.; Simons, J. P. Conformational choice and selectivity in singly and multiply hydrated monosaccharides in the gas phase. *Chem. - A Eur. J.* **2008**, *14* (29), 8947–8955 DOI: 10.1002/chem.200800474.
- (23) Roy, R.; Murphy, P. V.; Gabius, H. J. Multivalent carbohydrate-lectin interactions: How synthetic chemistry enables insights into nanometric recognition. *Molecules* **2016**, *21* (5) DOI: 10.3390/molecules21050629.
- (24) Park, B. K.; Kim, M. M. Applications of chitin and its derivatives in biological medicine. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, *11* (12), 5152–5164 DOI: 10.3390/ijms11125152.
- (25) Chen, J. K.; Shen, C. R.; Liu, C. L. N-acetylglucosamine: Production and applications. *Mar. Drugs* **2010**, *8* (9), 2493–2516 DOI: 10.3390/md8092493.
- (26) Sattelle, B. M.; Almond, A. Is N-acetyl-D-glucosamine a rigid 4C1 chair? *Glycobiology* **2011**, *21* (12), 1651–1662 DOI: 10.1093/glycob/cwr101.
- (27) Bentrop, D.; Bertini, I. I.; Borsari, M.; Cosenza, G.; Luchinat, C.; Niikura, Y. A Refined Model for. *Angew Chem Int Ed Engl* **2000**, *39* (20), 3620–3622 DOI: 10.1002/1521-3773
- (28) Mayes, H. B.; Broadbelt, L. J.; Beckham, G. T. How sugars pucker: Electronic structure calculations map the kinetic landscape of five biologically paramount monosaccharides and their implications for enzymatic catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (3), 1008–1022 DOI: 10.1021/ja410264d.
- (29) Ziólkowska, N. E.; Shenoy, S. R.; O’Keefe, B. R.; Wlodawer, A. Crystallographic studies of the complexes of antiviral protein griffithsin with glucose and N-acetylglucosamine. *Protein Sci.* **2007**, *16* (301), 1485–1489 DOI: 10.1110/ps.072889407.
- (30) Rezácová, P.; Borek, D.; Moy, S. F.; Joachimiak, A.; Otwinowski, Z. Crystal



## 6. BIBLIOGRAFIA

---

- structure and putative function of small Toprim domain-containing protein from *Bacillus stearothermophilus*. *Proteins* **2008**, *70* (2), 311–319 DOI: 10.1002/prot.
- (31) Jockusch, R. A.; Talbot, F. O.; Simons, J. P. Sugars in the gas phase Part 2: the spectroscopy and structure of jet-cooled phenyl  $\beta$ -D-galactopyranoside. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5* (8), 1502–1507 DOI: 10.1039/b300626c.
- (32) Demtroder, W. Laser Spectroscopy. *Matrix* **2003**, 197–225 DOI: 10.1007/978-3-540-73418-5.
- (33) Campargue, R. Progress in overexpanded supersonic jets and skimmed molecular beams in free-jet zones of silence. *J. Phys. Chem.* **1984**, *88* (20), 4466–4474 DOI: 10.1021/j150664a004.
- (34) Kudoh, S.; Takayanagi, M.; Nakata, M. Conformational cooling in a supersonic jet of 1,2-dichloroethane studied by matrix isolation infrared spectroscopy. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *296* (November), 329–334.
- (35) Stewart, J. T.; Brumfield, B. E.; Gibson, B. M.; McCall, B. J. Inefficient Vibrational Cooling of C<sub>60</sub> in a Supersonic Expansion. *ISRN Phys. Chem.* **2013**, *2013*, 1–10 DOI: 10.1155/2013/675138.
- (36) Gloaguen, E.; Courcy, B. De; Piquemal, J. P.; Pilmé, J.; Parisel, O.; Pollet, R.; Biswal, H. S.; Piuzzi, F.; Tardivel, B.; Broquier, M.; et al. Electronic Supplementary Information Gas phase folding of a two-residue model peptide chain: on the importance of an interplay between experiment and theory. **2010**, 1–11.
- (37) Chaudret, R.; de Courcy, B.; Contreras-García, J.; Gloaguen, E.; Zehnacker-Rentien, A.; Mons, M.; Piquemal, J.-P. Unraveling non-covalent interactions within flexible biomolecules: from electron density topology to gas phase spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16* (21), 9876 DOI: 10.1039/c3cp52774c.
- (38) Soisson, F. Monte Carlo Simulations. *EPJ Web Conf.* **2011**, *14*, 2003 DOI: 10.1051/epjconf/20111402003.
- (39) Allinger, N. L.; Yuh, Y. H.; Li, J. H. Molecular mechanics. The MM3 force field for hydrocarbons. 1. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (23), 8551–8566 DOI:

## 6. BIBLIOGRAFIA

---

- 10.1021/ja00205a001.
- (40) Halgren, T. a. Merck Molecular Force Field. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17* (5–6), 490–519 DOI: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<520::AID-JCC2>3.0.CO;2-W.
- (41) Halgren, T. A. MMFF VI. MMFF94s option for energy minimization studies. *J. Comput. Chem.* **1999**, *20* (7), 720–729 DOI: 10.1002/(SICI)1096-987X(199905)20:7<720::AID-JCC7>3.0.CO;2-X.
- (42) Jorgensen, W. L.; Tirado-Rives, J. The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110* (6), 1657–1666 DOI: 10.1021/ja00214a001.
- (43) Paton, R. S.; Goodman, J. M. Hydrogen bonding and  $\pi$ -stacking: How reliable are force fields? A critical evaluation of force field descriptions of nonbonded interactions. *J. Chem. Inf. Model.* **2009**, *49* (4), 944–955 DOI: 10.1021/ci900009f.
- (44) Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A. An all atom force field for simulations of proteins and nucleic acids. *J. Comput. Chem.* **1986**, *7* (2), 230–252 DOI: 10.1002/jcc.540070216.
- (45) Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Case, D. A.; Singh, U. C.; Ghio, C.; Alagona, G.; Profeta, S.; Weinerl, P. A New Force Field for Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins. *J. Am. Chem. SOC* **1984**, *106* (17), 765–784 DOI: 10.1021/ja00315a051.
- (46) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *120* (1–3), 215–241 DOI: 10.1007/s00214-007-0310-x.
- (47) Boys, S. F.; Bernardi, F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Mol. Phys.* **1970**, *19* (4), 553–566 DOI: 10.1080/00268977000101561.
- (48) Frisch, M. J. et al. Gaussian 09, Revision A.02. *Gaussian 09, Revision A.02.* 2009.

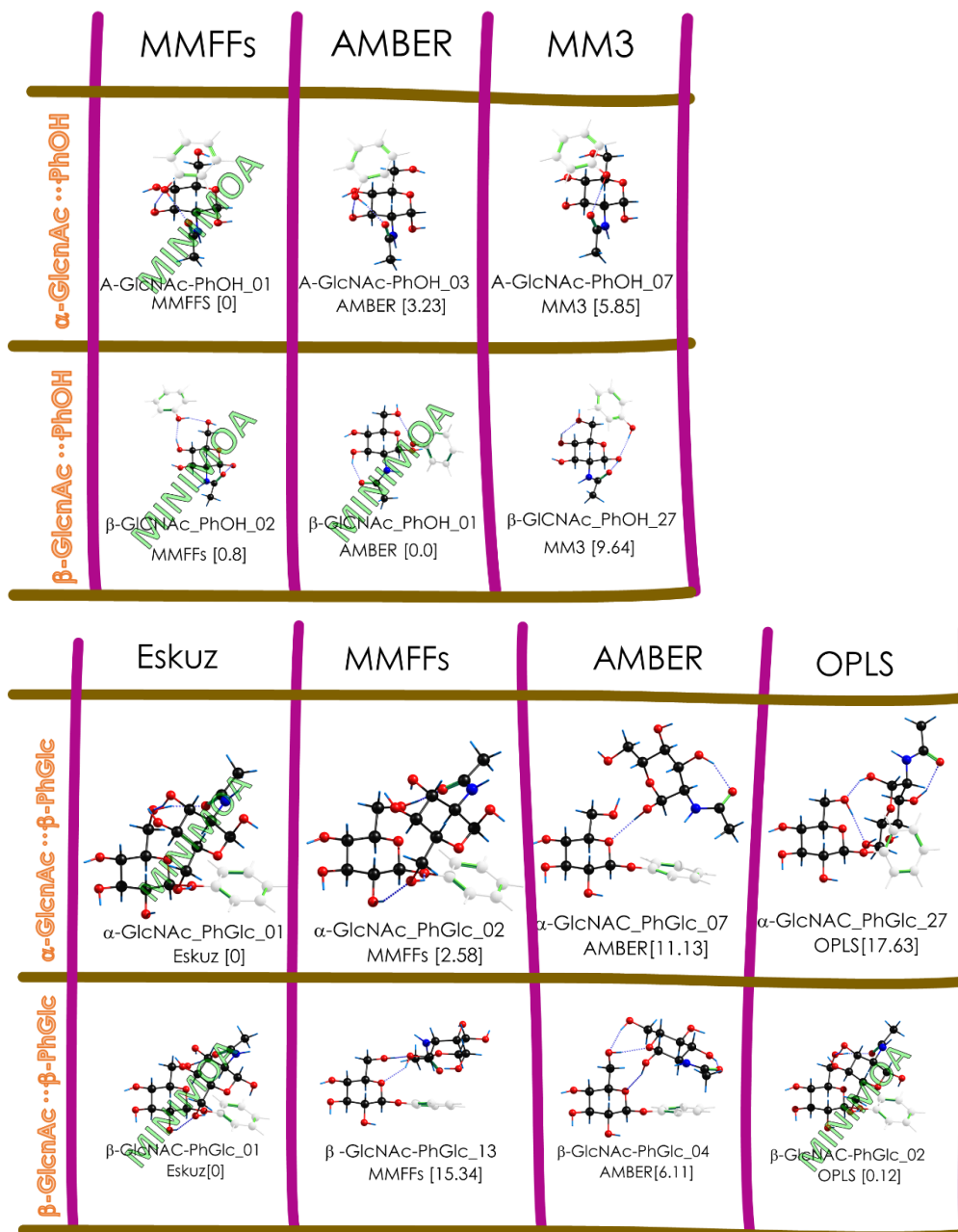
## 6. BIBLIOGRAFIA

---

- (49) Alonso, J. L.; Lozoya, M. A.; Peña, I.; López, J. C.; Cabezas, C.; Mata, S.; Blanco, S. The conformational behaviour of free D-glucose at last. *Chem. Sci.* **2014**, *5* (2), 515–522 DOI: 10.1039/C3SC52559G.
- (50) Nishida, Y.; Hori, H.; Ohru, H.; Meguro, H. <sup>1</sup>H-N.m.r. study on (6S)-(6-<sup>2</sup>H<sub>1</sub>)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose and conformational analysis of 2-acetamido-Z-deoxy-D-glucopyranose. *Carbohydrate Research.* **1987**, *170*, 106-111 DOI: 0008-6215/87/\$03.50
- (51) Carlström, D.; The Crystal Structure of  $\alpha$ -Chitin. **1957**, No. 5, 669-683
- (52) Mobli, M.; Almond, A. N-Acetylated amino sugars: the dependence of NMR <sup>3</sup>J(HNH<sub>2</sub>)-couplings on conformation, dynamics and solvent. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5* (14), 2243 DOI: 10.1039/b705761j.
- (53) Nishiyama, Y.; Sugiyama, J.; Chanzy, H.; Langan, P. Crystal Structure and Hydrogen Bonding System in Cellulose I $\alpha$  from Synchrotron X-ray and Neutron Fiber Diffraction. *J Am Chem Soc* **2002**, *124*, 9074 – 9082.
- (54) Popov, D.; Buléon, A.; Burghammer, M.; Chanzy, H.; Montesanti, N.; Putaux, J. L.; Potocki-Véronese, G.; Riekkel, C. Crystal structure of A-amylose: A revisit from synchrotron microdiffraction analysis of single crystals. *Macromolecules* **2009**, *42* (4), 1167–1174 DOI: 10.1021/ma801789j.
- (55) Corchado, J. C.; Sánchez, M. L.; Aguilar, M. A. Theoretical study of the relative stability of rotational conformers of  $\alpha$  and  $\beta$ -D-glucopyranose in gas phase and aqueous solution. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (23), 7311–7319 DOI: 10.1021/ja0398767.
- (56) Cocinero, E. J.; Stanca-Kaposta, E. C.; Dethlefsen, M.; Liu, B.; Gamblin, D. P.; Davis, B. G.; Simons, J. P. Hydration of Sugars in the gas phase: Regioselectivity and conformational choice in N-acetyl glucosamine and glucose. *Chem. - A Eur. J.* **2009**, *15* (48), 13427–13434 DOI: 10.1002/chem.200901830.
- (57) Wang, C.-C.; Chen, J.-R.; Tseng, Y.-C.; Hsu, C.-H.; Hung, Y.-F.; Chen, S.-W.; Chen, C.-M.; Khoo, K.-H.; Cheng, T.-J.; Cheng, Y.-S. E.; et al. Glycans on influenza hemagglutinin affect receptor binding and immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, *106* (43), 18137–18142 DOI: 10.1073/pnas.0909696106.

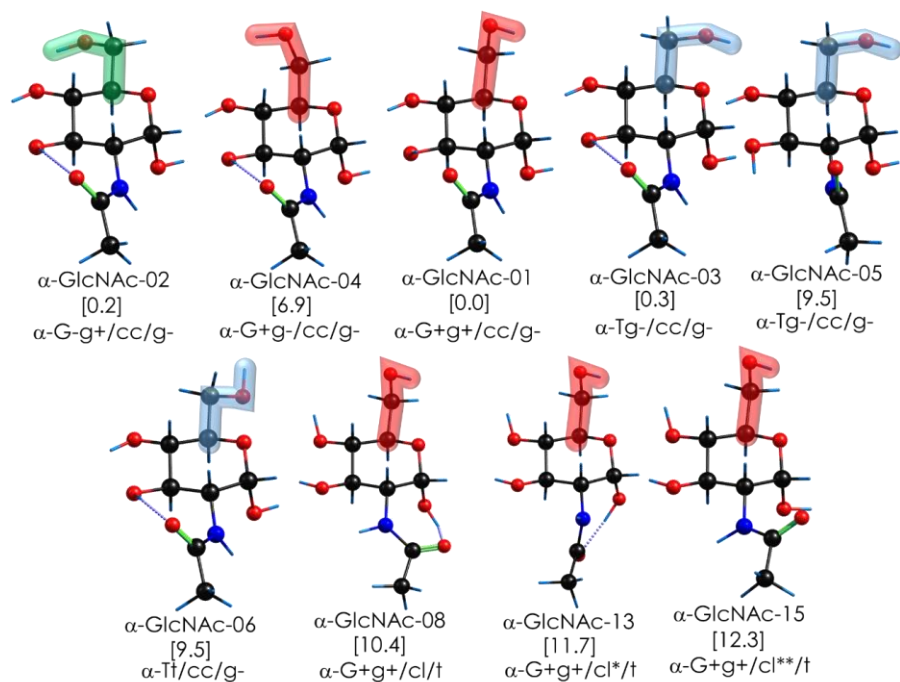
## ERANSKINAK

**E1. irudia:** Jatorri moduan eskuz eta mekanika molekularreko indar eremu desberdinak hartuz M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatutako energia minimodun egiturak GlcNAc···PhOH eta GlcNAc···PhGlc dimeroetan. Mekanika molekularrean eremu desberdinen erabileraren justifikazio moduan erabili daiteke.



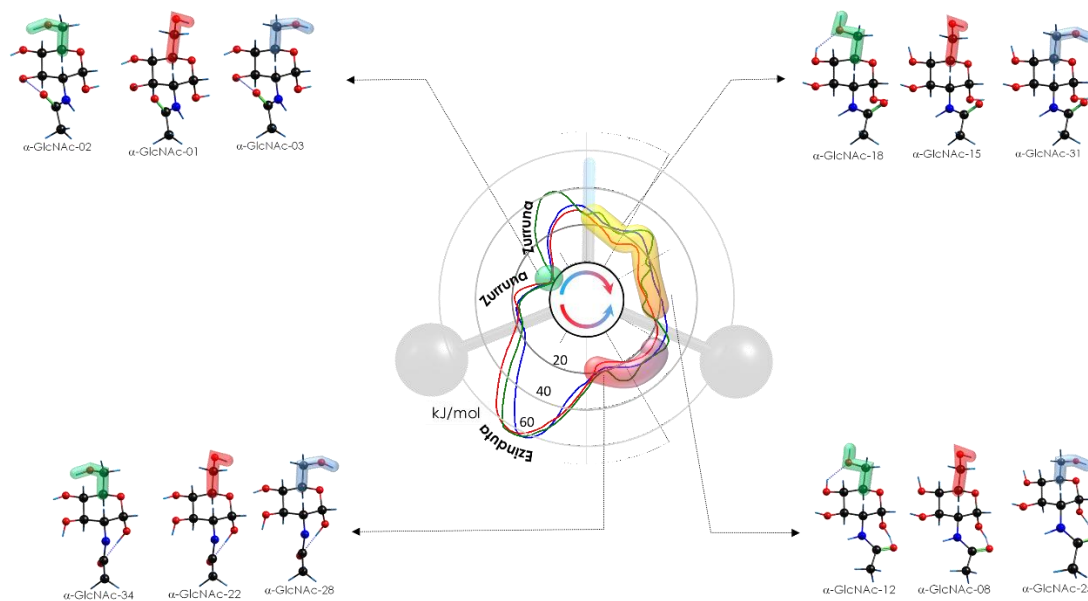
## 3. KALKULU TEORIKOAK:

**E2. irudia:**  $\alpha$ -GlcNAc-ren egitura egonkorak ( $E+ZPE < 10\text{kJ/mol}$ ) eta bere energiak M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatuak ZPE aplikatuta. Amida konformazio desberdina duten *cl* moduko egitura batzuen adibidea eta bere energiak.



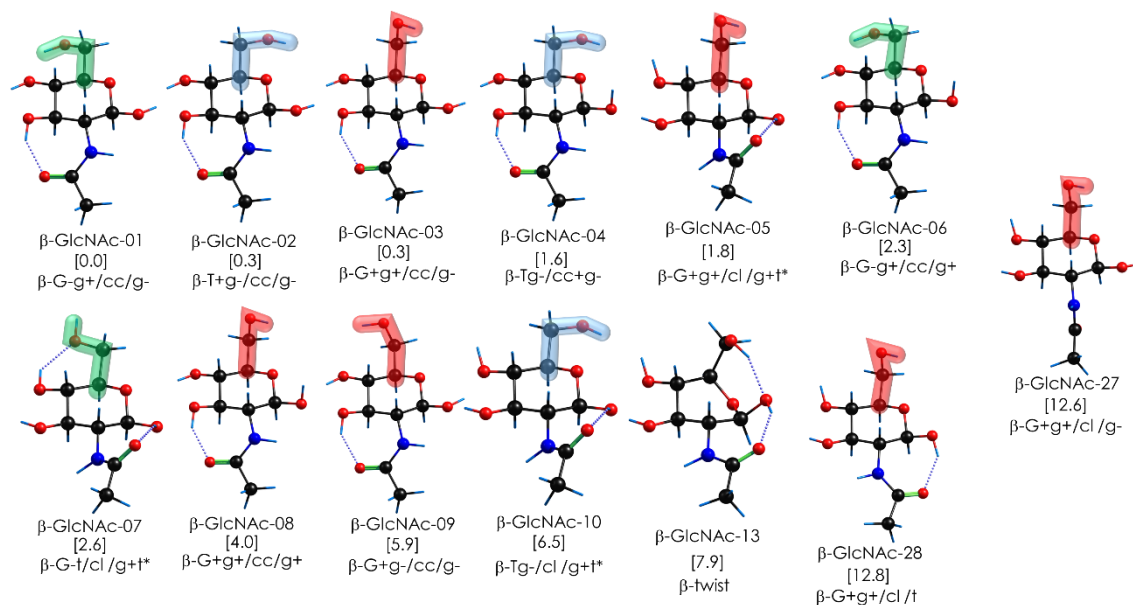
#### 4.1. GlcNAc monomeroa:

**E3. irudia:**  $\alpha$ -GlcNAc-ren hidroximetiloaren G-, G+ eta T-ren konformazioaren PGS M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatuta ZPE erabili gabe.



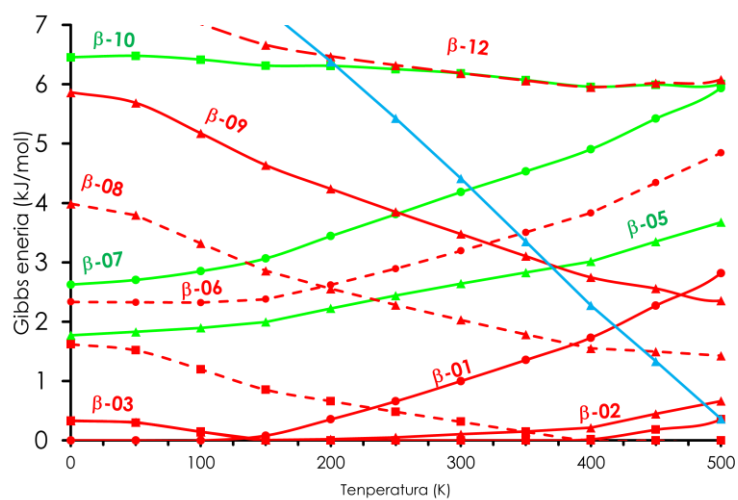
#### 4.1. GlcNAc monomeroa:

**E4. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc-ren egitura egonkorak ( $E+ZPE < 7$  kJ/mol) eta bere energiak M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatua ZPE aplikatuta. Amida konformazio desberdina duten  $cl$  moduko egitura batzuen adibideak eta bere energiak. Twist egitura egonkorrena.



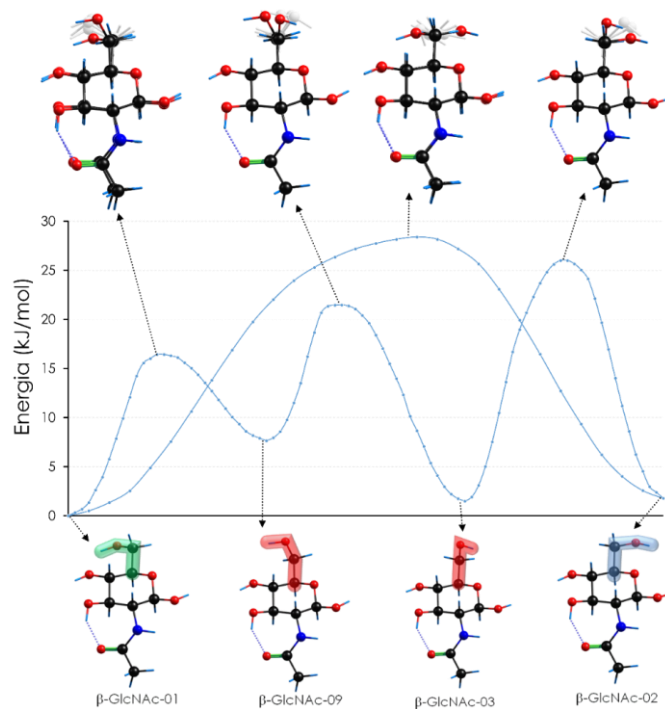
4.1. GlcNAc monomeroa:

**E5. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc-ren Gibbs diagrama osoa 7kJ/mol eskalan. Kalkuluak M06-2X/6-311++G(d,p) mailan egin dira. Izen laburbilduak,  $\beta$ -GlcNAc\_01 =  $\beta$ -01...



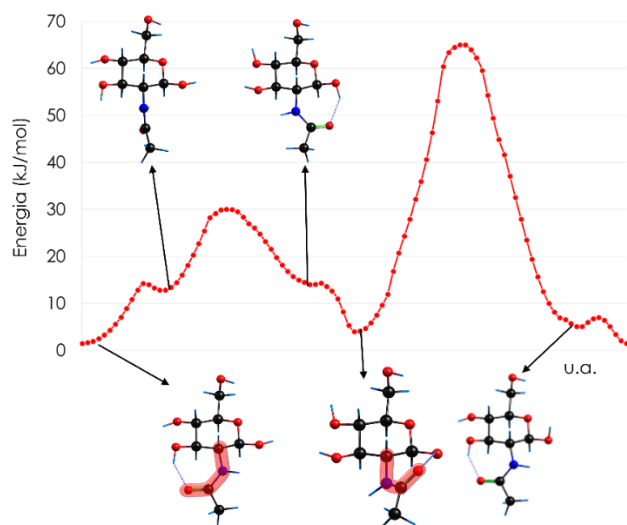
4.1. GlcNAc monomeroa:

**E6. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc-ren hidroximetiloaren errotazioaren PGS M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatuta ZPE erabili gabe.



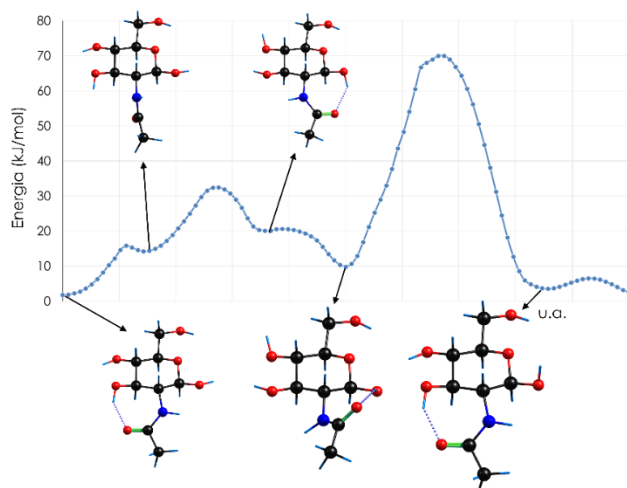
#### 4.1. GlcNAc monomeroa:

**E7. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc-ren hidroximetiloaren G+ konformazioaren PGS M06-2X/6-311G(d,p) mailan optimizatuta ZPE erabili gabe.



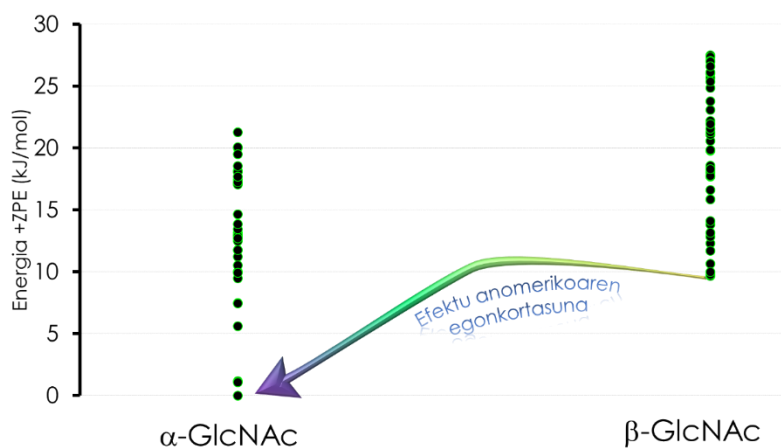
#### 4.1. GlcNAc monomeroa:

**E8. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc-ren hidroximetiloaren T konformazioaren PGS (M06-2X/6-311++G(d,p)) mailan optimizatuta ZPE erabili gabe.



4.1. GlcNAc monomeroa:

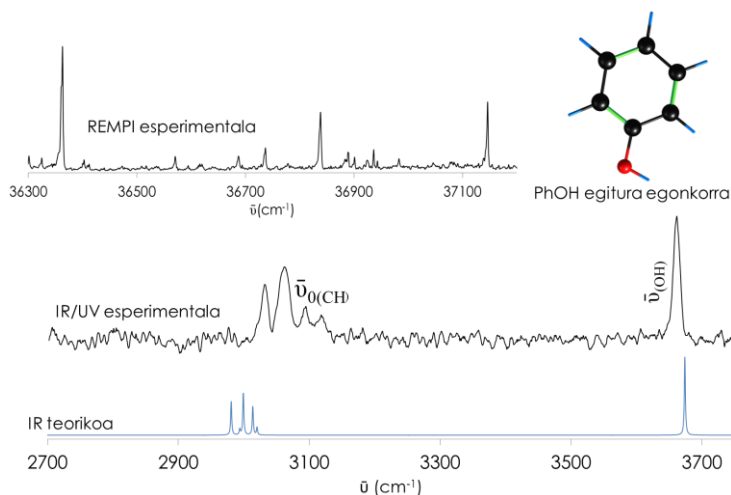
**E9. irudia:** GlcNAc anomero desberdinen energia erlatiboen konparaketa M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatuta ZPE erabilita. Efektu anomerikoa dela eta  $\alpha$  anomeroa egonkorragoa da.



4.1. GlcNAc monomeroa:

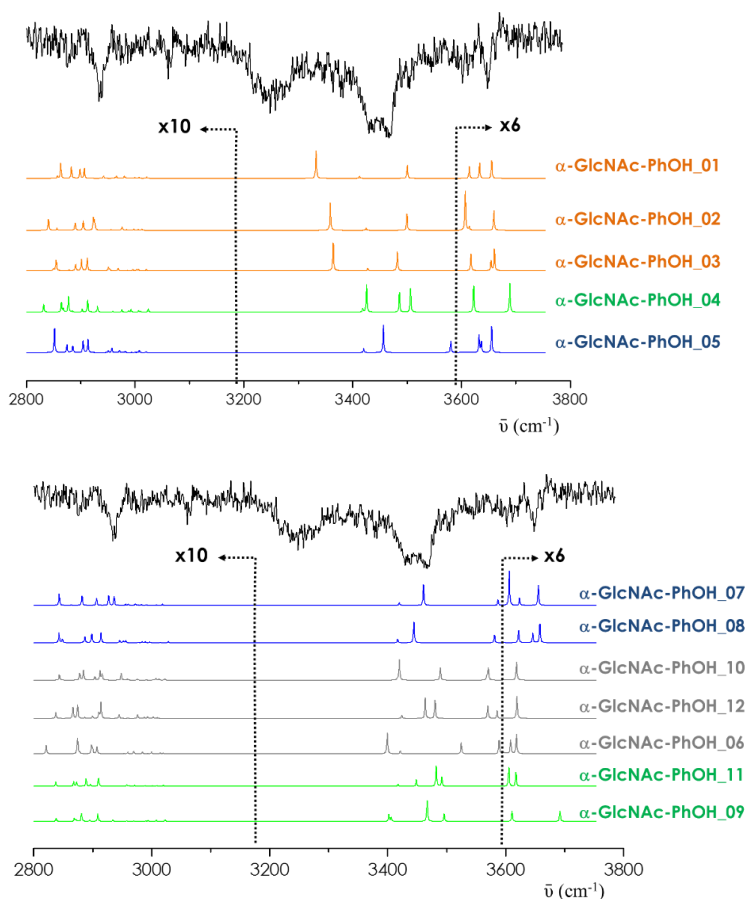
**E10. irudia:** Fenolaren egitura egonkorra eta espektro teorikoa [M06-2X/6-311++G(d,p)] eta REMPI eta IR/UV esperimentalak.





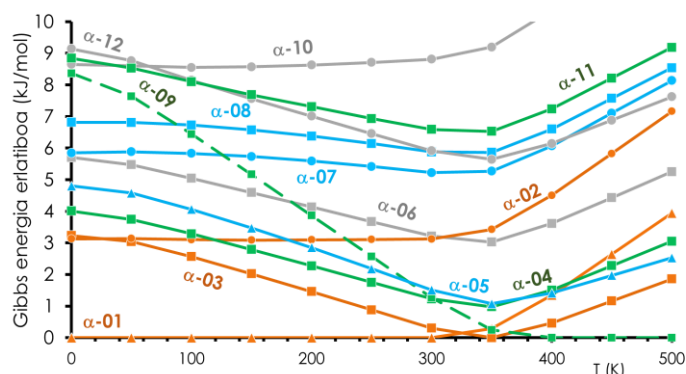
## 4.2. GlcNAc $\cdots$ PhOH

**E11. irudia:**  $\alpha$ -GlcNAc $\cdots$ PhOH-ren espektro teorikoak (M06-2X/6-311++G(d,p) kalkulu mailan eskuratutakoak) eta esperimentalki  $36088\text{cm}^{-1}$ uhin zenbakian eskuratutakoa.



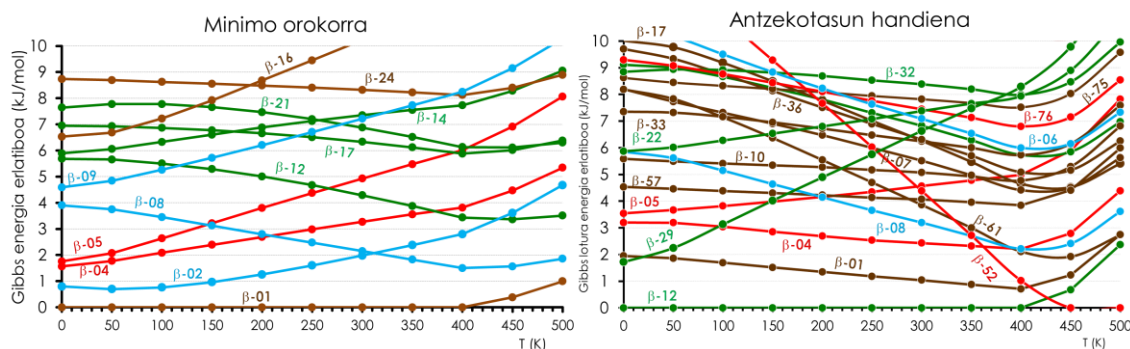
## 4.2. GlcNAc $\cdots$ PhOH

**E12. irudia:**  $\alpha$ -GlcNAc $\cdots$ PhOH minimo orokorreko Gibbs diagrama osoa. Antzekotasun handieneko diagrama osoa 19. irudiko berdina da. Izen laburbilduak erabili dira. (M06-2X/6-311++G(d,p))



#### 4.2. GlcNAc...PhOH

**E13. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc...PhOH Minimo orokorreko eta antzekotasun handieneko Gibbs energia erlatiboaren diagrama osoa. Izen laburbilduak erabili dira eta koloreek 19. irudiko elkarrekintza berdinak adierazten dituzte. M06-2X/6-311++G(d,p) mailan optimizatuak.



#### 4.2. GlcNAc...PhOH

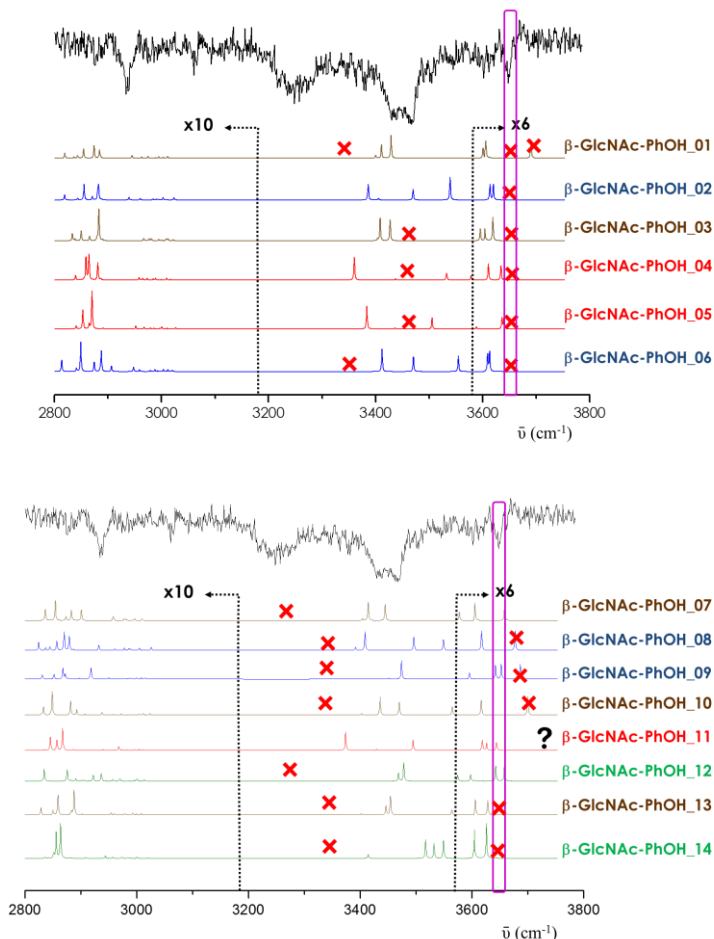
**E1. taula:**  $\beta$ -GlcNAc... $\beta$ -PhOH dimero egonkorrenen energiak eta konformazio eta elkarrekintzen taula. M06-2X/6-311++G(d,p), ZPE eta *Counterpoise* zuzenketa erabilita

Name	RE ZPE+BS SE (kJ/mol)	RE GIBBS (kJ/mol)	B-GlcNAc monomeroa	H-Bond INTERMOLEKULARRA	H-Bond INTRAMOLEKULARRA	$\pi$ -interakzioa
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_01</i>	0.00	0.61	b-GlcNAc_14* <sup>1</sup>	P...O6G	O3H...O=C	O1H
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_02</i>	0.80	4.82	b-GlcNAc_05	GO4H...P...O6G	O1H...O=C	
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_03</i>	1.25	4.24	b-GlcNAc_02	P...O6G	O3H...O=C	O1H
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_04</i>	1.57	2.76	b-GlcNAc_17* <sup>2</sup>	GO3H...P...O=C		O1H
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_05</i>	1.76	4.19	b-GlcNAc_16* <sup>3</sup>	GO1H...P...O=C		O1H
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_06</i>	1.97	3.10	b-GlcNAc_05	GO4H...P...O6G	O1H...O=C	H2 H4
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_07</i>	3.72	0.00	b-GlcNAc_09	P...O6G	O3H...O=C	O1H
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_08</i>	3.90	3.67	b-GlcNAc_14	GO1H...P...O6G	O3H...O=C	H1 (t)
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_09</i>	4.59	6.72	b-GlcNAc_05	GO6H...P...O1G	O1H...O=C	H2
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_10</i>	5.62	3.72	b-GlcNAc_21* <sup>4</sup>	P...O6G	O3H...O=C	O1H
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_11</i>	5.63	4.93	b-GlcNAc_02	GO3H...P...O=C		H2 H4
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_12</i>	5.68	4.40	b-GlcNAc_31* <sup>5</sup>	P...O=C		H1 H3 H5
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_13</i>	5.76	7.63	b-GlcNAc_08	P...O6G	O3H...O=C	O1H H2
<i>b-GlcNAc_b-PhOH_14</i>	5.89	7.65	b-GlcNAc_08	P...O=C	O3H...O=C	O1H H2

\*<sup>1</sup>: b-GlcNAc\_14. \*<sup>2</sup>: b-GlcNAc\_17. \*<sup>3</sup>: GlcNAc\_16. \*<sup>4</sup>: GlcNAc\_21. \*<sup>5</sup>: GlcNAc\_31 energetikoki faboratuta ez dauden monomeroak dira.

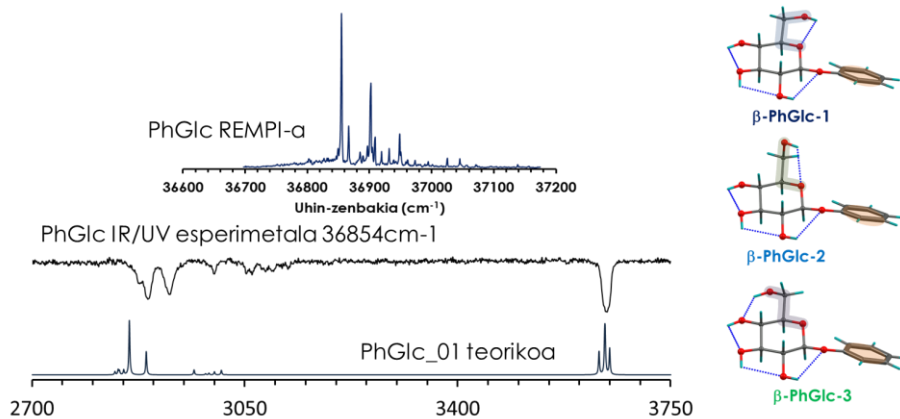
#### 4.2. GlcNAc...PhOH

**E14. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc $\cdots$ PhOH-ren espektro teorikoak [M06-2X/6-311++G(d,p) kalkulu mailan eskuratutakoak] eta esperimentalki  $36088\text{cm}^{-1}$  uhin zenbakian eskuratutakoa. Ikusi daitekeen moduan espektro teorikoak eta esperimentalak ez dira ondo esleitzen.



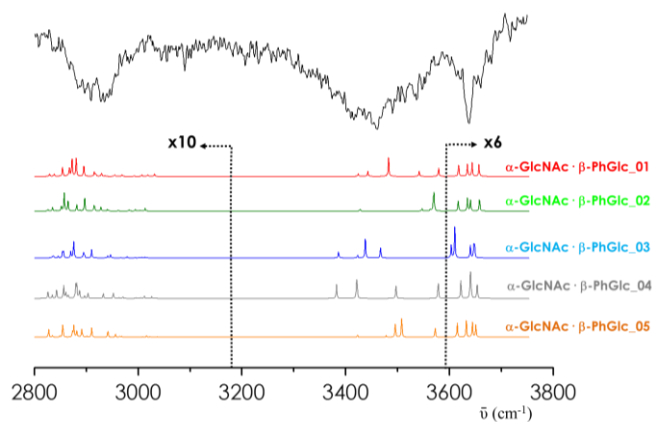
#### 4.2. GlcNAc $\cdots$ PhOH

**E15. irudia:**  $\beta$ -PhGlc-ren REMPI eta IR/UV espektroa uhin luzera bakarrean. Esleitutako konformeroaren IR teorikoa. Irudian REMPI espektroko beste uhin luzeretan agertzen diren konformeroak.

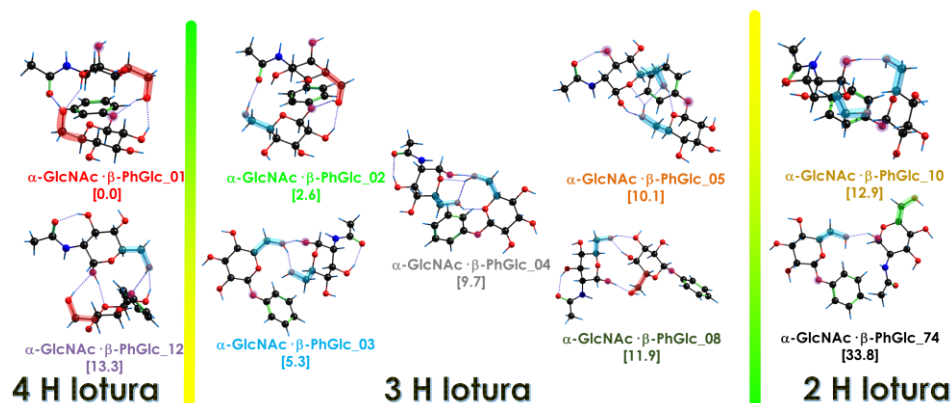


4.3. GlcNAc $\cdots$ PhGlc

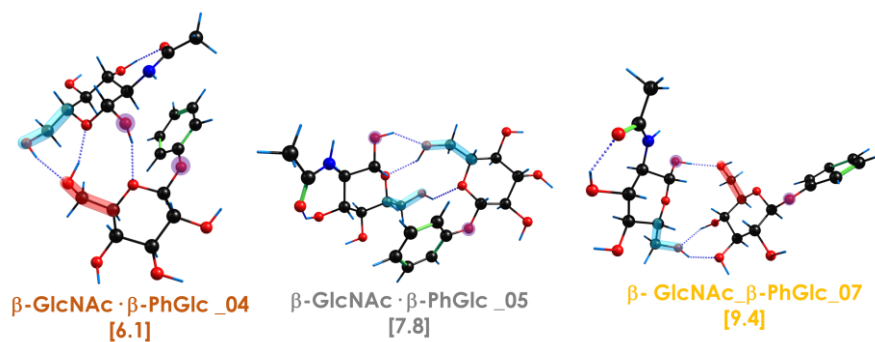
**E16. irudia:**  $\alpha$ -GlcNAc $\cdots$  $\beta$ -PhGlc egitura egonkorrenen espektro teorikoak M06-2X/6-311++G(d,p).

4.3. GlcNAc $\cdots$ PhGlc

**E17. irudia:**  $\alpha$ -GlcNAc $\cdots$  $\beta$ -PhGlc energia minimodun egiturak M06-2X/6-311++G(d,p) ZPE eta *Counterpoise* zuzenketa aplikatuta.

4.3. GlcNAc $\cdots$ PhGlc

**E18. irudia:**  $\beta$ -GlcNAc $\cdots$ -PhGlc energia minimodun egiturak M06-2X/6-311++G(d,p) ZPE eta *Counterpoise* zuzenketa aplikatuta.

4.3. GlcNAc $\cdots$ PhGlc