



Comportamiento de la amoxicilina en agua mediante métodos de solvatación implícita y explícita

Resumen

El comportamiento molecular de la amoxicilina en agua fue explorado con solvatación implícita y explícita mediante dos estrategias que combinan diferentes técnicas de simulación molecular para evaluar el alcance de estos procedimientos. Con estas dos estrategias de cálculo computacional, la conformación molecular de la amoxicilina fue determinada en fase acuosa. En la primera estrategia se utilizó el generador de conformaciones Ballon-v1.8.2 y la estabilidad de las conformaciones en agua fue evaluada utilizando la energía libre de solvatación determinada con el método de solvatación implícita SMD. En la segunda estrategia, con la dinámica molecular tipo NVT fue evaluado el arreglo espacial de esta molécula en agua y, además, la interacción molecular entre la amoxicilina y el agua fue evaluada en esta simulación. Los resultados obtenidos muestran que la conformación de la amoxicilina más estable en fase acuosa es la plegada. Además, los valores de energías de solvatación de -121,42 y -14,58 kJ/mol obtenidos con solvatación implícita y dinámica molecular sugieren que esta molécula tiene una alta afinidad por el agua. Las funciones de distribución radial y espacial sugieren que se forman 3 capas de solvatación alrededor de la amoxicilina y que esta molécula tiene una región altamente hidrofílica. Finalmente, la estrategia usando dinámica molecular permite obtener mejores conformaciones en equilibrio que la estrategia de simulación usando el generador de conformaciones Ballon-v1.8.2.

Palabras clave: conformaciones; interacción molecular; simulación molecular; solvatación.

Behavior of amoxicillin in water by means of implicit and explicit solvation methods

Abstract

The molecular behavior of amoxicillin in water was explored with implicit and explicit solvation using two strategies that combine different molecular simulation techniques to assess the scope of these procedures. With these two computational calculation strategies, the molecular conformation of amoxicillin was determined in aqueous phase. In the first strategy, the conformation generator Ballon-v1.8.2 was used and the stability of the conformations in water was evaluated using the solvation free energy determined with the SMD implicit solvation method. In the second strategy, with NVT-type molecular dynamics, the spatial arrangement of this molecule in water was evaluated and, in addition, the molecular interaction between amoxicillin and water was evaluated in this simulation. The results obtained show that the most stable conformation of amoxicillin in the aqueous phase is the folded one. In addition, the solvation energy values of -121.42 and -14.58 kJ/mol obtained with implicit solvation and molecular dynamics suggest that this molecule has a high affinity for water. The radial and spatial distribution functions suggest that 3 solvation shells form around amoxicillin and that this molecule has a highly hydrophilic region. Finally, the strategy using molecular dynamics allows to obtain better equilibrium conformations than the simulation strategy using the Ballon-v1.8.2 conformation generator.

Keywords: Conformations; molecular interactions; molecular simulations; solvation.

Comportamento da amoxicilina em água por meio de métodos de solvatação implícito e explícito

Resumo

O comportamento da amoxicilina em água foi analisado com solvatação implícita e explícita mediante duas estratégias que combinam diferentes técnicas de simulação molecular para avaliar o escopo destes procedimentos. Com estas duas estratégias de cálculo computacional, a conformação molecular da amoxicilina foi determinada em fase aquosa. Na primeira estratégia, utilizou-se o gerador de conformação do software Ballon-v1.8.2 e avaliou-se a estabilidade das conformações em água a partir da energia livre de solvatação determinada pelo método de solvatação implícita SMD. Na segunda estratégia, avaliou-se o arranjo espacial da amoxicilina e sua interação com a água através de simulações de dinâmica molecular NVT. Os resultados obtidos mostram que a conformação dobrada é a mais estável em fase aquosa. Ademais, os valores de energia de solvatação de -121,42 e -14,58 kJ/mol obtidos com solvatação implícita e dinâmica molecular sugerem que esta molécula possui alta afinidade pela água. As funções de distribuição radial e espacial sugerem que se formam 3 camadas de solvatação ao redor da amoxicilina e que esta molécula possui uma região altamente hidrofílica. Finalmente, a estratégia usando dinâmica molecular permite obter melhores conformações de equilíbrio do que a estratégia de simulação usando o gerador de conformação do software Ballon-v1.8.2.

Palabras-chave: conformações; interação molecular; simulação molecular; solvatação.



Introducción

Los antibióticos son compuestos químicos que tienen la capacidad de tratar enfermedades producidas por bacterias. Históricamente, estos compuestos han sido sintetizados en gran magnitud desde el descubrimiento de la penicilina y su uso ha sido muy amplio en las últimas décadas [1]. El uso indiscriminado de estos fármacos en medicina humana y animal ha ocasionado un impacto negativo en el medio ambiente debido a la falta de métodos eficientes para el tratamiento de efluentes líquidos. Esto ha producido una gran preocupación por la resistencia antimicrobiana que puede producir la gran cantidad de desechos presentes en el medio ambiente [2]. De igual manera, según el informe O'Neill del 2014, el gobierno británico ha considerado que las infecciones resistentes a los antimicrobianos podrían convertirse en la principal causa de muerte en el mundo para el año 2050 [3]. Actualmente, uno de los antibióticos beta-lactámicos más utilizados a escala mundial para el tratamiento de enfermedades infecciosas producidas por bacterias es la amoxicilina, la cual representa uno de los antibióticos más prescritos en Europa y Estados Unidos [4]. En las últimas décadas, el uso de este compuesto ha generado altos niveles de concentración en el medio ambiente, especialmente en fuentes de aguas superficiales, aguas subterráneas potables y residuales [5], [6]. En este caso, los métodos experimentales para la degradación de este compuesto no han sido efectivos debido a la estructura molecular compleja que presenta con diferentes grupos funcionales similares a los aminoácidos presentes en las proteínas [7], [8]. Particularmente, debido a su estructura molecular, la amoxicilina presenta diferentes formas iónicas como función del pH cuando se encuentra disuelta en agua (ver Figura 1). También, estas características estructurales favorecen la solubilidad de la amoxicilina en agua (entre 25 y 300 mg/mL a 25°C); esta especie es muy soluble en agua pura a pH~7 [9]. Esta propiedad fisicoquímica le permite una alta permanencia en fase acuosa por un largo tiempo, lo que favorece que este compuesto pueda ser absorbido y bioacumulado por plantas y animales [10], [11].

Diferentes técnicas experimentales han sido empleadas con la finalidad de reducir la concentración de amoxicilina en agua [12], [13]. Por ejemplo, las técnicas de encapsulamiento y precipitación con surfactantes y polímeros permiten la reducción de la concentración de este tipo de compuestos farmacéuticos betalactámicos en agua [14]. Así mismo, el proceso foto-Fenton ha sido empleado para la degradación de la amoxicilina en solución acuosa en moléculas más simples [15], [16]. En este proceso, a nivel molecular, la conformación espacial de la amoxicilina y su interacción con el agua tienen un papel fundamental en el camino de la reacción involucrada en la degradación de esta especie en el campo experimental. Así, desde el punto de vista molecular, las técnicas de simulación molecular, como los cálculos mecánico-cuánticos y la dinámica molecular, permiten dilucidar el arreglo espacial, la conformación y las interacciones moleculares de los compuestos químicos en diferentes medios solventes [17]-[20]. Estas técnicas de simulación molecular han permitido evaluar el comportamiento de las moléculas a nivel microscópico, lo cual permite obtener una visión más amplia de los sistemas químicos [21]-[23].

En este sentido, en este trabajo se llevó a cabo un análisis conformacional de la amoxicilina en agua mediante dos procedimientos combinando diferentes técnicas de simulación molecular: a) con solvatación implícita mediante cálculos mecánico-cuánticos y b) con solvatación explícita usando dinámica molecular. Además, se evaluó el alcance de ambos procedimientos para la obtención de la conformación espacial más estable tomando en cuenta el efecto que tiene el solvente sobre la estimación de las conformaciones espaciales [24], [25]. Finalmente, se exploró el comportamiento molecular de la amoxicilina en fase acuosa mediante dinámica molecular, con la finalidad de comprender la importancia de las interacciones moleculares en la estabilidad de esta especie en este medio solvente. Los resultados obtenidos pueden contribuir a una mejor comprensión de la cinética química de degradación de la amoxicilina, en medio acuoso, por procesos químicos y fotoquímicos.

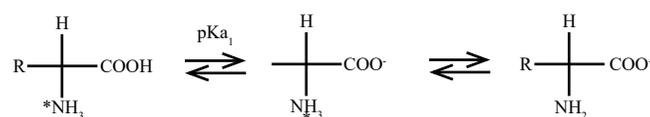


Figura 1. Estructuras iónicas de amoxicilina involucradas en los diferentes equilibrios de disociación.

Metodología empleada

La estructura molecular de la amoxicilina presenta diferentes grupos funcionales similares a los contenidos en los aminoácidos (ver Figura 2), lo cual le permite tener valores de pKa iguales a 3,2 y 11,7 [26], [27] asociados al grupo ácido y la amina primaria presentes en su estructura (ver Figura 1).

Para llevar a cabo el análisis conformacional de la amoxicilina en agua se utilizaron dos estrategias de simulación molecular. En este caso, las estrategias involucran el uso de los métodos de solvatación implícita y explícita. El método mecánico-cuántico conductor polarizable continuo (C-PCM por sus siglas en inglés) [28]-[30] fue utilizado para la solvatación implícita y el método de solvatación explícita fue desarrollado con simulaciones de dinámica molecular con moléculas de agua rodeando a la amoxicilina.

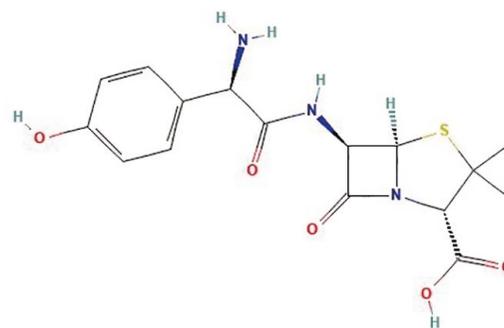


Figura 2. Estructura molecular de la amoxicilina.

Inicialmente, la molécula de amoxicilina fue construida en la herramienta Draw Structure de la página web PubChem [31]. Esta estructura fue optimizada con el software Avogadro (versión 1.2.0) y almacenada en el formato *.mol [32]. Cabe destacar que la estructura molecular puede ser diseñada directamente en el software Avogadro u otros softwares que sirvan de interfaz gráfica. Además, la construcción de la estructura de la amoxicilina fue realizada de tal manera que no se refleja el puente de hidrógeno intramolecular en el grupo carboxílico, con la intención de evaluar la influencia de la conformación inicial de la estructura molecular en el análisis conformacional. En este primer procedimiento, la estructura molecular optimizada fue usada en el programa Ballon-v1.8.2 [33] para producir las diferentes configuraciones estructurales denominadas conformaciones. Este programa utiliza el modelo de energía potencial MMFF94 [34] para obtener configuraciones optimizadas con diferentes arreglos espaciales a partir de una conformación inicial. Sin embargo, este programa no fue capaz de determinar el puente de hidrógeno intramolecular a partir de la conformación inicial utilizada. Un total de 57 conformaciones espaciales para la amoxicilina fueron obtenidas utilizando los parámetros por defecto asignados al programa (--nconfs 100, --nGenerations 300). Estas conformaciones fueron visualizadas mediante el software wxMacMolPlt [35] donde se procedió a preparar las entradas (*inputs*) con extensión "*.inp" para realizar la optimización geométrica de estas estructuras usando el software Gamess-US (versión 2021-R2) [36]-[38]. Estas conformaciones espaciales fueron optimizadas en el vacío para evaluar la estabilidad de

estos arreglos moleculares en este medio. En este procedimiento, todas las configuraciones espaciales fueron optimizadas en el vacío con el funcional híbrido DFT/M06-2X [39] en el nivel 6-31G+(d,p) [40]. Luego, a todas las conformaciones optimizadas se les realizaron cálculos tipo *single point* de solvatación implícita utilizando el método de solvatación C-PCM con el mismo funcional DFT/M06-2X [39] a un nivel 6-31G+(d,p) [40] para determinar su energía de solvatación en agua. El método de solvatación determina la energía necesaria para transferir la molécula desde el vacío hacia el medio solvente, en donde se incluye la energía necesaria para construir la cavidad dentro del solvente en la cual va a ser insertada la molécula del soluto. Las contribuciones dispersivas a la energía de solvatación fueron obtenidas con el método de solvatación universal (SMD por sus siglas en inglés) [41]. Como resultado del proceso de simulación se obtienen los archivos de salida *output* con extensión “.log” de donde se obtiene la información de la energía libre de solvatación para el análisis conformacional. La energía de solvatación, ΔG_{solv} , es definida por la Ec. (1):

$$\Delta G_{\text{solv}} = \Delta G_{\text{elec}} + \Delta G_{\text{cfs}} \quad (1)$$

En donde el término ΔG_{elec} corresponde a la contribución electrostática a la energía de solvatación y el término ΔG_{cfs} corresponde a la contribución energética asociada a la construcción de la cavidad dentro del solvente y las interacciones dispersivas entre el soluto y el solvente. Una vez realizado el análisis de las energías en todas las conformaciones, se tomaron las cinco estructuras moleculares con las energías libres de solvatación más favorables y estas estructuras fueron optimizadas con el método de solvatación C-PCM [28]-[30] con el mismo funcional DFT/M06-2X [39] a un nivel 6-31G+(d,p) [40]. Además, se tomaron cinco conformaciones estructurales con el puente de hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH más estables en agua para realizar una comparación entre las energías de solvatación obtenidas. En la segunda estrategia, usando solvatación explícita, la molécula de amoxicilina fue colocada en el centro de una caja cúbica de dimensiones 5x5x5 nm³. En esta misma caja, la amoxicilina fue solvatada con un total de 4150 moléculas de agua. La configuración inicial de la amoxicilina en agua es mostrada en la Figura 3.

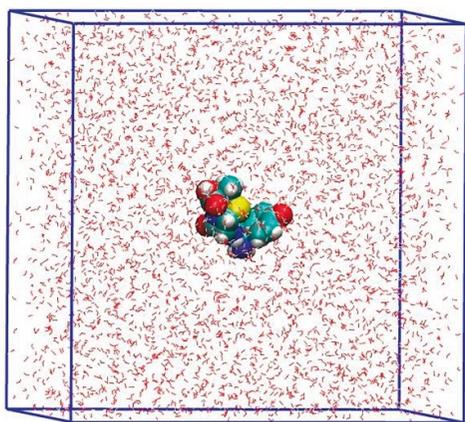


Figura 3. Estructura molecular de la amoxicilina con moléculas de agua en una caja cúbica bajo condiciones de contornos periódicos.

Inicialmente, una simulación de minimización de energía fue realizada para relajar las configuraciones de las moléculas dentro de la caja con el procedimiento steep descent [42]. Seguidamente, al sistema relajado se le realizó una simulación de dinámica molecular tipo NVT a una temperatura de 298,15 K. En este ensamble tipo NVT, el número de partículas, el volumen de la caja de simulación y la temperatura son mantenidos constantes y se observa la variación de la energía total del sistema. La temperatura fue controlada con el método v-rescale [43]. El radio de interacción utilizado para determinar las interacciones de vdw fue de 1,25 nm y el

método de Ewald [44] fue empleado para determinar las contribuciones electrostáticas. Las condiciones de contornos periódicas fueron mantenidas en las dimensiones xyz. La longitud de las simulaciones fue de 20 ns y las configuraciones fueron almacenadas cada 1 ps, generando un total de 20.000 conformaciones. En esta parte, los force fields OPLS-AA [45] obtenido en el servidor LigParGen [46] y TIP4P [47], [48] fueron utilizados para describir las moléculas de amoxicilina y agua, respectivamente. La construcción y la simulación del sistema fueron realizadas con el programa Gromacs (versión 2019.2) [49], [50]. El análisis conformacional fue realizado evaluando la raíz cuadrada de la desviación cuadrática media de las posiciones de los átomos, RMSD, en el espacio ocupado definido por la Ec. (2):

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (r_n^i - r_n^{\text{ref}})^2} \quad (2)$$

En esta ecuación (2), r_n^i es la posición del átomo n en la conformación i y el término r_n^{ref} corresponde a la posición del átomo n en la conformación inicial de referencia.

Resultados y discusión

Exploración de las conformaciones de la amoxicilina usando cálculos mecánico-cuánticos

En esta parte se obtuvieron diferentes conformaciones espaciales para la amoxicilina sin presencia del puente de hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH en el vacío utilizando el programa de generación de conformaciones balloon-v-1.8.2 [33]. La estabilidad fue evaluada en función de la energía total de estas conformaciones estructurales y la energía libre de solvatación estimada usando un cálculo tipo single point (ver Figura 4(a)). En la Figura 4(a) se puede apreciar que la conformación identificada como C1 corresponde a la conformación inicial utilizada. La energía total obtenida muestra que esta conformación C1 es la más estable en el vacío en comparación con el resto de conformaciones evaluadas. También, utilizando la conformación C1 como la configuración de referencia más estable en el vacío, se observa que otras conformaciones identificadas como C5, C15 y C20 tienen una considerable estabilidad en el vacío equivalente a la conformación C1. Seguidamente, para comparar de forma eficiente la estabilidad de las conformaciones espaciales se determinó la energía relativa de cada conformación en el vacío utilizando la conformación C1 como la más estable (ver Figura 4(b)). La Figura 4(b) muestra que el resto de las conformaciones son menos estables en comparación con la configuración C1, lo cual indica que todas las conformaciones obtenidas según el procedimiento de balloon-v-1.8.2 [33] tienen una menor estabilidad energética en el vacío según los cálculos mecánico-cuánticos. Para este caso, las conformaciones C5, C15 y C20 tienen valores de energías relativas de 1,38; 0,58 y 3,33 kJ/mol en comparación a la conformación C1. Estas conformaciones estructurales son las más estables en el vacío en conjunto con la conformación C1 usada para generar las conformaciones estructurales en este programa.

Adicionalmente, las energías libres de solvatación de las 57 configuraciones fueron calculadas y sus valores son mostrados en la Figura 4(c), en la cual se observa que la conformación más estable en el medio solvente corresponde a la configuración C56 (ΔG_{solv} igual a -98,16 kJ/mol). Para este caso, esta conformación estructural tiene la energía libre de solvatación más favorable, lo cual indica que este arreglo espacial cuenta con una interacción favorable con el agua que ha sido descrita de forma implícita. A su vez, otras conformaciones espaciales identificadas como C43 (ΔG_{solv} igual a -95,90 kJ/mol) y C51 (ΔG_{solv} igual a -95,73 kJ/mol) tienen energías libres de solvatación más favorables para este medio solvente. También, se puede observar que las conformaciones espaciales C56, C43 y C51 para

la amoxicilina son más favorables en el agua que en el vacío. Un hecho notable que muestran los resultados es que la conformación inicial C1 es una de las conformaciones que tienen una energía de solvatación menos favorable con respecto a las estructuras evaluadas, lo cual indica que se debe ser bien selectivo en la estructura de partida para realizar el análisis conformacional. En la Figura 5 se muestran los arreglos espaciales de las conformaciones más estables en el vacío y el medio acuoso.

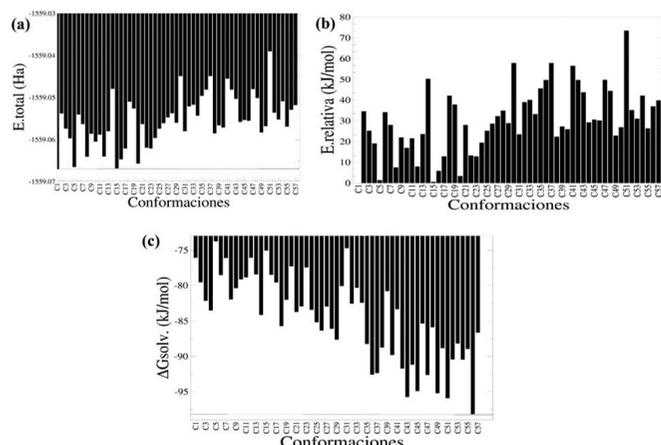


Figura 4. Energías para las conformaciones estructurales construidas sin el puente de hidrógeno en el grupo carboxílico. (a) Energías totales de cada conformación. (b) Energías relativas calculadas usando como referencia la molécula más estable (conformación C1). (c) Energía libre de solvatación para cada conformación, calculada con el método de solvatación SMD usando como solvente el agua.

En la Figura 5(a) se observa que la conformación C1 para la molécula de amoxicilina está completamente extendida en el vacío con el grupo -NH₂ interactuando con el grupo -NH localizado cerca del anillo beta-lactámico. En la Figura 5(b), en el vacío, la molécula de amoxicilina muestra una conformación espacial ligeramente extendida. En esta conformación se observa la interacción tipo puente de hidrógeno entre el protón del ácido carboxílico con el grupo carbonilo más cercano. En cambio, en la Figura 5(c) se observa una molécula con un arreglo espacial plegado en donde el anillo aromático interactúa con el grupo carbonilo más cercano y el átomo de hidrógeno del grupo carboxílico con el nitrógeno presente en el anillo beta-lactámico. Para las conformaciones en el medio acuoso, se observa en

la Figura 5(d) que la conformación C43 tiene una conformación espacial semiplegada en donde el átomo de hidrógeno del grupo -COOH interactúa con el anillo aromático y el grupo -NH₂ de la molécula. En la conformación C51 (ver Figura 5(e)), la amoxicilina se muestra ligeramente contraída con el átomo de hidrógeno del grupo -COOH en interacción con el grupo cetónico localizado en el anillo beta-lactámico. En la Figura 5(f), la amoxicilina con la conformación C56 se encuentra semiplegada con el átomo de hidrógeno del grupo -NH en interacción con el grupo -NH₂ formando un puente de hidrógeno intramolecular. En esta conformación, que corresponde a la más estable en agua, los grupos funcionales están expuestos completamente hacia el agua como solvente implícito. Finalmente, estos resultados demuestran que es fundamental hacer la exploración de las conformaciones estructurales en un medio solvente para identificar la conformación más estable de esta molécula. En este caso, el programa balloon-v-1.8.2 [33] permite obtener diferentes conformaciones espaciales en el vacío, pero luego se debe identificar, usando un proceso de solvatación, la conformación más estable, lo cual requiere de mayor poder computacional.

Evaluación de las energías libres de solvatación para las conformaciones más estables de la amoxicilina sin puente de hidrógeno y con puente de hidrógeno

En esta parte, las estructuras con las energías libres de solvatación más favorables fueron utilizadas para evaluar a mayor profundidad el efecto del puente de hidrógeno intramolecular del grupo -COOH en la estabilidad de estas conformaciones en el medio acuoso. Las conformaciones de la amoxicilina C56, C51, C43, C49 y C45 fueron utilizadas como estructuras sin puente de hidrógeno en el grupo -COOH. A su vez, las conformaciones C5, C47, C29, C34 y C56 fueron usadas como estructuras con puente de hidrógeno en el grupo -COOH. Estas estructuras fueron seleccionadas por mostrar los grupos funcionales polares expuestos al medio solvente. Cada una de estas conformaciones fue optimizada en el medio solvente usando el método de solvatación C-PCM junto con el método SMD. Las contribuciones a la energía libre de solvatación fueron determinadas y sus valores son reportados en las Tablas 1 y 2 para las conformaciones estudiadas. En la Tabla 1, los valores de energía libre de solvatación muestran que la conformación C56 es la más favorable en fase acuosa. En este caso, la conformación espacial C56 pasó de una configuración semiplegada a un arreglo plegado

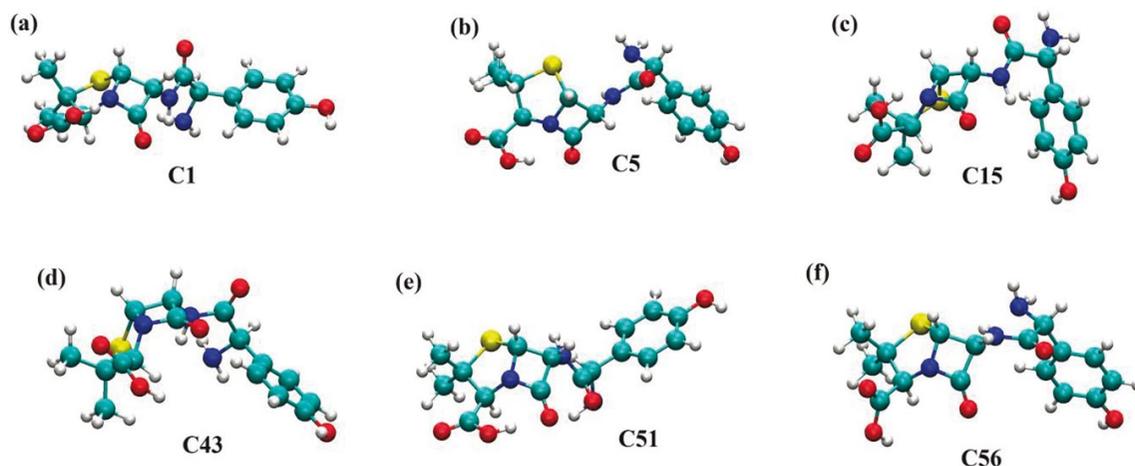


Figura 5. Conformaciones estructurales de la amoxicilina más estables obtenidas de los cálculos mecánico-cuánticos en el vacío y el agua descrita como solvente implícito. (a), (b) y (c) corresponden a las conformaciones C1, C5 y C15 más estables en el vacío. (d), (e) y (f) corresponden a las conformaciones C43, C51 y C56 más estables en el agua.

en el proceso de optimización geométrica. También, esta conformación tiene la contribución electrostática más alta a la energía de solvatación, lo cual sugiere que los grupos polares de la molécula de amoxicilina están más expuestos a la interacción con el agua en esta conformación. Para la contribución electrostática se muestra el siguiente orden decreciente de contribución a la energía de solvatación: C56 > C49 > C51 > C43 > C45. A su vez, se observa que la conformación C49 tiene la contribución cavidad-dispersiva-repulsiva más alta en comparación con el resto de las estructuras conformacionales evaluadas. En este caso, la conformación C49 requiere de una mayor energía para construir la cavidad del solvente y genera la mayor repulsión con el agua. En este caso, la energía libre ΔG_{cds} tiene el siguiente orden decreciente: C49 > C56 > C45 > C43 > C51, el cual es muy distinto al mostrado en la contribución electrostática. Aquí se puede apreciar que las energías libres de solvatación son dependientes del arreglo molecular de la especie evaluada en el medio solvente y de la exposición de los grupos polares en el momento de hacer la optimización geométrica.

En la Tabla 2 se muestra que las contribuciones a la energía libre de solvatación para las conformaciones formando el puente de hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH son de mayor magnitud en comparación a las reportadas sin puente de hidrógeno en la Tabla 1. La ganancia de estabilidad con respecto a la energía libre de solvatación es considerable en comparación con las conformaciones sin el puente de hidrógeno intramolecular en la amoxicilina. Para este caso, las conformaciones con el puente de hidrógeno intramolecular presentan energías libres de solvatación entre -110 y -130 kJ/mol. La conformación C34 tiene la energía libre de solvatación más favorable en comparación con el resto de conformaciones. Además, se observa que la contribución cavidad-dispersiva-repulsiva (ΔG_{cds}) asociada a la energía libre de solvatación varía ligeramente en comparación con la contribución electrostática (ΔG_{elec}). En este caso, se observa que la contribución electrostática sigue este orden decreciente de afinidad con el agua: C34 > C29 > C56 > C5 > C47. En cambio, la contribución ΔG_{cds} , que indica la cantidad de energía necesaria para construir la cavidad en el solvente, muestra la siguiente tendencia en las conformaciones estudiadas: C5 > C56 > C34 > C29 > C47.

Tabla 1. Energías libres de solvatación (ΔG_{solv}) de las conformaciones más estables en agua de la amoxicilina sin puente hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH. Se muestra la contribución electrostática (ΔG_{elec}) a la energía libre de solvatación, la contribución asociada a la energía libre necesaria para construir la cavidad y la interacción dispersiva-repulsiva en el medio solvente (ΔG_{cds}).

Conformación espacial	ΔG_{elec} (kJ/mol)	ΔG_{cds} (kJ/mol)	ΔG_{solv} (kJ/mol)
C56	-158,87	32,26	-98,16
C51	-152,97	28,33	-95,89
C43	-151,46	29,46	-95,73
C49	-155,02	34,02	-95,19
C45	-150,04	30,54	-94,89

Tabla 2. Energías libres de solvatación (ΔG_{solv}) de las conformaciones de la amoxicilina con puente hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH. Se muestra la contribución electrostática (ΔG_{elec}) a la energía libre de solvatación, la contribución asociada a la energía libre necesaria para construir la cavidad y la interacción dispersiva-repulsiva en el medio solvente (ΔG_{cds}).

Conformación espacial	ΔG_{elec} (kJ/mol)	ΔG_{cds} (kJ/mol)	ΔG_{solv} (kJ/mol)
C5	-148,28	34,98	-113,30
C47	-142,76	31,21	-111,55
C29	-152,55	32,76	-119,79
C34	-154,89	33,47	-121,42
C56	-151,54	34,39	-117,15

Estos resultados muestran que el arreglo intramolecular tiene una gran influencia en la estabilidad que presenta la molécula en el medio solvente en estudio. En este caso, se observa que las conformaciones espaciales con el puente de hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH tienen la más alta estabilidad en agua. En la Figura 6 se muestran las conformaciones espaciales que fueron evaluadas en esta parte. En este caso, la Figura 6(e) corresponde a la conformación C56 que es la más estable en agua sin puente de hidrógeno en el grupo -COOH. En esta conformación la amoxicilina tiene un arreglo espacial semi extendido. Sin embargo, se presentan diferentes interacciones intramoleculares que le confieren estabilidad en el medio solvente. Aquí se observan las interacciones: (a) entre el oxígeno del grupo -COOH con el grupo metil vecino, (b) entre el átomo de hidrógeno entre el grupo -NH y el grupo -NH₂ y (c) entre el grupo cetónico del anillo beta-lactámico con el hidrógeno del anillo aromático de la molécula. Adicionalmente, esta conformación C56 fue utilizada como configuración inicial con el puente de hidrógeno en el grupo -COOH y optimizada en el medio solvente. En la optimización con puente de hidrógeno intramolecular la ganancia en estabilidad energética fue de -18,99 kJ/mol. En las conformaciones con puente de hidrógeno se observa que la conformación C34 tiene la mayor energía de solvatación. En esta conformación, la amoxicilina está completamente plegada con los grupos -COOH, -NH₂, -C=O y el anillo beta-lactámico expuestos para interactuar con el agua descrito de manera implícita (ver Figura 6(h)). Adicionalmente, con este arreglo conformacional se observa una interacción intramolecular entre el anillo aromático y el azufre presente en el anillo de cinco miembros.

Finalmente, se puede decir que la conformación más estable en agua va a depender de la presencia o no del enlace de hidrógeno intramolecular en la molécula de amoxicilina.

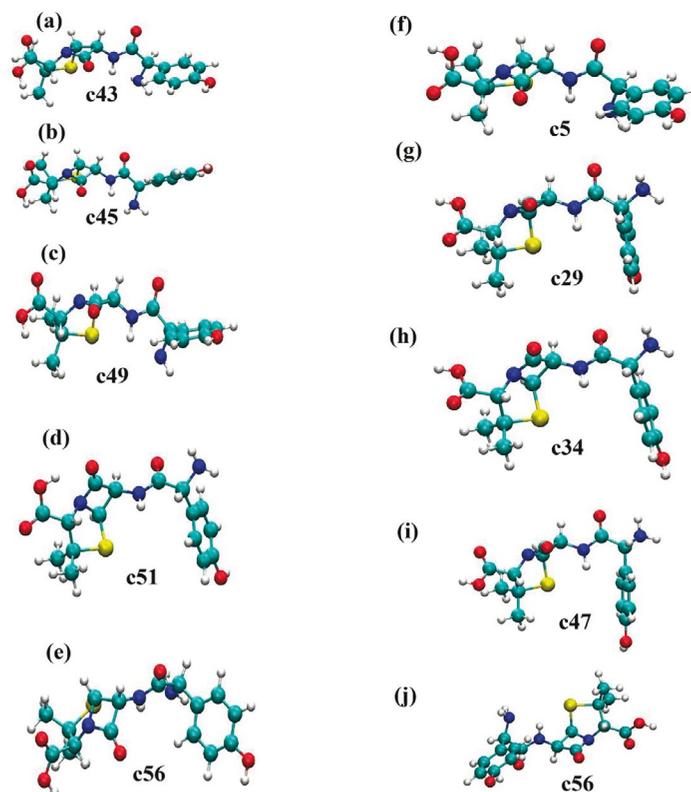


Figura 6. Conformaciones estructurales de la amoxicilina más estables en el agua descrita como solvente implícito. (a), (b), (c), (d) y (e) corresponden a las conformaciones C43, C45, C49, C51 y C56 sin el puente de hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH. (f), (g), (h), (i) y (j) corresponden a las conformaciones C5, C29, C34, C47 y C56 con el puente de hidrógeno intramolecular en el grupo -COOH.

Análisis conformacional de la amoxicilina mediante la simulación de dinámica molecular

La dinámica molecular es un tipo de técnica computacional que ha permitido analizar el comportamiento o evolución de un sistema (físico, químico o biológico) a través del tiempo, calculando las fuerzas entre los átomos que lo conforman mediante las ecuaciones del movimiento de Newton. En este caso, la variación de la conformación espacial de la amoxicilina en presencia de agua definida de forma explícita fue evaluada usando la combinación de los Force Field OPLS-AA [46] y TIP4P [47], [48]. Estos modelos de Force Field han sido ampliamente aceptados para describir las propiedades estructurales y termodinámicas de moléculas orgánicas y agua en diferentes estudios computacionales. La molécula de amoxicilina que fue insertada en la caja con agua presentaba una conformación plegada como se observa en la Figura 3. De esta simulación de dinámica molecular se obtuvieron un total de 20.000 conformaciones espaciales para la molécula de amoxicilina en agua.

En esta primera parte, los cambios conformacionales con respecto a la estructura inicial fueron explorados para evaluar la variación estructural de la molécula de amoxicilina en el agua a lo largo de la simulación. Para realizar esto, la raíz cuadrada de la desviación cuadrática media de las posiciones de los átomos (RMSD) en el espacio ocupado fue determinada usando la trayectoria de las posiciones atómicas a lo largo del tiempo de simulación. La distribución de probabilidad de esta propiedad estructural se muestra en la Figura 7.

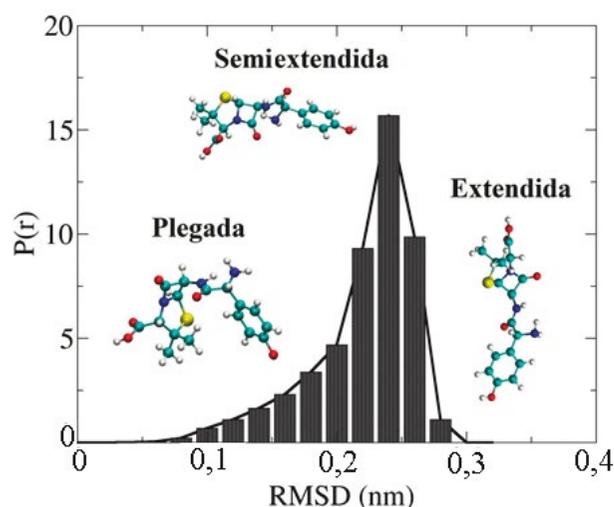


Figura 7. Distribución de probabilidad para el RMSD de la amoxicilina en agua obtenido con la simulación de dinámica molecular. 20000 conformaciones espaciales fueron obtenidas para la amoxicilina. Este valor de RMSD fue determinado usando una conformación plegada de la amoxicilina.

Como se observa en la Figura 7, las conformaciones espaciales obtenidas para la amoxicilina fueron plegadas, semiextendidas y extendidas completamente. En este caso, las conformaciones espaciales semiextendidas y extendidas de la amoxicilina están presentes con mayor proporción en el medio acuoso explícito en comparación con la conformación inicial tipo plegada. La conformación espacial semiextendida se presenta con la mayor probabilidad y un valor de RMSD de 0,26 nm, lo cual indica una gran variación conformacional de la estructura molecular de la amoxicilina en agua en comparación con la estructura inicial que fue colocada dentro de la caja de agua. En dicha conformación espacial, la amoxicilina se encuentra con todos los grupos funcionales expuestos al exterior para interactuar con las moléculas de agua. En cambio, en la estructura con la conformación plegada se observa la interacción intramolecular entre el anillo aromático y

el anillo de cinco miembros presente en la amoxicilina. De igual manera, en esta conformación se observa la interacción tipo puente de hidrógeno entre el átomo de hidrógeno del grupo -NH y el nitrógeno -NH₂ presente en la estructura.

Adicionalmente, la distribución de probabilidad de la energía total de la molécula de amoxicilina para sus diferentes conformaciones en agua fue determinada en este estudio. Este resultado se muestra en la Figura 8.

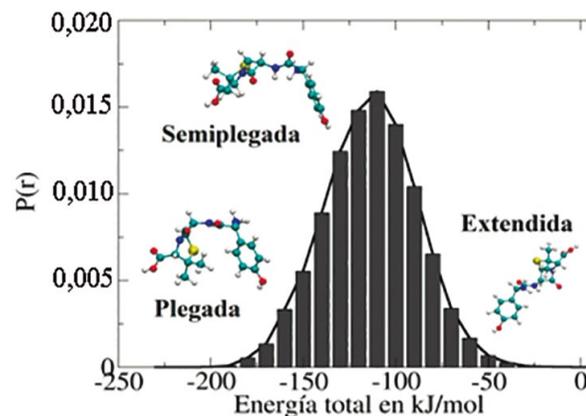


Figura 8. Distribución de probabilidad de la energía total de la amoxicilina en agua obtenida de la simulación de dinámica molecular tipo NVT.

Como se muestra en la Figura 8, las energías totales de las conformaciones obtenidas de la simulación con dinámica molecular se encuentran en un intervalo comprendido entre -200 y -50 kJ/mol. El valor de energía total igual a -50 kJ/mol sugiere que el arreglo espacial extendido para la amoxicilina en agua corresponde a la conformación menos estable presente en el medio solvente. A su vez, la amoxicilina ligeramente plegada es la conformación espacial que tiene la mayor probabilidad de estar presente en el medio acuoso, lo cual indica que esta configuración tiene la población de conformaciones más alta a lo largo del proceso de simulación con un valor de energía total comprendido entre -130 y -100 kJ/mol. También, se puede observar que la conformación completamente plegada tiene la energía más estable (alrededor de -200 kJ/mol) en comparación con el resto de las conformaciones observadas en las simulaciones. En esta conformación plegada se observa que el anillo aromático interacciona con el anillo formado por cinco átomos y los grupos funcionales polares quedan expuestos para interactuar con las moléculas de agua. Esto indica que se presenta el efecto hidrofóbico en este proceso de solvatación de la molécula de amoxicilina en la fase acuosa. Finalmente, los resultados obtenidos de la simulación de dinámica molecular sugieren que hay una considerable variación de las conformaciones de la amoxicilina a lo largo de la simulación. En este caso, el mayor RMSD fue obtenido para la conformación extendida; sin embargo, esta conformación corresponde a la conformación menos estable en el medio solvente desde el punto de vista energético. En cambio, el RMSD (alrededor de 0,1) de la conformación plegada fue el más bajo, lo cual indica que esta conformación es muy parecida a la conformación inicial usada para el proceso de simulación. En este estudio, usando la combinación de modelos de energía potencial OPLS-AA [46] y TIP4P [47], [48], la conformación plegada corresponde a la más estable como lo indica la energía total obtenida de la simulación. La ventaja que tiene el usar la dinámica molecular es que nos permite obtener un mayor conjunto de conformaciones espaciales en comparación con el obtenido con el programa Ballon-v1.8.2 [33]. Este criterio es importante siempre y cuando se utilice el modelo de energía potencial adecuado para describir las moléculas en estudio. En la siguiente sección se exploran las interacciones moleculares entre la amoxicilina y el agua que influyen en su conformación espacial en fase acuosa.

Evaluación de las interacciones moleculares entre la amoxicilina y el agua mediante dinámica molecular

Para evaluar las interacciones moleculares entre la amoxicilina y las moléculas de agua se utilizó la función de distribución radial (RDF, por sus siglas en inglés) que permite determinar las capas de solvatación alrededor de una molécula en particular y la intensidad de la interacción en un medio solvente. La curva RDF entre la amoxicilina y el agua en conjunto con una representación de las capas de solvatación se muestran en la Figura 9.

La curva RDF fue obtenida utilizando los centros de masas de las moléculas involucradas en este estudio. En la Figura 9(a) se observan un total de tres picos de máxima intensidad localizados a las distancias de 2,12; 5,80 y 8,40 Å. Estos picos indican la formación de tres capas de solvatación alrededor de la molécula de amoxicilina. La primera capa de solvatación tiene un espesor de 2,12 Å medido desde el centro de masa de la amoxicilina. La intensidad de este primer pico sugiere que la interacción molecular es muy débil entre las moléculas de agua localizadas en este radio de interacción y la amoxicilina. El número total de moléculas de agua localizadas en esta región es de 31 (ver Figura 9(b)). La segunda capa de solvatación empieza a una distancia 2,12 Å y termina en la posición del segundo pico de interacción a una distancia de 5,80 Å. Las moléculas de agua localizadas en esta capa de solvatación interactúan con las moléculas de amoxicilina y con las moléculas de agua localizadas en la primera capa de solvatación que están interactuando con la molécula de amoxicilina. Esta descripción ha sido utilizada en otros estudios de solvatación explícita [52], [53]. En este caso, las interacciones moleculares que prevalecen en esta región corresponden a los puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua localizadas en esta región. Desde 5,80 hasta 8,40 Å se observa una tercera capa de solvatación alrededor de la molécula de amoxicilina que corresponde a la interacción tipo puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua. El número de moléculas de agua alrededor de la segunda capa de solvatación fue de 90 moléculas según los resultados obtenidos de la simulación realizada (ver Figura 9(b)).

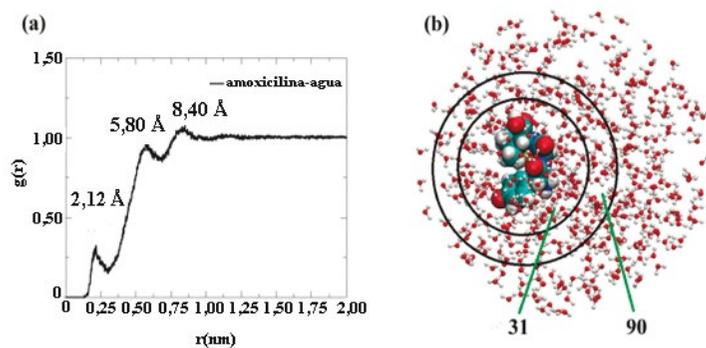


Figura 9. (a) Curva de la función de distribución radial entre la amoxicilina y el agua obtenida de la simulación de dinámica molecular tipo NVT y (b) Capas de solvatación alrededor de la molécula de amoxicilina.

De igual manera, la interacción molecular entre los grupos funcionales presentes en la amoxicilina con el agua fue evaluada mediante la función de distribución radial utilizando los últimos 10 ns de la simulación de dinámica molecular tipo NVT (ver Figura 10). Aquí se observa cómo los grupos funcionales -COOH, -NH₂, -OH y -NH tienen la interacción molecular más fuerte con el agua en el proceso de simulación. En este caso, la fuerza de la interacción con el agua tiene el siguiente orden para los grupos funcionales evaluados: -NH₂ > -OH > -COOH > -NH como lo expresa la magnitud del primer pico de interacción.

El pico de máxima intensidad para el grupo -COOH está localizado a una distancia de 3,04 Å. Este grupo funcional es un donador de protones. Este protón saliente de este grupo funcional puede ser aceptado por las moléculas de agua que rodean a la amoxicilina. En cambio, para los grupos -OH y -NH₂, el pico de máxima intensidad está localizado a 2,80 Å. El grupo -NH₂ tiene un par de electrones libres que lo convierten en un buen aceptor de los hidrógenos presentes en las moléculas de agua y el grupo funcional -OH puede ser solvatación muy bien por las moléculas de agua. La intensidad del pico del grupo -COOH es menor en comparación con el del grupo -NH₂ y el grupo -OH. En este caso, se corrobora que estos grupos funcionales están asociados directamente a los pKa de la molécula de amoxicilina debido a que presentan los picos de interacción de mayor intensidad en la curva de RDF que se muestra en la Figura 10.

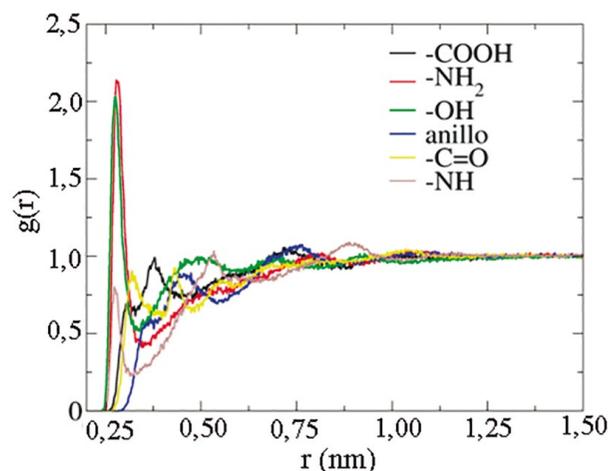


Figura 10. Curva de la función de distribución radial entre los grupos funcionales presentes en la amoxicilina y el agua, obtenida de la simulación de dinámica molecular tipo NVT.

En función de la curva RDF, se puede establecer que los grupos funcionales: -NH₂, -OH y -NH presentes en la amoxicilina tienen una solvatación más efectiva en agua en comparación con el grupo funcional -COOH. También se observa que el anillo beta-lactámico tiene dos picos de interacción débil con intensidades localizadas en las posiciones 4,54 y 7,44 Å. Esto sugiere la presencia de dos capas de solvatación alrededor de este anillo que permite indicar la exposición que tiene esta porción de la molécula de amoxicilina a las moléculas de agua. Adicionalmente, la función de distribución espacial (SDF, por sus siglas en inglés) alrededor de la molécula de amoxicilina fue determinada con la simulación de dinámica molecular [54], [55]. Esta función muestra la isosuperficie que producen las moléculas de agua alrededor de la molécula de amoxicilina. En este caso, la isosuperficie SDF fue obtenida usando como grupo funcional de referencia el -COOH presente en la amoxicilina, como se muestra en la Figura 11.

En la Figura 11 se observan las isosuperficies que corresponden a la capa de solvatación alrededor de los diferentes grupos presentes en la estructura de la amoxicilina. Estas isosuperficies están localizadas en las regiones más hidrofílicas que se muestran en la estructura de la amoxicilina en dicha conformación espacial promedio [52]. Esto indica que las moléculas de agua rodean de forma efectiva los grupos polares presentes en la molécula de amoxicilina. En la Figura 11(a) se muestra cómo la isosuperficie SDF está localizada en la región asociada al grupo -COOH cuando la referencia para determinar dicha propiedad es el mismo grupo funcional. En la Figura 11(b) se observa cómo la isosuperficie cubre completamente a la molécula de amoxicilina cuando la referencia utilizada para su estimación fue el grupo funcional -NH₂ y finalmente para el grupo -OH usado como referencia se observa que la capa de solvatación se concentra de igual manera en la región más hidrofílica de la molécula (ver Figura 11(c)). En este caso, se observa que el anillo aromático no muestra isosuperficies SDF cuando las moléculas

de agua están cerca de su entorno. Para complementar lo obtenido en esta distribución de moléculas de agua alrededor de la estructura molecular de la amoxicilina, la energía de solvatación y la superficie accesible al solvente fueron determinadas para esta molécula en el medio solvente [56], [57]. En la Figura 12 se muestra la energía libre de solvatación y la superficie accesible al solvente como función del tiempo de la simulación de dinámica molecular.

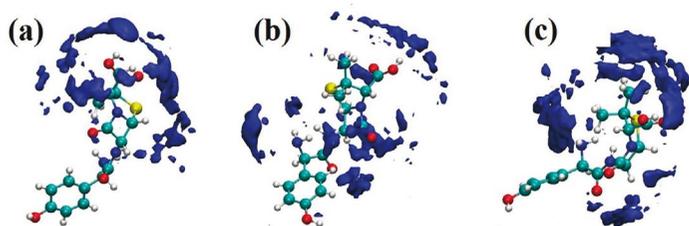


Figura 11. Representación de la función de distribución espacial (SDF, por sus siglas en inglés) del sistema amoxicilina y agua obtenido del análisis de la simulación de dinámica molecular tipo NVT. La SDF fue determinada usando diferentes referencias: (a) grupo funcional -COOH, (b) grupo funcional NH_2 y (c) grupo funcional -OH.

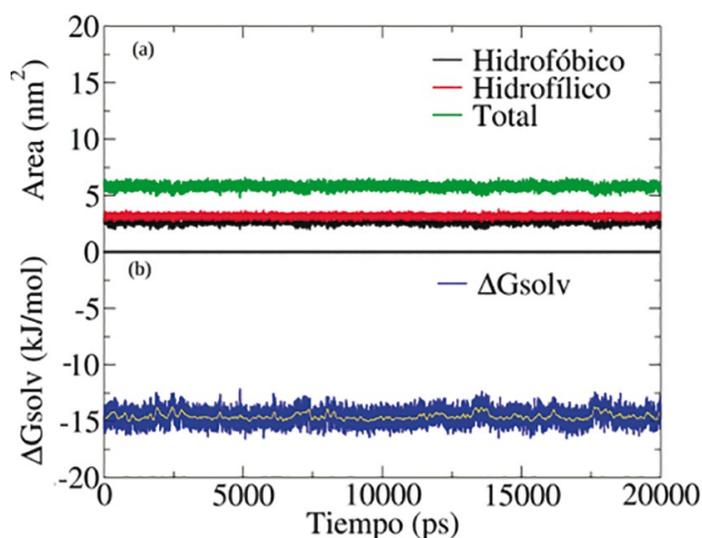


Figura 12. (a) Área accesible al solvente de la amoxicilina como función del tiempo de simulación y (b) Energía libre de solvatación de la amoxicilina en agua como función del tiempo de simulación.

Claramente, como se muestra en la Figura 12(a) la región hidrofílica tiene más área de contacto con el agua en comparación con la región lipofílica. El área accesible al solvente para la región lipofílica de la molécula es de $2,63 \pm 0,17 \text{ nm}^2$ y para la región hidrofílica el área accesible fue de $3,18 \pm 0,23 \text{ nm}^2$. Estos valores indican que la región hidrofílica es la que presenta los grupos funcionales -COOH, $-\text{NH}_2$ y $-\text{NH}$ en conjunto con el anillo beta-lactámico contenido en la estructura de la amoxicilina. Finalmente, el valor de $-14,58 \text{ kJ/mol}$ para la energía libre de solvatación muestra la afinidad que tiene la molécula de amoxicilina por el agua. Sin embargo, este valor es muy bajo comparado con los reportados por Khanal y Adhikari [58], comprendido entre -528 y -558 kJ/mol , el cual fue obtenido por simulaciones de dinámica molecular usando diferentes modelos de energía potencial para describir el agua y distintos métodos de integración para calcular la energía libre de solvatación. Cabe destacar que el valor obtenido en este trabajo sugiere que la molécula de amoxicilina tiene una alta solubilidad en agua a una temperatura de $298,15 \text{ K}$ (ver Figura 12(b)). La solubilidad experimental de la amoxicilina en agua ha sido reportada con un valor aproximado de 4 mg/mL [59], [60]. Finalmente, esto indica que los

resultados de las simulaciones moleculares son consistentes con los valores reportados experimentalmente.

Conclusiones

El arreglo espacial y la interacción molecular de la amoxicilina en agua fueron evaluados mediante dos estrategias de simulación molecular. Inicialmente, el generador de conformaciones espaciales balloon-v-1.8.2 que depende del modelo de energía potencial MMFF94 fue usado para construir las conformaciones de la amoxicilina, y la estabilidad de las conformaciones de esta molécula fue determinada mediante cálculos mecánico-cuánticos en el vacío y en el solvente con el método de solvatación implícita. Los resultados han demostrado que no es adecuado considerar las conformaciones obtenidas por el generador de conformaciones como geometrías aceptables, sino que es necesario hacer una exploración de estas configuraciones usando los cálculos mecánico-cuánticos. Para la amoxicilina se obtuvo que la conformación más estable en el vacío (conformación C1) difiere de la obtenida en el medio solvente (conformación C56). Particularmente, los cálculos mecánico-cuánticos en el vacío sugieren que la amoxicilina tiene una conformación extendida. Sin embargo, usando la solvatación implícita, la amoxicilina tiene un arreglo semiplegada y plegada completamente para la conformación sin puente de hidrógeno y con puente de hidrógeno en el grupo -COOH. La presencia del puente de hidrógeno intramolecular contribuye a incrementar la estabilidad de la molécula en el medio solvente. De la simulación de dinámica molecular, la amoxicilina es bien descrita por el modelo de energía potencial OPLS-AA. En este caso, los resultados sugieren que la conformación más estable en agua corresponde a una conformación plegada. Sin embargo, en la simulación, la conformación con mayor población presente es la conformación semiplegada. De igual manera, la RDF indica que la amoxicilina presenta tres capas de solvatación alrededor de su estructura molecular. La función de densidad espacial y la superficie accesible al solvente sugieren que la amoxicilina tiene una región hidrofílica bien definida en donde se encuentran presentes el anillo beta-lactámico y los grupos -COOH, $-\text{NH}_2$ y $-\text{NH}$. La energía libre de solvatación de $-14,58 \text{ kJ/mol}$ indica que la amoxicilina tiene una muy buena afinidad por el agua. Sin embargo, este valor difiere considerablemente del obtenido por el método de solvatación implícita de $-98,16$ y $-121,42 \text{ kJ/mol}$ para las conformaciones más estables. En este trabajo, ambas estrategias de cálculos permiten explicar el comportamiento de las conformaciones de la amoxicilina en agua.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto Concytec-Banco Mundial "Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica" 8682-PE, por medio de su unidad ejecutora ProCiencia (Contrato 04-2018-FONDECYT/BM), con el objetivo de aportar en la investigación en el modelamiento molecular.

Referencias

- [1] J. Meléndez-Marmolejo, Y. García-Saavedra, V. Galván-Romero, L. D. de León-Martínez, K. Vargas-Berrones, J. Mejía-Saavedra y R. F. Ramírez, "Contaminantes emergentes. Problemática ambiental asociada al uso de antibióticos. Nuevas técnicas de detección, remediación y perspectivas de legislación en América Latina", *Revista de Salud Ambiental*, vol. 20, no. 1, pp. 53-61, 2020. <https://ojs.diffundit.com/index.php/rsa/article/view/1033>.

- [2] J. P. Bound and N. Voulvoulis, "Pharmaceuticals in the aquatic environment—a comparison on risk assessment strategies", *Chemosphere*, vol. 56, pp. 1143-1155, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.05.010>.
- [3] W. Gaze and M. Depledge, "Antimicrobial Resistance: Investigating the Environmental Dimension-Frontiers 2017: Emerging Issues of Environmental Concern", *Frontiers 2017: Emerging Issues of Environmental Concern*, pp. 12-22, 2017. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/22263>.
- [4] A. Nikravan, "Amoxicillin and ampicillin removal from wastewater by Fenton and Photo-Fenton processes", 2015. <http://hdl.handle.net/11655/2661>.
- [5] A. Ghauch, A. Tuqan, and H. Abou Assi, "Antibiotic removal from water: elimination of amoxicillin and ampicillin by microscale and nanoscale iron particles", *Environmental pollution*, vol. 157, no. 5, pp. 1626-1635, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.12.024>.
- [6] K. Qin, Q. Zhao, H. Yu, J. Li, J. Jiang, K. Wang, and L. Wei, "Removal trend of amoxicillin and tetracycline during groundwater recharging reusing: Redox sensitivity and microbial community response", *Chemosphere*, vol. 282, pp. 131011, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131011>.
- [7] I. Gozlan, A. Rotstein, and D. Avisara, "Amoxicillin-degradation products formed under controlled environmental conditions: identification and determination in the aquatic environment", *Chemosphere*, vol. 91, no. 7, pp. 985-992, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.095>.
- [8] K. K. Sodhi, M. Kumar, and D. K. Singh, "Insight into the amoxicillin resistance, ecotoxicity, and remediation strategies", *Journal of Water Process Engineering*, vol. 39, pp. 101858, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101858>.
- [9] G. Binson, C. Grignon, G. Le Moal, P. Lazaro, J. Lelong, F. Roblot, and A. Dupuis, "Overcoming stability challenges during continuous intravenous administration of high-dose amoxicillin using portable elastomeric pumps", *Plos one*, vol. 14, no. 8, p. e0221391, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221391>.
- [10] I. Anastopoulos, I. Pashalidis, A. G. Orfanos, I. D. Manariotis, T. Tatarchuk, L. Sellaoui, and A. Núñez-Delgado, "Removal of caffeine, nicotine and amoxicillin from (waste) waters by various adsorbents. A review", *Journal of Environmental Management*, vol. 261, pp. 110236, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110236>.
- [11] F. K. Kies, S. Boutchebak, and N. Bendaïda, "Soil Contamination by Pharmaceutical Pollutants: Adsorption of an Antibiotic (Amoxicillin) on an Agricultural Land", *Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*, vol. 30, no. 1, pp. 60, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/proceedings2019030060>.
- [12] M. Verma and A. K. Haritash, "Photocatalytic degradation of Amoxicillin in pharmaceutical wastewater: A potential tool to manage residual antibiotics", *Environmental Technology & Innovation*, vol. 20, p. 101072, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101072>.
- [13] M. Verma and A. K. Haritash, "Degradation of amoxicillin by Fenton and Fenton-integrated hybrid oxidation processes", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 7, no. 1, pp. 102886, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.102886>.
- [14] Z. L. Wu, J. Zhao, and R. Xu, "Recent advances in oral nano-antibiotics for bacterial infection therapy", *International Journal of Nanomedicine*, vol. 15, pp. 9587, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2147/ijn.s279652>.
- [15] J. Zhang, C. Zheng, Y. Dai, C. He, H. Liu, and S. Chai, "Efficient degradation of amoxicillin by scaled-up electro-Fenton process: attenuation of toxicity and decomposition mechanism", *Electrochimica Acta*, vol. 381, pp. 138274, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.138274>.
- [16] R. R. Kalantary, M. Farzadkia, M. Kermani, and M. Rahmatinia, "Heterogeneous electro-Fenton process by Nano-Fe₃O₄ for catalytic degradation of amoxicillin: Process optimization using response surface methodology", *Journal of environmental chemical engineering*, vol. 6, no. 4, pp. 4644-4652, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.06.043>.
- [17] J. I. Martínez-Costa, J. Rivera-Utrilla, R. Leyva-Ramos, M. Sánchez-Polo, I. Velo-Gala, and A. J. Mota, "Individual and simultaneous degradation of the antibiotics sulfamethoxazole and trimethoprim in aqueous solutions by Fenton, Fenton-like and photo-Fenton processes using solar and UV radiations", *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 360, pp. 95-108, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.04.014>.
- [18] J. Kuntail, A. Verma, S. Kumar, and I. Sinha, "Photo-Fenton interfacial phenomena on graphene oxide: Computational and experimental investigations", *Journal of Molecular Liquids*, vol. 342, p. 117461, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117461>.
- [19] J. Uthuppan and K. Soni, "Conformational analysis: a review", *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, vol. 4, no. 1, p. 34, 2013. DOI: [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4\(1\).34-41](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4(1).34-41).
- [20] O. M. Salo-Ahen, I. Alanko, R. Bhadane, A. M. Bonvin, R. V. Honorato, S. Hossain, and M. Vanmeert, "Molecular dynamics simulations in drug discovery and pharmaceutical development", *Processes*, vol. 9, no. 1, p. 71, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr9010071>.
- [21] S. Hossain, A. Kabelev, A. Parrow, C. A. Bergström, and P. Larsson, "Molecular simulation as a computational pharmaceuticals tool to predict drug solubility, solubilization processes and partitioning", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 137, pp. 46-55, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.02.007>.
- [22] M. Lundborg, C. L. Wennberg, A. Narangifard, E. Lindahl, and L. Norlén, "Predicting drug permeability through skin using molecular dynamics simulation", *Journal of controlled release*, vol. 283, pp. 269-279, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.05.026>.
- [23] R. S. Katiyar and P. K. Jha, "Molecular simulations in drug delivery: Opportunities and challenges", *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, vol. 8, no. 4, p. e1358, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/wcms.1358>.
- [24] J. Rubio-Martinez, M. Santos Tomas, and J. J. Perez, "Effect of the Solvent on the Conformational Behavior of the Alanine Dipeptide deduced from MD simulations", *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 78, p. 118-128, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmglm.2017.10.005>.
- [25] S. Hezaveh, S. Samanta, G. Milano, and D. Roccatano, "Molecular dynamics simulation study of solvent effects on conformation and dynamics of polyethylene oxide and polypropylene oxide chains in water and in common organic solvents", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 136, no. 12, p. 124901. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.3694736>.
- [26] L. Settimo, K. Bellman, and R. M. Knegtel, "Comparison of the accuracy of experimental and predicted pKa values of basic and acidic compounds", *Pharmaceutical research*, vol. 31, pp. 1082-1095, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11095-013-1232-z>.
- [27] ACE; ACE and JChem acidity and basicity calculator. ACE UKY-4.0, 2005-2015. Marvin JS. ChemAxon. Available from, as of Nov. 11, 2016: <https://epoch.uky.edu/ace/public/pKa.jsp>.
- [28] M. Cossi, V. Barone, R. Cammi, and J. Tomasi, "Ab initio study of solvated molecules: a new implementation of the polarizable continuum model", *Chemical Physics Letters*, vol. 255, no. 4-6, pp. 327-335, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(96\)00349-1](https://doi.org/10.1016/0009-2614(96)00349-1).
- [29] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, and V. Barone, "Polarizable dielectric model of solvation with inclusion of charge penetration effects", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 114, no. 13, pp. 5691-5701, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.1354187>.
- [30] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani, and V. Barone, "Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model", *Journal of computational chemistry*, vol. 24, no. 6, pp. 669-681, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.10189>.
- [31] Pubchem, "National Library of Medicine", 2022. [En línea]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33613#section=3D-Conformer>. [Último acceso: 10 06 2022]
- [32] M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek, and G. R. Hutchison, "Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform", *Journal of Cheminformatics*, vol. 4, no. 1, pp. 1-17, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>.

- [33] M. J. Vainio and M. S. Johnson, "Generating Conformer Ensembles Using a Multiobjective Genetic Algorithm", *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 47, pp. 2462-2474, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/ci6005646>.
- [34] T. A. Halgren, "Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94", *Journal of computational chemistry*, vol. 17, no. 5-6, pp. 490-519. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199604\)17:5/6%3C490::AID-JCC1%3E3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6%3C490::AID-JCC1%3E3.0.CO;2-P).
- [35] B. M. Bode and M. S. Gordon, "MacMolPlt: a graphical user interface for GAMESS", *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 16, no. 3, pp. 133-138, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1093-3263\(99\)00002-9](https://doi.org/10.1016/S1093-3263(99)00002-9).
- [36] M. W. Schmidt *et al.* "General atomic and molecular electronic structure system", *Journal of computational chemistry*, vol. 14, no. 11, pp. 1347-1363, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.540141112>.
- [37] G. M. J. Barca *et al.* "Recent developments in the general atomic and molecular electronic structure system", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 152, no. 15, pp. 154102, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0005188>.
- [38] M. S. Gordon and M. W. Schmidt, "Advances in electronic structure theory: GAMESS a decade later", in *Theory and Applications of Computational Chemistry: the first forty years*, C. E. Dykstra, G. Frenking, K. S. Kim, G. E. Scuseria (editors), Elsevier, Amsterdam, pp. 1167-1189, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-044451719-7/50084-6>.
- [39] Y. Zhao and D. G. Truhlar, "Density functionals with broad applicability in chemistry", *Accounts of chemical research*, vol. 41, no. 2, pp. 157-167, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/ar700111a>.
- [40] V. A. Rassolov, J. A. Pople, M. A. Ratner, and T. L. Windus, "6-31G* basis set for atoms K through Zn", *The Journal of chemical physics*, vol. 109, no. 4, pp. 1223-1229, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.476673>.
- [41] A. V. Marenich, C. J. Cramer, and D. G. Truhlar, "Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 113, no. 18, pp. 6378-6396, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp810292n>.
- [42] K. Zimmermann, "Oral: All purpose molecular mechanics simulator and energy minimizer", *Journal of computational chemistry*, vol. 12, no. 3, pp. 310-319, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.540120305>.
- [43] G. Bussi, D. Donadio, and M. Parrinello, "Canonical sampling through velocity rescaling", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 126, no. 1, p. 014101, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.2408420>.
- [44] U. Essmann, L. Perera, M. L. Berkowitz, T. Darden, H. Lee, and L. G. Pedersen, "A smooth particle mesh Ewald method", *J. Chem. Phys.*, vol. 103, pp. 8577-8592, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.470117>.
- [45] M. J. Robertson, J. Tirado-Rives, and W. L. Jorgensen, "Improved Peptide and Protein Torsional Energetics with the OPLS-AA Force Field", *J. Chem. Theory Comput.* vol. 11, no. 7, pp. 3499-3509, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00356>.
- [46] L. S. Dodda, I. Cabeza de Vaca, J. Tirado-Rives, and W. L. Jorgensen, "LigParGen web server: An automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands", *Nuc. Acids Res.*, vol. W1, pp. 6665-6670, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx312>.
- [47] P. Mark and L. Nilsson, "Structure and dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E water models at 298 K", *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 105, no. 43, pp. 9954-9960, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp003020w>.
- [48] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey, and M. L. Klein, "Comparison of simple potential functions for simulating liquid water", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 79, no. 2, pp. 926-935, 1983. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.445869>.
- [49] D. van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, G. Groenhof, A.E. Mark, and H.J.C. Berendsen, "GROMACS: Fast, Flexible and Free". *J. Comp. Chem.*, vol. 26, pp. 1701-1718, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.20291>.
- [50] B. Hess, C. Kutzner, D. van der Spoel, and E. Lindahl, "GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation", *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 4, no. 3, pp. 435-447, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/ct700301q>.
- [51] R. Petry, B. Focassio, G. R. Schleder, D. S. T. Martinez, and A. Fazzio, "Conformational analysis of tannic acid: Environment effects in electronic and reactivity properties", *The Journal of Chemical Physics*, vol. 154, no. 22, p. 224102, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0045968>.
- [52] Y. Shi-Ming, Y. Hui, L. Kai, L. Cheng-Bu, and Y. Shi-Ling, "Surface behavior of model surfactant: A theoretical simulation study", *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 348, no. 1, pp. 159-166, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.04.026>.
- [53] I. W. Chun, C. H. Chi, and A. C. Chow, "Dynamic Solvation Shell and Solubility of C60 in Organic Solvents", *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 118, no. 33, pp. 9964-9973, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp506572p>.
- [54] I. M. Svishchev and P. G. Kusalik, "Structure in liquid water: A study of spatial distribution functions", *The Journal of chemical physics*, vol. 99, no. 4, pp. 3049-3058, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.465158>.
- [55] I. M. Svishchev and P. G. Kusalik, "Structure in liquid methanol from spatial distribution functions", *The Journal of chemical physics*, vol. 100, no. 7, pp. 5165-5171, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.467181>.
- [56] F. Eisenhaber, P. Lijnzaad, P. Argos, C. Sander, and M. Scharf, "The double dube lattice Method: efficient approaches to numerical integration of surface area and Volume and to Dot Surface Contouring of Molecular Assemblies", *J. Comp. Chem.*, vol. 16, pp. 273-284, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.540160303>.
- [57] D. Eisenberg and A. D. McLachlan, "Solvation energy in protein folding and binding", *Nature*, vol. 319, pp. 199-203, 1986. DOI: <https://doi.org/10.1038/319199a0>.
- [58] S. P. Khanal and N. P. Adhikari, "Thermodynamic and transport properties of amoxicillin", *Journal of Molecular Liquids*, vol. 354, pp. 118865, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118865>.
- [59] P. Bhattacharyya and W. Cort, "Amoxicillin", *Analytical Profiles of Drug Substances*, vol. 7, pp. 19-41, 1978. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60088-X](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60088-X).
- [60] I. Felix, L. Moreira, O. Chiavone-Filho, and S. Mattedi, "Solubility measurements of amoxicillin in mixtures of water and ethanol from 283.15 to 298.15 K", *Fluid Phase Equilibria*, no. 422, pp. 78-86, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2016.02.040>.

Citación de Artículo:

M. Á. Carrillo - Hernández, W. H. Hirota & J.G. Parra, "Comportamiento de la amoxicilina en agua mediante métodos de solvatación implícita y explícita", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 51, no. 2, pp. 25-34, 2022. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v51n2.103567>