

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotechnológica



**ANÁLISIS DEL EFECTO DEL SOLVENTE EN PRESENCIA DE AGENTES
OXIDANTES Y VARIACIONES DE TEMPERATURAS FRENTE A LA
DESCOMPOSICIÓN DEL CONTAMINANTE EMERGENTE AZITROMICINA
POR MEDIO DE ENFOQUES BIOINFORMÁTICOS: NUEVOS RETOS EN EL
TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS EN TIEMPOS DE COVID-19 Y
POST COVID-19**

Tesis presentada por el Bachiller:

Centeno Lopez Angela Emperatriz

Para optar el Título Profesional de
Ingeniero Biotecnólogo.

Asesor:

**PhD(c) Barazorda Ccahuana
Haruna Luz**

**Arequipa- Perú
2024**

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 05 de Junio del 2023

Dictamen: 004304-C-EPIB-2023

Visto el borrador del expediente 004304, presentado por:

2016202822 - CENTENO LOPEZ ANGELA EMPERATRIZ

Titulado:

**ANÁLISIS DEL EFECTO DEL SOLVENTE EN PRESENCIA DE AGENTES OXIDANTES Y
VARIACIONES DE TEMPERATURAS FRENTE A LA DESCOMPOSICIÓN DEL CONTAMINANTE
EMERGENTE AZITROMICINA POR MEDIO DE ENFOQUES BIOINFORMÁTICOS: NUEVOS RETOS
EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS EN TIEMPOS DE COVID-19 Y POST COVID-19**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**29705901 - GOMEZ VALDEZ BADHIN
DICTAMINADOR**



**41404327 - BARREDA DEL CARPIO JAIME ERNESTO
DICTAMINADOR**



**44327250 - MEDINA PEREZ JEANETH MARISOL
DICTAMINADOR**



ANÁLISIS DEL EFECTO DEL SOLVENTE EN PRESENCIA DE AGENTES OXIDANTES Y VARIACIONES DE TEMPERATURAS FRENTE A LA DESCOMPOSICIÓN DEL CONTAMINANTE EMERGENTE AZITROMICINA POR MEDIO DE ENFOQUES BIOINFORMÁTICO

INFORME DE ORIGINALIDAD

4%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.epa.gov

Fuente de Internet

2%

2

repositorio.ucsm.edu.pe

Fuente de Internet

1%

3

repositorio.ujed.mx

Fuente de Internet

1%

4

ela.kpi.ua

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

DEDICATORIA

Quiero agradecer primero a Dios por haber puesto en mi camino personas buena y por haberme dado una gran familia, a quienes les dedico este trabajo de investigación, a mis padres Madeleyne y Alfredo, porque sin todas sus enseñanzas, apoyo, valores y amor no sería quien soy, a mi querido hermano José, por creer en mí y estar a mi lado, a mis tíos y primos y en especial a mis tías, mujeres perseverantes que me brindaron consejos y siempre me motivaron a seguir adelante, a mis abuelos por celebrar cada paso que doy. También le dedico la presente tesis a mi compañera incondicional, por el apoyo y por estar en los momentos optimistas y desalentadores durante la carrera además de su cariño, igualmente, a mis queridos amigos de años y aquellos que compartieron conmigo y que me ayudaron a crear bellos recuerdos, gracias por sus consejos y su cariño hacia mí y por ultimo y no menos importante gracias a todos aquellos docentes que compartieron sus conocimientos a lo largo de los cinco años.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a Dios por guiarme y mantenerme en el camino correcto. A la Universidad Católica de Santa María por brindarme y permitirme aprender de excelentes profesionales durante estos 5 años.

Este nuevo paso es en gran parte gracias a mi familia, parte fundamental de lo que soy, lo que hago y he logrado hasta hoy, gracias por estar en mis peores y los mejores momentos, por enseñarme que nada llega fácil sin sacrificio y por enseñarme que no existe persona perfecta, que de los tropiezos se aprende a salir adelante, gracias por hacerme feliz y por fomentar en mí el deseo de superación, por su sacrificio y amor. Y en el largo camino que me falta por seguir, sé que estarán a mi lado.

Las palabras no podrían expresar mi gratitud hacia mi mentora la PhD(c) Haruna L. Barazorda Ccahuana que estuvo presente en cada momento, guiándome en todo el proceso, que compartió sus conocimientos y su valioso tiempo para sacar a delante este trabajo. Al Laboratorio Computational Biology and Chemistry Research Group de la Universidad Católica de Santa María por brindarme los equipos necesarios para trabajar, así como sus miembros, Margot, por su disposición y su ayuda, todos aquellos que hicieron que la realización de esta investigación fuera una experiencia gratificante y por último a los dictaminadores por su apoyo y su tiempo.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS	4
ÍNDICE DE FIGURAS	10
ÍNDICE DE ANEXOS	17
GLOSARIO	19
RESUMEN	20
ABSTRACT	21
INTRODUCCIÓN	22
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS	25
OBJETIVO GENERAL	25
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
TABLA DE VARIABLES E INDICADORES.	25
CAPÍTULO I	26
1. MARCO TEÓRICO	27
1.1 Contaminantes emergentes (CE)	28
1.2 Situación mundial de la presencia de Contaminantes Emergentes e implicaciones ambientales durante los últimos años	31
1.2.1 Asia	32
1.2.2 Europa	34
1.2.3 África	36

1.2.4	América.....	37
1.2.5	Oceanía	40
1.3	Azitromicina.....	40
1.3.1	Metabolismo y excreción.....	42
1.3.2	Azitromicina en el tratamiento de COVID-19.....	42
1.3.3	Información ecológica	44
1.4	Azitromicina: Presencia, persistencia mundial y efectos ambientales adversos.	45
1.5	Procesos de oxidación avanzada	48
1.5.1	Tecnologías electroquímicas de oxidación avanzada	50
1.5.2	Radical hidroxilo en el origen y proceso de los PEOA	50
1.5.3	Ventajas y desventajas de los PEOA	52
1.6	Bioinformática.....	53
1.7	Bioinformática y otras herramientas computacionales en la degradación de contaminantes ambientales.....	55
1.8	Mecánica molecular.....	56
1.8.1	Dinámica molecular.....	56
1.8.2	Campos de fuerza (CF).....	58
1.8.3	Simulación de dinámica molecular.....	62
1.9	GROMACS	64
1.9.1	Desviación cuadrática media de la raíz (RMSD)	65
1.9.2	Fluctuación de raíz cuadrada media (RMSF)	66
1.9.3	Radio de giro (Rg)	66

1.9.4	Puentes de Hidrógeno (HBond).....	67
1.9.5	Área de superficie accesible a solventes (SASA).....	67
CAPÍTULO II.....		69
2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	70
2.1	Lugar de ejecución.....	71
2.1.1	Ámbito geográfico.....	71
2.1.2	Ambientes por utilizar.....	71
2.2	Materiales.....	71
2.2.1	Hardware.....	71
2.2.2	Software.....	72
2.3	Métodos.....	73
2.3.1	Diseño de estructuras moleculares y obtención de topologías.....	73
2.3.2	Construcción de los sistemas de simulación.....	77
2.3.3	Minimización de energía.....	77
2.3.4	Simulación de dinámica molecular.....	78
2.3.5	Análisis de parámetros termodinámicos.....	80
CAPÍTULO III.....		83
3.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	84
3.1	Búsqueda y Diseño de estructuras moleculares.....	85
3.2	Comportamiento del Contaminante Emergentes Azitromicina frente a distintas temperaturas de simulación.....	90
3.2.1	Simulación de dinámica molecular de los grupos análisis a temperatura de 293.15 K (20 °C).....	90

3.2.2 Simulación de dinámica molecular del grupo de sistemas a 300K (28°C).	107
3.2.3 Simulación de dinámica molecular de los grupos análisis a temperatura de 323K (50 °C).....	124
3.3 Análisis de los parámetros termodinámicos obtenidos del comportamiento de la Azitromicina en los distintos sistemas.	140
CONCLUSIONES	146
RECOMENDACIONES	148
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	149
ANEXOS	162



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunos reportes de la presencia de Antibióticos en países asiáticos.	33
Tabla 2. Ensayos clínicos que prueban la eficiencia de la Azitromicina en diferentes virus y coronavirus.....	43
Tabla 3. Reportes en distintos países de la presencia de la Azitromicina en cuerpos de agua.	46
Tabla 4. Programa / softwares más empleados en trabajos de Simulación de Dinámica Molecular y sus atributos.....	59
Tabla 5. Campos de fuerza más utilizados en Mecánica Molecular.	61
Tabla 6. Diferentes combinaciones de sistemas moleculares (ZIT-OH).....	76
Tabla 7. Principales parámetros termodinámicos considerados en esta investigación.	81
Tabla 8. Detalles moleculares de la azitromicina y del radical hidroxilo.	85
Tabla 9. Propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) de la Azitromicina.....	88
Tabla 10. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 293.15 K (20°C).....	107
Tabla 11. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 300 K (28°C).....	124
Tabla 12. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 323 K (50°C).....	140
Tabla 13. Resultados finales de RMSD, RMSF, RG y SASA generados a partir del análisis de los sistemas a diferentes temperaturas.	141

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Variedad de contaminantes emergentes que presentan un riesgo sobre bióticos (animales, microorganismos, plantas y seres humanos) y abióticos (suelo, aire, agua)	29
Figura 2. Fuentes de liberación de compuestos farmacéuticos usados para tratamiento de enfermedades de personas y animales al medio ambiente	31
Figura 3. Reportes de la presencia de algunos medicamentos en cuerpos de agua en países asiáticos(1).....	34
Figura 4. Escenario Europeo de la presencia de antibióticos en cuerpos de agua(31)...	35
Figura 5. Reporte de las concentraciones de alrededor de 10 antibióticos en ng/L presentes en aguas de diferentes países europeos(2).....	36
Figura 6. Representación gráfica del porcentaje de artículos de investigación por parte de monitoreos en países africanos relacionados a la presencia de Contaminantes Emergentes(49).....	37
Figura 7. Reportes científicos publicados en diferentes países de Latino América relacionados la CE en cuerpos de agua(51).....	39
Figura 8. Estructura química de la Azitromicina.	41
Figura 9. Principales fuentes de contaminación de desechos de antibiótico y los principales impactos(76).....	46
Figura 10. Esquema de la clasificación de los distintos tratamientos basados en Procesos de Oxidación Avanzada (POAs)	50
Figura 11. Diferentes Procesos de Oxidación Avanzada donde se genera radicales hidroxilo (OH).....	52
Figura 12. Bioinformática y ciencia computacional ligada a la biología y el medio ambiente	54

Figura 13. Herramientas bioinformáticas empleadas frente a contaminantes emergentes(124).	56
Figura 14. Proceso de Simulación de Dinámica Molecular.	57
Figura 15. Términos de energía potencial y de interacción que componen un campo de fuerza(129).	60
Figura 16. Pasos generales para ejecutar correctamente una simulación de Dinámica Molecular(137).	63
Figura 17. Descripción general de los archivos utilizados en GROMACS para una simulación de MD (138).	65
Figura 18. Área de superficie accesible a solventes.	68
Figura 19. Interfaz de la base de datos PubChem.	74
Figura 20. Interfaz de la base de datos especializada PDB (Banco de datos de proteína).	74
Figura 21. Archivo formato *.sdf de la Azitromicina.	75
Figura 22. Interfaz del servidor ACPYPE (AnteChamber PYthon Parser interfacE)... ..	75
Figura 23. Parámetros utilizados para la minimización.	78
Figura 24. Valores iniciales que fueron empleados en el cálculo de Dinámica Molecular utilizando el ensamble NVT.	79
Figura 25. Valores iniciales que fueron empleados en el cálculo de Dinámica Molecular utilizando el ensamble NPT.	80
Figura 26. Moléculas empleadas en los distintos sistemas de Simulación de Dinámica Molecular. A) Azitromicina, B) Radical hidroxilo.	85
Figura 27. Estructura química de la Azitromicina. a) Representación gráfica de la composición molecular 2D, b) Identificación de las estructuras más importantes que componen el antibiótico macrólido.	87

- Figura 28.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-0OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **1A.** 0ns, **1B.** 20ns, **1C.** 40ns, **1D.** 60ns, **1E.** 80ns y **1F.** 100ns.....91
- Figura 29.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-50OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **2A.** 0ns, **2B.** 20ns, **2C.** 40ns, **2D.** 60ns, **2E.** 80ns y **2F.** 100ns.....92
- Figura 30.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).....94
- Figura 31.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-0OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **3A.** 0ns, **3B.** 20ns, **3C.** 40ns, **3D.** 60ns, **3E.** 80ns y **3F.** 100ns.....95
- Figura 32.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-50OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **4A.** 0ns, **4B.** 20ns, **4C.** 40ns, **4D.** 60ns, **4E.** 80ns y **4F.** 100ns.....96
- Figura 33.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).....98
- Figura 34.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-0OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **5A.** 0ns, **5B.** 20ns, **5C.** 40ns, **5D.** 60ns, **5E.** 80ns y **5F.** 100ns.....99
- Figura 35.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-50OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **6A.** 0ns, **6B.** 20ns, **6C.** 40ns, **6D.** 60ns, **6E.** 80ns y **6F.** 100ns.....100

- Figura 36.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA)..... 102
- Figura 37.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-0OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **7A.** 0ns, **7B.** 20ns, **7C.** 40ns, **7D.** 60ns, **7E.** 80ns y **7F.** 100ns..... 103
- Figura 38.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-50OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **8A.** 0ns, **8B.** 20ns, **8C.** 40ns, **8D.** 60ns, **8E.** 80ns y **8F.** 100ns..... 104
- Figura 39.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA)..... 106
- Figura 40.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-0OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **9A.** 0ns, **9B.** 20ns, **9C.** 40ns, **9D.** 60ns, **9E.** 80ns y **9F.** 100ns..... 108
- Figura 41.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-50OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **10A.** 0ns, **10B.** 20ns, **10C.** 40ns, **10D.** 60ns, **10E.** 80ns y **10F.** 100ns..... 109
- Figura 42.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes (SASA)..... 111
- Figura 43.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-0OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **11A.** 0ns, **11B.** 20ns, **11C.** 40ns, **11D.** 60ns, **11E.** 80ns y **11F.** 100ns..... 112

- Figura 44.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-50OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **12A.** 0ns, **12B.** 20ns, **12C.** 40ns, **12D.** 60ns, **12E.** 80ns y **12F.** 100ns.....113
- Figura 45.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes (SASA).....115
- Figura 46.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-0OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **13A.** 0ns, **13B.** 20ns, **13C.** 40ns, **13D.** 60ns, **13E.** 80ns y **13F.** 100ns.....116
- Figura 47.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-50OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **14A.** 0ns, **14B.** 20ns, **14C.** 40ns, **14D.** 60ns, **14E.** 80ns y **14F.** 100ns.....117
- Figura 48.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).....119
- Figura 49.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-0OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **15A.** 0ns, **15B.** 20ns, **15C.** 40ns, **15D.** 60ns, **15E.** 80ns y **15F.** 100ns.....120
- Figura 50.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-50OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **16A.** 0ns, **16B.** 20ns, **16C.** 40ns, **16D.** 60ns, **16E.** 80ns y **16F.** 100ns.121
- Figura 51.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).....123

- Figura 52.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-0OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **17A.** 0ns, **17B.** 20ns, **17C.** 40ns, **17D.** 60ns, **17E.** 80ns y **17F.** 100ns.....125
- Figura 53.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-50OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **18A.** 0ns, **18B.** 20ns, **18C.** 40ns, **18D.** 60ns, **18E.** 80ns y **18F.** 100ns.....126
- Figura 54.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 323K (50°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).....128
- Figura 55.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-0OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **19A.** 0ns, **19B.** 20ns, **19C.** 40ns, **19D.** 60ns, **19E.** 80ns y **19F.** 100ns.....129
- Figura 56.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-50OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **20A.** 0ns, **20B.** 20ns, **20C.** 40ns, **20D.** 60ns, **20E.** 80ns y **20F.** 100ns.....130
- Figura 57.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 323K (50°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).....132
- Figura 58.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-0OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **21A.** 0ns, **21B.** 20ns, **21C.** 40ns, **21D.** 60ns, **21E.** 80ns y **21F.** 100ns.....133
- Figura 59.** Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-50OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **22A.** 0ns, **22B.** 20ns, **22C.** 40ns, **22D.** 60ns, **22E.** 80ns y **22F.** 100ns.....134

Figura 60. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 323K (50°C). I. Desviación media cuadrática (RMSD), II. Fluctuación cuadrática media (RMSF), III. Radio de giro (RG) y IV. Área de superficie accesible a solvente (SASA).....	135
Figura 61. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema 100ZIT-0OH-50 en diferentes puntos de la trayectoria. 23A. 0ns, 23B. 20ns, 23C. 40ns, 23D. 60ns, 23E. 80ns y 23F. 100ns.....	136
Figura 62. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema 100ZIT-50OH-50 en diferentes puntos de la trayectoria. 24A. 0ns, 24B. 20ns, 24C. 40ns, 24D. 60ns, 24E. 80ns y 24F. 100ns.	137
Figura 63. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua c/s 50 moléculas de OH a 323K (50°C). I. Desviación media cuadrática (RMSD), II. Fluctuación cuadrática media (RMSF), III. Radio de giro (RG) y IV. Área de superficie accesible a solvente (SASA).....	139
Figura 64. Resumen de los valores de RMSD para ZIT con los radicales OH.	143
Figura 66. Resumen de los valores de RG para ZIT con los radicales OH.....	144
Figura 67. Resumen de los valores de SASA para ZIT con los radicales OH.....	144
Figura 65. Representación gráfica del sistema 25ZIT-50OH a 20°C.	145

ÍNDICE DE ANEXOS

- Tabla A1.** Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 293.15 K (20°C). 162
- Figura A1.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación me a cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente..... 163
- Figura A2.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente..... 164
- Figura A3.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente..... 165
- Figura A4.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente..... 166
- Tabla A2.** Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 300 K (28°C). 167
- Figura A5.** Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.**

Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes.168

Figura A6. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes.169

Figura A7. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente.170

Figura A8. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente.171

Figura A9. Visualización de la interacción intermolecular de la Azitromicina frente al solvente y el agente oxidante OH.175

Figura A10. Representación Gráfica de RMSF de las moléculas de Azitromicina sobre puestas y la visualización del comportamiento de una respecto a otra molécula a lo largo de la trayectoria en las diferentes condiciones de estudio.181

GLOSARIO

AZT = Azitromicina.

ZIT = Azitromicina (RCSB PDB)

OH = Radical hidroxilo.

CE = Contaminantes Emergentes.

SARS = Síndrome respiratorio agudo grave.

MERS = Síndrome respiratorio de Oriente Medio.

OMS = Organización Mundial de la Salud.

POAs = Procesos de Oxidación Avanzada.

PEOA = Procesos Electroquímicos de Oxidación Avanzada.

H₂O₂ = Peróxido de hidrógeno.

O₃ = Ozono.

O₂ = Radical superóxido.

SO₄ = Anión radical sulfato.

GROMACS = Máquina de Groningen para Simulaciones Químicas.

RMSD = Desviación media cuadrática.

RMSF = Fluctuación media cuadrática.

H-bond = Puentes Hidrógeno.

SASA = Área de superficie accesible a solventes.

NVT = Ensamble canónico con numero de moles, volumen y temperatura constante.

NPT = Ensamble Isobárico – Isotérmico.

VMD = Visualizador de Dinámicas Moleculares.

CF = Campo de fuerza

MD = Dinámica Molecular

RESUMEN

En el entorno de la pandemia de COVID-19, tanto durante su desarrollo como en su fase de finalización, se han identificado y estudiado con rigor científico los riesgos asociados a la contaminación, estás ligado a los efectos negativos de corto como largo plazo sobre los elementos ambientales, principalmente de fuentes de agua, puntos donde el vertido de contaminantes emergentes como fármacos consumidos indiscriminadamente en hogares y hospitales causan su acumulación y perturbación de sus propiedades, creando un riesgo latente en la salud. El objetivo principal de este trabajo fue analizar el efecto de los radicales libres generados por métodos electroquímicos de oxidación avanzada (POAE) frente al contaminante emergente azitromicina en distintas temperaturas por métodos bioinformáticos y simulaciones computacionales, en la búsqueda de nuevos retos en el tratamiento de aguas contaminadas con antibióticos en tiempos de COVID-19. Para ello, se prepararon sistemas con diferentes concentraciones de azitromicina (50, 75 y 100 moléculas) en soluciones de agua y radicales hidroxilo, cada sistema fue analizado a distintas temperaturas (293.15, 300 y 323 K) por medio de simulaciones de dinámica molecular durante 10 ns y 100 ns. Nuestros resultados evidenciaron que la temperatura juega un papel determinante en la cinética de degradación, siendo los cálculos a 293.15 K (20°C) que permitieron la aglomeración de las moléculas favoreciendo la transferencia de masas en un sistema de 1:2, es decir 25 moléculas ZIT y 50 moléculas de OH. A esta temperatura se logró incrementar la acción de los radicales sin llegar a degradarlos. Este estudio evidencia que al analizar el efecto del solvente en presencia o ausencia de agentes oxidantes que interaccionen con la azitromicina por métodos bioinformáticos prueba la capacidad de aportar nuevas técnicas de análisis en la prevención y remediación de cuerpos de agua contaminados haciendo uso de estrategias computacionales que son idóneas para optimizar procesos experimentales, alcanzando mejores resultados, reducción de tiempo y costos de tratamiento.

Palabras Clave: Antibióticos, Azitromicina, Contaminantes Emergentes, Contaminación Ambiental, POAE, Bioinformática.

ABSTRACT

In the context of the COVID-19 pandemic, both during its development and in its completion phase, the risks associated with contamination have been identified and studied with scientific rigor, linked to short- and long-term negative effects on environmental elements, mainly from water sources, points where the discharge of emerging pollutants such as drugs consumed indiscriminately in homes and hospitals cause their accumulation and disturbance of their properties, creating a latent health risk. The main objective of this work was to analyze the effect of free radicals generated by advanced oxidation electrochemical methods (AOEM) against the emerging pollutant azithromycin at different temperatures by bioinformatics methods and computational simulations, in the search for new challenges in the treatment of water contaminated with antibiotics in COVID-19 times. For this purpose, systems with different concentrations of azithromycin (50, 75 and 100 molecules) were prepared in water and hydroxyl radical solutions, each system was analyzed at different temperatures (293.15, 300 and 323 K) by molecular dynamics simulations for 10 ns and 100 ns. Our results showed that temperature plays a determinant role in the degradation kinetics, being the calculations at 293.15 K (20°C) that allowed the agglomeration of the molecules favoring mass transfer in a 1:2 system, i.e. 25 ZIT molecules and 50 OH molecules. At this temperature it was possible to increase the action of the radicals without degrading them. This study shows that analyzing the effect of the solvent in the presence or absence of oxidizing agents that interact with azithromycin by bioinformatics methods proves the ability to provide new analysis techniques in the prevention and remediation of contaminated water bodies using computational strategies that are suitable for optimizing experimental processes, achieving better results, reduction of time and treatment costs.

Keywords: Antibiotics, Azithromycin, Emerging Pollutants, Environmental Pollution, EAOP, Bioinformatics.

INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años la repentina presencia de fármacos en el medio acuático, recurso natural limitado cada vez más afectado, se ha tornado en uno de los mayores inconvenientes ambientales en distintos países del mundo. Dentro de los productos farmacéuticos, los antibióticos han atraído una atención especial debido su inadvertida presencia en las distintas etapas del ciclo del agua lo que causa cambios en las propiedades fisicoquímicas del mismo, que no se han reportado debidamente hasta los últimos años. La presencia de estas moléculas biológicamente activas se debe por lo general a la metabolización incompleta o por los residuos de producción de los mismos antibióticos, los que son conocidos como contaminantes emergentes (CE), compuestos de distinto origen, no identificados o poco estudiados como contaminantes que presenta poca información ecotoxicológicas, persistentes, solubles en agua, bioacumulables y no biodegradables, lo que hace difícil determinar el potencial que tienen para convertirse en un problema sanitario y ambiental. Muchos de estos CE han sido reportados en diferentes partes del mundo, específicamente en matrices de agua cercanos a la población en concentraciones que van desde <1 ng/L hasta cientos de $\mu\text{g/L}$, así mismo valores medios de 10 a 100 ng/L además de que es posible encontrar rangos más amplios y concentrados de estas moléculas en países sobrepoblados como en Asia oriental(1). En diferentes estudios se investigó el nivel de contaminación de una amplia gama de antibióticos como a tetraciclinas y quinolona sulfonamidas, macrólidos, entre muchos otros, dando a conocer resultados alarmantes de su presencia en los últimos años, en países europeos como Portugal, España, Alemania y Noruega en Chipre se detectó concentraciones 45,2 ng/L y en Portugal 1,6 $\mu\text{g/L}$ (2). En América, países como E.E.U.U, México, Brasil y Colombia por ejemplo presenta problemas de contaminación de antibióticos frecuentes como amoxicilina, eritromicina, azitromicina en aguas que son usadas para riego de cultivo(3).

Actualmente una de las tendencias en el tratamiento de aguas son los procesos de oxidación avanzada (POAs) los cuales posibilitan la eliminación total o en algunos casos parcial de los distintos CE resistentes a los tratamientos convencionales(4). Estos métodos de tratamiento se basan en procesos fisicoquímicos, los cuales permiten hacer cambios en las estructuras de los contaminantes para poder degradarlos a compuestos más pequeños por medio de la abstracción de un hidrógeno, adición electrofílica sobre un enlace o por transferencia de electrones y lograr su mineralización completa, este mecanismo se realiza por medio de la

generación de agentes oxidantes, uno de los más empleados, el radical hidroxilo (OH), que posee el segundo potencial de oxidación más elevado a comparación de otros agentes conocidos como el ozono (O_3) y el radical superóxido (O_2), entre otros(5). Sin embargo, una de las mayores incertidumbres que afrontan los investigadores en los laboratorios de experimentación es realizar diversas pruebas para estandarizar las condiciones para que ocurran de manera óptima los POAs.

El mundo, hoy en día fue testigo del uso generalizado de antibióticos y más que nunca durante el desarrollo de la pandemia del COVID-19 suscitado por el virus SARS-CoV-2. El consumo excesivo de diversos antibióticos durante esta pandemia fue debido a ambigüedades sobre la enfermedad y la incertidumbre en tratar a los pacientes. A pesar de las recomendaciones de las distintas entidades internacionales como la OMS y NIH en el uso de medicamentos frente al SARS-CoV-2, muchos de estos aún siguen siendo distribuidos y recetados sin control alguno. Dentro de este grupo de medicamentos se encuentra la azitromicina (AZT), utilizado en la etapa inicial de la pandemia para tratar casos leves y moderados(6). La AZT es un antibacteriano de amplio espectro, presenta similar mecanismo de acción que otros antibióticos macrólidos y su actividad es extensa debido a que actúa frente a un rango amplio de microorganismos mediante la inhibición de la detección de quórum bacteriano y la biopelícula(7). Gracias a su mecanismo de acción este puede acumularse en los fagocitos circulantes, lo cual ha llevado a que forme parte del tratamiento de diversas enfermedades como: cáncer, artritis reumatoide, trastornos respiratorios, gástricas, transmisión sexual, malaria entre otros. Este medicamento tiene una biodisponibilidad oral baja de 37% después de su administración o ingestión y una solubilidad limitada.

Al mismo tiempo que se observó un incremento en el uso de la AZT en la pandemia del COVID-19, los servicios de agua y saneamiento continuaron en funcionamiento como servicio vital y básico de la población. Es por ello que el enfoque de esta investigación va dirigido al uso de herramientas bioinformáticas y simulaciones computacionales que permitan emular el comportamiento de la azitromicina en presencia de radicales hidroxilos a diferentes condiciones de temperatura que nos permitan proponer la mejor condición de temperatura que podría ser utilizada en los tratamientos por POAs.

HIPÓTESIS

Dado que, por medio del desarrollo de herramientas bioinformáticas y simulaciones computacionales se puede evaluar y analizar el comportamiento de sistemas moleculares en presencia de diferentes condiciones, es factible analizar el efecto del solvente en presencia agentes oxidantes y diversas temperaturas frente a la descomposición del contaminante emergente azitromicina.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto del solvente en presencia de agentes oxidantes y distintas temperaturas frente al contaminante emergente azitromicina por medio de enfoques bioinformáticos, como nuevos retos en el tratamiento de aguas contaminadas con antibióticos en tiempos de COVID-19 y post COVID-19.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar parámetros fisicoquímicos y características propias de la estructura química de la azitromicina.
2. Estudiar el comportamiento de la azitromicina en un determinado sistema solvatado en presencia de diferentes concentraciones de agentes oxidantes y temperatura.
3. Analizar los parámetros termodinámicos que forman parte del comportamiento de la azitromicina frente a las distintas condiciones de Simulación.
4. Analizar el comportamiento de la azitromicina frente al radical OH como agente oxidante principal del tratamiento de degradación.

TABLA DE VARIABLES E INDICADORES.

Variables	Variables	Indicadores	Unidades
Independientes	Temperatura	Temperatura del proceso	°C
	Agente oxidante Radical hidroxilo	Presencia de OH	-
Dependientes	Degradación de AZT	Concentración de AZT	ng/ L

CAPÍTULO I





1. MARCO TEÓRICO

1.1 Contaminantes emergentes (CE)

Son compuestos que poseen distintos orígenes y de carácter químico que han estado en el medio ambiente causando daño y que por mucho tiempo han pasado inadvertidos. Por lo general de estos compuestos se tiene muy poca información o casi nada de su influencia en los diferentes sectores ambientales y así como en la vida diaria del hombre, por lo tanto, es necesario realizar investigaciones(8). Por lo general, por sus cualidades fisicoquímicas se los consideran sustancias bioacumulables, perdurables e insolubles en agua, por lo que son capaces de contaminar y dañar suelos, aguas subterráneas, aguas superficiales y aguas residuales(9).

Las fuentes y rutas en las que es posible encontrar CE hay una gran variedad de sectores, tales como empresas, hospitales, hogares, entre otros(10). En los últimos años la investigación para poder reconocer su producción y su distribución en el medio ambiente se ha vuelto una prioridad. Para poder identificar la fuente de contaminación y las zonas en riesgo hay que considerar la topografía, clima e interacciones de uso de la tierra, teniendo en cuenta que en su mayoría estos contaminantes son complicados de eliminar por su baja biodegradación(11).

Por lo general, los CE presentan rutas en donde terminan detectándose tales como plantas de tratamiento de aguas residuales, suelo, desechos de centros médicos, estiércol, materias primas maltratadas, animales y ganado e industrias, siendo las plantas de tratamiento generados por las ciudades fuentes de contaminantes farmacéuticos(12). Los antibióticos desde la última década son considerados una clase especial de contaminantes farmacéuticos, que ingresan al entorno ambiental a través de la orina y desechos fecales humanas además de los animales que finalmente se introducen en los cuerpos de agua(13). En particular, los nueve antibióticos que son más utilizados por humanos y animales, tales como β -lactámicos, sulfonamidas, tetraciclinas, macrólidos entre otros que son detectados en muestras de aguas residuales, afluentes y efluentes(9)(14).

La presencia de estos contaminantes depende por lo general de su periodo de consumo, condiciones climáticas, su presencia en el medio ambiente y captación de agua. Hoy en día productos de uso diario también son fuente de estos contaminantes emergentes, por ejemplo, el triclosán y miconazol que son empelados por su actividad antimicrobiana y antifúngica en artículos de aseo, tales como productos de limpieza personal como son los jabones, lociones, champús, geles de ducha, tratamientos corporales y pasta dentífrica que

generan una contaminación indirecta(15). También se han encontrado en el medio ambiente muchos otros contaminantes, incluido plastificantes, estimulantes, repelentes, fertilizantes, filtros UV orgánicos, edulcorantes artificiales con diferentes concentraciones, ya que dependen en su mayoría de la época de uso(16). La concentración de detección de estos materiales también depende de la región donde se utilizan y de su demanda(17), en la Figura 1. muestra la variedad de contaminantes presentes en el medio.

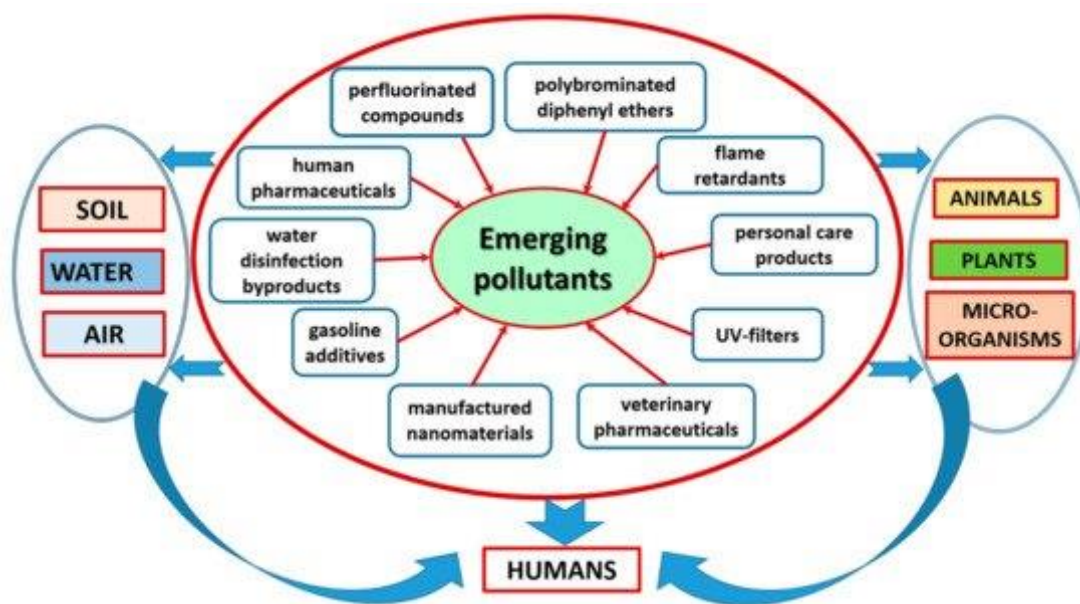


Figura 1. Variedad de contaminantes emergentes que presentan un riesgo sobre bióticos (animales, microorganismos, plantas y seres humanos) y abióticos (suelo, aire, agua)(18).

Problemas actuales ocasionados por los CE ya sea de origen natural o sintética, está relacionada directamente con consecuencias ya reportadas o aún estudiadas tanto sobre la salud humana y el ecosistema. Aunque hay que tener en cuenta que este tipo de contaminación originado por estos compuestos aún no está regulado o aun no presenta un protocolo de seguridad para reducir los posibles impactos en el medio ya que se maneja pocos datos(14).

Actualmente, se trabaja en poder conocer el mecanismo de transporte de estos contaminantes, su monitoreo en distintos sectores y su destino final donde podrían generar un impacto negativo, con el objetivo de poder obtener información integral sobre como poder mitigar el daño que podrían ocasionar en las personas, suelo, aire y en mayor medida en los cuerpos de agua afectando incluso a los animales que habitan en ella(19)

como se muestra en la Figura 2. se reporta una gran variedad de fuentes de liberación de contaminantes emergentes.

La constante preocupación de los daños que podrían ser evidentes en el futuro sobre la salud o en nuestros recursos naturales se debe a la falta de leyes donde se especifique límites de concentración en aguas residuales, agua potable, aire, suelo y lodos. Son pocos los países que tomaron la iniciativa de desarrollar técnicas de detección para reducir sus efectos ya que son conscientes que estos CE son capaces de introducir en las cadenas alimentarias a través de las aguas residuales que son empeladas en el sector agrícola(14). A pesar de que los CE se han encontrado en bajas concentraciones en las plantas de tratamiento de aguas residuales entre ng / L y $\mu\text{g} / \text{L}$, aun son capaces de causar enfermedades o molestias con efectos a largo plazo, además que existe una exposición indirecta en la salud humana debido esencialmente a la generación de resistencia bacteriana(20).

En el caso de la vida ecológica, hay que tener en cuenta que los compuestos farmacéuticos que son los contaminantes emergentes más evidentes son aproximadamente recalcitrantes e incluso se muestran resistentes a la biodegradación. Y en este caso cuerpos de agua superficiales son los más vulnerables, siendo estos superados por su facultad de resiliencia, logrando en determinados puntos concentraciones similares a las aguas residuales(21). Generando efectos ambientales entre los que resaltan; una posible decrecimiento de diversidad microbiana, ya que atacan los ecosistemas microbianos, otro efecto que se podría generar es la inmunidad de bacterias patógenas haciéndolas más resistentes, además de ser capaz de desestabilizar de los lodos activados que forman parte del tratamiento de aguas residuales(14).

Con respecto al riesgo de la integridad de la vida humana, la exposición a largo plazo a mínimas concentraciones de antibióticos en el agua potable no ha evidenciado efectos adversos asociados. No obstante, se ha constatado que la exposición en áreas vulnerables ha mostrado tener un modelo de transmisión de microbiota, maduración y alteración en la vida temprana y probable efectos sobre el metabolismo, además que subexiste un riesgo indirecto al bienestar de las personas debido principalmente a la ocurrencia de resistencia bacteriana(22).

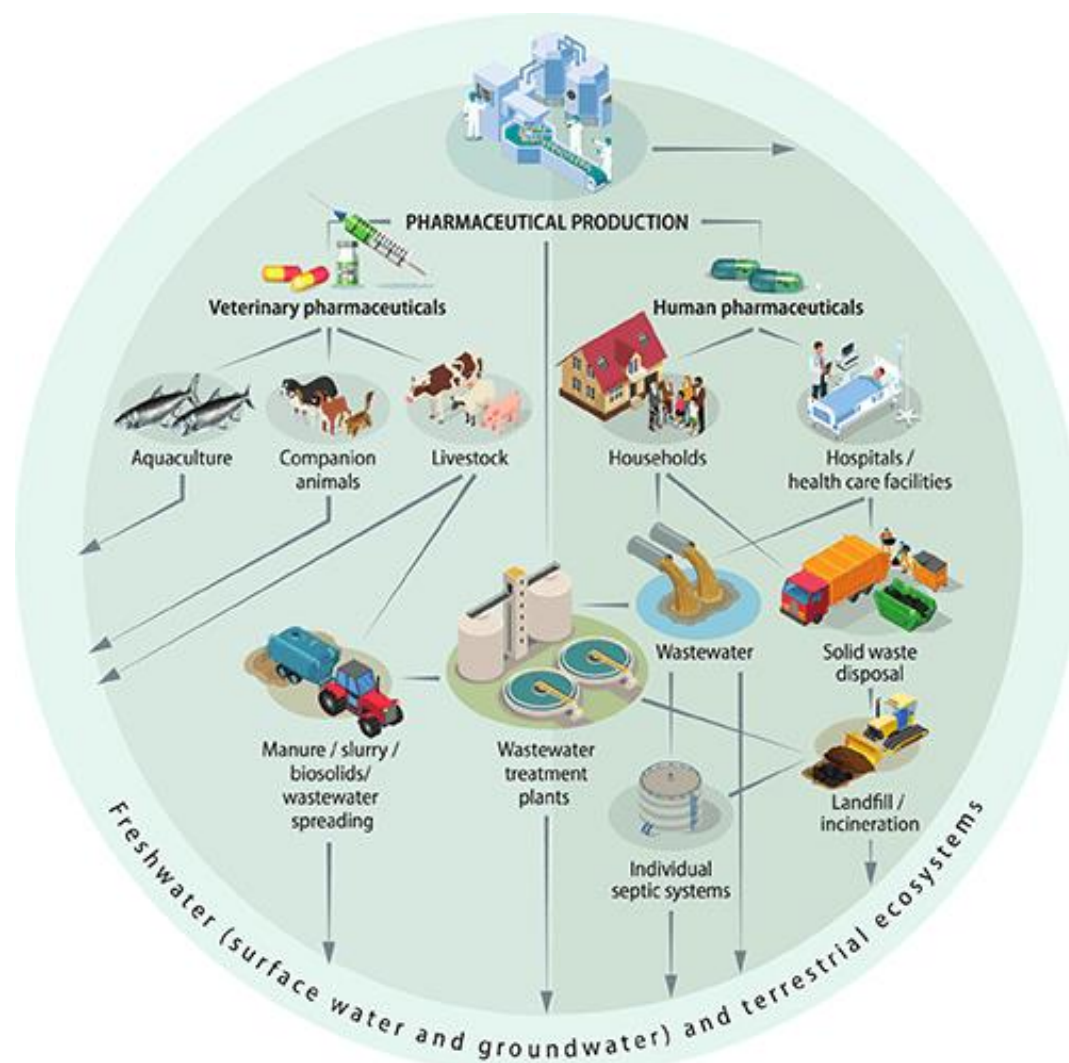


Figura 2. Fuentes de liberación de compuestos farmacéuticos usados para tratamiento de enfermedades de personas y animales al medio ambiente(23).

1.2 Situación mundial de la presencia de Contaminantes Emergentes e implicaciones ambientales durante los últimos años

La presencia ambiental de productos farmacéuticos antimicrobianos y bacterias y genes resistentes se ha convertido en un fenómeno global y una amenaza multifacética. En diversas partes del mundo esta realidad se vive de la misma manera, estos CE y sus productos de degradación presentan un riesgo en el ecosistema en los diferentes niveles tróficos. Distintos estudios han detectado estos fármacos en aguas superficiales tales como mares, ríos, canales, aguas residuales, siendo las concentraciones reportadas capaces de variar en los diferentes estudios desde ng/L a cientos de $\mu\text{g/L}$ estos datos y así mismo los perfiles

toxicológicos de cada uno son dependientes de diferentes factores tales como actividades antropogénicas, hidrología o geografía, entre otras.

1.2.1 Asia

Asia oriental y sudoriental está conformada por 19 países y regiones que posee una población total de aproximadamente, 2250 millones de habitantes, que según los datos obtenidos de las Naciones Unidas representa aproximadamente el 30 % de la población mundial en 2018 (24). Un país conocido por su extensa población es China, conocido por ser el mayor productor y así como consumidor de antibióticos, esto debido a que cuenta con una producción total de 248000 toneladas al año de una amplia gama de medicamentos que son distribuidos a nivel nacional e internacional, además de un consumo de alrededor de 162 000 toneladas según datos obtenidos del 2013(25)(1).

Recientemente, la preocupación por la presencia de estos CE y su inminente alteración en el medio ambiente acuático asiático ha aumentado gradualmente, esto es reflejado en el creciente número de reportes bibliográficos y grupos de investigación, lo que demuestra la importancia de conocer el estado de contaminación, así como soluciones para abordarla(26). La situación en el continente asiático reflejado en reportes demuestra las liberaciones elevadas de antibióticos y la prevalencia de múltiples clases como fluoroquinolonas (FQ), tetraciclinas (TC), macrólidos (ML), sulfonamidas (SF) y entre otros en sectores de plantas de tratamiento de aguas residuales y acuicultura y ganadería en Corea del Sur(27)(28)(29)(30).

En algunos reportes que dio a conocer que 48 % de la cantidad total de antibióticos utilizados para personas fue consumido por la población china, lo que representa a aproximadamente 77 mil toneladas(25). Así mismo, datos obtenidos de la OMS da a conocer que al igual que China, en Vietnam se consume alrededor de 1086 toneladas, Corea del Sur 500 toneladas, Japón 520 toneladas, datos solo en 2015, los cuales se estima que vayan en alza(31). A continuación, tanto en la Tabla 1. y en la Figura 3. se muestra algunos estudios donde se reporta concentraciones de contaminantes emergentes en distintos puntos del continente asiático.

Tabla 1. Algunos reportes de la presencia de Antibióticos en países asiáticos.

País	Fuentes	Contaminante Emergente (Antibióticos)	Concentraciones reportadas	Referencia Bibliográfica
China	Residuos de compañía farmacéutica	Ofloxacina (OFL) Ciprofloxacina (CIP) Eritromicina (ERYH2O) Claritromicina (CLA)	Las concentraciones medianas de los antibióticos reportados fueron: 853 ng/L 396 ng/L 107 ng/L 87 ng/L	(32)(33)
Japón	Agua de Río	Claritromicina (CLA)	320 ng/L	(34)
Tailandia	Canal de agua	Riesgo ecológico de 12 fármacos (11 antibióticos y 1 antiepiléptico) Metronidazol Trimetoprim	0,05 y 13,51 ng/L 17,20 ng/L	(35)
Vietnam	Agua Residual de Hospital	Ciprofloxacina (CIP) Norfloxacina (NOR)	1100 a 44 000 ng/L 900 a 17 000 ng/L	(36)
Corea del sur	Plantas de tratamiento de aguas residuales	Sulfatiazol (STZ) Sulfametazina (SMT) Clortetraciclina (CTC)	STZ (28,200–159,000); SMT (20 820 – 115 000), CTC (11 470–730–33 520)	(37)
Malasia	Aguas residuales urbanas	Eritromicina (ERY) Sulfametoxazol (SMX) Trimetoprima (TMP)	29 a 166 ng/L 14 a 102 ng/L 1,2 a 38,3 ng/L	(38)

En la actualidad se espera que la fabricación, la prescripción y los residuos ambientales de antibióticos vayan en ascenso en la región del Sudeste Asiático y más que todo en los países con gran cantidad de habitantes, esto debido al creciente desarrollo económico y tecnológico a la aparición de diferentes enfermedades infecciosas junto con los malos hábitos de prescripción de las instituciones médicas así también como el autoconsumo de medicamentos por la falta de cultura de responsabilidad(1).

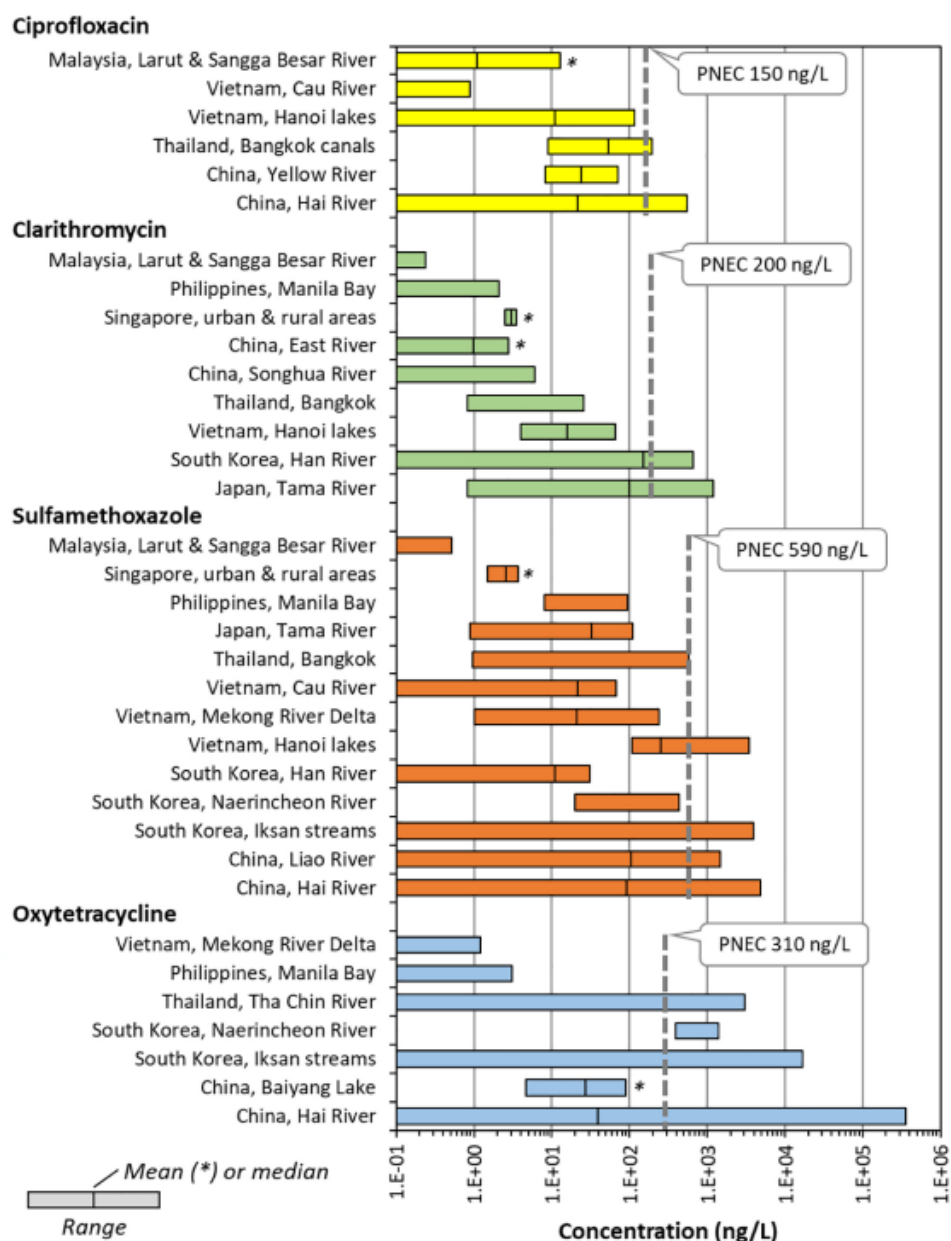


Figura 3. Reportes de la presencia de algunos medicamentos en cuerpos de agua en países asiáticos(1).

1.2.2 Europa

Como se detalla en la Figura 4. en el continente europeo los antibióticos que son frecuentes en los reportes son los betalactámicos, dentro de este grupo se encuentra la penicilina que en países como Alemania su consumo es de aproximadamente 36% así mismo Eslovenia que presento un consumo del 71% en los 2018 porcentajes comparados con el consumo total reportado en ese mismo año(39). En los últimos años, se recolectaron datos de 27 países europeos, así como 25 naciones que integran la Unión Europea y además de Islandia y

Noruega pertenecientes al Espacio Económico Europeo, resultados que indicaron que alrededor del 90 % del consumo de fármacos antibacterianos está relacionado al consumo no prescrito en un centro médico es decir que reflejan el autoconsumo de la comunidad europea(40)(41)(42). La polución de cuerpos de agua, tales como las aguas superficiales, subterráneas o agua potable pueden ser por medio de fuentes puntuales o así mismo como no puntuales(43). Las plantas de tratamiento de aguas residuales son consideradas una fuente controlada y puntual. Por otro lado, las fuentes no puntuales de CE en el medio acuático pueden ser el drenaje de las zonas agrícolas y ganaderas, lixiviados de vertederos que no presentan un control, así como drenajes y caudales (43)(44). Es importante mencionar que un porcentaje de la presencia de antibióticos en el ecosistema esta dado por el uso de farmacéuticos veterinarios, ya sea en la ganadería, acuicultura o alimento en el ganado(40).

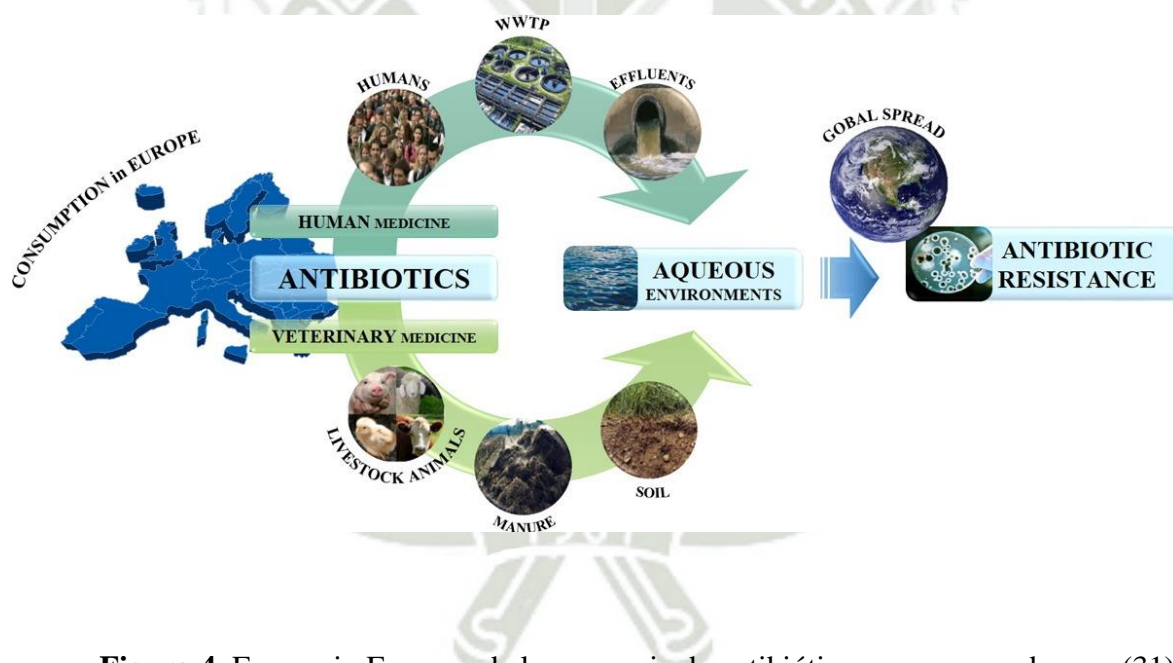


Figura 4. Escenario Europeo de la presencia de antibióticos en cuerpos de agua(31).

En un estudio realizado por el Laboratorio de Ingeniería de Procesos, Medio Ambiente, Biotecnología y Energía de la Universidad de Oporto en Portugal, dio a conocer la presencia de diferentes fármacos en los ecosistemas europeos como ríos, agua subterránea y potable, los datos presentados en este informe fueron dependientes de factores como la matriz ambiental de cada país, la clase de antibiótico y las concentraciones que tuvieron un rango de ng/L y $\mu\text{g/L}$. Entre los fármacos presentes está el grupo de quinolonas, tetraciclinas, las sulfonamidas y la trimetoprima fueron los más persistentes y a la vez reflejan su importancia de estudio por

sus características toxicológicas en el medio acuoso(2), En la Figura 5. se puede observar algunos datos obtenidos de los monitoreos en diferentes partes del continente europeo.

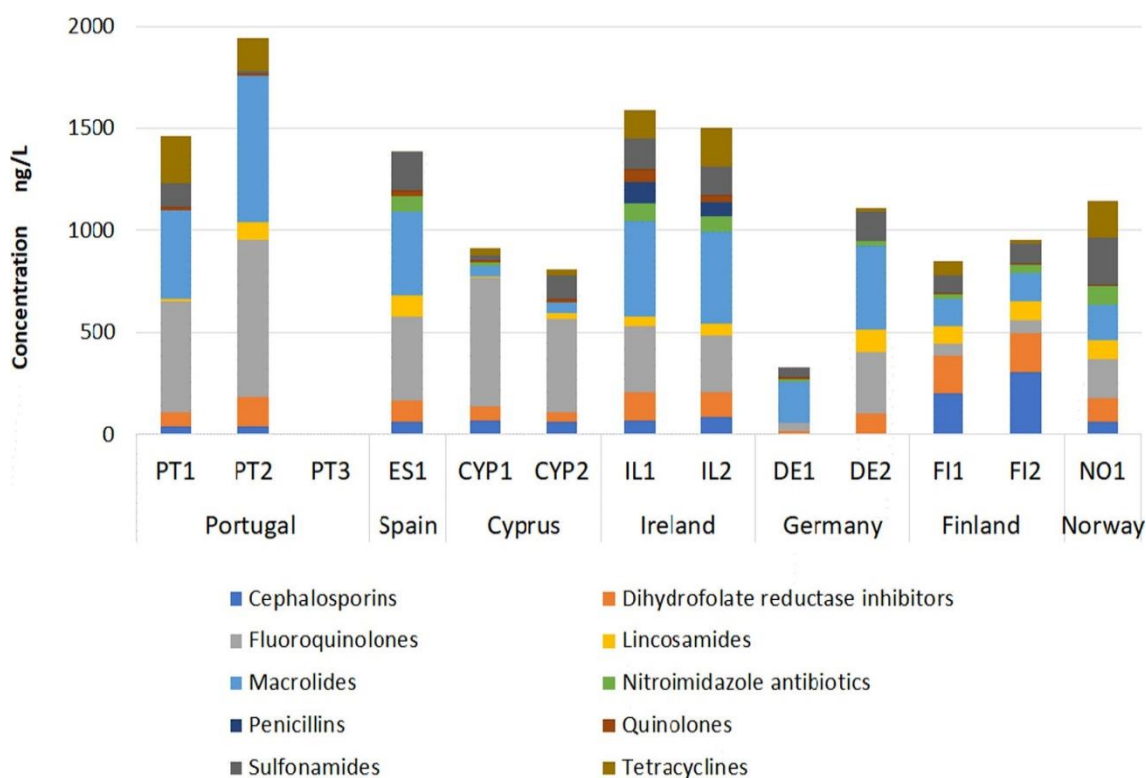


Figura 5. Reporte de las concentraciones de alrededor de 10 antibióticos en ng/L presentes en aguas de diferentes países europeos(2).

1.2.3 África

La mayoría de los países africanos por el momento presentan un índice bajo de informes sobre la disposición de antibióticos en el medio ambiente y masas de agua, situación que es más notoria en la región de Sudáfrica(45)(46), ver Figura 6. A pesar de las limitaciones que se presentan actualmente ha cobrado gran relevancia el estudio del impacto de los compuestos farmacéuticos en medios acuosos, la literatura ha demostrado que estos datos son dependientes de diferentes factores tales como situaciones sociales, culturales o tecnológicos, así como la región geográfica afectada (47). Por ejemplo, un estudio realizado en Kenia da a conocer la presencia de antibióticos como paracetamol, sulfametoxazol e ibuprofeno en un rango de concentración de 10 a 30 $\mu\text{g/L}$ aproximadamente datos provenientes del monitoreo del Río Nairobi(48), el mismo caso en el Río Umgeni que se reportó fármacos como

antibióticos, antiepilépticos y antipsicóticos en aguas superficiales en concentraciones de 10 $\mu\text{g/L}$ (49)(47)(45). En aguas ambientales africanas, el sulfametoxazol fue el antibiótico con más prevalencia en el medio ambiente, con una concentración de más de los 56,6 $\mu\text{g/L}$ en las aguas superficiales de Kenia. Por otro lado, la amoxicilina se encontró con 0,9 y 272 $\mu\text{g/L}$ de concentración en las aguas superficiales de Nigeria(50), en Sudáfrica la ciprofloxacina en muestras de río está presente en concentraciones de 14,3 $\mu\text{g/L}$ la más alta en los últimos años.

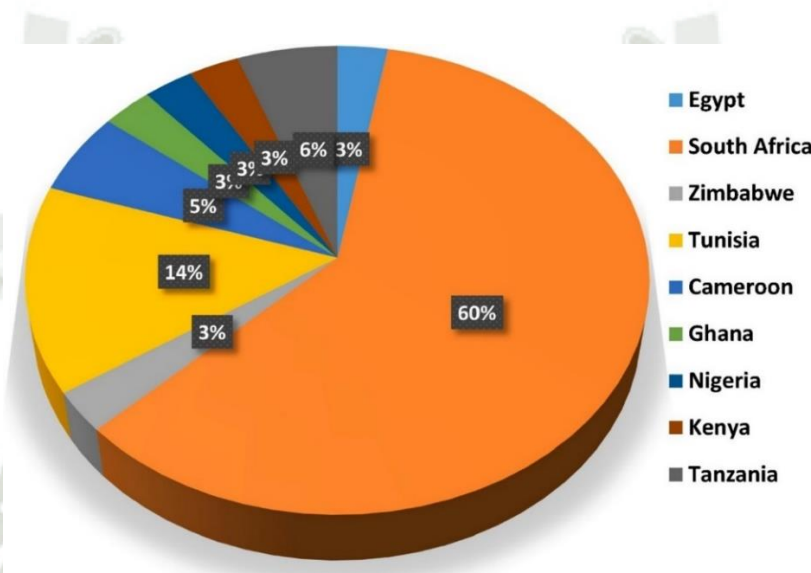


Figura 6. Representación gráfica del porcentaje de artículos de investigación por parte de monitoreos en países africanos relacionados a la presencia de Contaminantes Emergentes(49).

1.2.4 América

Teniendo en cuenta que en América Latina se encuentra la mayor disponibilidad de agua per cápita, es necesario reconocer que en diferentes países en vías de desarrollo esta disponibilidad no es equitativa, además de no brindar un servicio de agua de calidad a la población latina. El continente americano no es ajeno a los problemas que van surgiendo en los últimos años, la presencia de CE ha sido reportado en diferentes países como México y Brasil, donde los cuerpos de agua más afectados son matrices, aguas superficiales y subterráneas, además de zonas costeras(51). En la actualidad la presencia de estos antibióticos en masas de agua potable es una de las principales inquietudes que se tiene en esta localidad, puesto que pone en riesgo a la mayoría de la población. A diferencia de los estudios de países europeos y asiáticos, muchos países latinoamericanos no cuentan con una base de datos establecida de contaminantes prioritarios o en muchos casos leyes que controlen su

producción, consumo o liberación al medio ambiente como se precisa en la Figura 7. A continuación, se mencionará algunos reportes realizados en diferentes países. En la ciudad de México, se reportó 17 contaminantes presentes en reservorios, así como tanques de almacenamiento, entre los contaminantes está presente, fármacos de consumo común como el ibuprofeno, diclofenaco, ftalato de di(2-etilhexilo), entre otros, siendo este último el que presento una concentración más alta de 2282 ng/L(52). En la ciudad de Bogotá, Colombia en los embalses se encontró concentraciones de 1009 mg/L mientras que en reservorios se analizaron triclosán(53).

Un problema que ha sido constante en Brasil es la calidad del agua potables, teniendo en cuenta esta preocupación la contaminación por estos CE en las zonas cercanas de las principales ciudades y ríos como Sao Paulo y Rio de Janeiro, entre los fármacos tenemos a la amoxicilina con 287,5 ng/L, sulfametoxazol 105 ng/L, cefalexina 575,5 ng/L (54)(55)(56)(57). En el caso de Chile un estudio del 2016 reportó la presencia de atrazina, CAF y TCS con una concentración de 95 ng/L en agua de rio y en plantas de tratamiento (58). Otro país latinoamericano es Argentina en el cual un estudio realizado a lo largo del Río Suquía reporto alrededor de 464 fármacos entre los cuales se identificaron fluoroquinolonas, macrólidos y la trimetoprima, siendo considera de alto riesgo ambiental la presencia de la cefalexina y la claritromicina(59).

Los datos reportados en Perú, la prevalencia de una gran gama de fármacos en aguas residuales del país los más comunes fueron azitromicina, claritromicina y ciprofloxacina, en la ciudad de Puno y Juliaca el CE con una alta concentración es el acetaminofén presente en las plantas de tratamiento además de aguas superficiales, la presencia de gran concentración de estos compuestos químicos es debido a un incompleto tratamiento de aguas residuales y la falta de control del consumo indiscriminado de medicamentos(60).

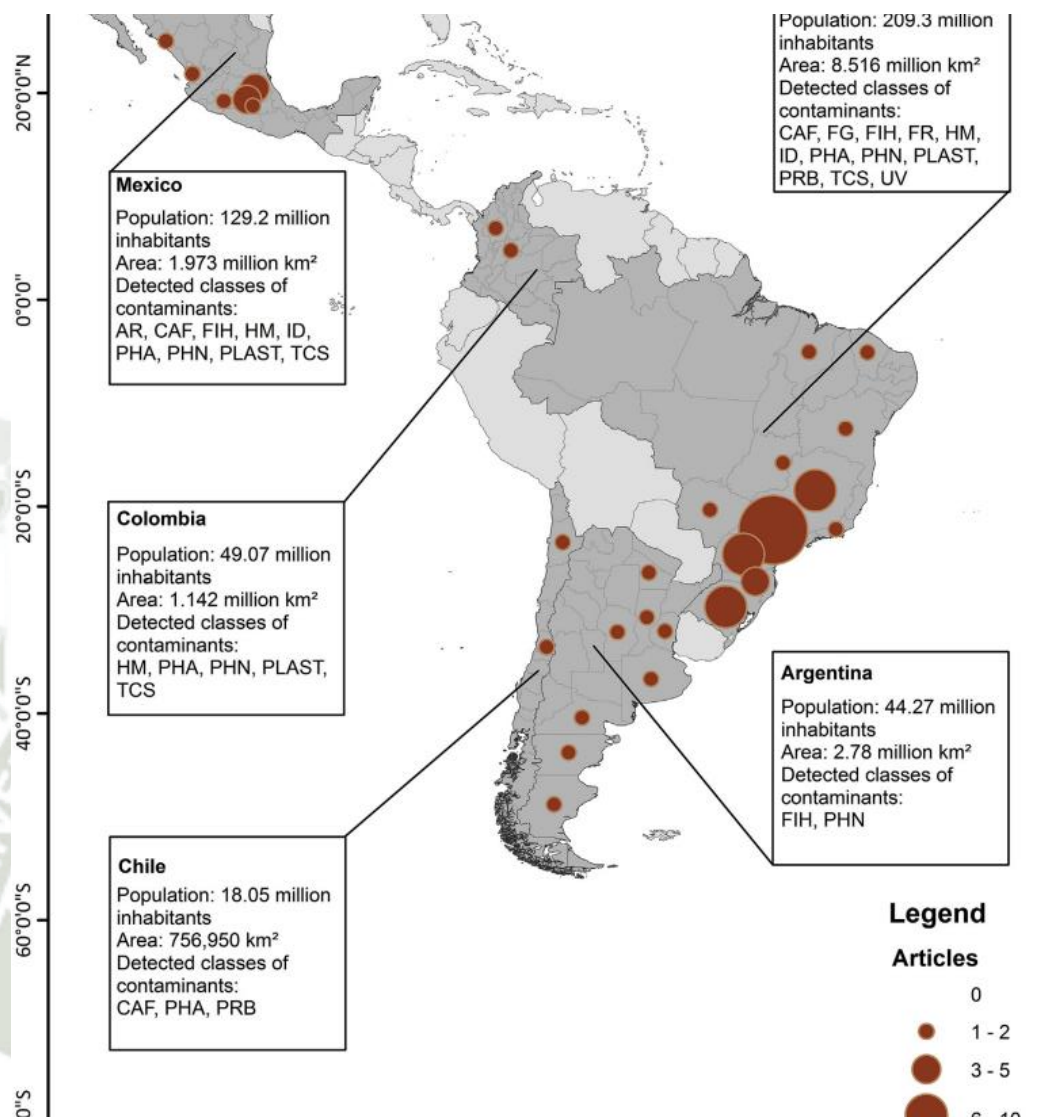


Figura 7. Reportes científicos publicados en diferentes países de Latino América relacionados la CE en cuerpos de agua(51).

1.2.5 Oceanía

Dentro de este continente, Australia es el país con los reportes de CE más resaltantes, en ellos dan a conocer la prevalencia de antibióticos de importancia clínica en distintas matrices ambientales(61). Se han detectado fármacos con altas concentraciones como el Sulfametoxazol con 2103 ng/L y Ciprofloxacina 1103 ng/L en distintos ríos australianos, mientras que todos antibióticos investigados más comunes como penicilinas, macrólidos, tetraciclinas oscilan por debajo de los 350 ng/L de concentración (62).

Las principales fuentes de contaminación son los sistemas de agua superficiales australianos, uno de los más estudiados son las cuencas hidrográficas del sureste de Queensland en donde se identificó una gran gama de antibióticos, aunque las plantas de tratamiento emplean tecnologías que permiten retirar un 80% de estos contaminantes aún es posible detectar compuestos químicos con una concentración de al menos de ng/L entre ellos tenemos al grupo de macrólidos, quinolonas y sulfonamidas lo que aún prevalece el riesgo de contaminación(61).

1.3 Azitromicina

La azitromicina (AZT) es conocido por ser un antibiótico que tiene capacidad de intervenir en gran número de bacterias tanto en su crecimiento así como sus efectos, forma parte del grupo de los macrólidos de segunda generación (7); que actúa contra bacterias tanto Gram positivas y Gram negativas por lo que ha obtenido gran atención en los últimos años, ya que presenta efectos complementarios específicamente en las reacciones de defensa que genera el huésped y las enfermedades humanas crónicas, lo que ha promovido su uso en el tratamiento de diferentes trastornos respiratorios y de transmisión sexual (63)(64)(65).

En la década de los 80 fue sintetizada como un derivado semisintético del medicamento eritromicina, fue descubierta en Norteamérica por la empresa farmacéutica Pfizer y PLIVA en Croacia. Donde los investigadores de ambas empresas recibieron el premio de la American Chemical Society por descubrir la Zithromax® (azitromicina) en el año 2000(63).

La azitromicina es un prototipo de azalida que presenta un anillo de lactona de 15 miembros, ver Figura 8, que presenta propiedades farmacocinéticas mejoradas sobre la eritromicina, convirtiéndose en el antibacteriano de amplio espectro más utilizado en América. Sobre su mecanismo de acción antibacteriana podemos decir que es muy similar a la de la mayoría de

los otros antibióticos macrólidos, pero con la diferencia de que se acumula eficazmente en los fagocitos(63).

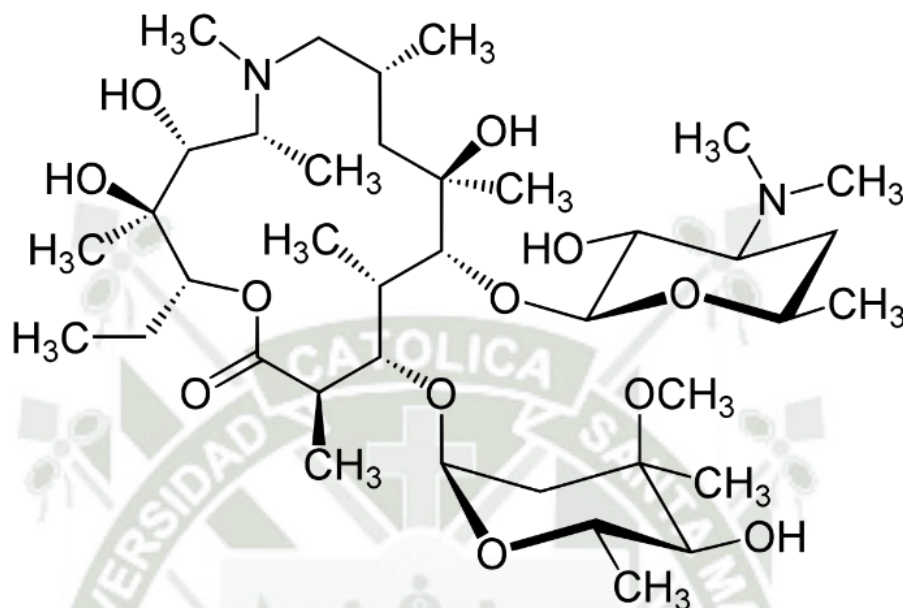


Figura 8. Estructura química de la Azitromicina.

A diferencia de la eritromicina, la azitromicina presenta un anillo de 15 miembros, por otro lado, un nitrógeno es sustituido por un metilo insertado en la posición 9a del anillo de aglicona. Con estas características en la estructura la potencia frente a organismos Gram negativos aumenta, por otra parte, la azitromicina al ser parte del grupo de azalidas adquiere propiedades farmacocinéticas mejoradas como concentraciones tisulares elevadas y una vida media más prolongada(66).

La AZT como antibiótico macrólido que impide la síntesis de proteínas bacterianas, se dispone en altas concentraciones a los sitios de infección por lo que ayuda a inhibir la detección de quórum bacteriano y ayuda a reducir la formación de biopelículas lo que amplía su rango de acciones antibacterianas. Por estas propiedades es recetada para tratar enfermedades autoinmunes e inflamatorias como panbronquiolitis difusa, infecciones respiratorias, urogenitales, dérmicas y otras infecciones bacterianas, tratamiento del cáncer. Se utiliza también en la prevención, reducción de casos y el tratamiento de la malaria y como una alternativa terapéutica en la medicación de la artritis reumatoide y enfermedades fotosensibles. Con sus efectos inmunomoduladores sobre las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas es eficaz para las inflamaciones, capacidad que ha

llevado a presentar efectos beneficiosos en el tratamiento de fibrosis quística y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)(63)(67).

1.3.1 Metabolismo y excreción

Se sabe que la mayor proporción de dosis absorbida de este antibiótico permanece sin metabolizar. En el proceso de metabolización, la desmetilación hepática es la primera ruta, aunque es difícil creer que los aproximadamente 10 metabolitos dentro de la bilis tengan una actividad antimicrobiana masiva. Aun cuando se produce una acumulación hepática de azitromicina, que eleva la actividad de la azitromicina desmetilasa, no hubo pruebas de inducción o inactivación del citocromo P450 hepático(66).

Se ha demostrado que las concentraciones biliares de AZT comparados con las concentraciones séricas son mayores, por lo que se realiza una excreción biliar. Más de la mitad de los compuestos de la AZT en la bilis es fármaco original inalterado. Por otra parte, las heces y la excreción urinaria también son una vía importante de eliminación del fármaco casi intacto, en el caso de la excreción urinaria aproximadamente el 20 % del fármaco que llega a la circulación sistémica se elimina sin alteraciones(66).

1.3.2 Azitromicina en el tratamiento de COVID-19

Debido a la pandemia de COVID-19, el uso de medicamentos tales como la AZT ha aumentado considerablemente, aunque su eficacia frente a la infección por SARS-CoV-2 es cuestionada por varios estudios(67). El tratamiento para esta enfermedad sigue siendo variado, por lo que encontrar urgentemente tratamientos eficaces y seguros ha sido la prioridad. Se ha propuesto la azitromicina como una terapia para el tratamiento de la neumonía por SARS-CoV-2 ya que, presenta actividad antiviral e inmunomoduladora(68). Sin embargo, su papel en el tratamiento de COVID-19 sigue sin estar claro. El uso de este medicamento macrólido, que forma parte de la lista de medicamentos esenciales y más comunes por la OMS, se ha asociado con tratamientos efectivos en los resultados clínicos de varias enfermedades virales tales como Zika, Ébola, rinovirus, enterovirus e influenza. La AZT se ha utilizado para contrarrestar enfermedades anteriores causados por coronavirus, como el desarrollado en 2003 denominado síndrome respiratorio agudo severo (SARS) y seguido en el año 2012 síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS)(69).

En el caso del coronavirus que ha desarrollado la pandemia COVID-19, las investigaciones AZT in vitro ha demostrado que puede ser capaz de demostrar actividad para contrarrestar su actividad en diferentes puntos de su ciclo viral(67). Esta posibilidad es gracias a que la inmunomodulación dio buenos resultados clínicos en pacientes COVID-19, además de que su disposición de regular la producción de citocinas, conservar la estructura epitelial y evitar la fibrosis pulmonar es notoria y podría actuar en la etapa hiperinflamatoria del COVID-19.

Más allá de sus propiedades antivirales, se ha estudiado aproximadamente 80 ensayos clínicos para probar la eficacia de AZT en los diferentes virus y coronavirus, se menciona algunos de ellos en la Tabla 2. Cada uno de ellos presentan características propias que difieren entre sí como la dosificación, la duración del tratamiento, si la combinación con otros medicamentos como la hidroxiclороquina y el número de población empleado en el estudio(68).

Tabla 2. Ensayos clínicos que prueban la eficiencia de la Azitromicina en diferentes virus y coronavirus.

Tipo de coronavirus	Método empleado	Resultados	Referencia bibliográfica
SARS (Coronavirus)	Evaluación realizada en pacientes hospitalizados con SDRA, mediante un análisis de puntuación de propensión.	AZT asociado con mejoría en la tasa de supervivencia a los tres meses e interrupción de la ventilación mecánica	(70)
Coronavirus (alfa y beta)	Ensayo clínico empleando dosis de ≥ 20 mg / kg	AZT con resultados asociados con reducción de carga viral en infantes con coronavirus.	(71)
Zika (Flavivirus)	Estudio realizado in vitro con células gliales U87 y astrocitos derivados de hPSC, con concentraciones 0 μ M	AZT reduce la proliferación viral en consideración y efectos citopáticos inducidos.	(72)

a > 100 μ M

Ébola (virus del Ébola)	Estudio realizado in vitro con células HeLa y células HEK 293T con concentraciones de 0,5 a 50 μ M	AZT demostró potencia antiviral alta en investigación in vitro y citotoxicidad mínima.	(73)
Rinovirus humano (Picornavirus)	El estudio se desarrolló in vitro. PBEC. 10 μ M, 50 μ M	IFN de tipo I y III inducido por este virus mejorado que conduce a una replicación y liberación reducidas del RV	(74)

Pero es importante tener en cuenta que, aunque la AZT pueda ayudar a contrarrestar los efectos de este virus, es importante seguir con las investigaciones para tener más datos que ayuden a aclarar su uso en COVID-19. En varios países a lo largo del desarrollo de la pandemia ha sido recetado conjuntamente con hidroxiclороquina, lo que ha llevado a cuestionarse sus posibles efectos adversos por su potencial cardiotoxicidad, aunque este riesgo se debe a la hidroxiclороquina(75). Los ensayos clínicos que se van desarrollando podrán confirmar que la AZT podrá tener un papel como tratamiento para casos de COVID-19, incluido el efecto combinado con otros medicamentos como corticoesteroides o remdesivir. Dada la importante utilidad clínica del AZT como antibiótico en los últimos años, la rápida propagación de la renuencia a los antimicrobianos es de suma inquietud. Este riesgo latente puede desarrollar bacterias resistentes a los medicamentos(69). En la actualidad ya se cuenta con datos que presentan tasas crecientes de resistencia a macrólidos que es causado por varias características que incluyen su vida media prolongada, el uso generalizado del fármaco y el fenotipo de resistencia de alto nivel a macrólidos atribuible a mutaciones en el gen erm(69).

1.3.3 Información ecológica

En el medio ambiente, se espera que el ingrediente activo de esta formulación resida principalmente en el medio acuático y se degrade lentamente.

- **Movilidad, persistencia y degradabilidad:** Vida media de azitromicina <28 días (biodegradación aeróbica - agua).
- **Bioacumulación y toxicidad:** El ingrediente activo de esta formulación tiene un porcentaje relativo de bioacumulación y escasa información de los efectos desfavorables a largo plazo para los organismos del hábitat acuoso. Hasta el momento se sabe que la azitromicina se bioacumula en organismo acuáticos y ha sido detectado en invertebrados que habitan en cuencas hidrográficas contaminadas. A continuación, se presenta los datos de toxicidad acuática.
- **Toxicidad acuática:**

Especies	Método	Punto final	Duración	Resultados
<i>Daphnia Magna</i>	OECD	EC50	48 horas	120 mg/L
<i>Hyallela azteca</i>	OECD	LC50	96 horas	> 120 mg/L
Trucha arcoiris	OECD	LC50	96 horas	> 84 mg/L
Algas verdes	OECD	EC50	72 horas	0.0037 mg/L

La presencia de azitromicina en el agua y el medio ambiente plantea riesgos significativos, como la resistencia bacteriana y el impacto negativo en organismos acuáticos. La exposición continua a bajos niveles de azitromicina puede promover el desarrollo de resistencia bacteriana, reduciendo la eficacia de este antibiótico. Además, la azitromicina puede ser tóxica para los organismos acuáticos, afectando su crecimiento y supervivencia. Existe la preocupación de que la azitromicina se acumule en los tejidos de los organismos, planteando riesgos para la seguridad alimentaria.

1.4 Azitromicina: Presencia, persistencia mundial y efectos ambientales adversos.

La presencia de macrólidos como la azitromicina en ambientes acuosos en altas concentraciones en los últimos años no es algo de que asombrarnos, su aparición en diferentes investigaciones es debido a sus características únicas como su baja solubilidad y su incompleta absorción(41). Según reportes de antibióticos que forman parte de este grupo de fármacos prevalecen en el medio acuático de Europa, encontrándose repetidamente en las principales matrices como aguas residuales, superficiales como ríos y canal de regadío, esto debido al consumo de la población o como uso para animales. En la Figura 9. se detalla de manera clara el flujo dinámico de los contaminantes emergentes en el medio ambiente.

Antibiotics waste main streams to aquatic environment

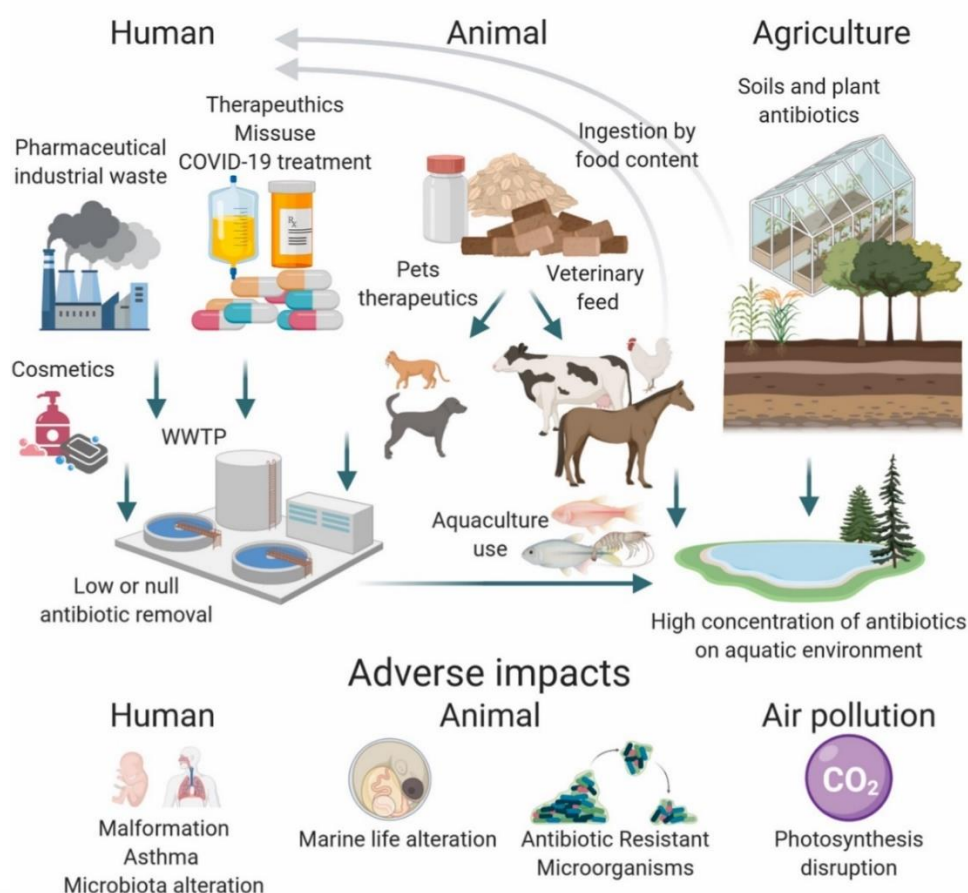


Figura 9. Principales fuentes de contaminación de desechos de antibiótico y los principales impactos(76).

Tabla 3. Reportes en distintos países de la presencia de la Azitromicina en cuerpos de agua.

Cuerpo de agua contaminado	País	Cantidad / Concentración	Referencia Bibliográfica
Lagos			
Aguas residuales de Hospitales	Wuhan, China	2.61 ng/L a 1122 ng/L	(77)
Agua residual Domestica	Colombia	4120 ng/L	(78)
Ríos	Portugal	2.8 µg/L	(79)
Aguas residuales y aguas receptoras	España	672 y 649 ng/L	(80)

Muestras de aguas residuales recogidas en el oeste de la India	India	300 mg/L	(81)
	China	192.2 ng/L	(82)
Fuentes de agua superficial	Antártica	0.4 µg/L	(83)
	Japón	1866 ng/L	(84)
Aguas residuales del sur de Sfax	Túnez	135.45 ng/L	(85)
Efluentes de Tratamiento de aguas residuales	Polonia	650 ng/L	(86)
Efluentes de tratamiento de aguas residuales municipales	Croacia	rango entre 100 y 1000 ng/L	(87)
Efluente de una industria farmacéutica		3776 µg/L	(88)
	Irán	0.563 µg/L	(89)
Tratamiento de aguas residuales	Canadá	57–1300 ng/L	(90)
	Japón	88–219 ng/L	(91)
Aguas superficiales	Vietnam	90.80 ng/L	(92)
Aguas superficiales, medio ambiente acuático en Renania del Norte-Westfalia	Alemania	2–3 ng/L	(93)
Aguas residuales crudas		1083 ng/L	
	Estados Unidos		(94)
Aguas residuales tratadas		0-380 ng/L	
Agua superficial	New Jersey, Estados Unidos	240 ng/L	(95)

Río Litani	Líbano	377 ng/L	(96)
Tratamiento de aguas residuales	Chipre	262 ng/L	(97)
Bahía de Laizhou, aguas superficiales	China	22.3 ng/L	(98)
Efluentes hospitalarios y en EDAR	Coimbra, Portugal	1227–7351 ng/L	(99)
Efluentes de Tratamiento de aguas residuales	Suiza	hasta 380 ng/L	(100)

La mayoría de los casos reportados de antibióticos del grupo de los macrólidos son considerados de clase crítica por su consumo intrahospitalario, ver Tabla 3, además de su autoconsumo y su estabilidad una vez excretados, ya que un porcentaje considerado está presente en las excreciones humanas. Las concentraciones más altas de macrólidos se pueden encontrar en diferentes efluentes hospitalarios, por lo general que pueden oscilar entre 1 y 10 $\mu\text{g/L}$ (99)(101). Por otro lado, este grupo de fármacos se pueden evaluar también en efluentes de aguas residuales tratadas donde según reportes puede presentar 20–2800 ng/L(102).

Otra fuente acuática más afectada por los macrólidos son los ríos, más que todo los que se encuentran ubicados cerca de poblaciones de gran magnitud, en el caso de los ríos ubicados en países europeos muchos análisis dieron a conocer que en los últimos años se detectaron macrólidos de 1 a 500 ng/L (103)(104)(105). Mientras que en ríos más alterados por la presencia de estos son los españoles y franceses, los cuales presentan concentraciones altas de 1-17 $\mu\text{g/L}$ (106)(107). Si nos enfocamos en fuentes como aguas subterráneas y agua de consumo directo por la población en diferentes países se detectaron en concentraciones máximas de 154 ng/L en agua subterráneas y 21 ng/L en agua potable, lo que nos da un panorama más claro de como estos fármacos están expuestos directamente a la población (108)(109).

1.5 Procesos de oxidación avanzada

A lo largo del tiempo se ha reportado información de varias técnicas con el único propósito de eliminar los antibióticos presentes en los cuerpos de agua y aguas residuales, entre las cuales están incluidas la coagulación, la separación por membranas, la adsorción y la

biodegradación entre otras muchas técnicas. Aunque en gran medida estas no han sido efectivas para tratar estos contaminantes emergentes por su baja eficiencia de remoción y alto costo operativo.

Una técnica innovadora que ha estado cobrando interés es el uso de los Procesos de Oxidación Avanzada (POA), ya que por medio de distintos trabajos de investigación tanto en escala laboratorio y en ciertos cuerpos de agua han demostrado gran capacidad de degradar los antibióticos o así mismo capaces de convertirlos en sustancias de moléculas pequeñas que sean más fáciles de tratar posteriormente sin complicaciones, además de ser amigable con el medio ambiente y poseer una gran versatilidad, el uso de estos nuevos procesos podrían ayudar a combatir el efecto inhibitor de los antibióticos sobre los microorganismos beneficiosos y necesario para los distintos ecosistemas y mejorar su biodegradabilidad y la tasa de eliminación (110).

Lo que más llama la atención de estos Procesos de Oxidación Avanzados es el uso de agentes de oxidación eficientes, uno de los más conocidos el radical hidroxilo (OH), aunque otros agentes reportados en la literatura son el ozono (O_3) y el radical superóxido (O_2) lo que lleva a que estos procesos sean considerados como una tecnología ecológica, ya que gracias a esta característica no necesitan adición de químicos y por otro lado son eficaces para la anulación simultánea de contaminantes orgánicos y la desinfección de patógenos en el agua. Los POA se pueden clasificar en diferentes tratamientos tales como oxidación de Fenton, oxidación fotocatalítica, Electro-Fenton, entre otros, ver Figura 10.

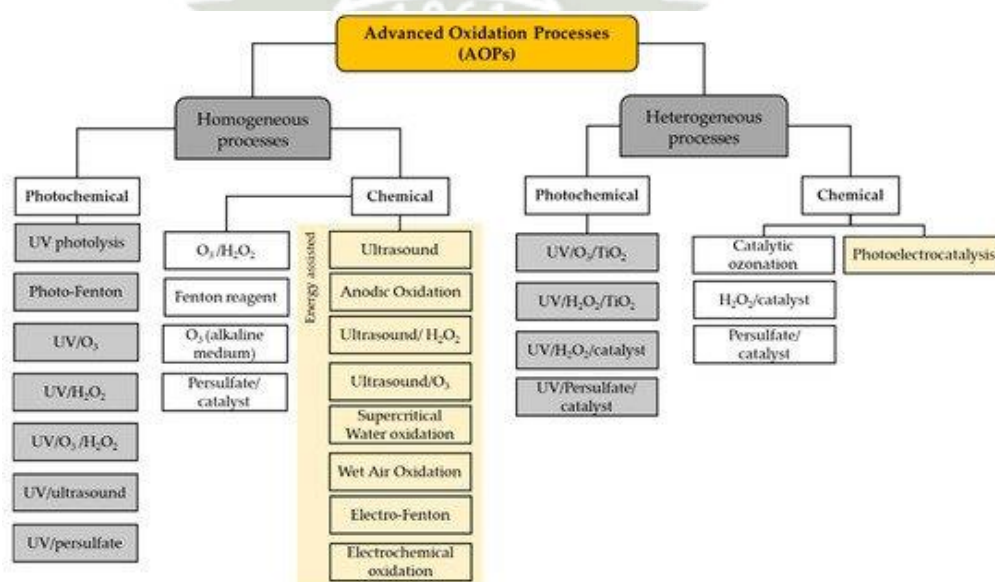


Figura 10. Esquema de la clasificación de los distintos tratamientos basados en Procesos de Oxidación Avanzada (POAs)(5).

1.5.1 Tecnologías electroquímicas de oxidación avanzada

En los últimos años, se ha observado un aumento significativo del desarrollo nuevos procesos avanzados de oxidación que en su mayoría están conformados por tecnología electroquímica, más conocidos como Procesos Electroquímicos de Oxidación Avanzados (PEOA), con el objetivo de trabajar en la prevención y remediación que genera la contaminación ambiental que surge con más frecuencia hoy en día, dirigiendo la atención en los cuerpos de agua fuentes importantes que tienen relación directa con la salud y bienestar del medio que nos rodea(111)(112). Actualmente, las investigaciones están centradas en buscar técnicas que sean ecoamigables además de presentar una alta eficiencia con una baja inversión. Por lo que estos Procesos Electroquímicos de Oxidación Avanzada (PEOA) hoy en día se les consideran tecnologías innovadoras con un prometedor rendimiento en el tratamiento de aguas contaminadas, además de ser respetuosas con el medio ambiente(113). El fundamento de estos métodos está ligado a la generación electroquímica de un agente oxidante que por lo general es muy potente y eficaz, comúnmente en estas técnicas podemos encontrar radicales como el hidroxilo (OH) en solución, así como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el anión radical sulfato (SO_4) que permiten que estos procesos sean adecuados para la etapa de degradación como la mineralización de compuestos orgánicos. Los PEOA son conocidos por ser procesos heterogéneos integrados por métodos de oxidación anódica y fotoelectrocatalisis, que consiste en la generación de los radicales hidroxilos (OH) en la superficie del ánodo, tanto en forma electroquímica o fotoquímicamente, por otro lado, tenemos los procesos homogéneos, entre los cuales tenemos los métodos conocidos como electroFenton, fotoelectro-Fenton y sonoelectrólisis, en este caso los hidroxilos (OH) se produce en la solución(111).

1.5.2 Radical hidroxilo en el origen y proceso de los PEOA

El agente principal de estos Procesos de Oxidación Avanzada es el radical hidroxilo, que tiene como propiedad más importante su elevado potencial de oxidación de 2.8 V, segundo potencial redox más alto después del flúor. Con esta propiedad a su favor es

capaz de mineralizar completamente los contaminantes orgánicos a dióxido de carbono, agua y iones inorgánicos(5). Entre sus propiedades fisicoquímicas se destaca, su carga cero y ser considerado un radical libre neutro, se comporta como un ácido débil, afinidad electrónica en el agua aproximadamente 5.8 eV, su espectro de absorción es limitado, ya que su absorbancia se encuentra en un rango bajo ultravioleta 230 nm. Las reacciones químicas del radical hidroxilo en cuerpos de agua se pueden clasificar en cuatro tipos diferentes: I) adición, el OH se agrega a un compuesto no saturado, alifático o aromático; II) abstracción de hidrógeno, en este caso se forma un radical libre y agua; III) transferencia de electrones, en el proceso se forma iones con alta valencia, átomo o radical libre; IV) interacción Radical(113). Por otro lado, estos radicales hidroxilos tienen una vida corta, por lo que pueden autoeliminarse del sistema de tratamiento, así no hay una generación de residuos por parte de este proceso. Su naturaleza de acción se justifica en la interacción con los contaminantes por medio de la adición o extracción de moléculas de hidrógeno, seguido realiza una reacción con el oxígeno molecular y un radical centrado en el carbono para poder formar un radical peróxido que experimenta reacciones posteriores hasta completar una degradación. En los métodos de oxidación avanzada es importante considerar factores como las propiedades físicas y químicas del contaminante objetivo y las condiciones de operación para poder obtener un buen resultado en la eficiencia del hidroxilo(114). En la Figura 11. se puede observar en los distintos procesos en donde se emplea el radical hidroxilo.

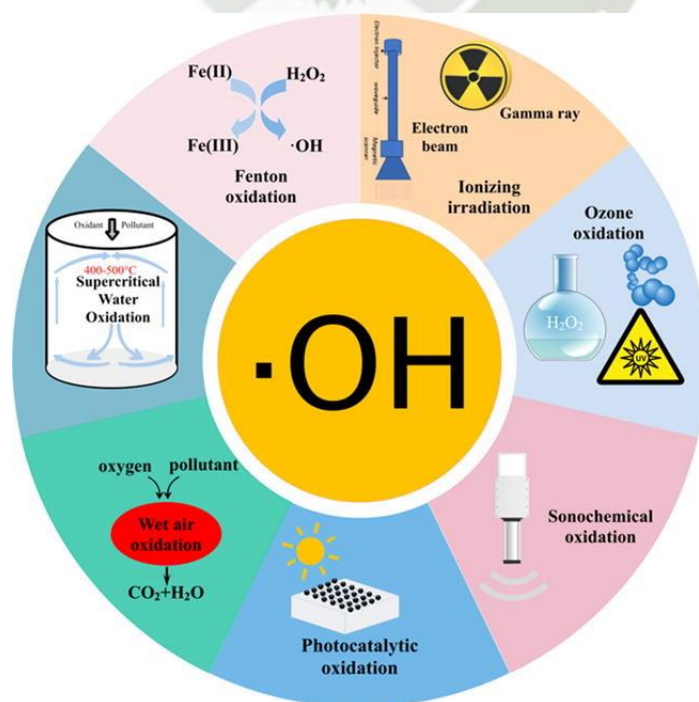


Figura 11. Diferentes Procesos de Oxidación Avanzada donde se genera radicales hidroxilo (OH) (115).

1.5.3 Ventajas y desventajas de los PEOA

Estos Procesos de Oxidación Avanzados constituyen métodos importantes, innovadores y respetuosos con el medio ambiente con el fin de eliminar los contaminantes de manera eficiente. Pero hay que tener en cuenta que siendo técnicas recientes suelen presentar algunas desventajas que son necesarias mejorar para un mejor rendimiento y de ese modo considerar esta técnica para un escalamiento que podrán ser utilizados en el tratamiento de aguas residuales(113).

Entre las desventajas que posee podríamos hablar del posible aumento en los costos, ya que necesita suministro eléctrico importante aunque hay diferentes procesos que podrían compensar esta necesidad, sabemos que todas las aguas a tratar no presenta la misma presencia de residuos o contaminantes es por ello que en aguas residuales que podrían presentar baja conductancia sería necesario agregar electrolitos para el proceso y ligado a esta desventaja se puede sumar los tiempos de reacción que podrían ser prolongados dependiendo a qué tipo de agua se deba tratar y por último dependiendo del tratamiento los subproductos intermedios podrían resultar ser tóxicos incluso más que los compuestos originales(111)(112).

Por otro lado, entre ventajas que presenta estas técnicas se encuentra su capacidad de oxidar a un amplio rango de contaminantes complejos, correspondiente a su no selectividad in situ de radicales hidroxilos que son generados electrolíticamente, requieren la adición de componentes químicos que podrían ser peligrosos durante el proceso, se trabaja bajo condiciones ambientales, no es necesario adaptar condiciones específicas lo que ayuda a disminuir costos durante el proceso, se alcanza altas tasas de reacción para el ataque de contaminantes orgánicos, se puede hacer uso de compuestos limpios como reactivo principal (electrón)(112).

Por lo general se logra reducir la cantidad de reactivos químicos, además de los riesgos de almacenamiento y transporte son mínimos, durante estos métodos se generan pocos lodos, no generan desperdicios referidos a los radicales libres ya que su consumo es inmediato, apenas se generan. Adicionalmente, existe la posibilidad de utilizar otras tecnologías de tratamiento conjuntamente, las fuentes de energía renovable pueden ser incluidas(112)(115).

1.6 Bioinformática

Considerada una ciencia híbrida que vincula datos biológicos con técnicas de almacenamiento, distribución y análisis de información para respaldar múltiples áreas de investigación científica, incluida la biomedicina y medioambiente. La bioinformática se alimenta de experimentos de generación de datos de alto rendimiento, que incluyen determinaciones de secuencias genómicas y mediciones de patrones de expresión génica. Esta área que ha cobrado gran relevancia ha estado presente en diferentes hitos del avance científico, ya que ha sido capaz de ser empleada en distintos campos, resultados de distintos análisis bioinformáticos emergente han logrado desarrollar nuevas prácticas, herramientas y técnicas sofisticadas que permiten interpretar datos biológicos, comprender enfermedades y el comportamientos de las moléculas en diferentes entornos, en la Figura 12. se detalla las distintas áreas que puede estar ligada la bioinformática. La constante demanda de la ciencia para su evolución ha permitido que la bioinformática se vuelva parte esencial de nuevos proyectos de investigación.

La bioinformática es una forma de recopilar y analizar datos biológicos complejos. Esto incluye analizar secuencias de proteínas y genomas para deducir la similitud y parentesco de especies y moléculas, analizar datos epidemiológicos para comprender la propagación de la enfermedad y realizar análisis estructurales para dilucidar las interacciones entre moléculas(116). La bioinformática, hoy más que nunca se ha incorporado en cada rama de las ciencias básicas, naturales y el del medio ambiente, lo que ha permitido proporcionar diferentes plataformas al alcance de los investigadores para que puedan desarrollar importantes e innovadoras técnicas computacionales para el bienestar humano y ambiental.

En las últimas décadas, la bioinformática forma parte de las investigaciones de remediación y biodegradación, desarrollando varias herramientas bioinformáticas útiles en este campo. Estos incluyen bases de datos, generación de sistemas de predicción de toxicidad de compuestos químicos, sistemas de predicción de vías de biodegradación y simulaciones computacionales que ayudan a entender y evaluar el comportamiento de diferentes contaminantes en un medio determinado(117).

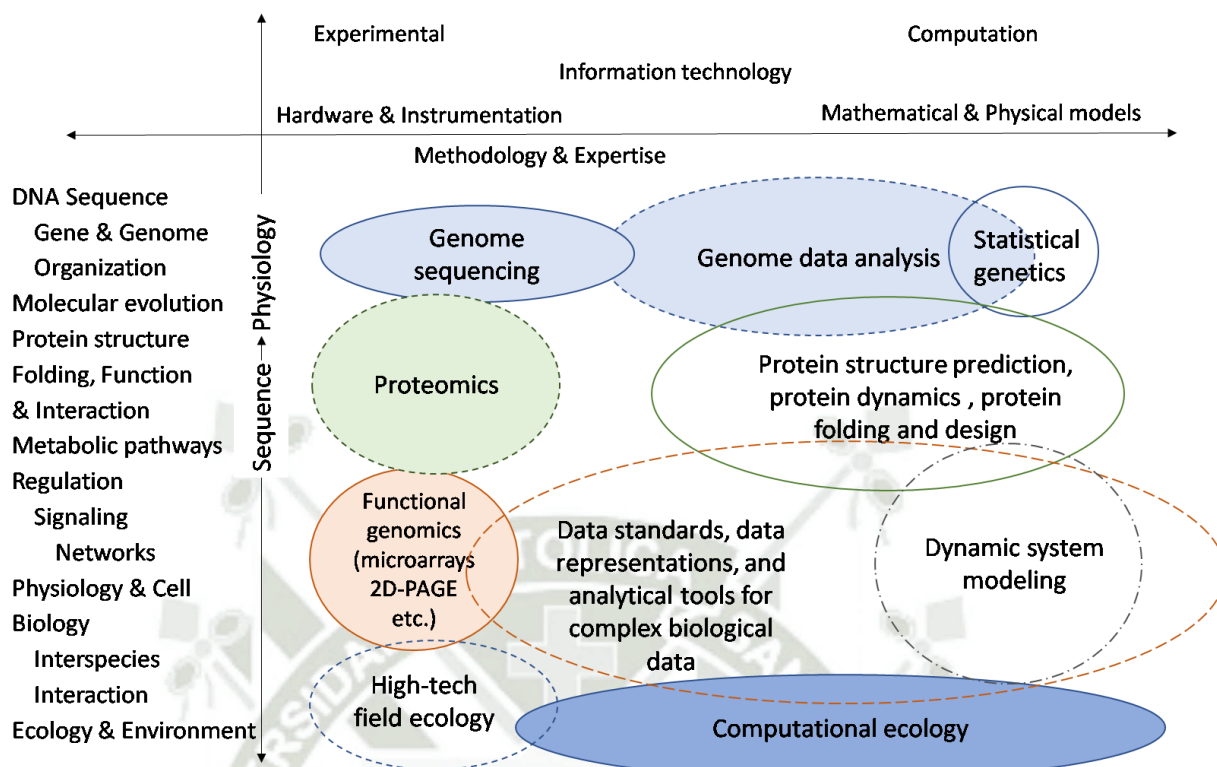


Figura 12. Bioinformática y ciencia computacional ligada a la biología y el medio ambiente(118).

Las técnicas de remediación por medio de la bioinformática han logrado enormes avances en la detección de contaminantes, evaluación de su toxicidad, valoración y degradación de contaminantes complejos y emergentes a través de la predicción de vías potenciales en sistemas informáticos.

Estas vías son desarrolladas por métodos computacionales completos y diversos que predicen de manera rápida las posibles vías de degradación de contaminantes, lo que lleva a grandes beneficios como ahorrar tiempo y valor científico de mano de obra, así como materiales y compuestos químicos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta nueva herramienta todavía presenta numerosas deficiencias técnicas, que gracias a la creciente investigación en esta rama en un futuro se podrá obtener mejores herramientas proporcionando el uso de la metodología avanzada y su integración en más campos de estudios(119)(120).

1.7 Bioinformática y otras herramientas computacionales en la degradación de contaminantes ambientales.

Las herramientas bioinformáticas se pueden emplear para detectar contaminantes por su sensibilidad en su proceso de degradación por varios métodos, ya sea que un determinado contaminante emergente este caracterizado por una enzima específica o analizar su comportamiento con agentes que pueden degradarlos a partículas más pequeñas y fáciles de tratar. La implementación de un estudio que contenga un enfoque *in silico* para este tipo de procedimientos en las que el objetivo principal es el tratamiento de contaminantes que van surgiendo a lo largo del tiempo y que dejan estragos importantes en la naturaleza es de suma importancia. Analizar el mecanismos de acción y la interacción de las moléculas con su entorno de estos contaminantes en tratamientos específicos, ya sea por medio de microorganismos o por procesos avanzados, nos brindan información necesaria para aplicar nuevas acciones que por medio del enfoque que proporciona la bioinformática nos permite reducir el tiempo y los experimentos básicos que se puedan dar en un laboratorio, ya que nos brindara más información tales como predicción de las vías de degradación(121).

Las distintas técnicas de remediación o procesos avanzados, biorremediación y la bioinformática son las áreas científicas multidisciplinarias o así mismo como la microbiología y la biotecnología, que son áreas de avances muy rápidos e innovadores nos permite tener nuevos enfoques en esta área de la conservación del medio ambiente esenciales hoy en día. Actualmente, contamos con una infinidad de bases de datos, técnicas y herramientas de predicción de acceso libre que nos permite desarrollar, comprender, analizar y aplicar como la bioinformática puede brindarnos un enfoque más amplio de la remediación de diferentes recursos naturales que son afectados por distintos contaminantes emergentes(121)(122).

En la Figura 13, nos detalla la aplicación de una aquellas herramientas bioinformáticas que son empleadas en distintos trabajos que presentan enfoques computacionales y enfoques ómicos que permiten analizar las distintas características químicas, funcionales y termodinámicas, además de permitirnos predecir algunas propiedades como la toxicidad y conocer las vías de degradación de diferentes contaminantes(123).

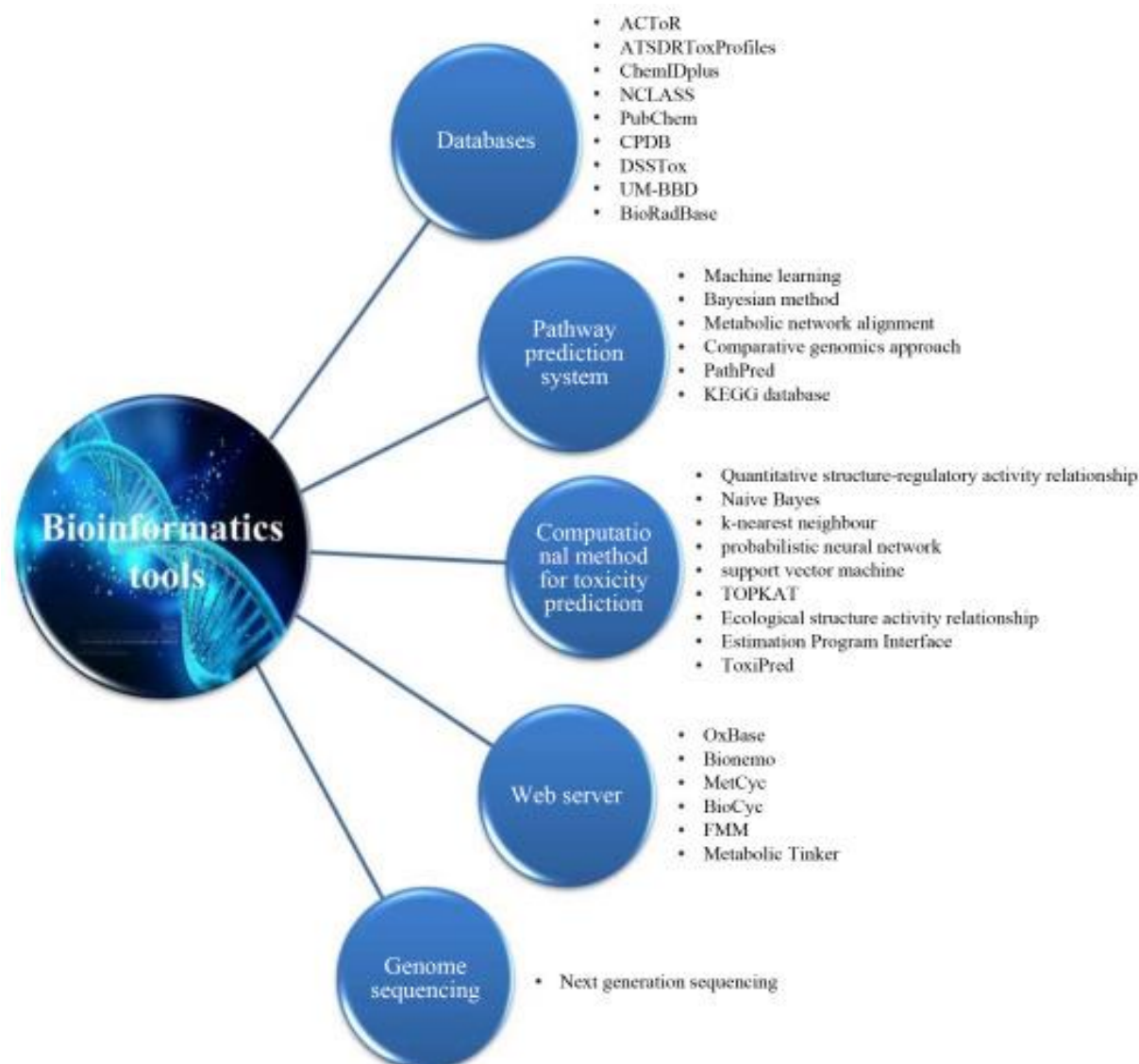


Figura 13. Herramientas bioinformáticas empleadas frente a contaminantes emergentes(124).

1.8 Mecánica molecular

1.8.1 Dinámica molecular

La dinámica molecular es considerada una técnica computación fundamental para poder determinar y analizar el estado final de un sistema en un tiempo futuro, es decir, nos permite conocer los movimientos que realiza los átomos o estructuras en un sistema molecular desde su posición inicial hasta el término de una trayectoria determinada, este proceso, ver Figura 14, que permite observar el comportamiento de proteínas, ácidos nucleicos, antibióticos, membranas, entre otros(125), solo puede ser empleado junto con un sistema de posicionamiento en el espacio, también determinado topología y por ende

las velocidades de los átomos que forma parte del sistema. Por otro lado, esta importante herramienta bioinformática sirve para realizar el refinamiento de la energía y de minimización (algoritmos) de los componentes de un determinado sistema(126).

Las simulaciones de dinámica molecular (MD) han surgido como herramientas eficientes para diferentes campos de la ciencia para comprender los distintos sistemas que van desde analizar en un nivel subnanométrico hasta en un nivel micrométrico que proporciona mecanismo de comprensión que se pueden comparar con los resultados experimentales(126). Algunas áreas en donde se aplica esta herramienta bioinformática se detallan a continuación:

- Es empleado para dar vida a ciertas estructuras biomoleculares complejas como las proteínas que por medio de MD proporciona información sobre el comportamiento o dinámica natural en solución en diferentes trayectorias.
- Proporciona información de los promedios de propiedades térmicas moleculares, estos datos ayudan a calcular los fluidos y las variables de la energía libre en procesos de interacción entre complejos o unión de ligandos.
- Para el trabajar en las distintas conformaciones de las moléculas o sistemas complejos, obtener datos de los espacios conformacionales en acoplamiento de ligandos, conocer de propiedades generales de las estructuras moleculares(127).

La MD no es solo una herramienta de análisis, sino que es una pieza fundamental en el campo de la ciencia y que está en un rápido desarrollo. En la Tabla 4, enumera los principales programas que son empleados para realizar trabajos de dinámica molecular.

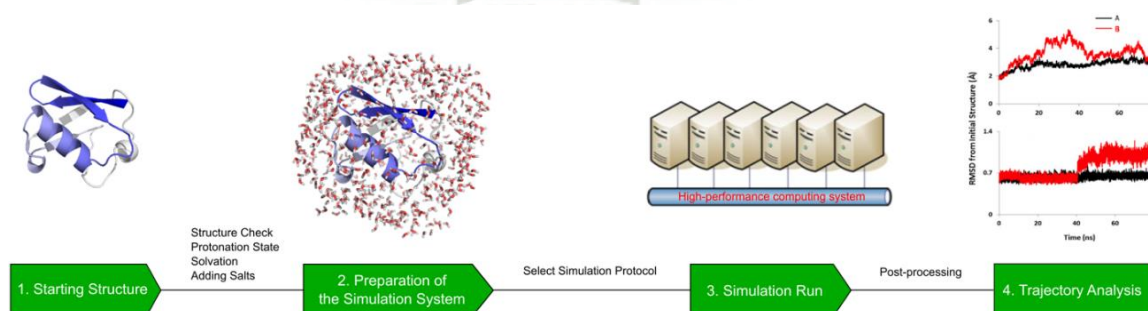


Figura 14. Proceso de Simulación de Dinámica Molecular.

1.8.2 Campos de fuerza (CF)

Dentro del modelado molecular podemos determinar que un campo de fuerza es aquel que está constituido por ecuaciones potenciales y parámetros, es decir que se refiere a la forma funcional y de parámetros de ensamble que son empleados para determinar la energía potencial de un sistema en particular tanto de átomos como de partículas complejas, esto con la finalidad de significar las interacciones interatómicas, sustentando la geometría de las moléculas.

Los campos de fuerza entiende las interacciones de los átomos, esto quiere decir que los átomos que se encuentran definidos en un determinado campo de fuerza proporcionan parámetros específicos para cada tipo de átomo en un sistema, desligando las interacciones de enlace tales como la torsión de los enlaces, desviación de los ángulos y la rotación de los diedros que describen la energía necesaria o requerida para lograr la distorsión de una molécula de una forma específica también tenemos a las interacciones no enlazantes entre ellas tenemos al potencial electrostático, dispersión de las partículas y exclusión de Pauli. Ver Figura 15.

Por lo menos un campo de fuerza debe ser capaz de reproducir y presentar buenos resultados al emplear las siguientes propiedades moleculares(128):

- Geometrías moleculares.
- Energías conformacionales y estereoisoméricas.
- Barreras de torsión y energías de torsión-deformación.
- Energías de interacción intermolecular.
- Geometrías de interacción intermolecular.
- Frecuencias vibratorias.
- Calores de formación

Tabla 4. Programa / softwares más empleados en trabajos de Simulación de Dinámica Molecular y sus atributos.

Programa / software	Fuente	Unidades de procesamiento	Descripción	Método/ Campo de fuerza	Licencia/ Acceso	Sitio web / Referencia
GROMACS	Universidad de Groningen, Holanda	CPU/GPU	MD de alto rendimiento y multiplataforma.	LINCS/P-LINCS y SHAKE.	Fuente abierta	http://www.gromacs.org/
Desmond	D. E Investigaciones Shaw	GPU	MD de alto rendimiento emplea algoritmos paralelos.	AMBER, CHARMM, OPLS	Comercial	https://www.deshawresearch.com/resources_desmond.html
CHARMM	Martin Karplus y colaboradores, Biovia.	CPU/GPU	MD, minimización de energías empleado para macromoléculas	CHARMM	Comercial	https://www.charmm.org/
NAMD	Klaus Schulten, Universidad de Illinois	CPU/GPU	MD de alto rendimiento para una gran variación de biomoléculas.	CHARMM, AMBER	Fuente abierta	https://www.ks.uiuc.edu/Research/namd/
LAMMPS	Laboratorios Nacionales Sandia	GPU	MD clásica utiliza simulación paralelo atómico / molecular a gran escala	CHARMM, AMBER, OPLS, GROMACS	Fuente abierta	https://www.lammps.org/
TINKER	Universidad de Washington en Saint Louis, UT Austin, Sorbonne	GPU	Paquete completo y general que posee algoritmos especiales para biopolímeros.	AMBER, CHARMM, OPLS, MMFF	Comercial	https://dasher.wustl.edu/tinker
AMBER	David Case, Universidad de Rutgers	CPU/GPU	Paquete completo de MD empleado para proteínas y aa.	AMBER, ff99SBildn LIPID14	Comercial	https://ambermd.org/AmberModels.php
ACEMD	Soluciones Acellera	GPU	Software de manejo fácil y rápido.	CHARM, AMBER, OPLS	Comercial	https://www.acellera.com/products/molecular-dynamics-software-gpu-acemd/
Abalone	Agile Molecule	GPU	MD de alto rendimiento y diseño portátil dirigido a proteínas pequeña	AMBER, OPLS	Fuente abierta	http://www.biomolecular-modeling.com/Abalone/Simulations.html

$$E_{\text{total}} = E_{\text{stretch}} + E_{\text{bend}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{vdW}} + E_{\text{elec}}$$

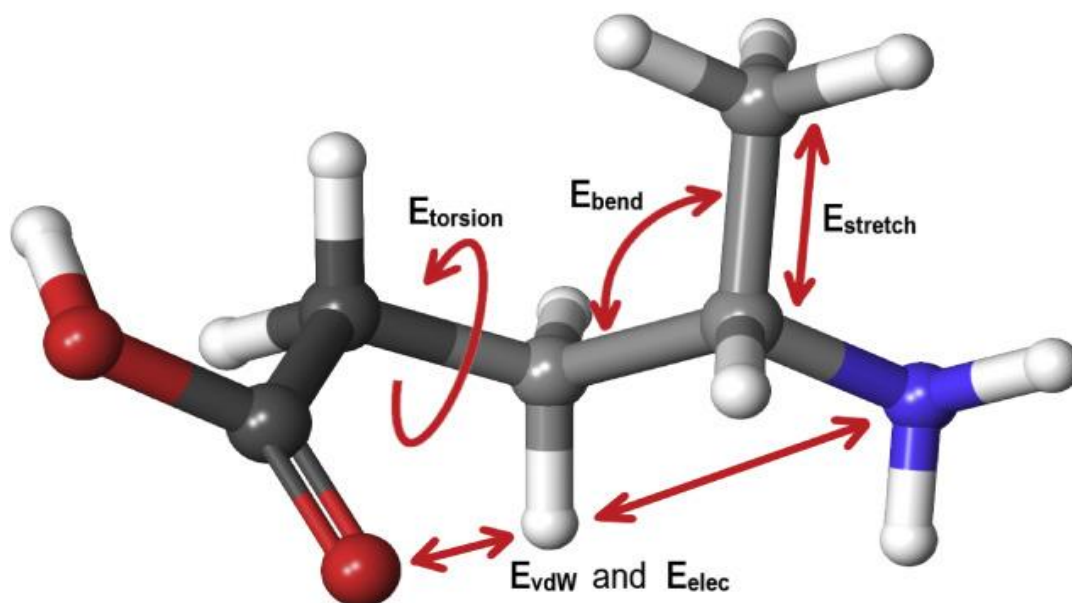


Figura 15. Términos de energía potencial y de interacción que componen un campo de fuerza(129).

Los campos de fuerza nos ayudan a establecer el proceder de los sistemas y sus interacciones analizando sus átomos, es por ello por lo que son derivados de datos experimentales contemplándolos empíricos, dentro del grupo de los campos de fuerza utilizados con más frecuencia para las simulaciones de dinámica molecular se encuentran: AMBER, CHARMM y el OPLS.

Los campos de fuerza se diferencian uno frente a otro por:

- El rango de los distintos términos energéticos que presenta.
- La conformación o el modo de expresión de energía de análisis.
- La multiplicidad de cada variedad de campo de fuerza.
- El procedimiento de la obtención de los parámetros (tanto métodos teóricos como experimentales)

En la siguiente Tabla 5. Se detalla algunos campos de fuerza de mecánica molecular comúnmente usados:

Tabla 5. Campos de fuerza más utilizados en Mecánica Molecular.

Campo de Fuerza	Definición	Referencia
AMBER	<p>Utilizada para la construcción o desarrollo de modelos asistidos y refinamiento de energía, empleado para minimización de energías en estructuras terciarias. Este campo de fuerza trabaja adecuadamente con la longitud y ángulo de enlace, carga parcial y otros parámetros como los de Van der Waals.</p> <p>Es un campo de fuerza que fue parametrizado puntualmente para proteínas y ácidos nucleicos. Puede admitir simulaciones no periódicas, también integra modelos tales como el solvente implícito de Poisson-Boltzmann numérico o de Born generalizado. Para los cálculos de energía libre emplea técnicas de integración termodinámica o por muestreo general, entre las ventajas que presenta este campo de fuerza es que no se limita a potenciales descomponibles por pares y posee un gran soporte en el análisis de trayectoria y posprocesamiento energético.</p>	(130)(131)
CHARMM	<p>Química en Harvard mecánica molecular, aplicada para una gran variedad de sistemas de gran cantidad de partículas, posee herramientas de análisis y creación de modelos. Es un campo de fuerza que en sus inicios fue destinado para proteínas y ácidos nucleicos, pero hoy en día es aplicado a materiales inorgánicos, biomoléculas, ligandos de moléculas pequeñas, entre otros.</p> <p>Este campo de fuerza es comúnmente empleado en estudios de dinámica molecular por su capacidad de análisis de solvatación y fácil análisis vibratorio de las moléculas.</p>	(132)(133)

GROMOS	Simulación molecular de Groningen, uno de los campos de fuerza más empelados para predecir el movimiento dinámico de moléculas o complejos y líquidos, además que permite el modelamiento de biomoléculas. Entre sus características esta la compatibilidad con el modelo de agua carga puntual simple (SPC), cargas parciales atómicas ajustables, presenta compatibilidad electrostática del campo de reacción, entre otras.	(134)
MMFF	<p>El campo de fuerza Molecular de Merk uno de los campos más empelados por su capacidad de emplearlo en diferentes sistemas, pero particularmente empleado para trabajos en moléculas orgánicas. El campo de fuerza MMFF94 para el día de hoy es utilizado en simulaciones de dinámica molecular y para la optimización de la geometría.</p> <p>Los cálculos de MMFF94 están divididos en siete tipos de energía que son independientes entre sí y que pueden calcular las energías parciales de diferentes interacciones dentro cualquier molécula o sistema,</p>	(128)(135)
OPLS	Potenciales optimizados para la simulación de líquidos, campo de fuerza especial para modelar líquidos, marco el inicio de la optimización de los distintos parámetros para obtener resultados adecuados de las propiedades termodinámicas en estado líquido de una gran cantidad de moléculas orgánicas, además de ser empleado para trabajos de modelado de la dinámica molecular de las biomoléculas.	(136)

1.8.3 Simulación de dinámica molecular

La dinámica molecular, al ser un método determinista, puede ayudar a determinar el estado final de un sistema en tiempo futuro, este proceso solo puede realizarse en un sistema dispuesto en el espacio (topología atómica y velocidades), logra refinar

energéticamente el sistema, este sistema utiliza un algoritmo de minimización que ayuda a reducir las tensiones de la estructura de estudio. La dinámica molecular calcula las fuerzas de los átomos en cada paso de tiempo, así como la posición y velocidad atómicas.

Al analizar la Figura 16 podremos observar que una simulación de dinámica molecular implica tres pasos en su proceso de ejecución, el primer paso es la “iniciación”, las partes o componentes del sistema se distribuyen en el espacio, cada partícula ya tiene una posición conocida en este punto y la temperatura de todo el sistema tiene una velocidad aleatoria. Este proceso se realiza para obtener un sistema de velocidad cero. En la segunda etapa, continuamos con las velocidades a cero, repetimos los pasos de la primera etapa para asegurarnos de que el sistema se encuentre en equilibrio, permitiendo obtener las trayectorias finales de las partículas. Finalmente, el tercer paso se refiere a la determinación de trayectorias para definir los resultados obtenidos y la determinación de las trayectorias para lograr determinar las propiedades del sistema.

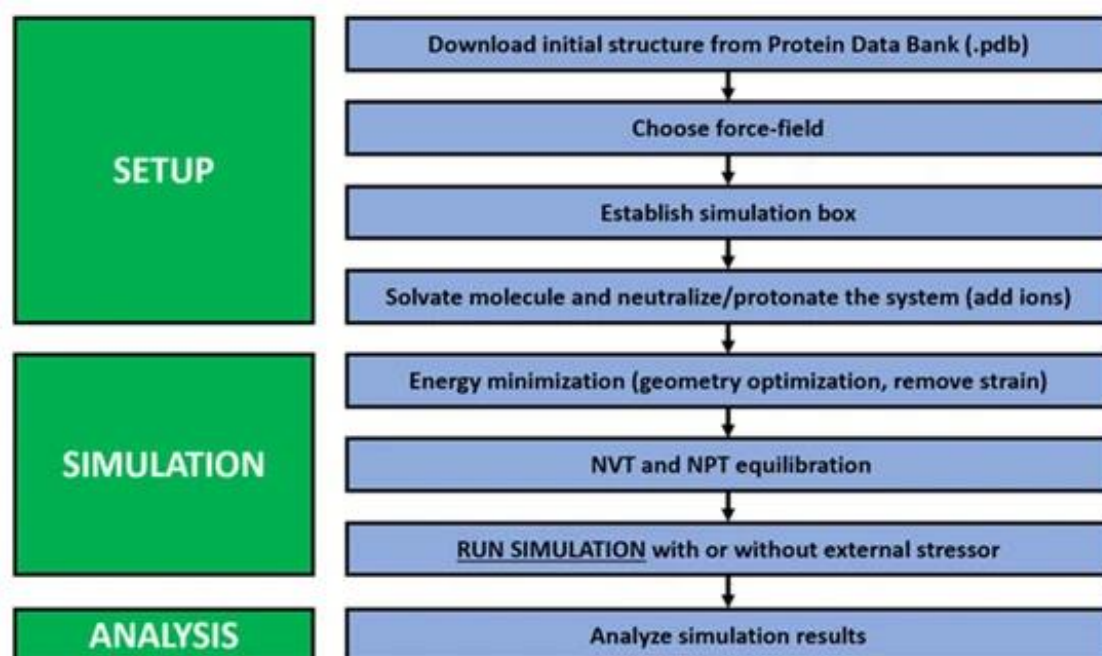


Figura 16. Pasos generales para ejecutar correctamente una simulación de Dinámica Molecular(137).

1.9 GROMACS

El método de la mecánica molecular que utiliza un conjunto de ecuaciones y variables derivadas empíricamente, capaces de reproducir los atributos de energía potencial de los sistemas moleculares. El CF de una molécula comprende átomos que se mantienen unidos por enlaces. Las interacciones entre las partículas constituyentes se manejan utilizando varias funciones potenciales provenientes de la mecánica molecular. Estas funciones potenciales dependen de parámetros que especifican los diferentes tipos de interacciones que ocurren entre los átomos, como las interacciones de enlace y no enlace, en el primer caso se encuentran los enlaces, ángulos y fuerzas de torsión, por otro lado, los no enlazantes están las fuerzas de Van der Waals e interacciones electrostáticas.

La conjugación de funciones de energía potencial y parámetros usados para estimar estas interacciones son llamados Campos de Fuerza y la energía del sistema resulta por la desviación de estos parámetros de los valores ideales. La energía total del sistema se obtiene por la adición de todos los términos energéticos que simboliza todos los tipos de interacciones que se dan entre los átomos de la molécula: deformaciones de los enlaces por elongación, plegamiento o rotación y variación de las interacciones de las partículas. La suma de todos los términos de energía concernientes a todos los átomos que componen la molécula da como producto la energía total de esta, que en ocasiones se denomina energía estérica. Esta valorización no tiene significado físico por sí mismo, es solo una medida de las tensiones intramoleculares relativas a una situación hipotética. No obstante, las diferentes energías para las diversas geometrías de la misma molécula proporcionan su relativa estabilidad de estas y son una cantidad apropiada para compararlas con las propiedades experimentales observables.

Si hablamos de la descripción del software, ver Figura 17, GROMACS (GRONingen Machine for Chemical Simulations) es un potente programa multiplataforma código abierto que cuenta con cientos de millones de partículas. Proyecto que se desarrolló originalmente en la Universidad de Groningen, posee un elaborado paralelismo conformado con por un aglomerado de simulaciones, así como un cúmulo, rutas de programas y dominios.

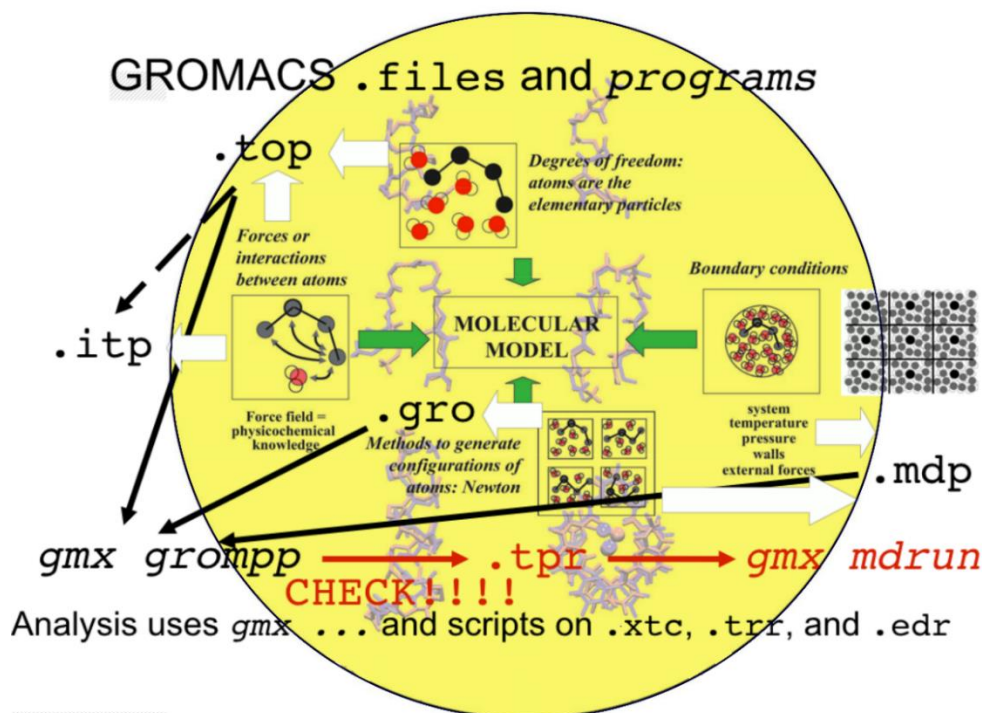


Figura 17. Descripción general de los archivos utilizados en GROMACS para una simulación de MD (138).

1.9.1 Desviación cuadrática media de la raíz (RMSD)

RMSD (*Root Mean Square Deviation*), valor que está correlacionado a la distancia euclidiana entre dos vectores que está relacionada directamente con el número de dimensiones de estos. También es determinada como la medida de la distancia promedio entre átomos, es decir, capaz de establecer la cantidad en la que una selección de átomos o moléculas varía de una posición definida en el espacio referente a su posición inicial, ligado a la medición numérica de la variación posicional entre ambas estructuras(139)(140). La ecuación para determinar el RMSD es:

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (r_{i,sim} - r_{i,expr})^2}{N}}$$

$$RMSD_{(t_1,t_2)} = \left[\frac{1}{M} \sum_{i=1}^N m_i \|r_i(t_1) - r_i(t_2)\|^2 \right]^{1/2}$$

Donde $M = \sum_{i=1}^N m_i$

Mediante la ecuación planteada de la desviación media cuadrática podemos determinar que “N” es el número de átomos de la estructura o macromolécula a estudiar mientras que “r” son las posiciones de las estructuras en el eje cartesiano.

El presente instrumento de análisis nos ayuda a precisar la estabilidad estructural de las moléculas durante las simulaciones de la dinámica molecular, ya que podemos utilizar como un indicador los resultados del RMSD para analizar la convergencia de la configuración molecular hacia un estado de equilibrio(141). Gracias a este análisis de estudio podemos identificar y analizar la estabilidad relativa y la flexibilidad estructural. Los valores de RMSD se representan por medio de un diagrama de estilo de línea donde se determinan y analiza la convergencia y estabilidad de la simulación de trabajo.

1.9.2 Fluctuación de raíz cuadrada media (RMSF)

El RMSF conocido por ser una medida que ayuda a determinar el desplazamiento o partes de la estructura que fluctúan más durante la dinámica de un átomo en específico, o grupo de átomos, en comparación con la estructura de referencia, promediado sobre el número de átomos(142). Este análisis también nos permite evaluar la flexibilidad de los elementos que compone las moléculas de interés(143).

Para realizar este análisis es necesario emplear la siguiente ecuación:

$$RMSF_{(t_1)} = [(r_i(t) - \langle r_i(t) \rangle)^2]^{1/2}$$

1.9.3 Radio de giro (Rg)

Herramienta que nos ayuda a analizar de manera cuantitativa los atributos de distribución de masas en los ejes x, y, z, del plano cartesiano en proporción al tiempo de simulación que nosotros predeterminamos. Es decir, ayuda a calcular el radio de giro de una molécula y los radios de giro alrededor de los ejes x, y, z que se dan en función del tiempo, pero sin dejar de lado que los átomos están explícitamente ponderados en masa. Por otro lado, este análisis nos ayuda a determinar y analizar el grado de compactación de una estructura.

Mediante el paquete computacional Gromacs lo calcula según la ecuación:

$$R_g = \left(\frac{\sum_i \|r_i\|^2 m_i}{\sum_i m_i} \right)^{\frac{1}{2}}$$

Donde:

m_i es la masa de átomo i , y r_i es la posición del átomo i respecto del centro de masa de la molécula.

1.9.4 Puentes de Hidrógeno (HBond)

Este análisis es realizado durante toda la trayectoria, y nos brinda el promedio de puentes de hidrógeno. El enlace de hidrógeno es a menudo analizado en este tipo de trabajos por su función elemental de estabilización de estudios donde se trabaja con complejos moleculares. Esta propiedad se debe a que estos tipos de enlace facilitan en gran medida las interacciones moleculares y se los conoce por ser de una naturaleza ubicua. Por otro lado, el análisis de enlaces de hidrógeno puede identificar el número y / o la duración de los enlaces de hidrógeno en un sistema de interés.

1.9.5 Área de superficie accesible a solventes (SASA)

SASA (*Solvent Accesible Surface Area*) hace referencia a la superficie accesible al solvente que es una cualidad para la cual una fórmula analítica no está determinada, esto se debe principalmente a que el solvente está constituido por elementos discretos, como se puede observar en la Figura 18. SASA se calcula por lo general por métodos que hacen uso del rodamiento *in-silico* de una sonda esférica, que se asemeja a una molécula de agua, alrededor de cualquier molécula(144). El método fue propuesto por Lee y Richards los cuales presentaron el primer algoritmo para este cálculo, el cual involucró la extensión del radio de Van der Waals para cada átomo en 1.4 Å el cual corresponde al radio de una sonda de solvente polar y el cálculo del área de superficie de estos átomos de radio expandido(145). En el caso del algoritmo de Shrake y Rupley se basa en la prueba de puntos en la superficie de Van der Waals de los átomos para la superposición con puntos en la superficie de Van der Waals de los otros átomos de su entorno(146).

Debido a que el solvente presenta elementos discretos, lleva a cabo que la superficie molecular sea complicado de ser descrita como el resultado de las superficies de los átomos

del soluto en estudio, por ende, la rugosidad o irregularidad que se presenta hace que determinadas cavidades no sean capaces de ser llenadas por el solvente elegido, por ende la superficie asequible al solvente se espera sea inferior a la superficie molecular precisada por los radios de Van der Waals de los átomos de la molécula(144).

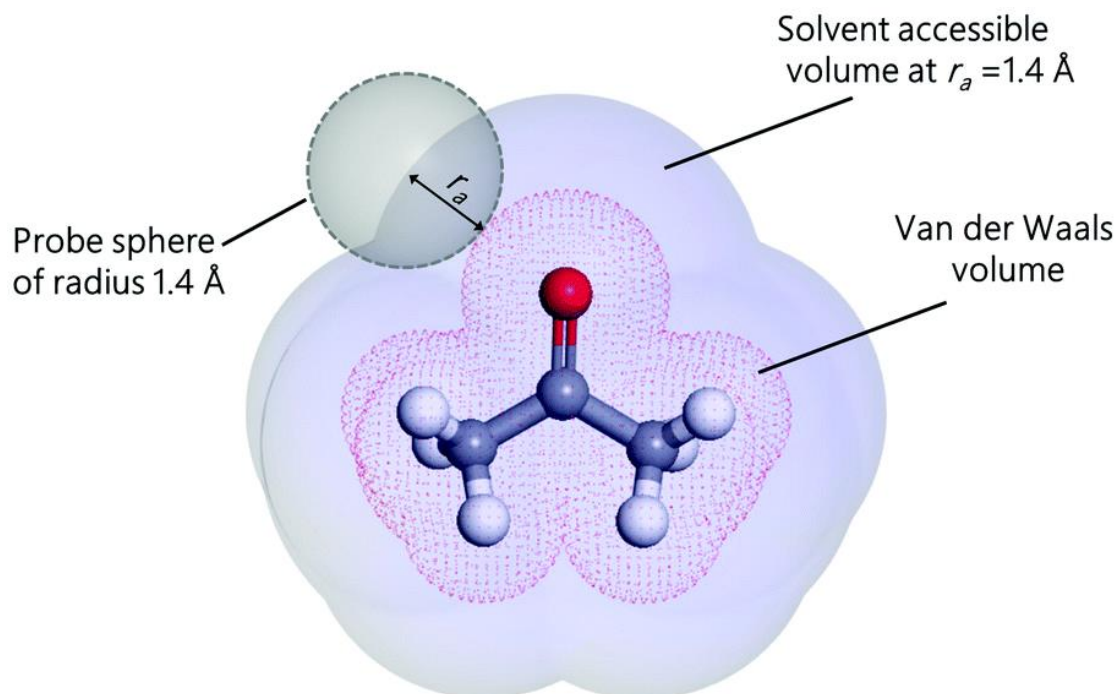


Figura 18. Área de superficie accesible a solventes.

CAPÍTULO II



2.MATERIALES Y MÉTODOS



2.1 Lugar de ejecución

2.1.1 Ámbito geográfico

La investigación correspondiente se realizó en la provincia de Arequipa, región Arequipa.

2.1.2 Ambientes por utilizar

- Laboratorio del Computational Biology and Chemistry Research Group de la Universidad Católica de Santa María.

Campus Central, Urb. San José s/n Umacollo
Arequipa – Perú

- Urbanización Alameda Dolores, Jose Luis Bustamante y Rivero.

2.2 Materiales

2.2.1 Hardware

- Ordenador portátil

Características:

- Modelo del sistema: VivoBook_ASUSLaptop X515EA
- Sistema operativo: Windows 10 home Single Language 64bits (10.0, compilación 19041).
- BIOS: X515EA.205
- Procesador: 11th Gen Intel® Core™ i7-1165G7 @ 2.80GHz (8 CPUs), ~2.8 GHz
- Memoria: 8192MB RAM

- Estación de Trabajo Computacional

Características:

- Procesador: Intel® Core™ i9-10850k CPU @ 3.60GHz x 20
- Memoria: 64 GB RAM
- Tarjetas Gráficas: NVIDIA GeForce RTX 3070 integradas.

2.2.2 Software

- **Gromacs v.2021.2.**

Es un paquete computacional utilizado para realizar Dinámicas Moleculares tanto para moléculas biológicas como no biológicas, mediante la simulación de las ecuaciones Newtonianas del movimiento. Disponible en <http://www.gromacs.org/>

- **VMD v.1.9.3.**

Herramienta de visualización molecular utilizado para modelar, visualizar y poder hacer análisis de grandes sistemas biomoleculares haciendo uso de gráficos 3D. El programa VMD es ampliamente utilizado para animar y analizar trayectorias de simulaciones de dinámica molecular. Presenta una amplia gama de herramientas, métodos y comandos que permiten una representación adecuada de diferentes sistemas de estudio. Disponible en <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/>

- **Gnuplot v.5.2.**

Es un graficador impulsado por comandos lineales para diferentes sistemas operativos considerado una herramienta flexible e interactivo para la generación de graficas de funciones además de datos en diferentes dimensiones utilizado generalmente en el sistema operativo Linux. Disponible en <http://www.gnuplot.info/>.

- **Avogadro 1.90.0.**

Un visualizador y editor avanzado de moléculas, empleado en diferentes recursos computacionales como modelado molecular, en el campo de la bioinformática. y otros estudios que van relacionados con el uso de herramientas virtuales. Nos ayuda a realizar diseños moleculares en 3D que son interactivos el cual brinda una representación flexible, de alta resolución y una eficaz arquitectura de complementos(147).

- **UBUNTU**

Sistema operativo de distribución de Linux, considerado un software libre y de código abierto, amigable y con un fuerte enfoque de facilidad de manejo que trabaja a través de una interfaz gráfica (GUI). Disponible en <https://ubuntu.com/>

2.3 Métodos

Como ámbito de desarrollo general, el presente trabajo de investigación fue realizado por medio del sistema operativo Linux con la distribución de UBUNTU 20.04 LTS por su manejo de enfoque fácil, software libre y código abierto.

2.3.1 Diseño de estructuras moleculares y obtención de topologías.

Se realizó la búsqueda de la información estructural y de conformación 3D de la azitromicina en la base de datos del PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), una de las plataformas informáticas libres más importantes de datos químicos proporcionar información detallada de cada estructura química ya sea de pequeñas o grandes moléculas, propiedades químicas y físicas más importantes para un análisis completo en el campo de la biomedicina, quimioinformática y biología computacional (148) y RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>), El Banco de Datos de Proteínas del Colaboratorio de Investigación para la Bioinformática Estructural, recurso informático de datos con acceso abierto que contine detalles estructurales y herramientas que aportan a la investigación en las diversas áreas de la biología, biotecnología y biosalud.

Dentro del portal se encuentra Ligand Expo, herramienta que proporciona información estructural 3D de moléculas pequeñas así como sus propiedades químicas y que van actualizando constantemente (149).

PubChem About Blog Submit Contact Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

Azithromycin

PubChem CID: 447043

Structure: 2D
[Find Similar Structures](#)

Chemical Safety: Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet

Molecular Formula: $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$
azithromycin
Zithromax
83905-01-5
Sumamed
Zitromax

Synonyms: azithromycin, Zithromax, 83905-01-5, Sumamed, Zitromax

CONTENTS

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Chemical Vendors
- 7 Drug and Medication Information
- 8 Pharmacology and Biochemistry
- 9 Use and Manufacturing
- 10 Identification
- 11 Safety and Hazards
- 12 Toxicity
- 13 Associated Disorders and Diseases
- 14 Literature
- 15 Datasheet

Figura 19. Interfaz de la base de datos PubChem.

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More Documentation Careers

RCSB PDB PROTEIN DATA BANK 181535 Biological Macromolecular Structures Enabling Breakthroughs in Research and Education

Celebrating 40 YEARS OF Protein Data Bank

ZIT

AZITHROMYCIN

Find entries where: ZIT

is present as a standalone ligand in 8 entries

Find related ligands:

- Similar Ligands (Stereo Specific)
- Similar Ligands (incl/ Stereoisomers)
- Similar Ligands
- Similar Ligands (Substructure Stereo Specific)
- Similar Ligands (Substructure incl/ Stereoisomers)

[View summary at Ligand Expo](#)

View / Download Files

Chemical Component Summary

Name	AZITHROMYCIN
Identifiers	(2R,3S,4R,5R,6R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-11-[(2S,3R,4S,6R)-4-dimethylamino-3-hydroxy-6-methyl-oxan-2-yl]oxy-2-ethyl-3,4,10-trihydroxy-13-

Chemical Details

Formal Charge	0
Atom Count	124
Chiral Atom Count	18

Figura 20. Interfaz de la base de datos especializada PDB (Banco de datos de proteína).

necesario aclarar algunos términos o nomenclaturas que representa al antibiótico de análisis, para la parte experimental se empleó el término **ZIT** para referirnos a la estructura molecular de la Azitromicina esto en referencia al diccionario de compuestos del interfaz de RCSB PDB. Por otro lado, el término **AZT** está relacionado al nombre genérico o nombre oficial del fármaco regulado dentro del Directorio de Códigos Nacionales de Medicamentos establecido por Organismos Internacionales, además de que un mismo termino como **AZM** puede representar distintos medicamentos según el proveedor o compañía que los fabrica.

Finalmente, se prepararon los sistemas que se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Diferentes combinaciones de sistemas moleculares (ZIT-OH).

Nombre del sistema	Temperatura	ZIT	OH
25ZIT-0OH-28	300K (28°C)	25	0
25ZIT-50OH-28			50
50ZIT-0OH-28		50	0
50ZIT-50OH-28			50
25ZIT-0OH-28		75	0
75ZIT-0OH-28			50
75ZIT-50OH-28	0		
100ZIT-0OH-28	293.15K (20°C)	100	50
100ZIT-50OH-20		25	0
25ZIT-0OH-20			50
50ZIT-0OH-20		50	0
50ZIT-50OH-20			50
75ZIT-0OH-20			75
75ZIT-50OH-20	50		
100ZIT-0OH-20	323K (50°C)	100	0
100ZIT-50OH-20			50
100ZIT-50OH-20		25	0
25ZIT-0OH-20			50
50ZIT-0OH-20	50	0	
50ZIT-50OH-20		50	

75ZIT-0OH-20		0
75ZIT-50OH-20	75	50
100ZIT-0OH-20		0
100ZIT-50OH-20	100	50

La primera columna nos indica la etiqueta de cada sistema de estudio, la segunda columna nos indica la temperatura de estudio, la tercera columna nos muestra la cantidad de moléculas de azitromicina consideradas, y finalmente la última columna nos indica la cantidad de radical OH.

2.3.2 Construcción de los sistemas de simulación

Se colocó las moléculas de Azitromicina y los radicales libres de hidroxilo dentro de un ambiente o sistema en caja utilizando el siguiente comando “**gmx editconf**” en el programa GROMACS las dimensiones que se establecieron en el diámetro del sistema se definió con el comando “**-box**”, el que nos ayudó a establecer las longitudes vectoriales de la caja, donde se estimó un tamaño de 8 x 8 x 8 además se usó el comando “**-c**” para lograr centrar las moléculas en la caja, el comando utilizado fue el siguiente:

```
gmx editconf -f zit.pdb -o zit-01.gro -box 8 8 8 -c
```

El comando “**gmx editconf**” nos permitió incorporar las dimensiones de la caja, en la última fila del archivo *.gro.

Una vez creada la caja se empleó el comando “**gmx solvate**” para agregar las moléculas de agua, en este trabajo de investigación se usó el modelo de agua más sencillo SPC216. El comando usado fue el siguiente:

```
gmx solvate -cp zit-01.gro -cs spc216.gro -o zit-02.gro -nice 0 -p ZIT.top
```

2.3.3 Minimización de energía

Se procedió a realizar la minimización de energías mediante el algoritmo *steepest descent* durante 50000 steps, este algoritmo fácil de implementar es de gran ayuda para acercar lo más posible los sistemas que permanecen alejados del mínimo local más cercano, con este se logró

descender de manera pronunciada e inmediata a una zona cercana al mínimo. Las condiciones necesarias para la minimización se muestran en la Figura 23.

```
gmx grompp -f min.mdp -c zit-02.gro -p ZIT.top -o zit-03.tpr -po zit-02.mdp
```

```
gmx mdrun -nice 0 -v -s -deffnm zit-03
```

```
1 ; LINES STARTING WITH ';' ARE COMMENTS
2 title           = Minimization           ; Title of run
3
4 ; Parameters describing what to do, when to stop and what to save
5 integrator      = steep                  ; Algorithm (steep = steepest descent minimization)
6 emtol          = 1000.0                 ; Stop minimization when the maximum force < 10.0 kJ/mol
7 emstep         = 0.01                   ; Energy step size
8 nsteps         = 50000                   ; Maximum number of (minimization) steps to perform
9
10 ; Parameters describing how to find the neighbors of each atom and how to calculate the interactions
11 nstlist        = 10                     ; Frequency to update the neighbor list and long range forces
12 cutoff-scheme = Verlet
13 ns_type        = grid                   ; Method to determine neighbor list (simple, grid)
14 rlist          = 1.0                     ; Cut-off for making neighbor list (short range forces)
15 coulombtype    = cut-off                 ; Treatment of long range electrostatic interactions
16 rcoulomb       = 1.0                     ; long range electrostatic cut-off
17 rvdw           = 1.0                     ; long range Van der Waals cut-off
18 pbc            = xyz                     ; Periodic Boundary Conditions
19
```

Figura 23. Parámetros utilizados para la minimización.

2.3.4 Simulación de dinámica molecular.

Para obtener una representación que nos aproxime a una situación física más real se consideró integrar el colectivo canónico con número de partículas, volumen y temperatura constante (NVT), manteniendo una temperatura de 293.15 K, para una simulación de 500000 steps (1ns), las condiciones se muestran en la Figura 21. Se continuó con cálculos de producción de dinámica molecular en el colectivo isotérmico-isobárico considerando el número de moléculas, presión y temperatura constante (NPT) considerando el estudio a tres diferentes temperaturas (293.15 K, 300 K y 323 K) a razón de 10 ns de trayectoria, las condiciones se muestran en la Figura 24. Para ello se usaron los siguientes comandos:

```
gmx grompp -f nvt.mdp -c zit-03.gro -p ZIT.top -o zit-04.tpr -po zit-03.mdp -r zit-03.gro
-maxwarn 1
```

```
gmx mdrun -nice 0 -v -s -deffnm zit-04
```

```
1 title = Dinamica Molecular NVT
2 |cpp = /lib/cpp
3 include = -I../top
4 integrator = md
5 disre = simple
6 disre-fc = 100000
7 dt = 0.002
8 nsteps = 500000
9 nstxout = 1000
10 nstvout = 1000
11 nstlog = 1000
12 nstenergy = 1000
13 nstxout-compressed = 1000
14 xtc-grps = non-Water
15 energygrps =
16 nstlist = 10
17 ns-type = grid
18 fourierspacing = 0.12
19 pme-order = 4
20 ewald-rtol = 1e-5
21 pbc = xyz
22 tcoupl = Berendsen
23 tc-grps = system
24 tau-t = 0.5
25 ref-t = 293.15
26 gen-vel = yes
27 gen-seed = 173529
28 constraints = h-bonds
29 cutoff-scheme = Verlet
30 coulombtype = PME
31 rlist = 0.9
32 rcoulomb = 0.9
33 vdwtype = Cut-off
34 rvdw = 0.9
35 DispCorr = EnerPres
```

Figura 24. Valores iniciales que fueron empleados en el cálculo de Dinámica Molecular utilizando el ensamble NVT.

```
gmx grompp -f npt.mdp -c zit-04.gro -p ZIT.top -o zit-05.tpr -po zit-04.mdp -r zit-04.gro
-maxwarn 1
```

```
gmx mdrun -nice 0 -v -s -deffnm zit-05
```

```
1 title = Dinamica Molecular NPT
2 cpp = /lib/cpp
3 include = -I../top
4 integrator = md
5 define =
6 disre = simple
7 dt = 0.002
8 nsteps = 5000000
9 nstxout = 10000
10 nstvout = 10000
11 nstlog = 10000
12 nstenergy = 1000
13 nstxout-compressed= 50000
14 xtc-grps = non-Water
15 energygrps =
16 nstlist = 10
17 ns-type = grid
18 fourierspacing = 0.12
19 pme-order = 4
20 ewald-rtol = 1e-5
21 pbc = xyz
22 tcoupl = Berendsen
23 tc-grps = system
24 tau-t = 0.5
25 ref-t = 293.15
26 gen-vel = no
27 gen-seed = 173529
28 constraints = h-bonds
29 cutoff-scheme = Verlet
30 coulombtype = PME
31 rlist = 0.9
32 rcoulomb = 0.9
33 vdwtype = Cut-off
34 rvdw = 0.9
35 DispCorr = EnerPres
```

Figura 25. Valores iniciales que fueron empleados en el cálculo de Dinámica Molecular utilizando el ensamble NPT.

2.3.5 Análisis de parámetros termodinámicos.

Una vez que los distintos sistemas fueron sometidos a la simulación de dinámica molecular, fue indispensable someterlas a un estudio de parámetros termodinámicos para conocer cómo

fue su comportamiento durante la trayectoria. Para realizar este análisis se usaron herramientas del programa GROMACS.

Se analizaron los parámetros de RMSD, RMSF, Radio de giro, SASA, y puentes de hidrógeno durante la etapa de convergencia, la Tabla 7 nos muestra detalles de los comandos usados para el análisis de esta etapa.

Tabla 7. Principales parámetros termodinámicos considerados en esta investigación.

<p>Desviación media cuadrática de la raíz (RMSD)</p>	<p>Este comando presente dentro del paquete de GROMACS fue empleado para calcular la estabilidad de los sistemas. Se realizó el ploteo para poder observar cómo se ha evolucionado los componentes de los sistemas en el tiempo que se planteó en la simulación. Se realizó con el siguiente comando:</p>
<p>gmx rms -f md3.xtc -s ../zit-05.tpr -o rmsd.svg -tu ns</p>	
<p>Desviación media cuadrática de la fluctuación (RMSF)</p>	<p>Esta herramienta fue empleada para obtener información de como las estructuras han variado su posición durante el tiempo de trayectoria la cual esta implementada en GROMACS. Por medio de esta herramienta seremos capaces de identificar y analizar que residuo presento más vibraciones. Se ejecutó con el siguiente comando:</p>
<p>gmx rmsf -f md3.xtc -s md-f.gro -o rmsf.svg -res</p>	
<p>Radio de giro (GYRATE)</p>	<p>Por medio de esta herramienta podremos tener una medida aproximada de la capacidad de giro de las moléculas alrededor de los ejes en función del tiempo. Se ejecutó con el siguiente comando:</p>
<p>gmx gyrate -f md3.xtc -s ../zit-05.tpr -o rg.svg</p>	
<p>Área de superficie accesible a solventes (SASA)</p>	<p>Algoritmo que trabaja por medio de una esfera rígida de similares dimensiones conocido como <i>roller</i>, que va a recorrer la superficie de las moléculas para poder determinar el área que es accesible a un solvente en nuestro caso agua. Se ejecutó con el siguiente comando:</p>

```
gmx sasa -f md3.xtc -s ../zit-05.tpr -o sasa.svg -tu ns
```

**Puentes de
Hidrogeno
(HBond)**

Por medio de este análisis podremos analizar y calcular el comportamiento de los enlaces de hidrogeno.

En donde se empleó la salida -num que hace referencia al número de enlaces en función del tiempo. Se ejecutó con el siguiente comando:

```
gmx hbond -f md3.xtc -s ../zit-05.tpr -num hbond.svg -tu ns
```

Todos los datos obtenidos del análisis de los parámetros termodinámicos fueron analizados en el programa Gnuplot y visualizados en el programa VMD (Visual Molecular Dynamics), además de UCSF Chimera.



CAPÍTULO III





3.RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Búsqueda y Diseño de estructuras moleculares.

Los códigos de acceso para las moléculas que conforman los distintos sistemas fueron obtenidos de diferentes bases de datos tales como del PUBCHEM (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) y RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). La Figura 26 nos muestra los modelos que hemos empleado.

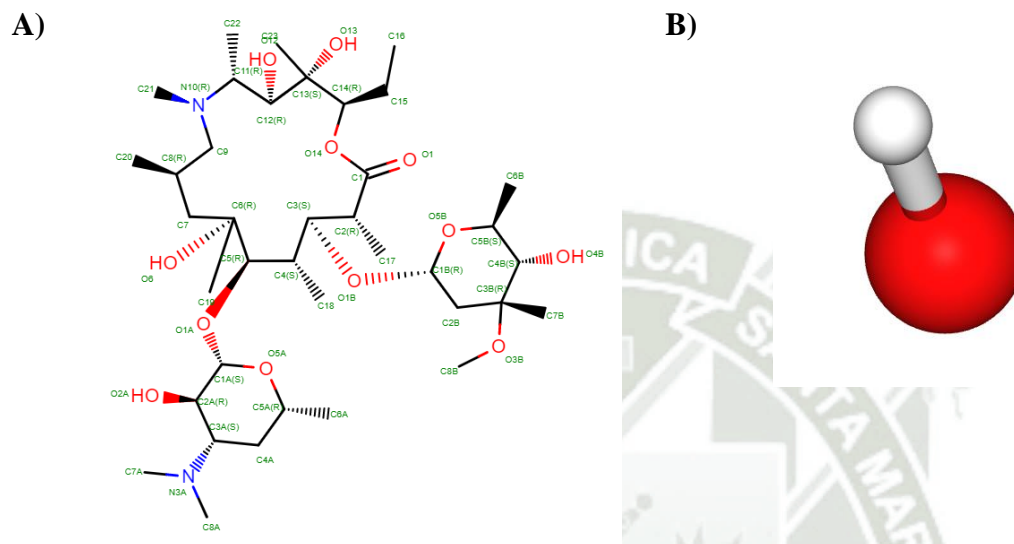


Figura 26. Moléculas empleadas en los distintos sistemas de Simulación de Dinámica Molecular. A) Azitromicina, B) Radical hidroxilo.

Tabla 8. Detalles moleculares de la azitromicina y del radical hidroxilo.

	Azitromicina	Radical hidroxilo
Código	ZIT	OH
Peso molecular	748,98	17.007
InChIKey	MQTOSJVFKKJCRP- BICOPXKESA-N	XLYOFNOQVPJJNP- UHFFFAOYSA-M
Carga	0	-1
Recuento de átomos	124	2
Recuento de átomos quirales	18	0
Número de enlaces	126	1
Número de enlaces aromáticos	0	0
Número CAS	83905-01-5	14280-30-9

En la
se

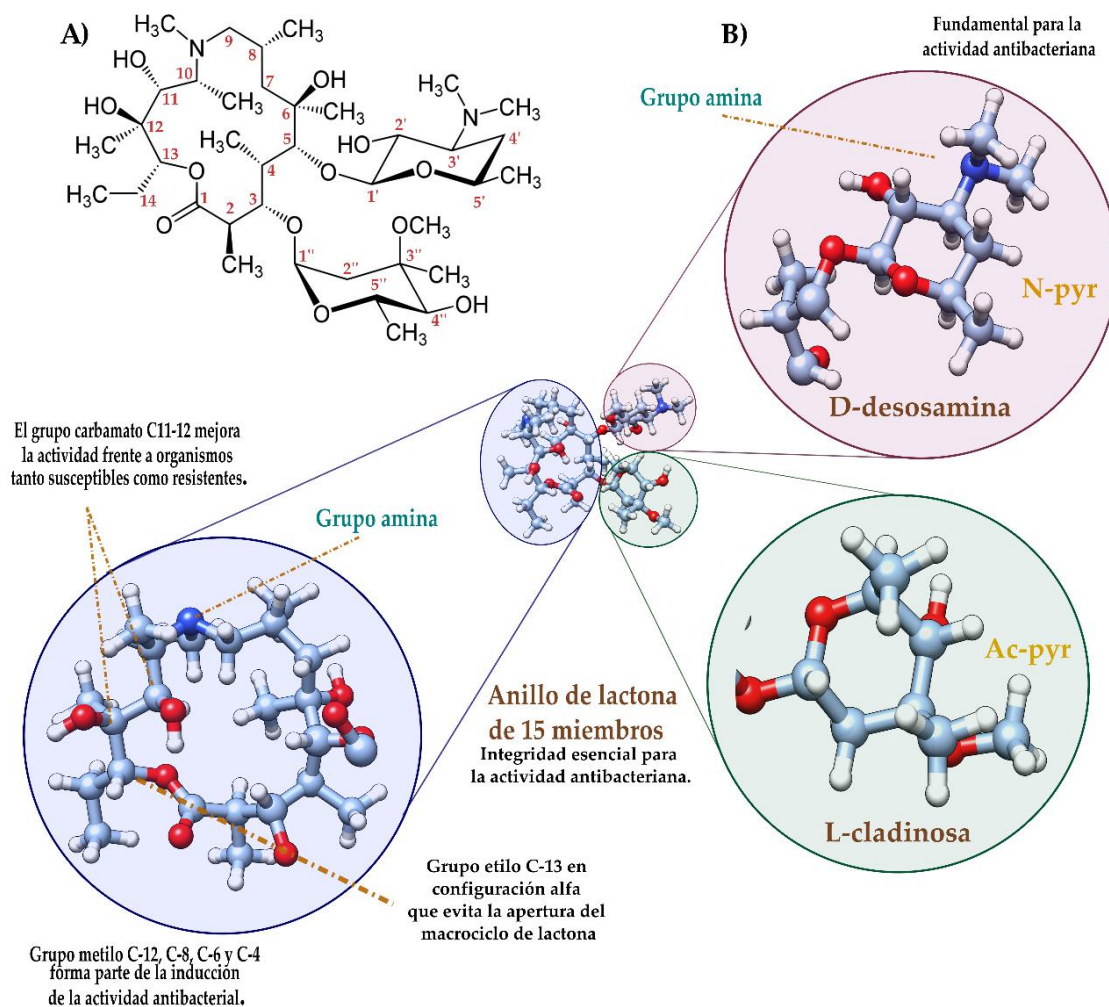
Tabla 8

muestra información de las principales propiedades moleculares de los compuestos estudiados. La azitromicina (ZIT) es (2R, 3S, 4R, 5R, 8R, 10R, 11R, 12S, 13S, 14R) -11 - [(2S, 3R, 4S, 6R) -4- (dimetilamino) -3-hidroxi- 6-metiloxan-2-il] oxi-2-etil-3,4,10-trihidroxi-13 - [(2R, 4R, 5S, 6S) -5-hidroxi-4-metoxi-4,6 dimetiloxan-2- il] oxi-3,5,6,8,10,12,14-heptametil-1-oxa6 azaciclopentadecan-15-ona.

La conformación química de la Azitromicina se detalla en la Figura 27. Este antibiótico consiste en un anillo de lactona macrocíclica de 15 miembros al que se unen dos restos de azúcar. La molécula contiene estos dos anillos de piranilo similares al azúcar, uno con un grupo que contiene nitrógeno (N-pyr) y el otro con un grupo acetilo (Ac-pyr). Un aminoazúcar, D-desosamina, se une a través de un enlace β -glicosídico a la posición C5 del anillo de lactona. La L-cladinososa es un azúcar neutro que se une a través de un enlace α -glicosídico a la posición C3 del anillo de lactona. La parte restante de la molécula es cíclica, en la estructura de la azitromicina presenta un anillo de lactona constituido por 15 miembros con un átomo de N que es sustituido por un metilo, por lo que su flexibilidad conformacional general, aunque significativa, está restringida a un volumen espacial limitado de 2082 Å. La semisíntesis de este antibiótico incluye la oximación de eritromicina A, seguida de reordenamiento de Beckmann para producir eritromicina A iminoéter. La reducción, seguida de la metilación de Eschweiler-Clarke, finalmente da azitromicina A (AA). La composición elemental teórica de la Azitromicina(150) es la siguiente:

- Carbono: 60,94%
- Hidrógeno: 9,69%
- Nitrógeno: 3,74%
- Oxígeno: 25,63%

Después de la administración oral, la azitromicina exhibe una rápida captación intracelular de la sangre a los compartimentos tisulares, lo que da como resultado concentraciones tisulares superiores a la concentración inhibitoria mínima para muchos patógenos. La azitromicina



interacciona de manera reversiblemente a la subunidad ribosómica 50S del ribosoma 70S de microorganismos susceptibles a este medicamento, de esta manera es capaz de inhibir la etapa de translocación de la síntesis de proteínas, en la que una molécula de ARNt de peptidilo inicialmente sintetizada se traslada desde el sitio aceptor en el ribosoma a la posición del peptidilo (donante) y de esta manera ser capaz de inhibir la producción de proteínas dependientes de ARN que origina la inhibición del crecimiento celular y la muerte celular.

Figura 27. Estructura química de la Azitromicina. **a)** Representación gráfica de la composición molecular 2D, **b)** Identificación de las estructuras más importantes que componen el antibiótico macrólido.

En cuanto la biodisponibilidad de azitromicina contamos con un poco más de la cuarta parte del total del medicamento después de la administración oral, mientras que la absorción no se ve afectada por una dieta en específico, se ha determinado que la asimilación de macrólidos en los intestinos está regulada por transportadores de salida de glicoproteína P (ABCB1), que son codificados por medio del gen ABCB1. El proceso de eliminación del antibiótico se da por excreción biliar, fundamentalmente como fármaco inalterado, es una ruta indispensable de eliminación. Alrededor de 1 semana, aproximadamente el 6% de la dosis administrada se encuentra en la orina.

Este macrólido se dispone ampliamente en los tejidos, con un volumen de disposición aparente en estado estacionario de 31,1 L/kg mayor que los encontrados en plasma o suero. También se puede encontrar este medicamento en órganos como el pulmón, las amígdalas y la próstata con una tasa especialmente alta de obtención de azitromicina. Por otro lado, este fármaco se congrega en los macrófagos, polimorfonucleocitos, fagocitos y fibroblastos, que pueden ser determinados por medio de técnicas de incubación in vitro.

Entre otras características tenemos que su vida media de eliminación terminal es de un estimado de 68 horas, en su metabolismo presenta la ruta original de biotransformación que implica la N-desmetilación del azúcar desosamina, entre otras rutas metabólicas comprende O-desmetilación e hidrólisis y/o hidroxilación de los restos de azúcar cladinosa y desosamina y el anillo macrólido, por lo que se ha reconocido hasta 10 metabolitos de azitromicina que son microbiológicamente inactivos.

Tabla 9. Propiedades de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) de la Azitromicina.

	PubChem ID	447043
	Nombre compuesto	Azitromicina
	Fórmula	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂
	Peso molecular	748.98
Absorción y distribución	BBB (+/-)	0.9930 (BBB-)
	HIA+	0.6142 (61.42%)
	Solubilidad acuosa (log S)	-2.060
Metabolismo	Inhibidor CYP450 2C19	0.9023 No-Inhibidor

	Inhibidor CYP450 1A2	0.9295 No-Inhibidor
	Inhibidor CYP450 3A4	0.9533 No-Inhibidor
	Inhibidor CYP450 2C9	0.9021 No-Inhibidor
	Inhibidor CYP450 2D6	0.8904 No-Inhibidor
Excreción	Biodegradación	0.8250 No biodegradable
	Mutagénesis de AMES	0,8300 No tóxico Ames
Toxicidad	Corrosión ocular (Si/ No)	No
	Inhibición de hERG2	0.6048 No
	Carcinogenicidad	0.9857 No cancerígeno
	T. pyriformis	0.524 pIGC50 (ug/L)
	TPSA	180.08
Biodisponibilidad oral	Enlaces giratorios	7
	XLOGP3	4.02
	WLOGP	1.52
	ESOL log S	-6.55
	Lipinski #violaciones	2
	Score de biodisponibilidad	0.17
	PAINS	0
	Fracción Csp3	0.97
	Accesibilidad sintética	8.91

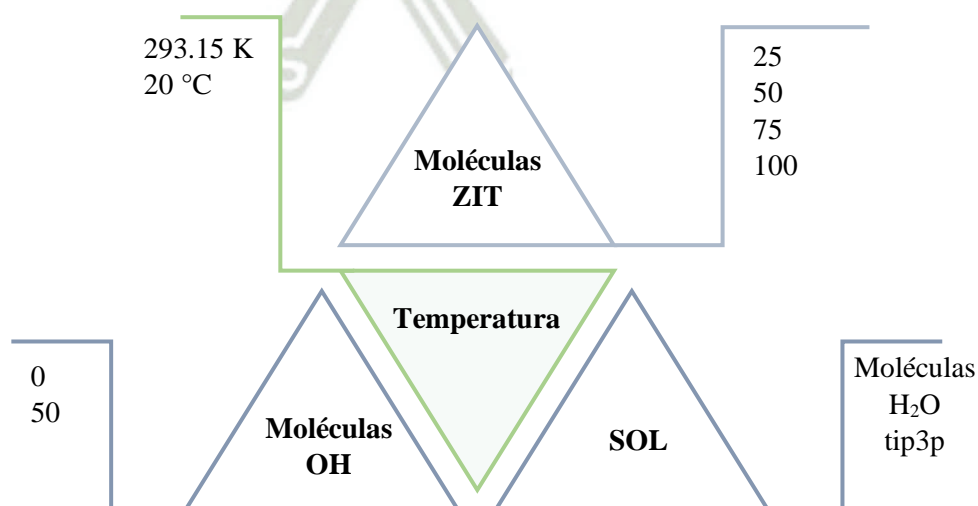
Hoy en día, es necesario reconocer que detrás de cualquier evento de gran envergadura como una pandemia, en especial una como la causada por SARS-CoV-2 se esconden problemas que son igual de importantes. El inicio del desarrollo de la pandemia estuvo rodeado de mucha incertidumbre y ambigüedades, ya sea por la falta de información de la patología y la urgencia por salvar vidas fue reflejada en el patrón de preinscripción de algunos medicamentos. En este caso, en particular la azitromicina tomó gran relevancia, a pesar de todas las guías y sugerencias de los Organismos Internacionales para su uso, aún es muy común prescribirla de manera regular para pacientes que presentan COVID-19 con síntomas leves(151).

El uso desmedido de este macrólido es una amenaza, ya que hay el riesgo de desarrollar resistencia a este antibiótico, además de contaminar los cuerpos de agua debidos a sus residuos. Este problema es de gran preocupación más que todo en países en desarrollo o de bajos ingresos, donde el uso imprudente de parte de los médicos de atención primaria y la venta libre es muy frecuente(152). Este medicamento presenta características preocupantes como su absorción incompleta y su baja biodegradabilidad, por lo cual su presencia en matrices ambientales y en los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales entre de 1,0 y 500,0 ng/L se ha evidenciado en los últimos años(153).

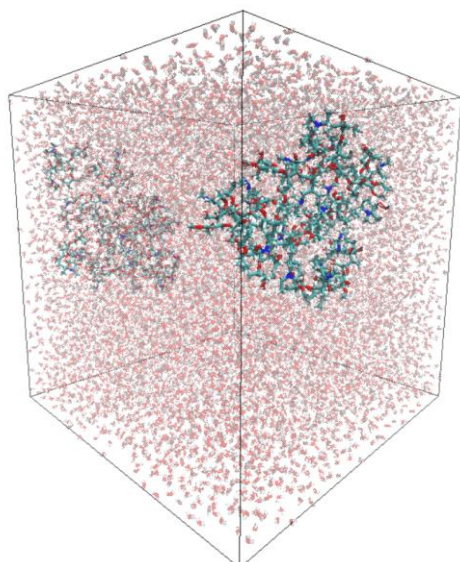
La presencia de estos CE es motivo de preocupación en la actualidad debido al impacto negativo sobre el medio ambiente, los residuos de la metabolización incompleta van a dar por lo general a los medios acuáticos donde estos metabolitos biológicamente activos provocan alteraciones en aguas superficiales, aguas subterráneas, suelos, sedimentos y biota en prácticamente todas las partes del mundo. Un contaminante como AZT, se considera de alta relevancia ecotoxicológica, ya que no solo en los dos últimos años de pandemia se empleó indiscriminadamente y se detecta con frecuencia en el medio acuático en distintos países, sino que también sus restos son persistentes y tóxicos en medias y bajas concentraciones, por lo que representa un riesgo para el medio acuático(154).

3.2 Comportamiento del Contaminante Emergentes Azitromicina frente a distintas temperaturas de simulación.

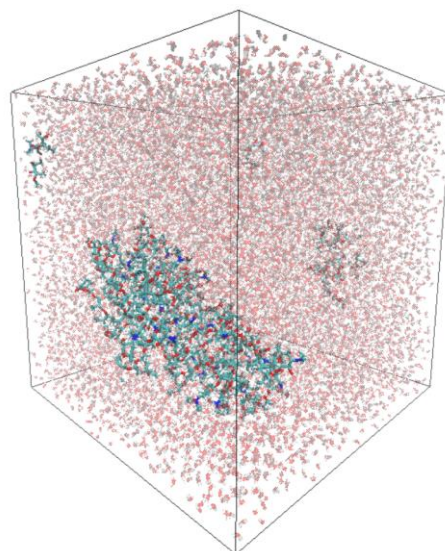
3.2.1 Simulación de dinámica molecular de los grupos análisis a temperatura de 293.15 K (20 °C).



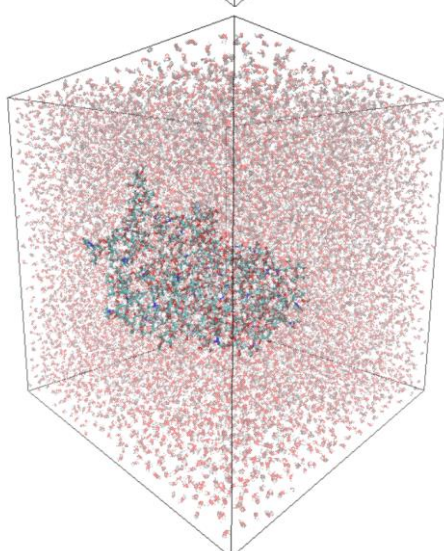
1A



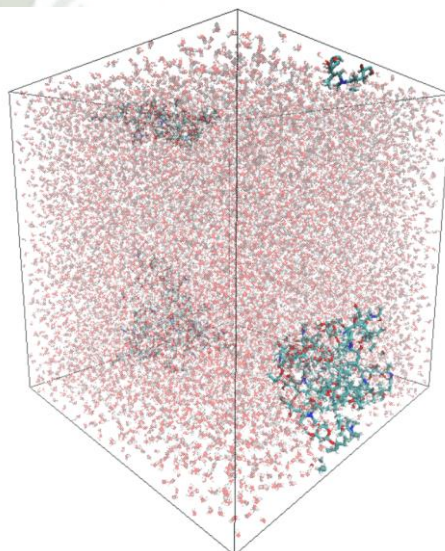
2B



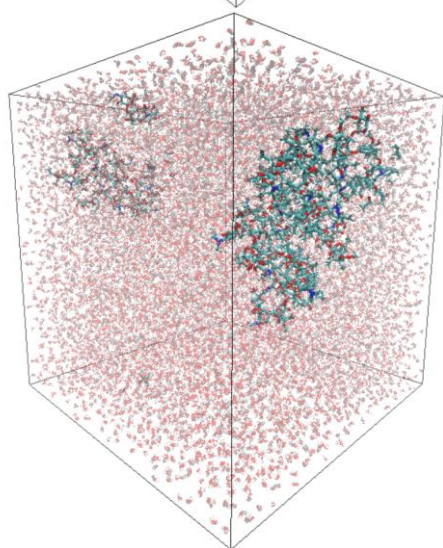
1C



1D



1E



1F

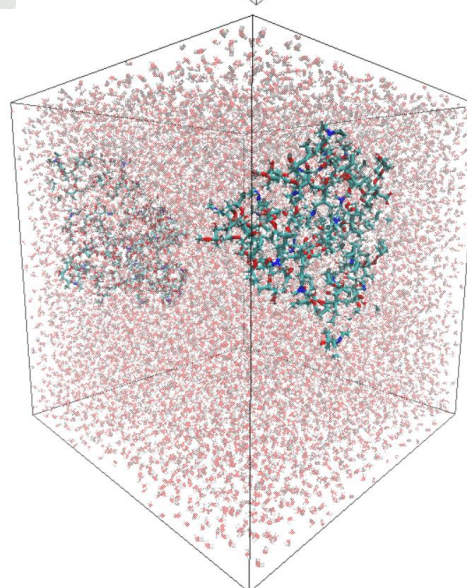
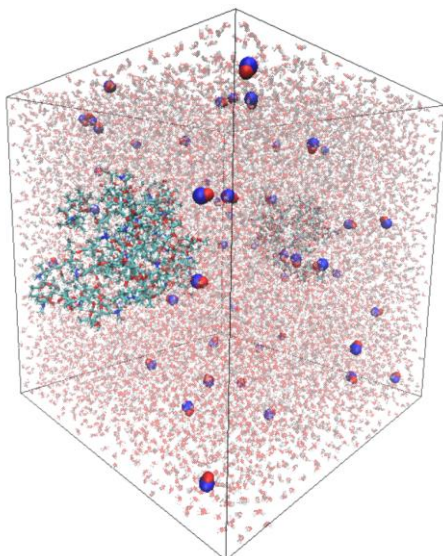
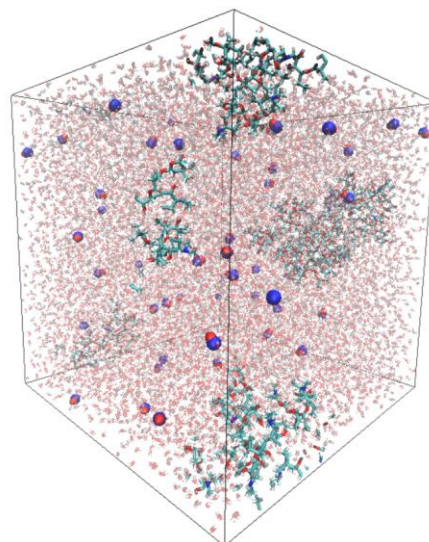


Figura 28. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-00H-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **1A.** 0ns, **1B.** 20ns, **1C.** 40ns, **1D.** 60ns, **1E.** 80ns y **1F.** 100ns.

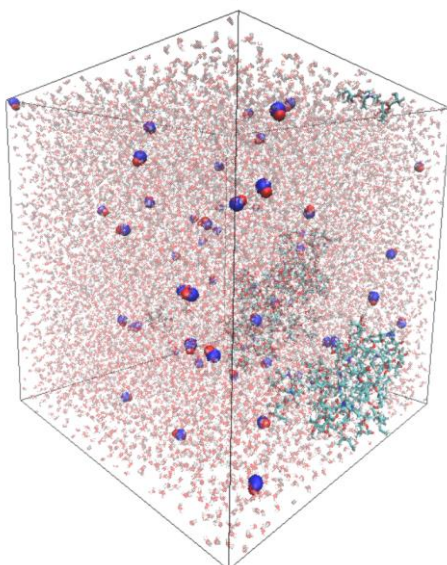
2A



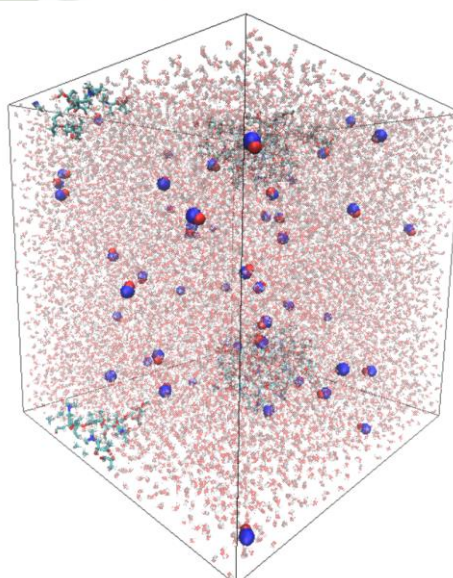
2B



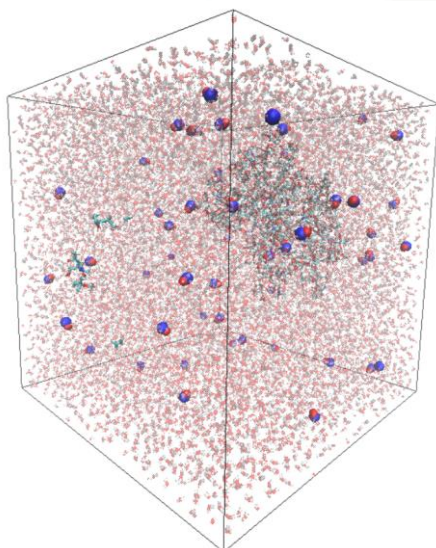
2C



2D



2E



2F

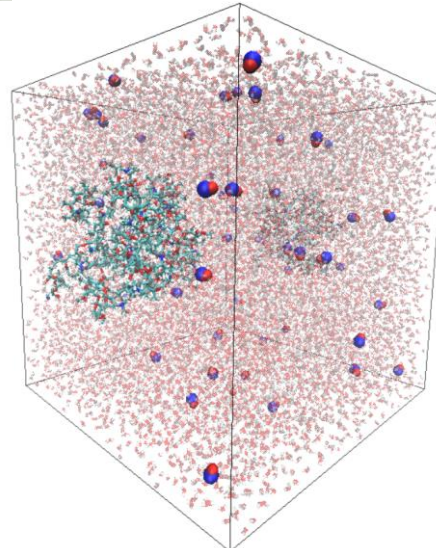


Figura 29. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-50OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **2A.** 0ns, **2B.** 20ns, **2C.** 40ns, **2D.** 60ns, **2E.** 80ns y **2F.** 100ns.

Una comparación de gráficos de RMSD a 293.15 K del sistema que presenta menor cantidad de moléculas de azitromicina se puede observar en la **Figura 30I**, a esta temperatura podemos decir que las 25 moléculas del antibiótico presentan resultados en promedio de 4.3 nm en los cuales el sistema **25ZIT + 0OH** presenta 4.938 ± 0.60 nm un valor que es mayor que su contraparte el sistema con radicales **25ZIT + 50OH** que fue de 4.336 ± 0.49 nm el cual presenta una fluctuación de desviación menor que el primer sistema, en la figura se puede observar que ambos sistemas llegan a presentar un equilibrio más notorio en los últimos nanosegundos de la trayectoria aunque esta no es muy estable esto debido a las fluctuaciones que ambos sistemas presentan.

El análisis de RMSF que es necesario para obtener información de que moléculas han variado en su posición además de conocer que tanto movimiento entre los compuestos o interacción se produjo durante la trayectoria con una temperatura de 293.15K, se puede conocer gracias a la **Figura 30II**, donde **25ZIT + 0OH** presento como resultado un valor de 4.119 ± 0.80 nm y para el sistema **25ZIT + 50OH** el valor incremento a 3.597 ± 0.55 nm esto se puede observar con más claridad en el gráfico donde se produjo más movimiento de las moléculas por la fluctuación que llego en algunos puntos de 2 nm.

El radio de giro que ayuda a determinar la distancia de la raíz cuadrada media del peso-masa de la colección de átomos desde su centro de masa común, importante de analizar en la Dinámica Molecular. Por lo tanto, proporciona una idea de la dimensión general de las distintas moléculas que conforma los sistemas. En la **Figura 30III** se muestra el gráfico del radio de giro de las moléculas de macrólido frente al tiempo de trayectoria a 293.15 K, en la cual podemos observar que ambos sistemas presentan valores que varían entre si lo cual determina un comportamiento particular entre ellos, aunque presenta muchas fluctuaciones, además podemos indicar que la presencia de los radicales presenta una acción notable o influyente sobre el resto de los componentes, para **25ZIT + 0OH** el valor Rg promedio fue de 4.901 ± 0.58 nm mientras para **25ZIT + 50OH** fue de 3.597 ± 0.55 nm. En los resultados de SASA nos ayudó a determinar el área de la superficie biomolecular que es evaluable para las moléculas de solvente, en la **Figura 30IV** muestra un similar comportamiento el sistema **25ZIT + 0OH** con un área de 151.756 ± 12.87 nm² mientras que el sistema **25ZIT + 50OH** obtuvo como resultado 140.487 ± 14.70 nm².

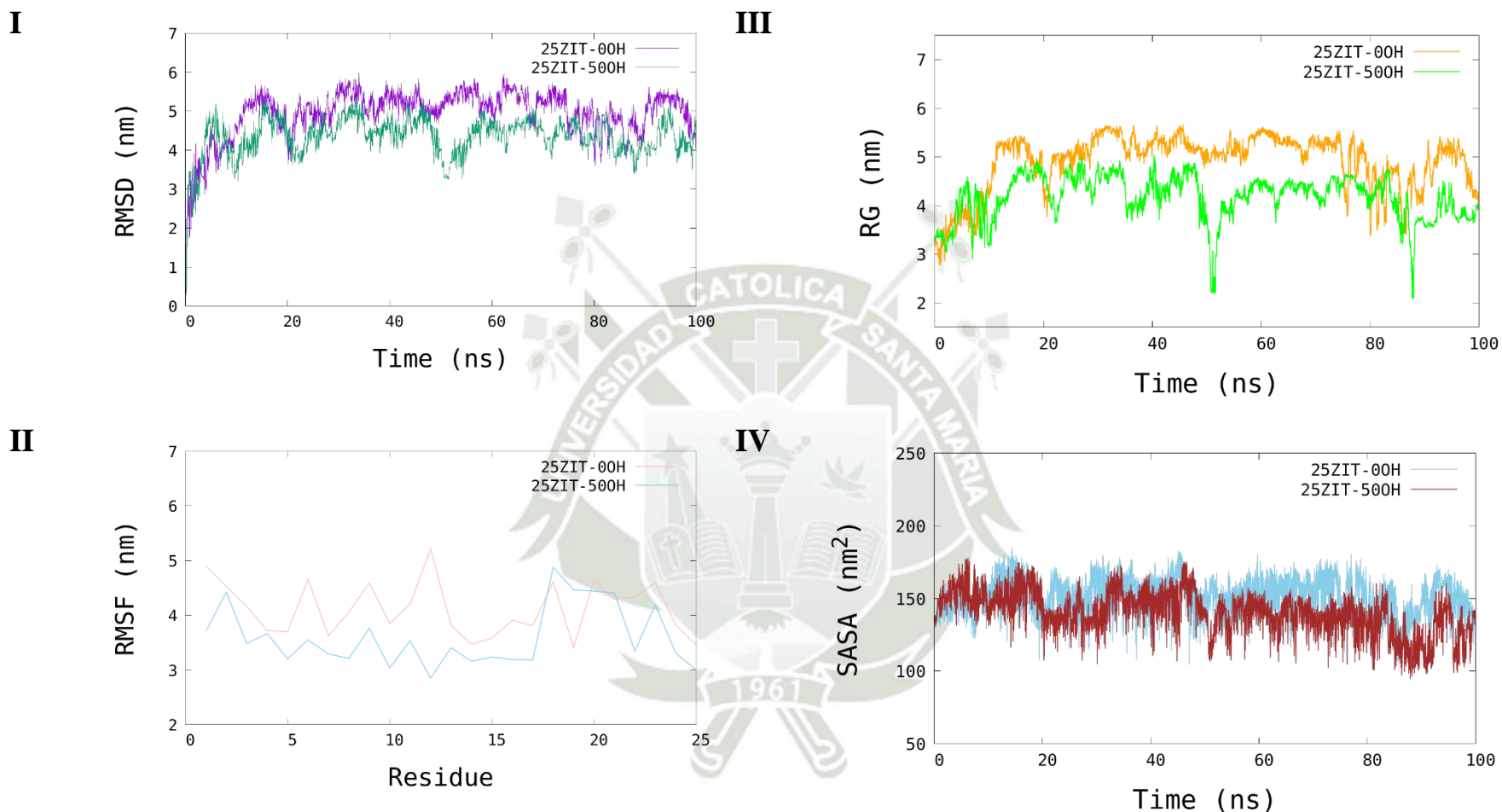
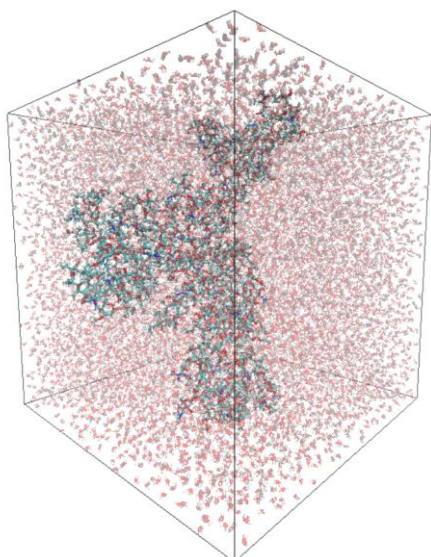
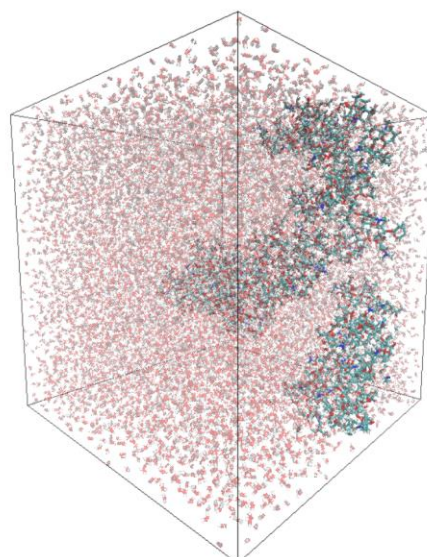


Figura 30. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

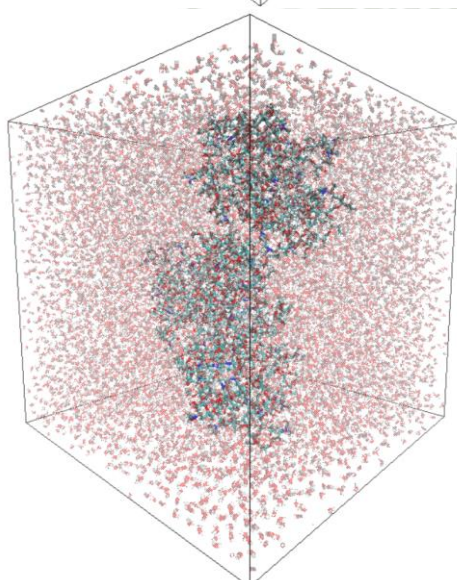
3A



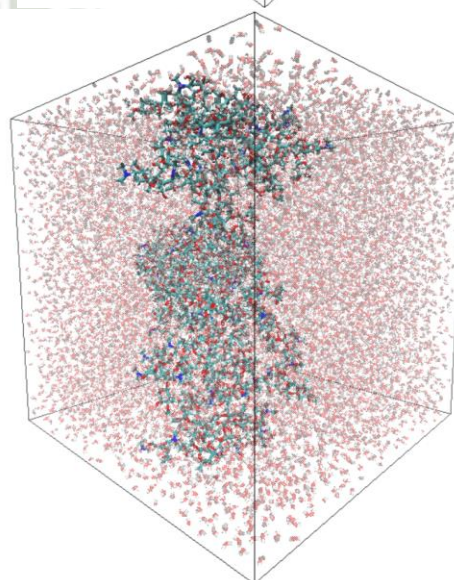
3B



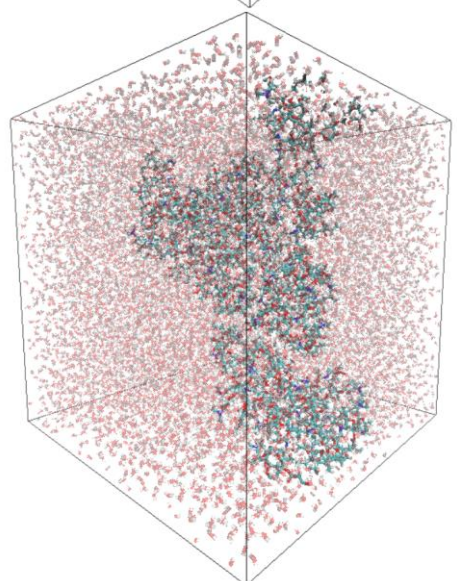
3C



3D



3E



3F

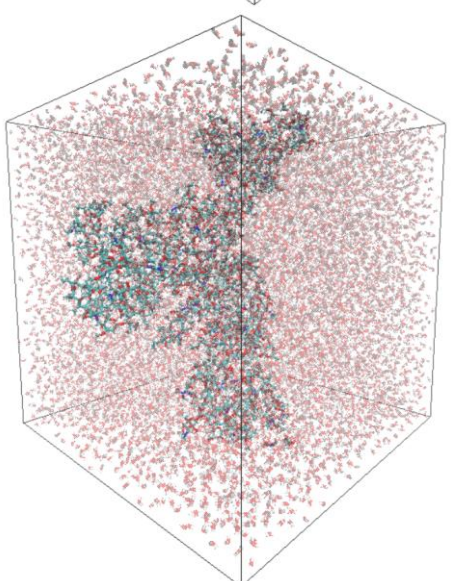
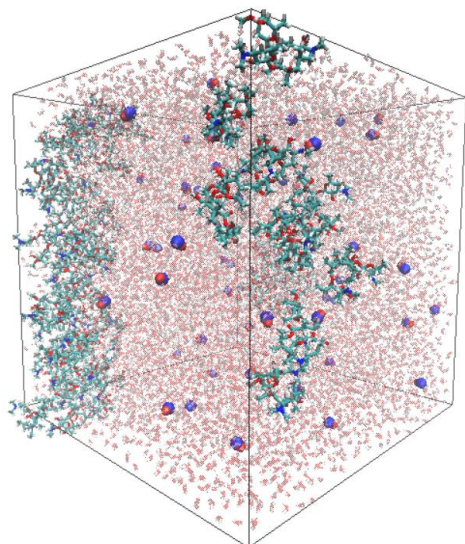
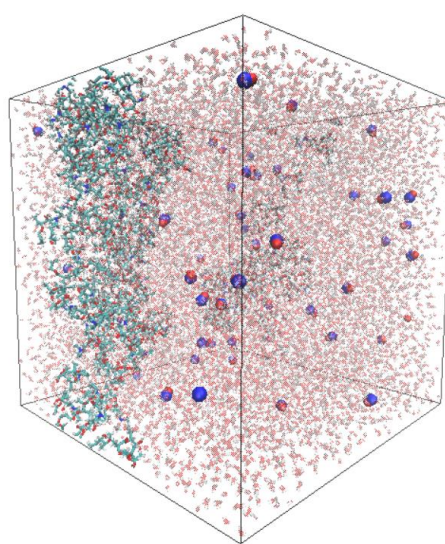


Figura 31. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-00H-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **3A.** 0ns, **3B.** 20ns, **3C.** 40ns, **3D.** 60ns, **3E.** 80ns y **3F.** 100ns.

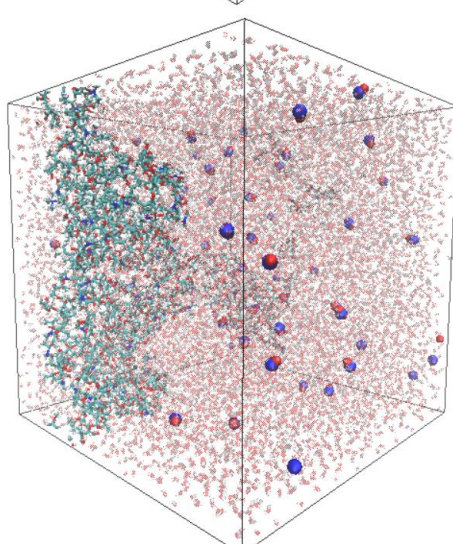
4A



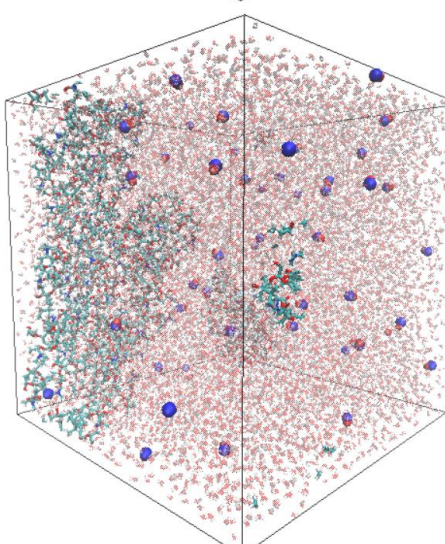
4B



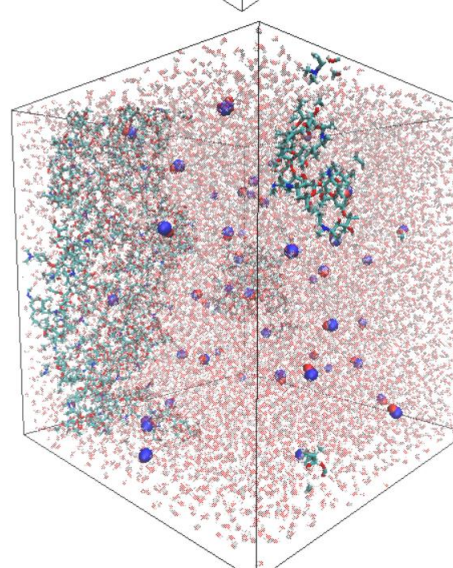
4C



4D



4E



4F

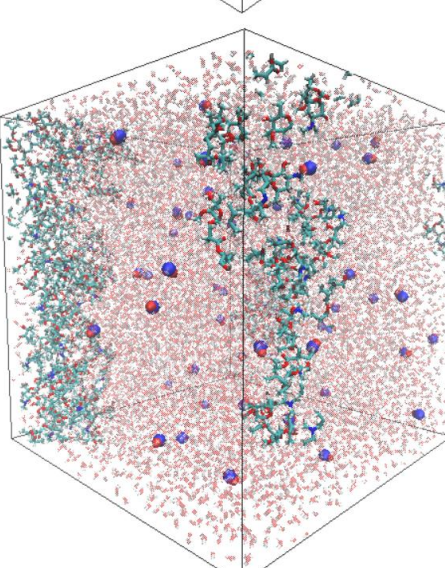


Figura 32. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-50OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **4A.** 0ns, **4B.** 20ns, **4C.** 40ns, **4D.** 60ns, **4E.** 80ns y **4F.** 100ns.

El valor medio de RMSD durante el período de tiempo de simulación de estructuras tanto de los sistemas de 50 moléculas de Azitromicina se detalla en la **Figura 33I**, presenta una magnitud de fluctuaciones dentro de los 4 nm, junto con una diferencia no muy grande entre los valores promedio de RMSD después del período de relajación de ambos sistemas de 50 moléculas, para el sistema **50ZIT + 0OH** presenta un valor de 4.722 ± 0.48 nm mientras que en el sistema **50ZIT + 50OH** se obtuvo un valor de 3.615 ± 0.39 nm en ambos casos se produce trayectorias estables en la simulación y por ende nos proporcionó una base adecuada para análisis posteriores.

Los valores de RMSF de los dos sistemas se generaron y se muestran en la **Figura 33II**, el análisis de la puntuación de fluctuación mostró un mayor grado de inestabilidad en el sistema sin radicales, **50ZIT + 0OH** con un valor de 3.548 nm con una desviación de cerca de 0.71 nm, mientras al compararlo con el sistema con los radicales hidroxilos este presentó una menor fluctuación que en promedio fue de 1.970 ± 0.91 nm. La comparación de los gráficos de RMSF mostró que las regiones altamente fluctuantes, como se observa en la **Figura 33II**, son de las moléculas que no interactúan con radicales.

En lo que compete en el análisis de Radio de giro para estos sistemas y poder conocer la dimensión general de las moléculas del antibacteriano se hizo la representación gráfica en la **Figura 33III**, en la cual podemos ver valores o resultados similares en los dos sistemas, ya que mantuvieron el mismo comportamiento de movimiento a lo largo de la trayectoria presentaron valores altos cercanos a los 5.5 nm, por ejemplo, en el sistema **50ZIT + 0OH** se obtuvo un valor de 4.667 nm con una desviación de 0.36 nm podemos ver un comportamiento menos estable y con un valor muy superior a su contraparte, por otro lado el sistema **50ZIT + 50OH** mantuvo un valor de 3.713 ± 0.08 nm con una menor variación de sus resultados a lo largo de su trayectoria de dinámica molecular.

SASA se considera un factor determinante en los estudios de estabilidad de las moléculas presentes en los sistemas por ello en la **Figura 33IV**, en esta podemos ver que cada sistema presenta un comportamiento característico y valores que varían mucho entre sí por ejemplo en el sistema **50ZIT + 0OH** presenta un valor de 262.603 ± 22.67 nm² y en el caso del sistema **50ZIT + 50OH** disminuyó el área de interacción de las moléculas de Azitromicina a 235.053 ± 12.91 nm².

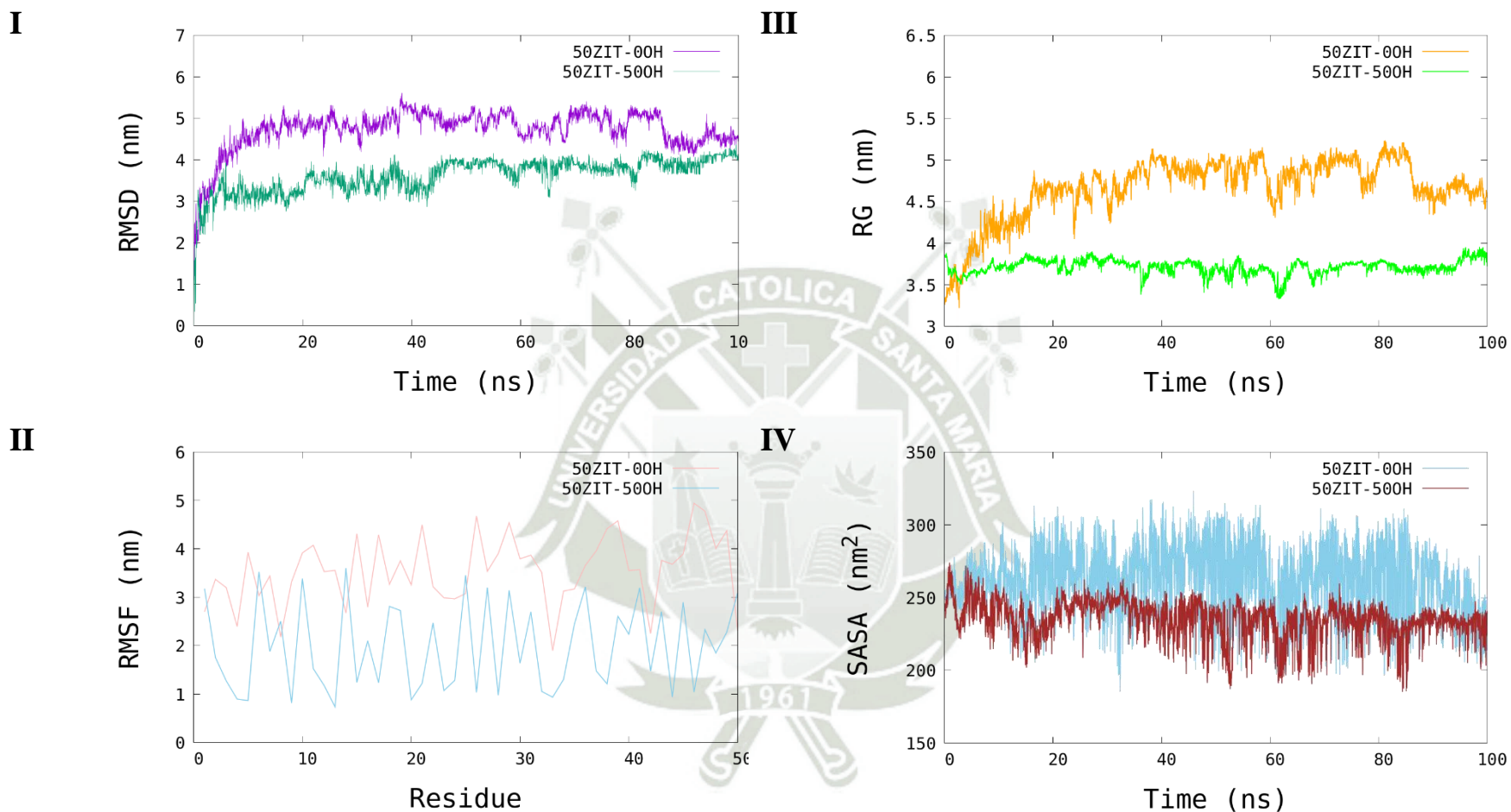
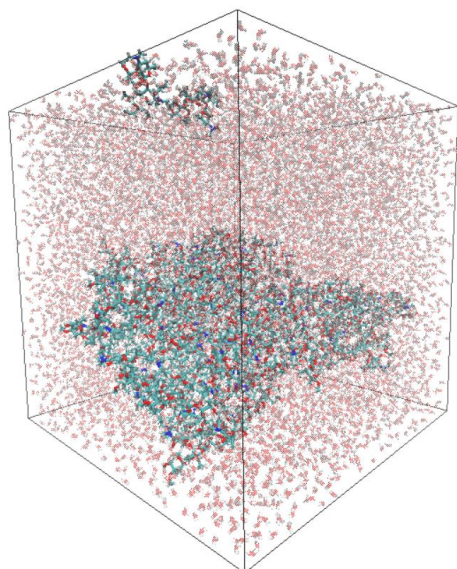
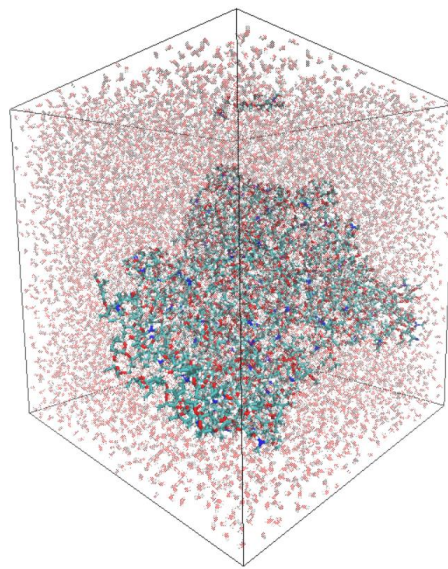


Figura 33. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

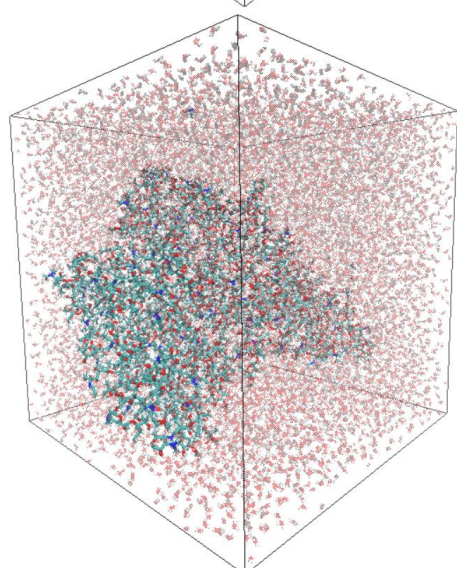
5A



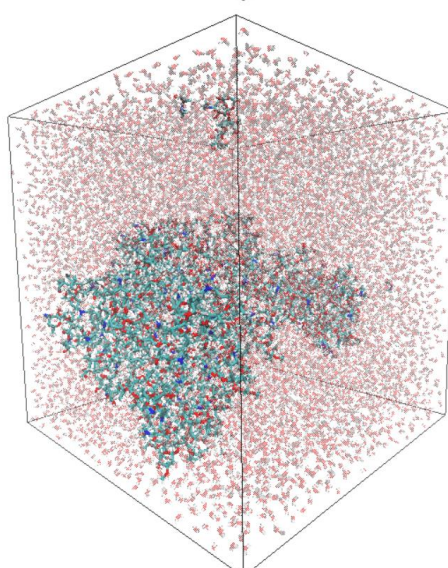
5B



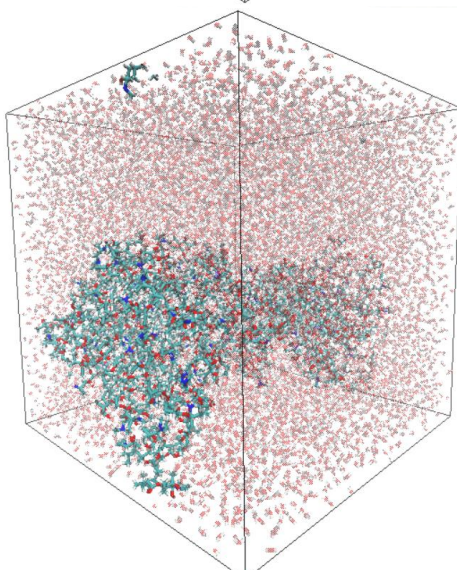
5C



5D



5E



5F

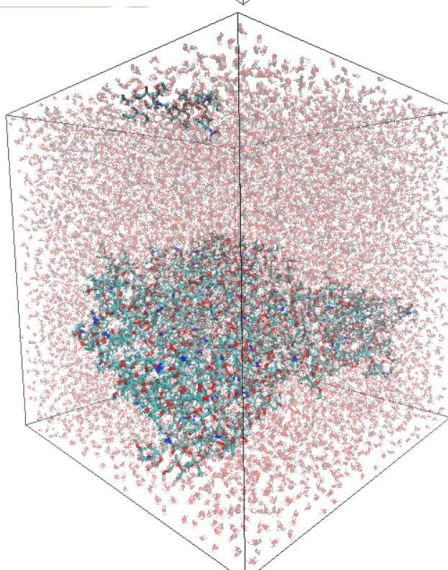
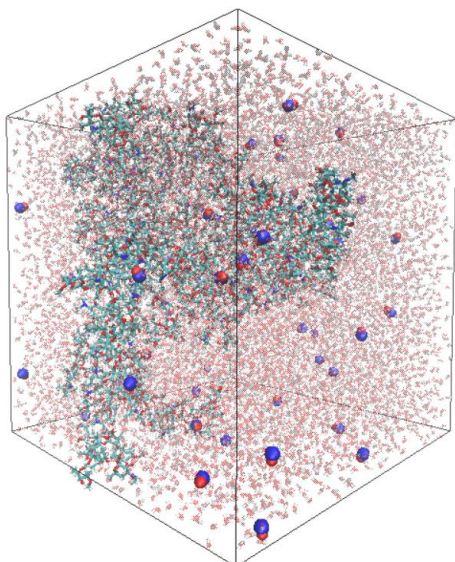
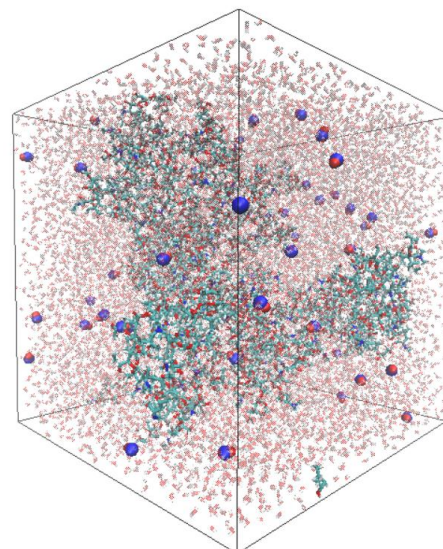


Figura 34. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-00H-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **5A.** 0ns, **5B.** 20ns, **5C.** 40ns, **5D.** 60ns, **5E.** 80ns y **5F.** 100ns.

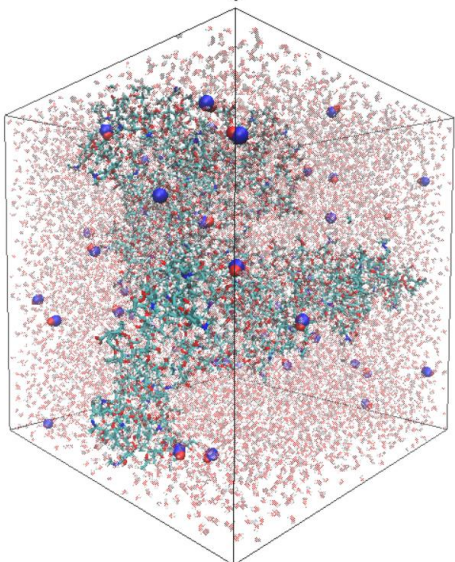
6A



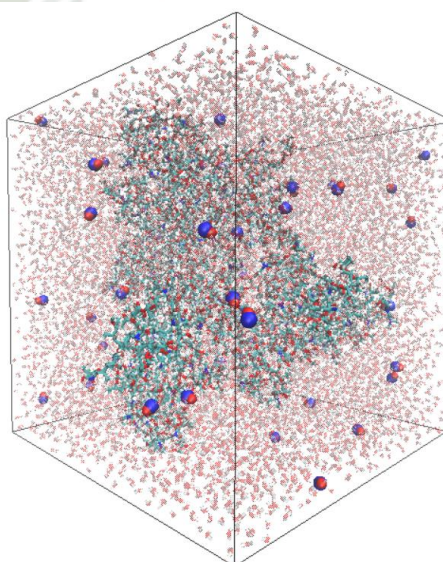
6B



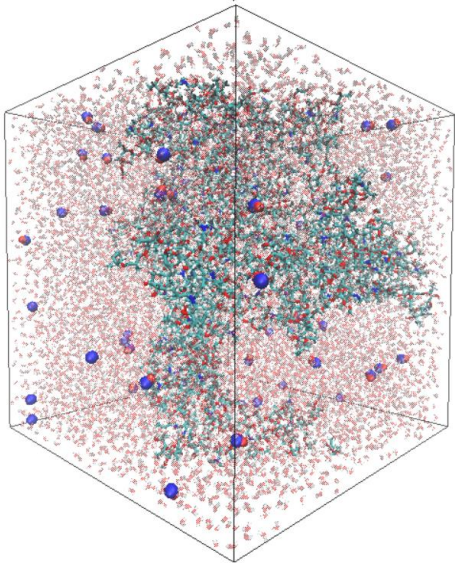
6C



6D



6E



6F

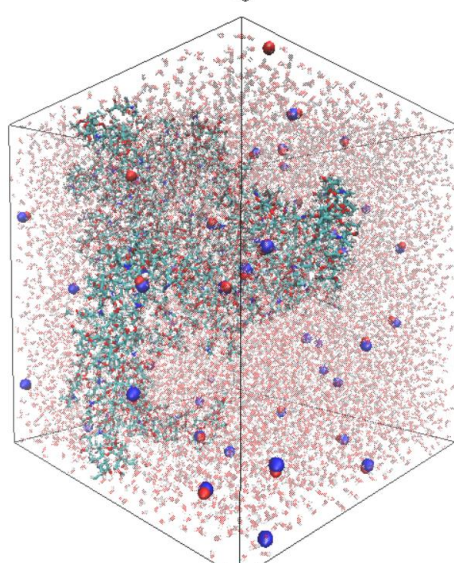


Figura 35. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-500H-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **6A.** 0ns, **6B.** 20ns, **6C.** 40ns, **6D.** 60ns, **6E.** 80ns y **6F.** 100ns.

Para verificar la estabilidad de las simulaciones de las 75 moléculas que conforman estos dos sistemas, se calcularon y monitorearon las RMSD, RMSF de los átomos, los radios de giro (Rg) y el Área de superficie accesible al solvente (SASA) de la proteína durante el transcurso de las simulaciones de igual manera que el resto del grupo de simulaciones.

Se calcularon los análisis RMSD de los dos sistemas a lo largo de la trayectoria de 100 ns en los cuales podemos ver comportamientos distintos para ambos y que llegan a la estabilidad en los últimos nanosegundos de la trayectoria. Para el primer sistema sin el radical hidroxilo **75ZIT + 0OH** se obtuvo un valor promedio de 1.681 ± 0.37 nm y el sistema **75ZIT + 50OH** con un valor de 2.384 ± 0.50 nm alrededor de 1 ns por encima del primer sistema.

En este caso en particular los resultados obtenidos de RMSF nos proporcionó información de que zonas o moléculas que han variado en su posición inicial e incluso saber si estas se movieron constantemente o interaccionaron entre ellas, por lo que podemos observar en la **Figura 36II** ambos sistemas presentan estabilidad ya que las fluctuaciones van en descenso a comparación de los dos primeros sistemas en este caso el sistema **75ZIT + 0OH** con un valor promedio de 0.656 nm con una desviación de 0.74 nm pero aunque este valor es bajo comparado con el sistema que contiene los radicales, **75ZIT + 50OH** presentó valores de 1.179 ± 1.04 nm lo cual nos indica un menor movimiento de las moléculas.

La gráfica de Rg en función del tiempo se presenta en la **Figura 36III**, se puede observar los valores obtenidos del análisis de DM, se diferencian mucho entre sí y mantienen el valor de Rg alrededor de $\sim 3,0$ nm ya que una es superior que otra, **75ZIT + 50OH** que presenta el valor más bajo de 2.606 ± 0.08 nm lo que indica que se van compactando poco a poco entre ellas. Por otro lado, el sistema **75ZIT + 0OH** presentó un valor de 3.206 ± 0.09 nm, lo que representa un poco más compactados entre sí. La representación gráfica de SASA de la **Figura 36IV** nos permite conocer cómo se comportan las áreas expuestas, para ambos sistemas, para el sistema **75ZIT + 50OH** se obtuvo un valor de 243.081 ± 18.39 nm² mientras el sistema **75ZIT + 0OH** aumentó su área de contacto ligeramente con un valor de 287.141 ± 15.54 nm², ambas se mantienen estables durante toda la simulación.

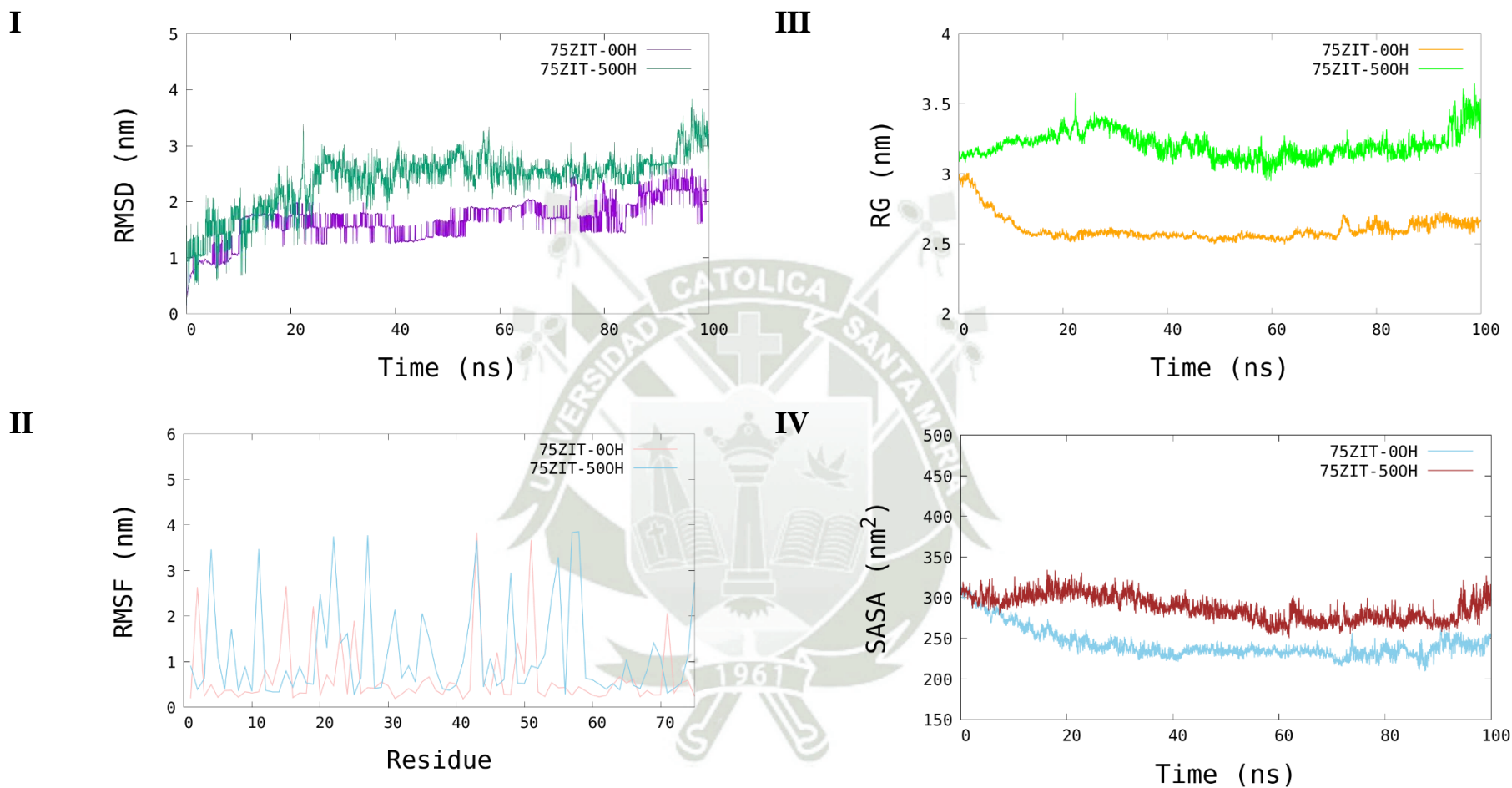
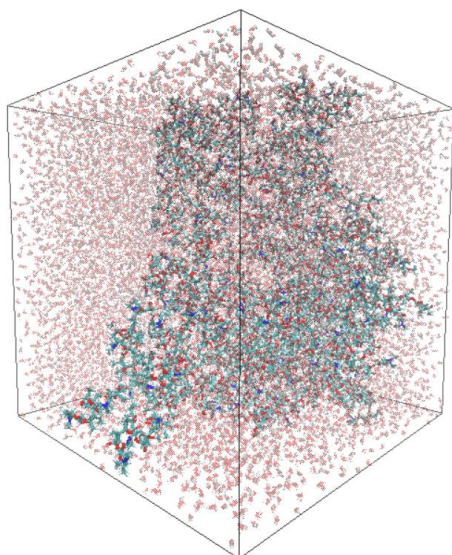
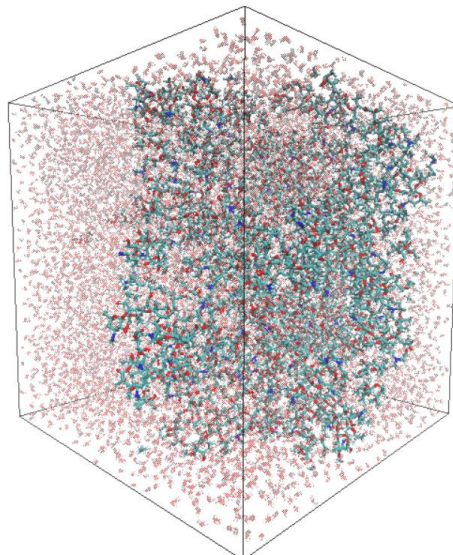


Figura 36. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

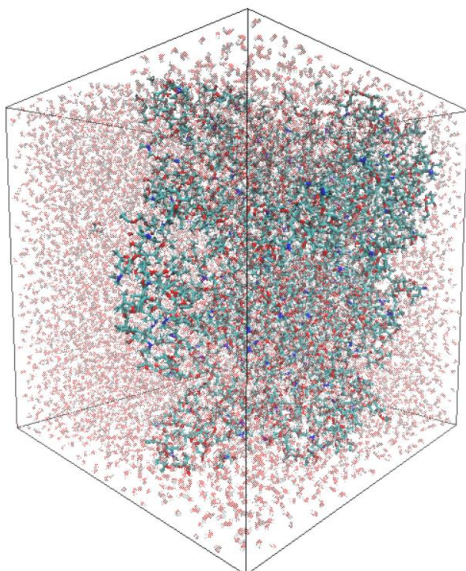
7A



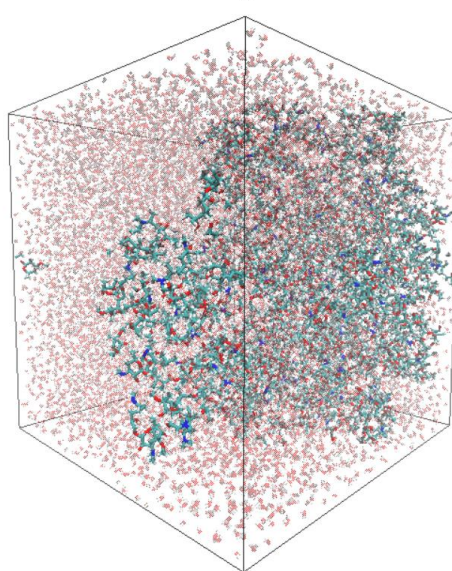
7B



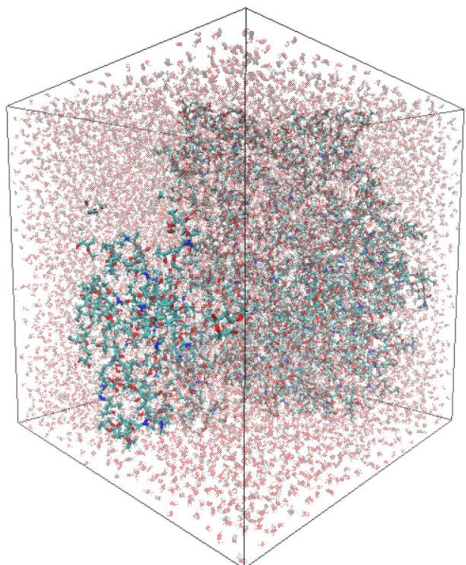
7C



7D



7E



7F

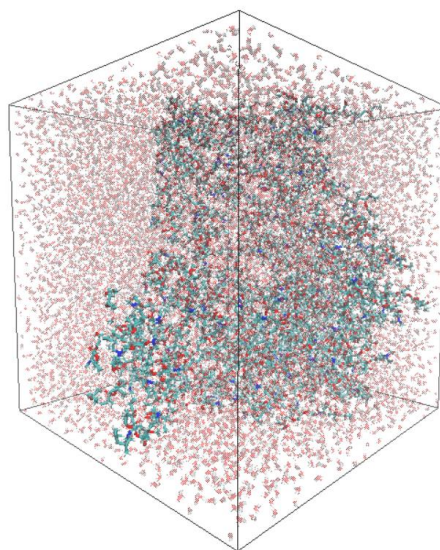
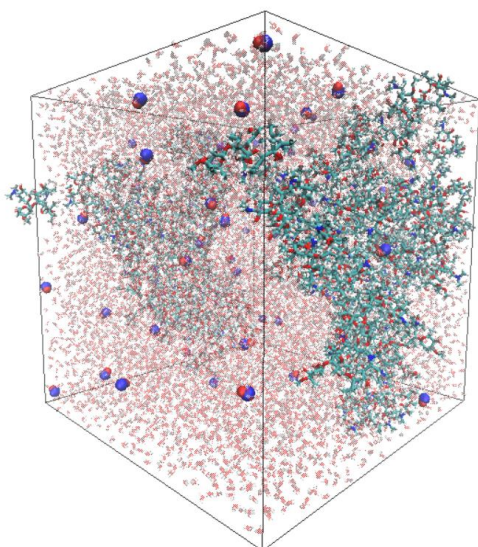
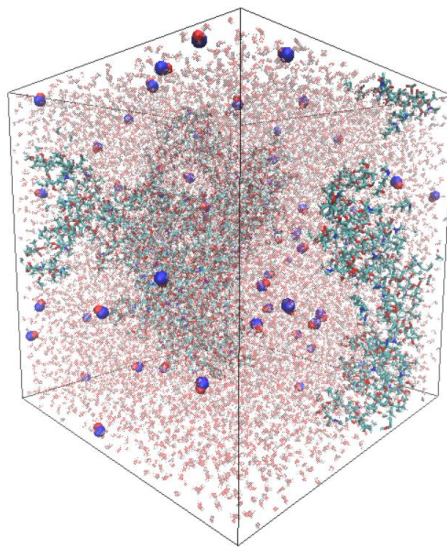


Figura 37. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-00H-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **7A.** 0ns, **7B.** 20ns, **7C.** 40ns, **7D.** 60ns, **7E.** 80ns y **7F.** 100ns.

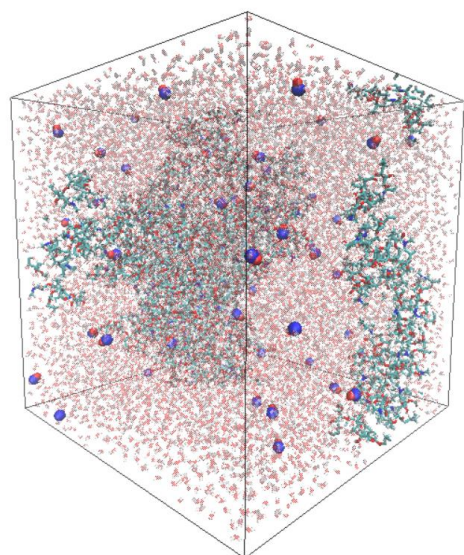
8A



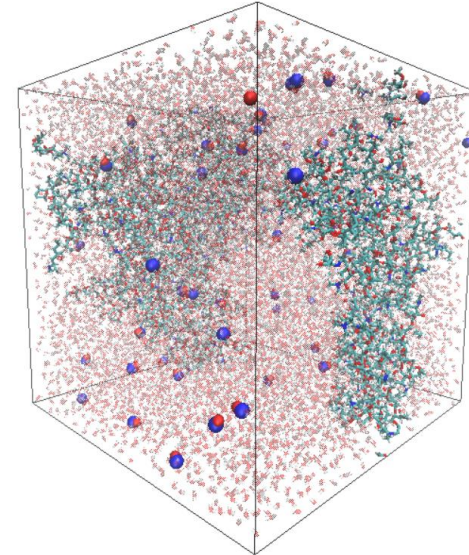
8B



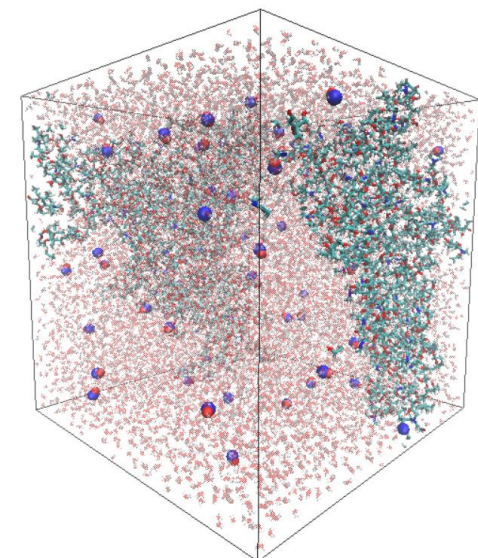
8C



8D



8E



8F

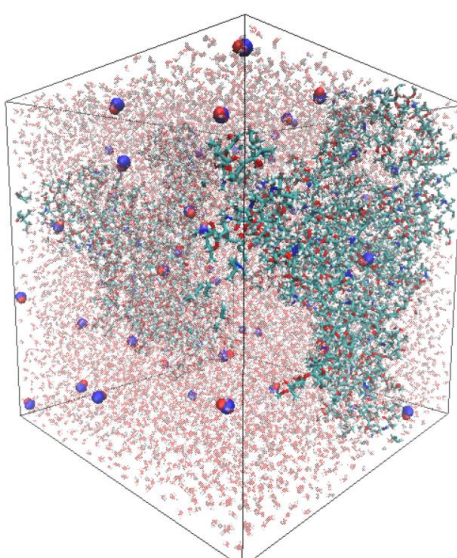


Figura 38. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-50OH-20** en diferentes puntos de la trayectoria. **8A.** 0ns, **8B.** 20ns, **8C.** 40ns, **8D.** 60ns, **8E.** 80ns y **8F.** 100ns.

Para este último sistema, en el cual se trabajó con 100 moléculas de azitromicina, se realizó también el cálculo de la desviación cuadrática media (RMSD) de las moléculas, ya que nos permitió cuantificar el grado de cambios conformacionales que pudieron ocurrir durante las simulaciones de MD de 100 ns. En la **Figura 39I**, entre ambos sistemas hay una clara diferencia de su valor promedio de aproximadamente 0.5 nm, para el sistema **100ZIT + 0OH** presenta un valor promedio de 3.005 ± 0.29 nm mientras que para el sistema **100ZIT + 50OH** presento un valor menor de 2.273 ± 0.32 nm en la figura se puede ver que ambos sistemas llegan a la estabilidad a los 40 ns.

El análisis de RMSF fue necesario para obtener información del comportamiento de las 100 moléculas durante los 100 ns en presencia o ausencia de los radicales hidroxilos OH para conocer como estos afectan su conformación o si han producido un cambio notable en su posición inicial además de conocer que tanto movimiento entre los átomos de las moléculas o interacción se produjo con una temperatura de 293.15K. La comparación de los gráficos de RMSF mostró que las regiones altamente fluctuantes que se pueden observar en la **Figura 39II**, en la cual el sistema **100ZIT + 0OH** obtuvo un valor de 0.976 ± 0.87 nm un valor que supera en medida por lo menos por 0.5 nm a su contraparte que es el sistema **100ZIT + 50OH** que obtuvo un resultado promedio de 0.810 ± 1.12 nm, en ambos casos presenta fluctuaciones muy altas durante el tiempo de interacción lo que podemos decir que sufrieron un movimiento constante e interacción entre moléculas.

En la **Figura 39III** proporciona una idea de la dimensión general de las moléculas en la cual se determinó valores para el sistema **100ZIT + 0OH** de 3.780 ± 0.07 nm resultado que es mayor que el que presento el sistema **100ZIT + 50OH** con un valor promedio de 2.939 ± 0.05 nm con este valor podemos decir que el sistema que presento los radicales mantiene su estabilidad a lo largo de la trayectoria.

En teoría, los cambios en la accesibilidad de las moléculas al solvente se pueden determinar calculando el área de superficie accesible al solvente (SASA) es por lo que se determinó para el sistema **100ZIT + 0OH** un valor de 334.243 ± 25.78 nm² mientras el sistema que presento un valor inferior en área de interacción con el solvente vecino que lo rodea fue el sistema **100ZIT + 50OH** con un valor promedio de 319.391 ± 14.55 nm.

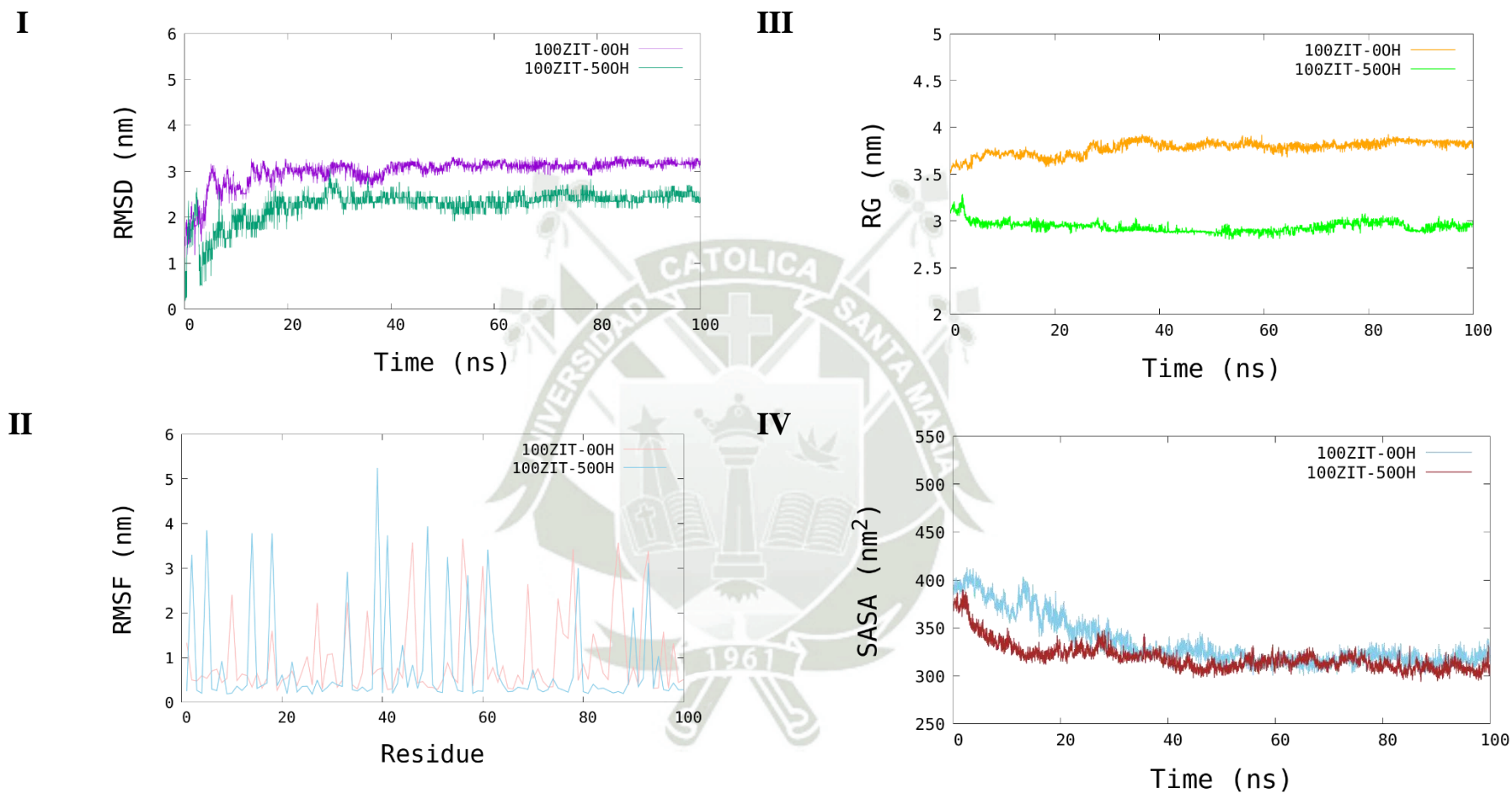


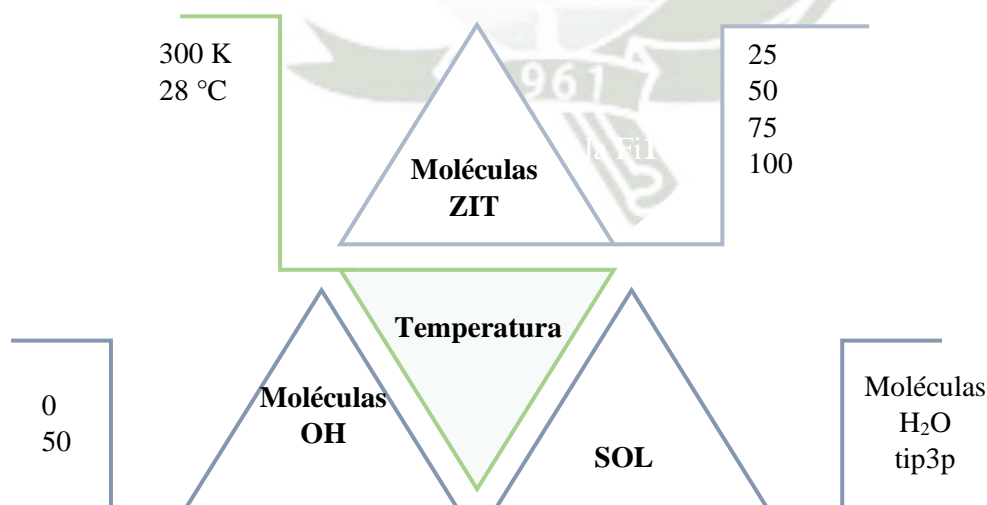
Figura 39. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

Tabla 10. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 293.15 K (20°C).

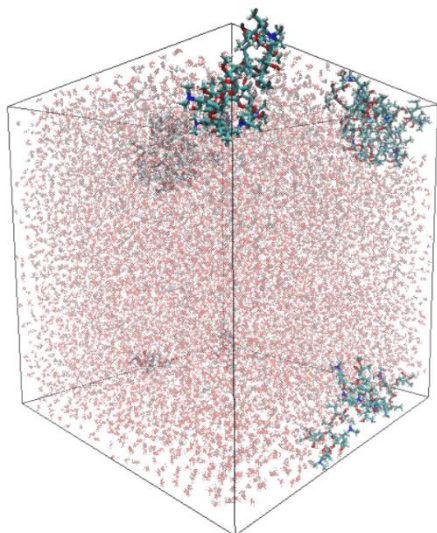
Sistemas	RMSD (nm)	RMSF (nm)	RG (nm)	SASA (nm ²)
25ZIT + 0OH	4.938±0.60	4.119±0.80	4.901±0.58	151.756±12.87
25ZIT + 50OH	4.336±0.49	3.597±0.55	4.165±0.46	140.487±14.70
50ZIT + 0OH	4.722±0.48	3.548±0.71	4.667±0.36	262.603±22.67
50ZIT + 50OH	3.615±0.39	1.970±0.91	3.713±0.08	235.053±12.91
75ZIT + 0OH	1.681±0.37	0.656±0.74	2.606±0.08	243.081±18.39
75ZIT + 50OH	2.384±0.50	1.179±1.04	3.206±0.09	287.141±15.54
100ZIT + 0OH	3.005±0.29	0.976±0.87	3.780±0.07	334.243±25.78
100ZIT + 50OH	2.273±0.32	0.810±1.12	2.939±0.05	319.391±14.55

3.2.2 Simulación de dinámica molecular del grupo de sistemas a 300K (28°C).

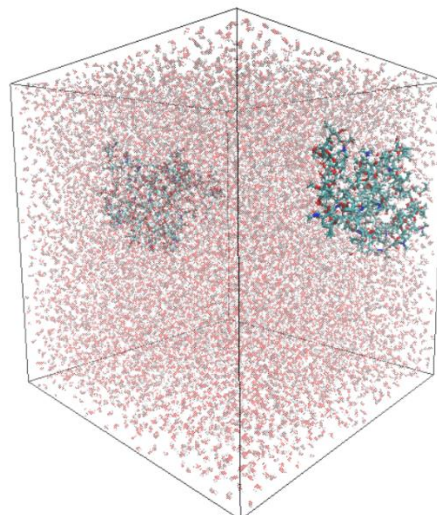
El siguiente grupo de análisis conto con las siguientes condiciones de simulación:



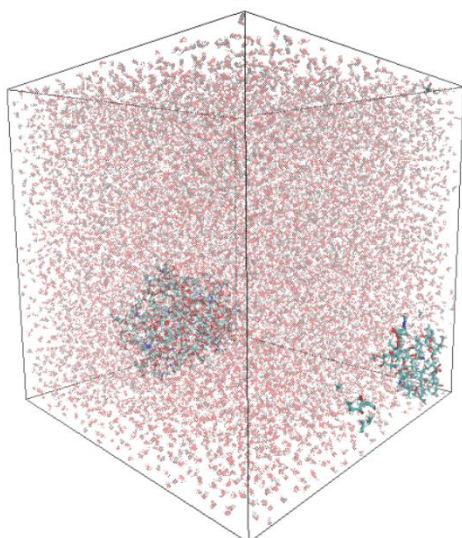
9A



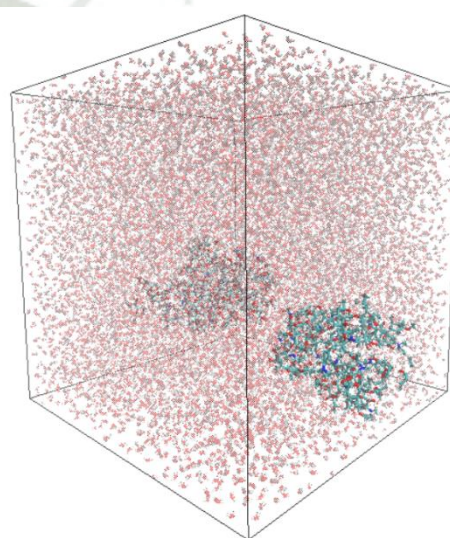
9B



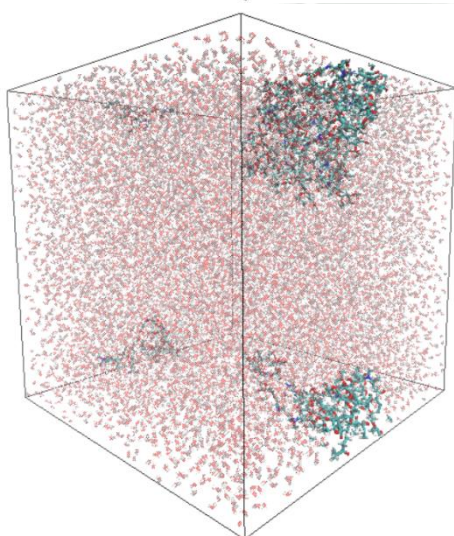
9C



9D



9E



9F

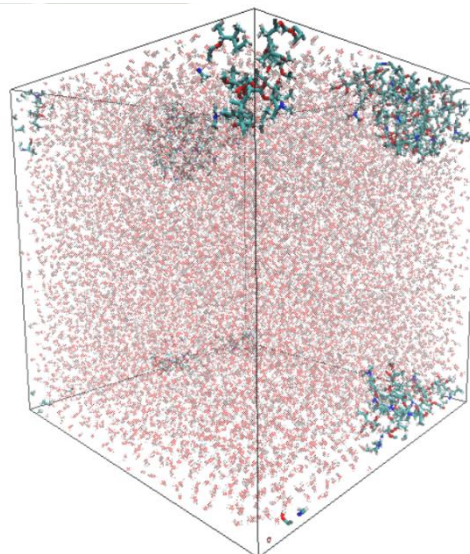
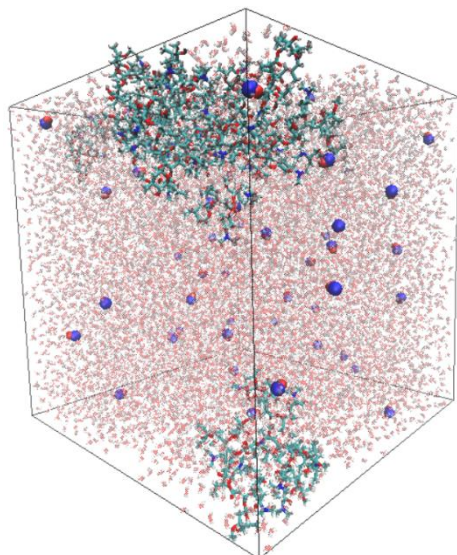
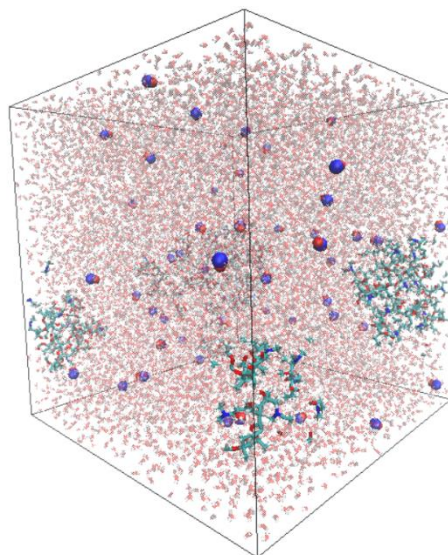


Figura 40. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-00H-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **9A.** 0ns, **9B.** 20ns, **9C.** 40ns, **9D.** 60ns, **9E.** 80ns y **9F.** 100ns.

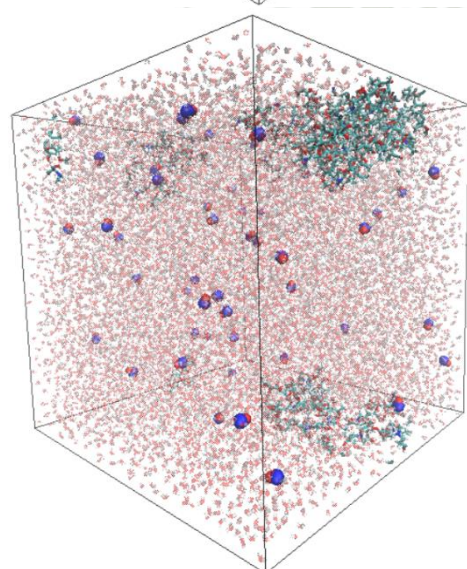
10A



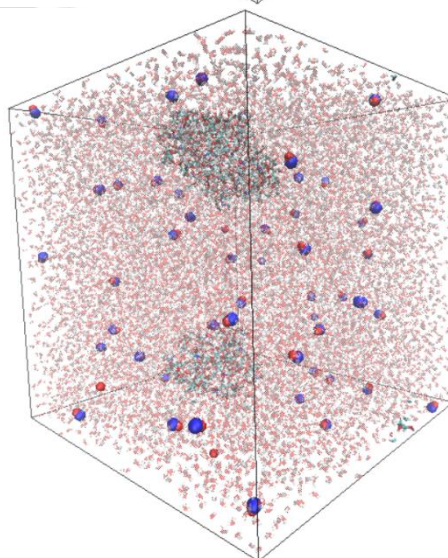
10B



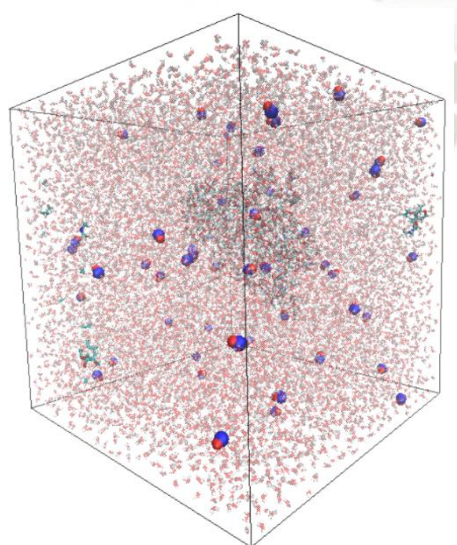
10C



10D



10E



10F

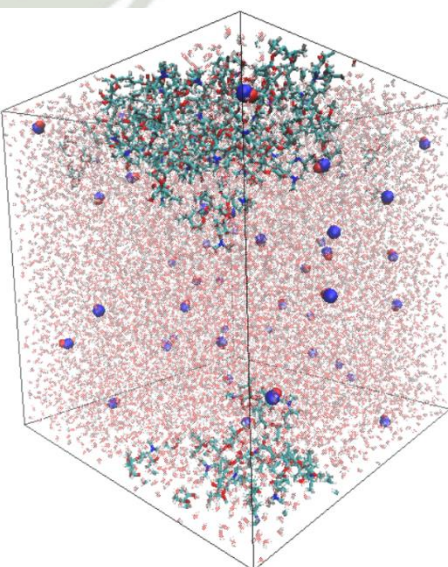


Figura 41. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-500H-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **10A.** 0ns, **10B.** 20ns, **10C.** 40ns, **10D.** 60ns, **10E.** 80ns y **10F.** 100ns.

El análisis de la desviación de la media cuadrática (RMSD) para las simulaciones de dinámica molecular de cada sistema en este primer grupo nos permitió conocer el tiempo de estabilidad que puede alcanzar los distintos grupos en 100 ns de trayectoria. Al momento de analizar cada grupo podemos observar que la desviación cuadrática media de **25ZIT + 0/50 OH** que corresponde a la **Figura 42I**. Al comparar estos dos sistemas nos ayuda a comprender como fue el comportamiento de la azitromicina en la trayectoria de simulación, el sistema con OH fue el más estable a pesar de las constantes fluctuaciones durante toda la simulación, aunque aun manteniendo su estructura conformacional con ligeros cambios, esto se puede deber a la interacción de los átomos más expuestos de la azitromicina con las partículas de agua. El sistema **25ZIT + 50OH** obtuvo en promedio 3.707 ± 0.56 nm valor que fue superado al compararlo con el sistema sin radicales **25ZIT + 0OH** con valores de 4.418 ± 0.41 nm.

El análisis de RMSF fue necesario para obtener información de que zonas de la estructura han variado en su posición, además de conocer que tanto movimiento entre los compuestos o interacción se produjo durante la trayectoria con una temperatura de 300k. Los resultados del RMSF nos permitió identificar con mayor facilidad la comparación de las fluctuaciones por cada sistema. En la **Figura 42II** que corresponde al primer grupo de estudio con 25 moléculas de azitromicina donde se produjo más movimiento en el sistema sin radicales **25ZIT + 0OH** con 3.145 ± 0.40 nm de fluctuación en promedio mientras que en el sistema con 50 moléculas de OH, **25ZIT + 50OH** disminuyó la fluctuación con 2.930 ± 0.31 nm. En la **Figura 42III**, los resultados generados del estudio de Radio de giro demuestran comportamiento muy distinto si comparamos estos dos sistemas lo cual se puede deber a la presencia de las moléculas del radical hidroxilo, se puede observar y conocer que en este caso el sistema con estos radicales presenta un comportamiento de distribución más notable en los diferentes ejes, ya que se encuentra dispersas en todo el cubo del sistema, los valores obtenidos fueron 3.654 ± 0.56 y 3.729 ± 0.56 nm para **25ZIT + 0OH** y **25ZIT + 50OH** respectivamente. De manera similar, se puede observar en la **Figura 42IV** con la herramienta SASA para conocer la estabilidad de las moléculas, el área total promedio del sistema **25ZIT + 0OH** fue de 125.780 ± 11.44 nm² mientras que para el sistema **25ZIT + 50OH** fue de aproximadamente 128.692 ± 15.97 nm².

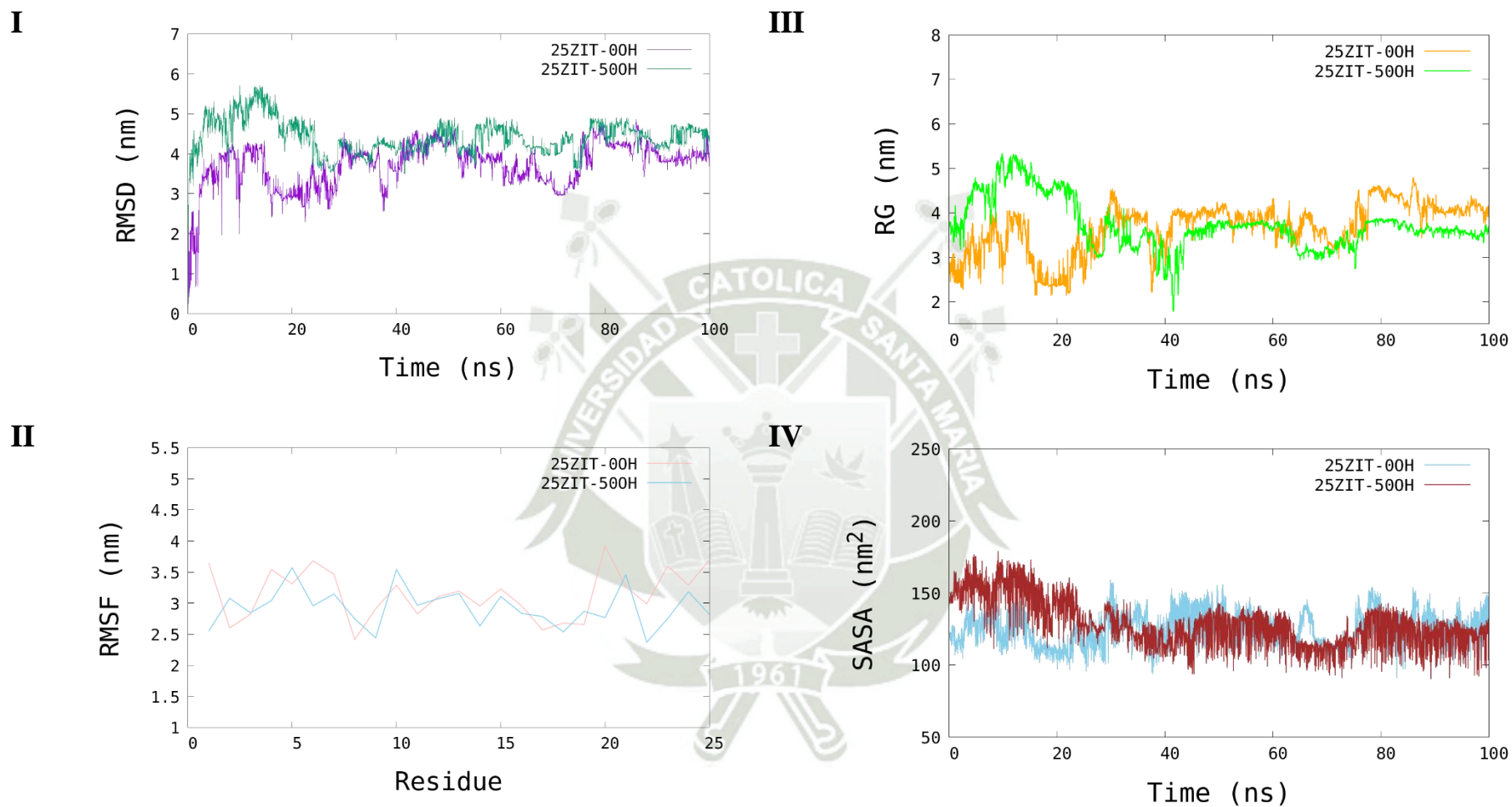
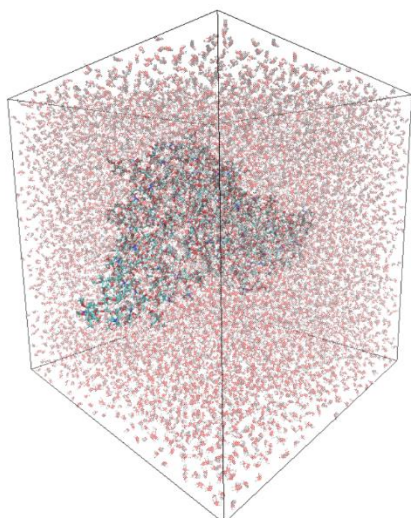
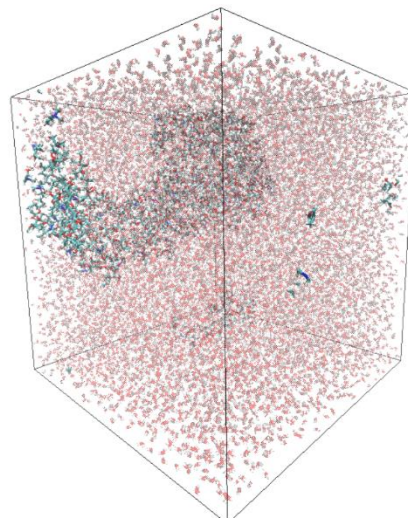


Figura 42. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes (SASA).

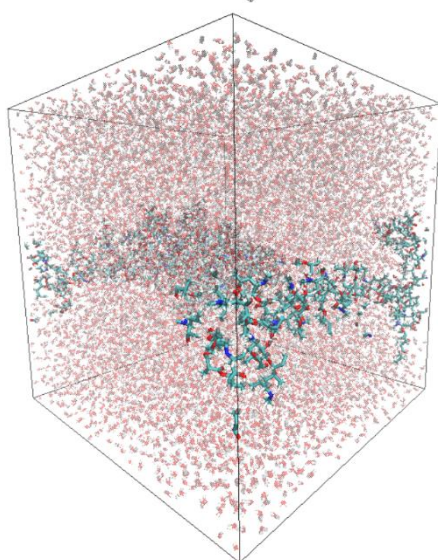
11A



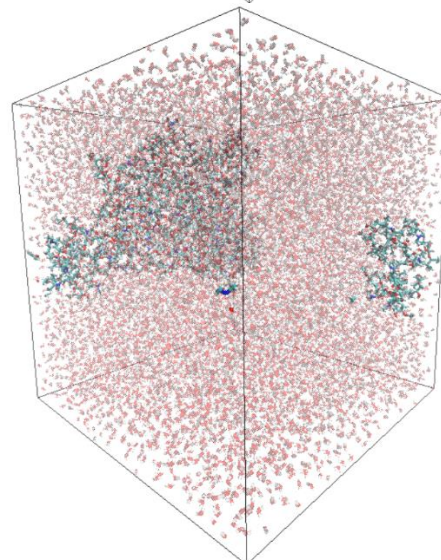
11B



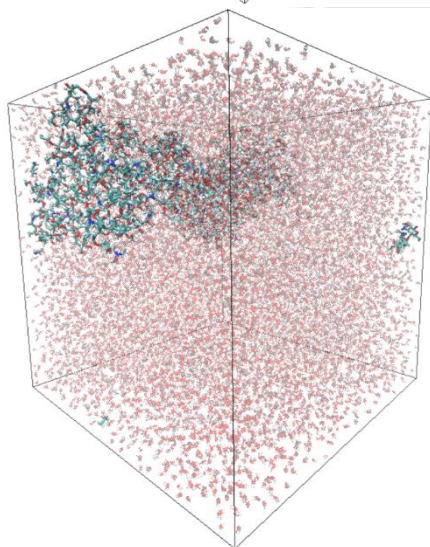
11C



11D



11E



11F

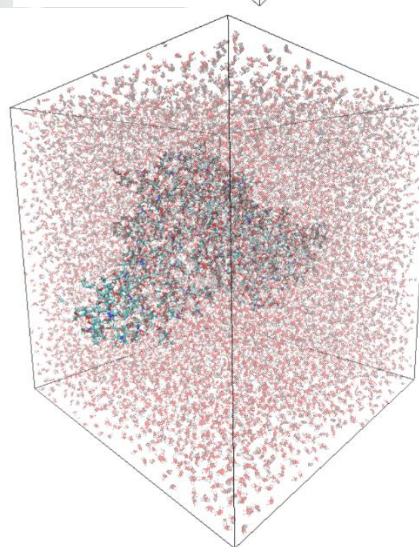
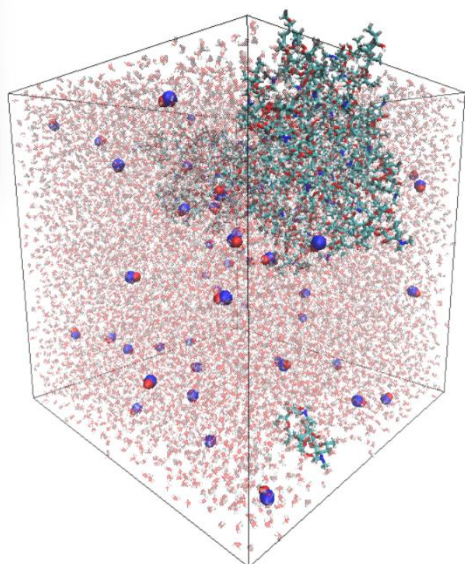
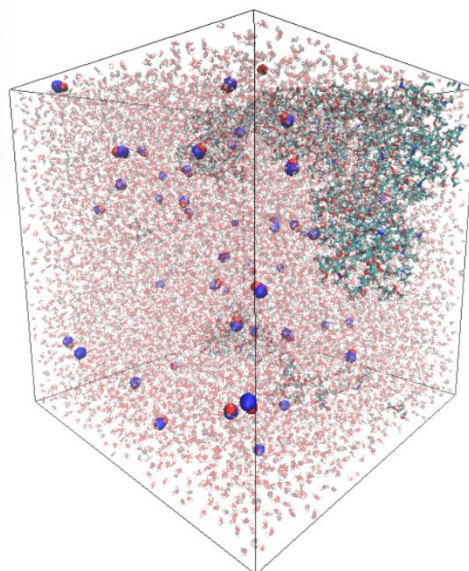


Figura 43. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-00H-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **11A.** 0ns, **11B.** 20ns, **11C.** 40ns, **11D.** 60ns, **11E.** 80ns y **11F.** 100ns.

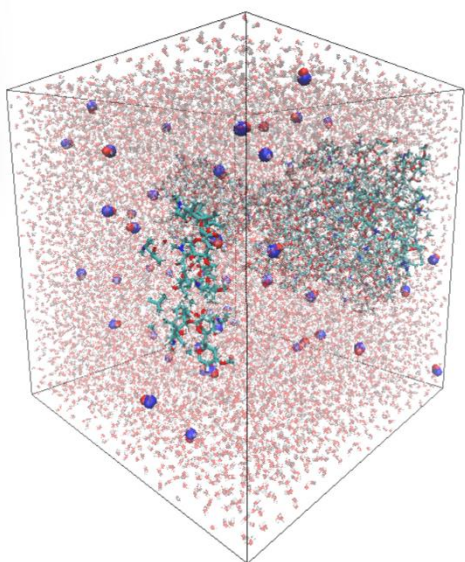
12A



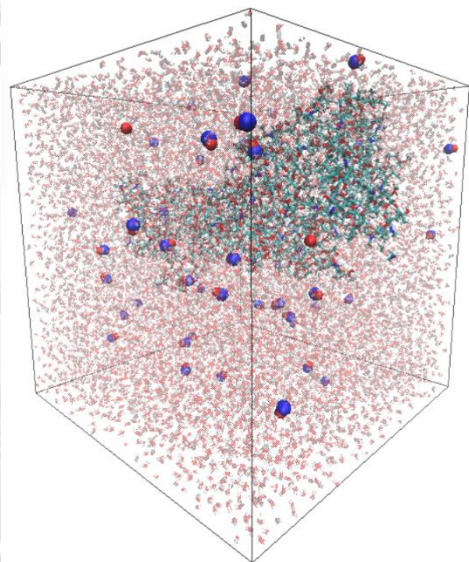
12B



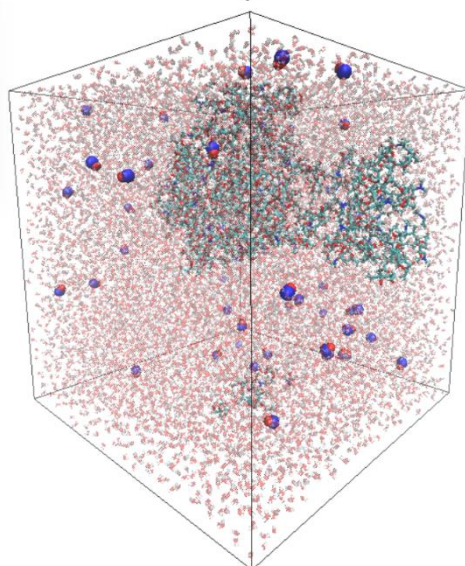
12C



12D



12E



12F

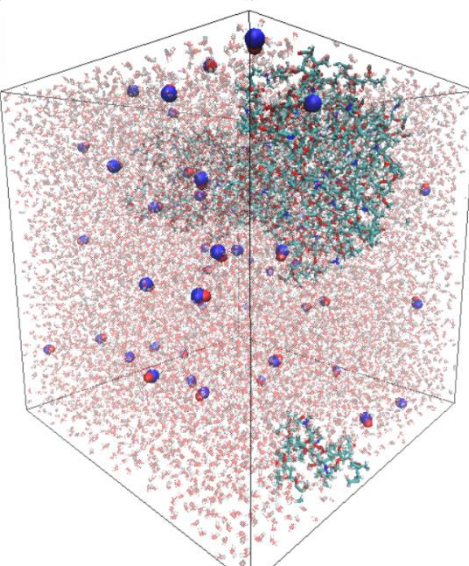


Figura 44. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-50OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **12A.** 0ns, **12B.** 20ns, **12C.** 40ns, **12D.** 60ns, **12E.** 80ns y **12F.** 100ns.

A comparación con este primer caso, el grupo de análisis que cuenta con 50 moléculas de azitromicina presentan casi el mismo comportamiento como se puede observar en la **Figura 45I** que comparten valores con diferencia de aproximadamente 1 ns, en el caso del sistema **50ZIT + 0OH** se obtuvo como promedio 4.274 ± 0.46 nm mientras que en presencia del radical hidroxilo que corresponde a **50ZIT + 50OH** se obtuvo 3.207 ± 0.60 nm, el sistema sin radicales fue el más estable durante la trayectoria mientras que con presencia de moléculas de OH presentan fluctuaciones más constantes.

Al momento de verificar la fluctuación del grupo de 50 moléculas, dio como resultado la **Figura 45II**, donde se puede apreciar que la fluctuación es alta, dando como resultado en promedio del primer sistema **50ZIT + 0OH** de 2.502 ± 0.63 nm, pero a diferencia del primer grupo, el sistema con los radicales **50ZIT + 50OH** se observa una disminución en su valor que fue de 2.368 ± 0.57 nm, comparado con el que no presentaba el radical hidroxilo este sistema presenta menor variación en las posiciones de las moléculas que interaccionan entre sí.

La comparación de los gráficos de Rg de la **Figura 45III** de estos dos sistemas de 50 moléculas de Azitromicina nos muestra que el sistema **50ZIT + 0OH** presenta menos estabilidad, ya que se observa más desplazamientos de las moléculas en las distintas coordenadas donde se obtuvo 4.084 ± 0.18 nm en promedio. Por otro lado, en el sistema **50ZIT + 50OH** se produjo menos movimiento de las moléculas a lo largo de la trayectoria de la simulación con 3.183 ± 0.45 nm en promedio, aunque la diferencia no es muy amplia entre estos dos resultados, podemos observar que en el sistema con radicales se ven más cercanas las moléculas entre sí.

A partir del gráfico de SASA frente al tiempo de análisis en la **Figura 45IV**, el área de la superficie alrededor de las moléculas de Azitromicina en **50ZIT + 0OH** fue de aproximadamente de 220.751 ± 18.11 nm² y en el caso de **50ZIT + 50OH** fue de 204.855 ± 16.49 nm², el resultado de SASA del primer sistema aumentó en alrededor de 20 nm² lo que indica que este sistema presenta un incremento de las interacciones con las moléculas de solvente vecinas.

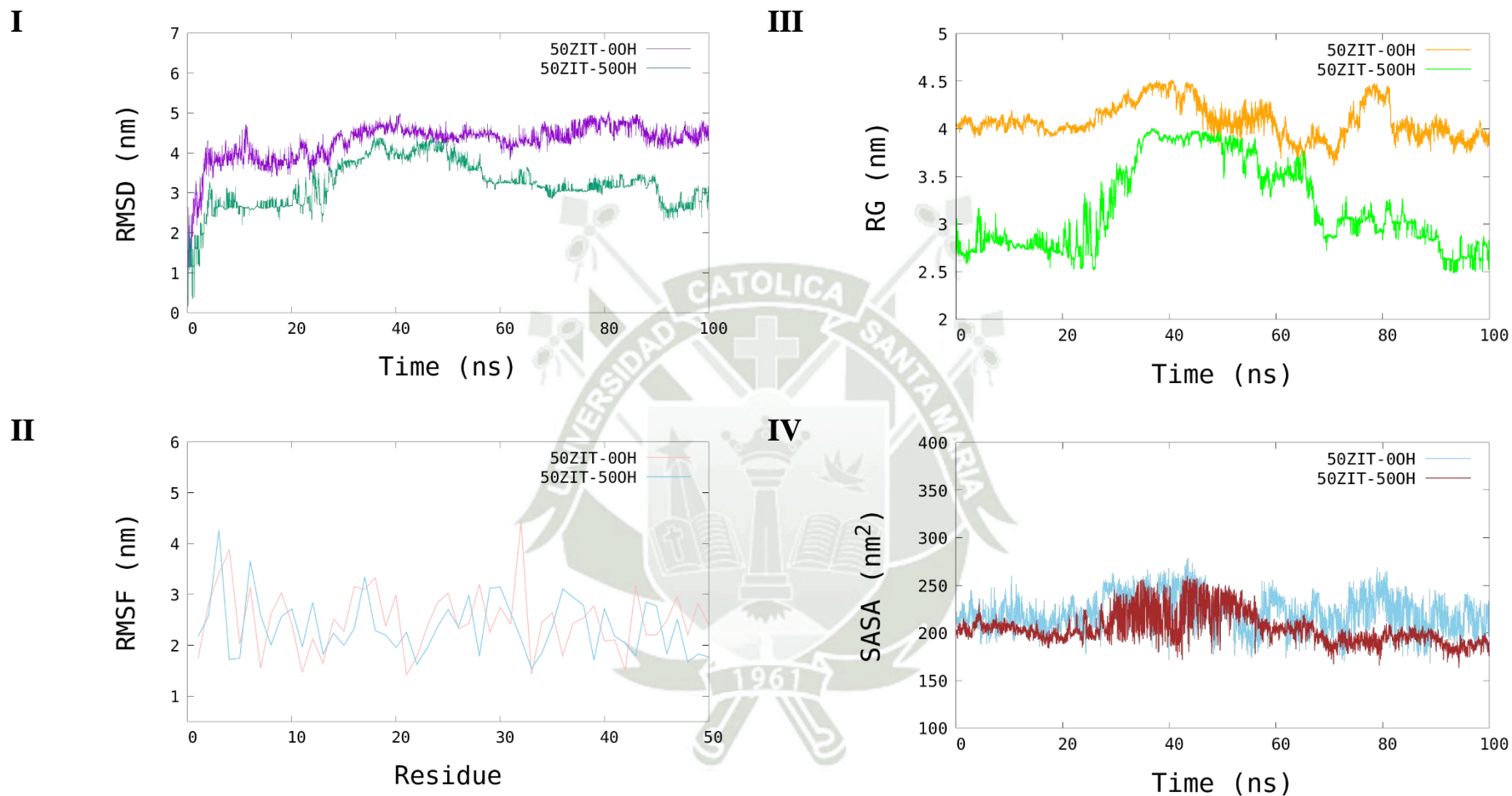
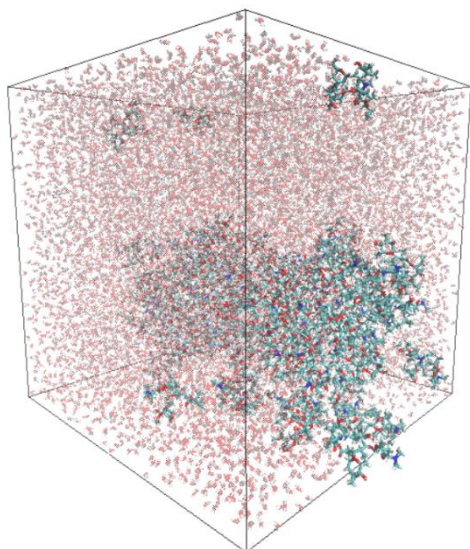
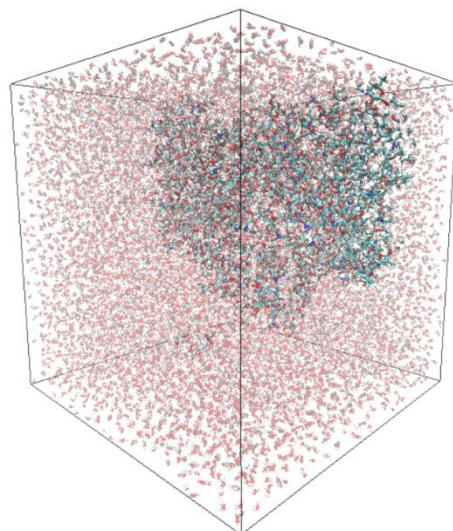


Figura 45. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes (SASA).

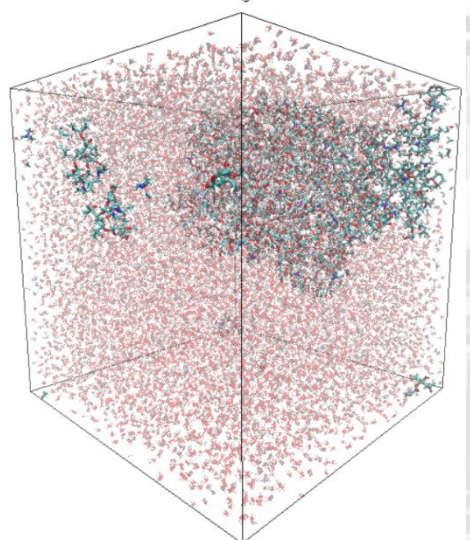
13A



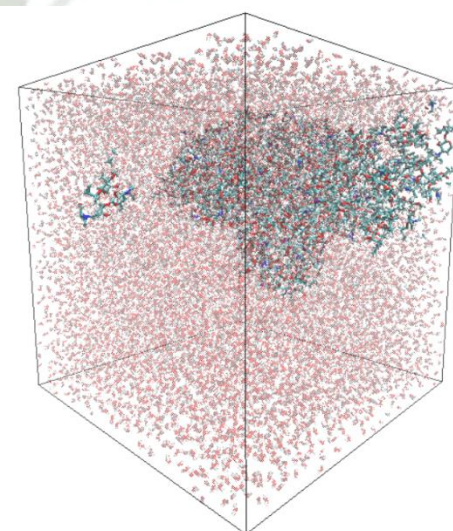
13B



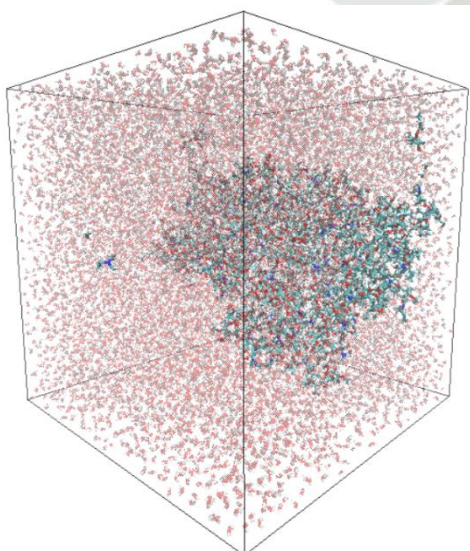
13C



13D



13E



13F

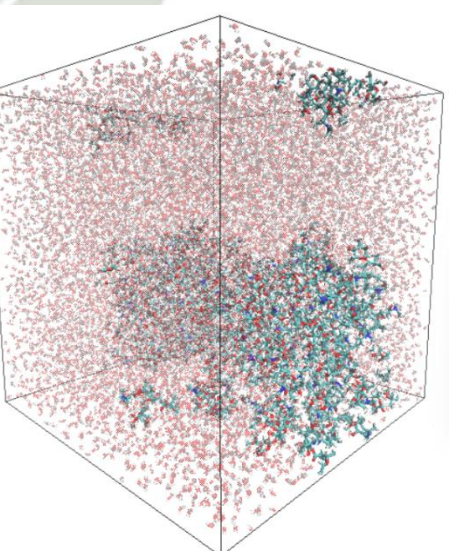
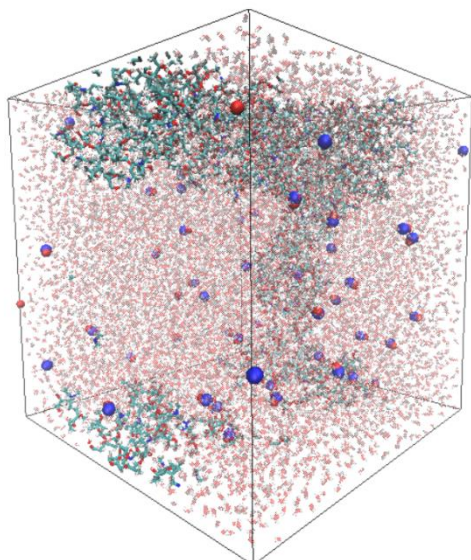
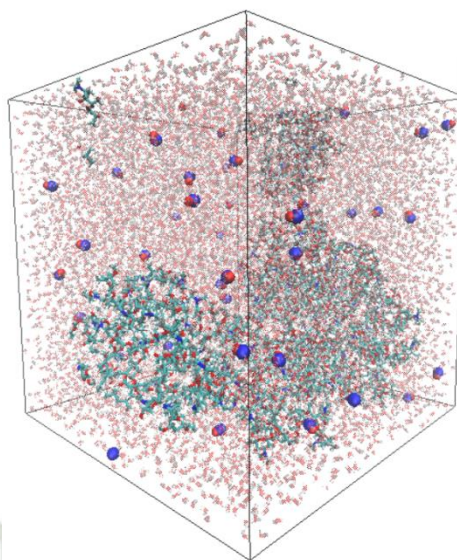


Figura 46. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-00H-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **13A.** 0ns, **13B.** 20ns, **13C.** 40ns, **13D.** 60ns, **13E.** 80ns y **13F.** 100ns.

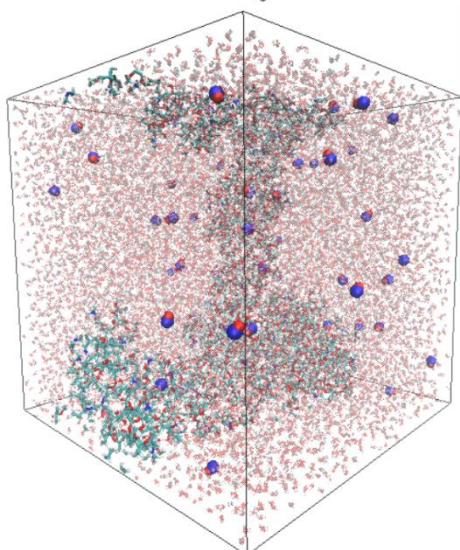
14A



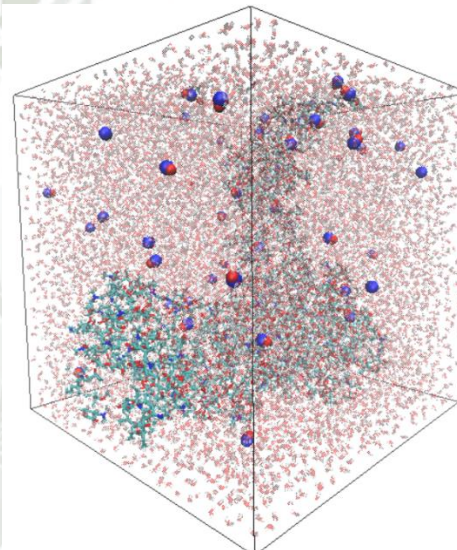
14B



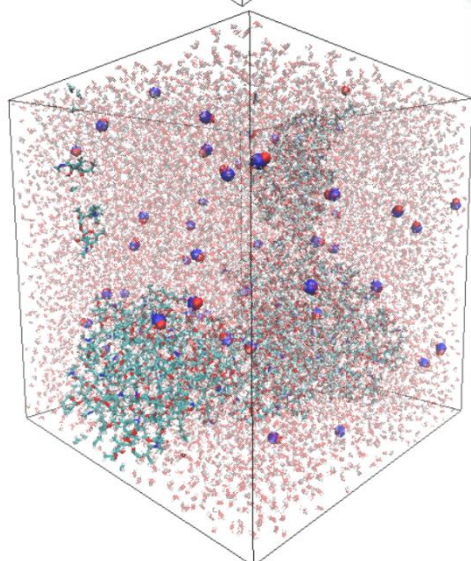
14C



14D



14E



14F

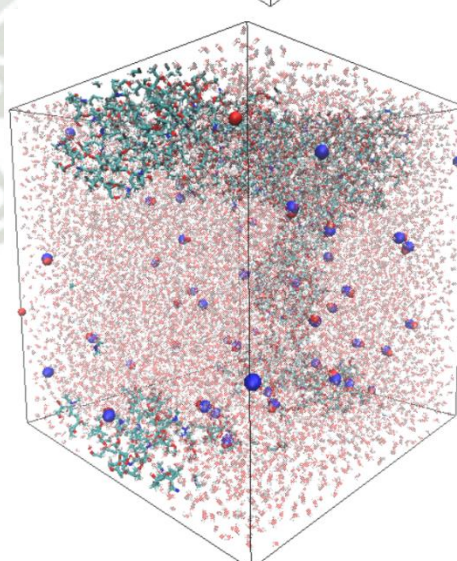


Figura 47. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-500H-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **14A.** 0ns, **14B.** 20ns, **14C.** 40ns, **14D.** 60ns, **14E.** 80ns y **14F.** 100ns.

El análisis RMSD del grupo de análisis donde se trabajó con 75 moléculas muestra que hay más desviaciones en el sistema que no presenta radicales que se detalla en la **Figura 48I**, puesto a que en el sistema **75ZIT + 50OH** se encuentra con un valor promedio de 2.498 ± 0.51 nm, muestra un comportamiento inestable durante la trayectoria lo cual se ve reflejado en su RMSD promedio, ya que es mucho menor comparado con el sistema **75ZIT + 0OH** con un resultado de 3.471 ± 0.28 nm. Los resultados de este grupo muestran una mejor estabilidad a los 50 ns con vibraciones de aproximadamente de 0.8 nm.

El mismo comportamiento que en el primer grupo de 25 moléculas de azitromicina, que se detalla en la de RMSF, presenta los dos últimos grupos de 75 y 100 moléculas de azitromicina, es decir que hay más fluctuaciones altas en los sistemas donde no hay presencia de los radicales libres. Si nos fijamos en la representación gráfica de los resultados de grupo de análisis con 75 moléculas **Figura 48II**, en el caso del sistema **75ZIT + 50OH** presento en promedio fluctuaciones de 1.22 ± 1.06 nm, pero a diferencia de los grupos con menos moléculas que están interaccionando esta presenta zonas donde está más marcado la presencia de baja fluctuación de aproximadamente de 1 nm, el sistema **75ZIT + 0OH** presenta fluctuaciones de 1.509 ± 1.00 nm.

En la representación gráfica que corresponde a la **Figura 48III** de los resultados generados en el análisis de Radio de giro para este sistema nos da a conocer que el sistema **75ZIT + 0OH** presenta un valor inferior que el sistema con radicales con un valor promedio de 2.879 ± 0.22 nm mientras que en el sistema **75ZIT + 50OH** presento un valor mayor de 3.166 ± 0.19 nm, en la representación gráfica se muestra muchas fluctuaciones la más notoria durante 40-60 ns.

El área de superficie accesible al solvente SASA de estos dos sistemas no difieren mucho entre si ya que el sistema **75ZIT + 0OH** presento un área promedio de 253.513 ± 15.52 nm² y para el sistema **75ZIT + 50OH** un área de 263.787 ± 14.92 nm² como se puede observar en la **Figura 48IV**, en este caso podemos decir que el sistema con radicales presento más accesibilidad para el contacto con el solvente que se empleó en los sistemas.

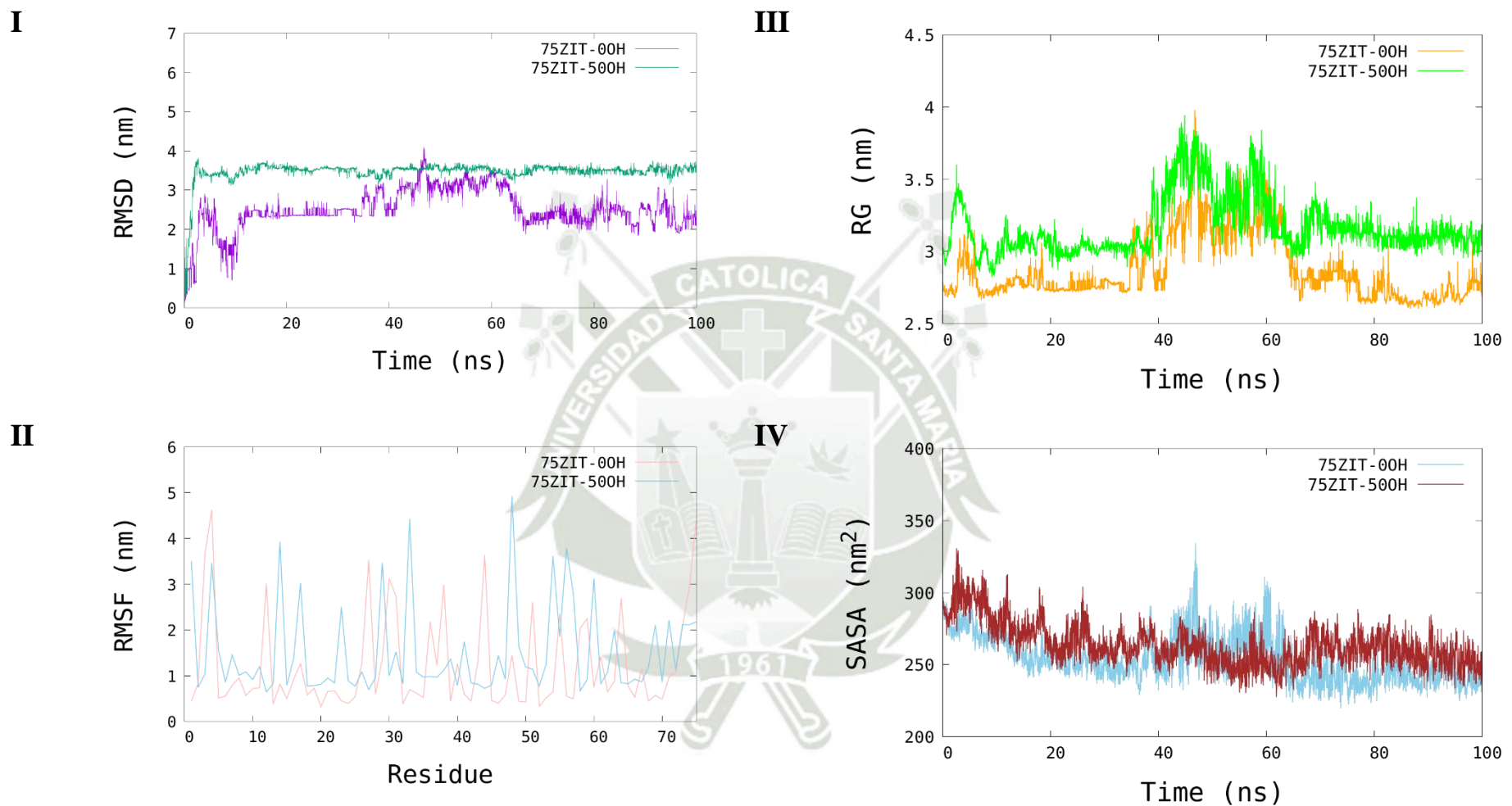
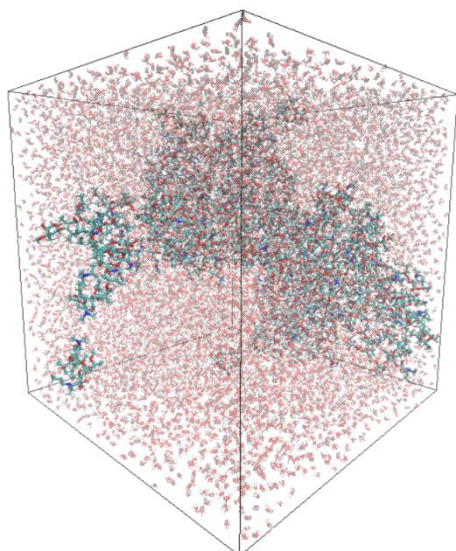
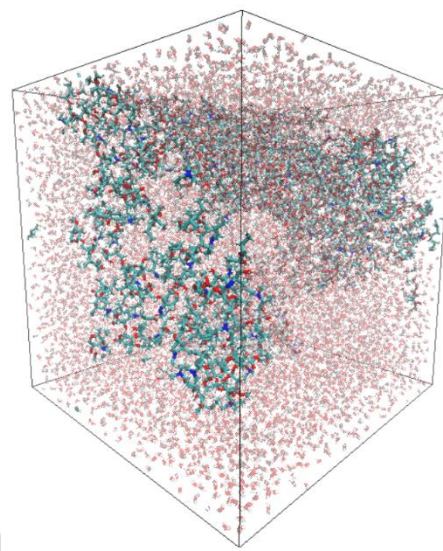


Figura 48. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). I. Desviación media cuadrática (RMSD), II. Fluctuación cuadrática media (RMSF), III. Radio de giro (RG) y IV. Área de superficie accesible a solvente (SASA).

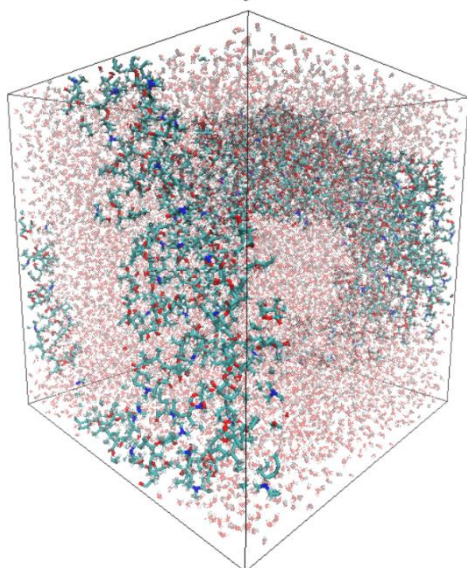
15A



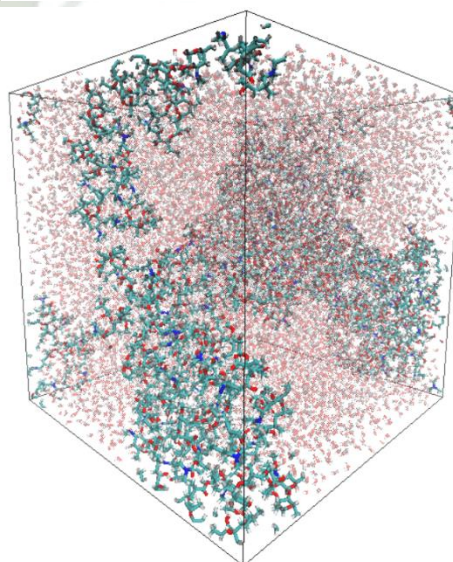
15B



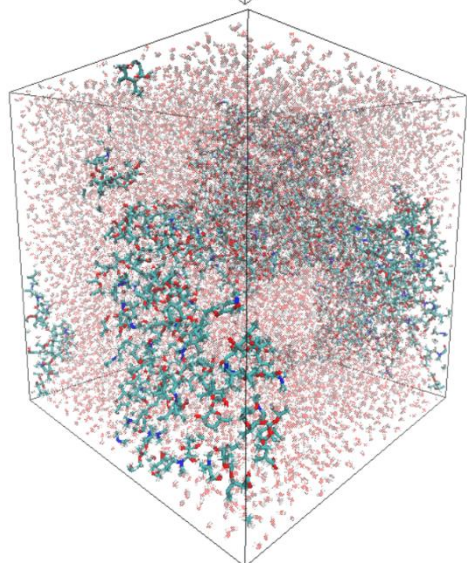
15C



15D



15E



15F

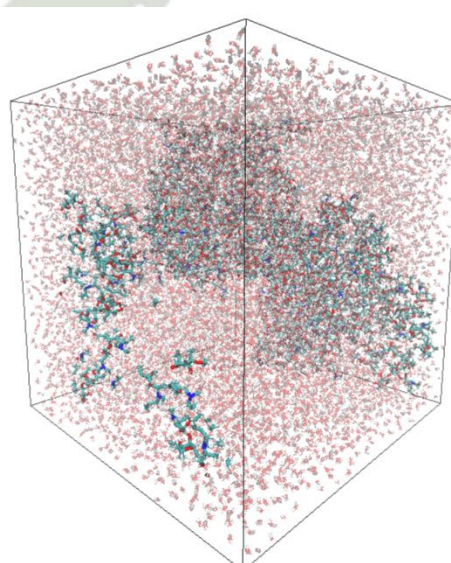
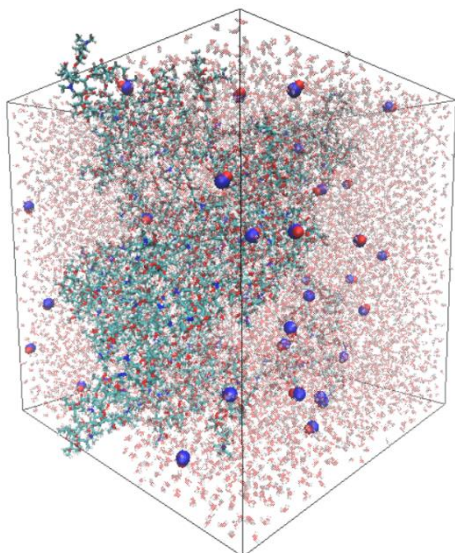
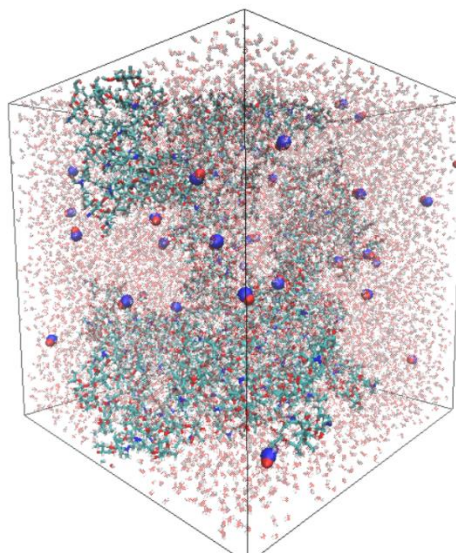


Figura 49. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-00H-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **15A.** 0ns, **15B.** 20ns, **15C.** 40ns, **15D.** 60ns, **15E.** 80ns y **15F.** 100ns.

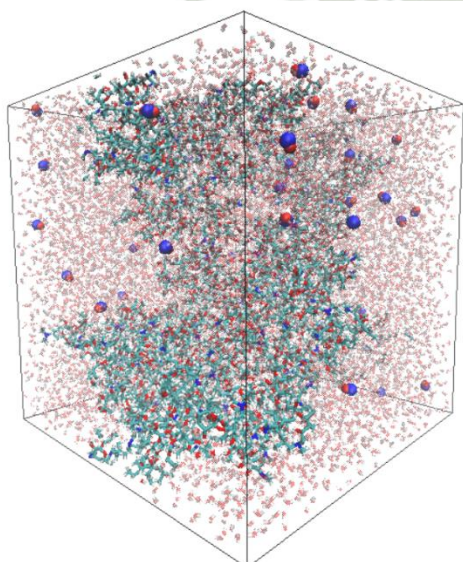
16A



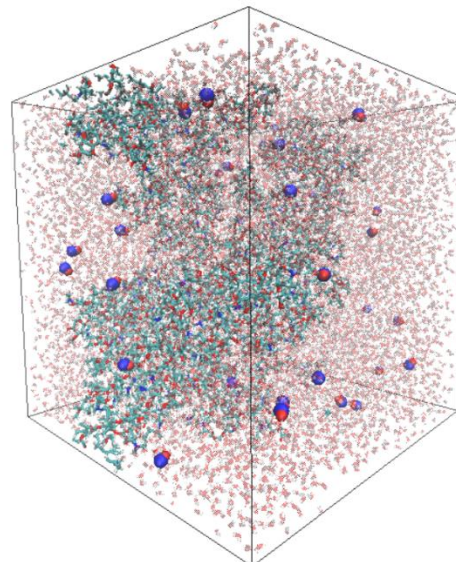
16B



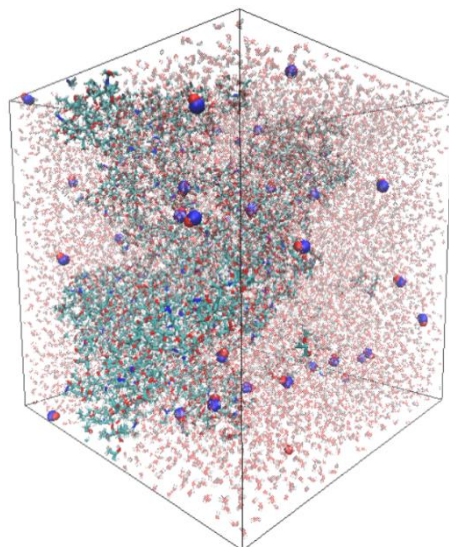
16C



16D



16E



16F

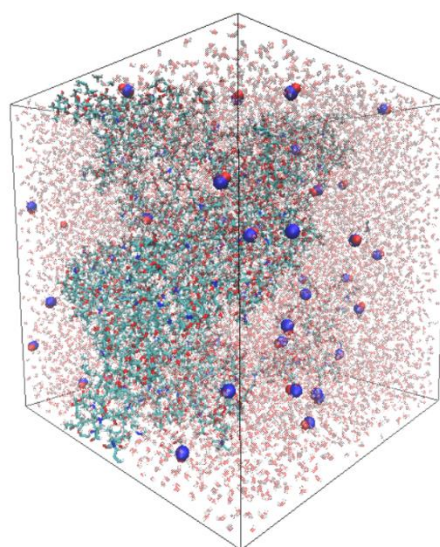


Figura 50. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-50OH-28** en diferentes puntos de la trayectoria. **16A.** 0ns, **16B.** 20ns, **16C.** 40ns, **16D.** 60ns, **16E.** 80ns y **16F.** 100ns.

La **Figura 5II** muestra los datos obtenidos donde se indica el tiempo en el que se llega a la estabilidad o convergencia, la que fue a partir del 80 ns manteniéndose constante hasta poder terminar la trayectoria de 100 ns. En el sistema **100ZIT + 0OH** como resultado nos dio un valor promedio de 3.227 ± 0.48 nm un valor alto comparado con el sistema que comparte el mismo número de moléculas de azitromicina, pero que presenta los radicales libres, **100ZIT + 50OH** que nos dio un valor promedio de 2.653 ± 0.35 nm. El primer grupo demostró que tomo más tiempo poder llegar a una estabilidad y que las vibraciones en cada sistema fueron las más altas reportadas.

Así mismo podemos observar en la **Figura 5III**, esta comprende la simulación de 100 moléculas del antibiótico con y sin la presencia de radicales libres. Si analizamos los resultados durante la trayectoria podemos observar alguna fluctuaciones bajas en algunos tramos de la simulación en el caso del sistema **100ZIT + 50OH**, pero al igual que todos los grupos restantes hay mayor cantidad de fluctuaciones con valores altos en este sistema en específico tenemos como promedio 1.274 ± 1.18 nm el valor más bajo de todos los sistemas, en cambio el sistema **100ZIT + 0OH** presento valores de 1.193 ± 1.10 nm, en este grupo de análisis podemos decir que las fluctuaciones disminuyeron en comparación de grupo que trabajo con la mitad de moléculas que este. Para los resultados de radio de giro de la **Figura 5III** podemos observar valores más diferenciados entre estos dos sistemas en los cuales varían entre 0.200 nm, para el sistema **100ZIT + 0OH** presenta un valor promedio de 3.463 ± 0.09 nm mayor que el sistema que presenta los radicales **100ZIT + 50OH** con un valor inferior de 3.267 ± 0.09 nm.

El área de superficie accesible al solvente (SASA) que se describe como el área de las moléculas que está lo suficientemente expuesta para hacer interacciones con las moléculas de solvente vecinas se puede observar en la **Figura 5IV** para el sistema que cuenta con la mayor cantidad de moléculas en este caso también se presenta resultados similares a los del sistema de 75 moléculas. El sistema **100ZIT + 0OH** presento un área promedio de 328.677 ± 23.44 nm² mientras que el sistema **100ZIT + 50OH** 345.765 ± 15.80 nm² presenta un poco más de superficie que interactúa con las moléculas de agua y los radicales hidroxilos es decir que entre moléculas están más separadas por ende la superficie de contacto con las moléculas es mucho mayor.

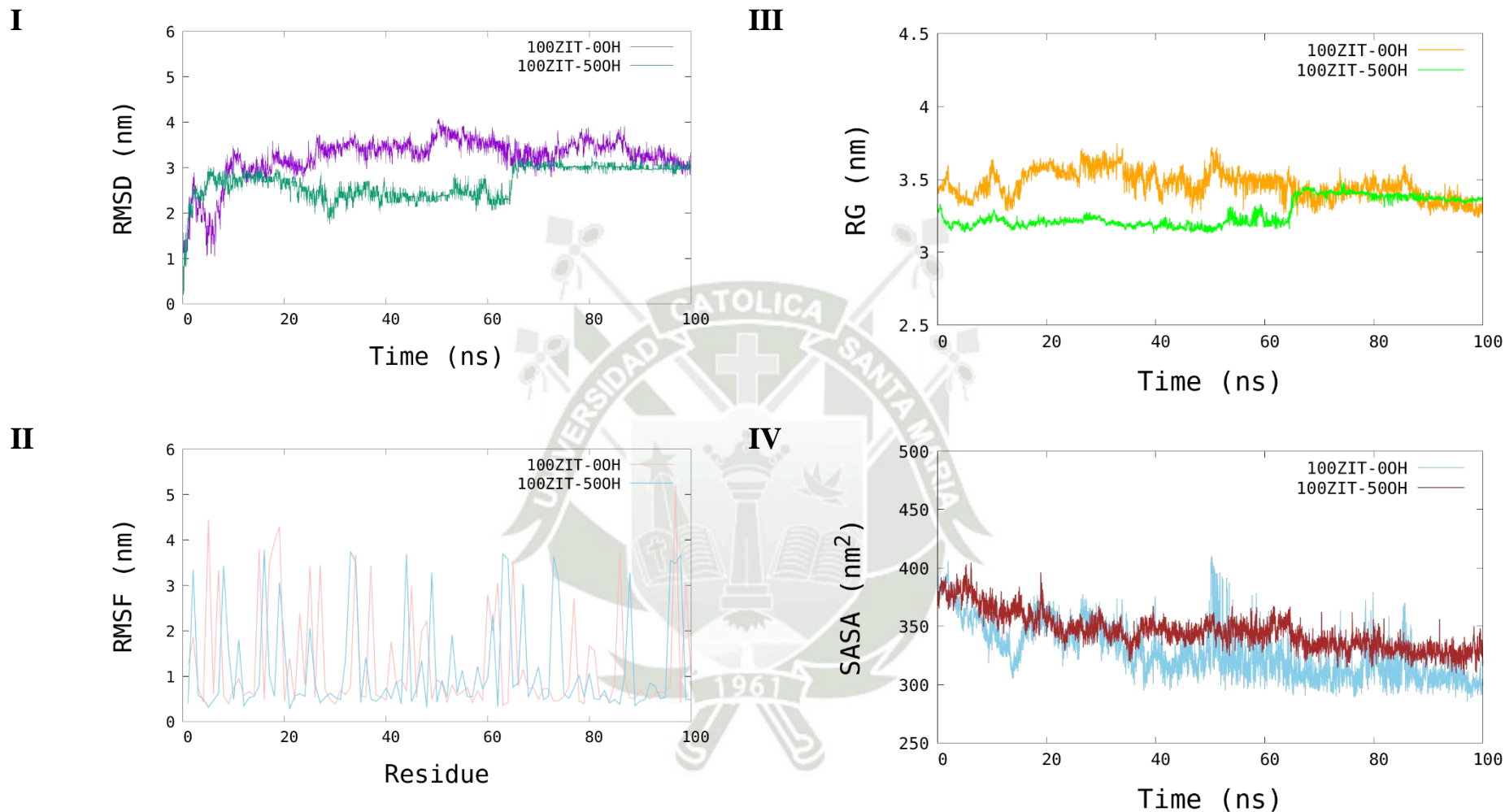
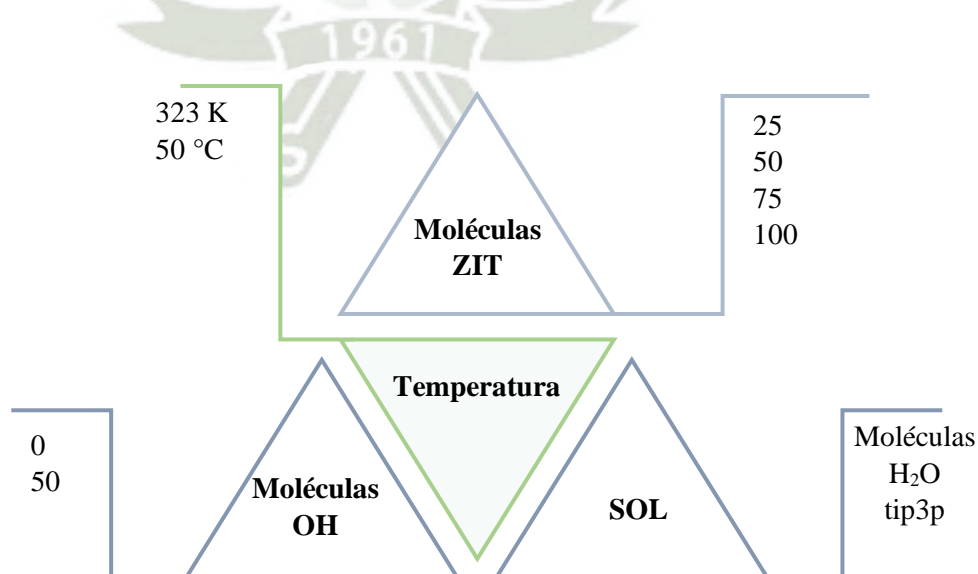


Figura 51. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

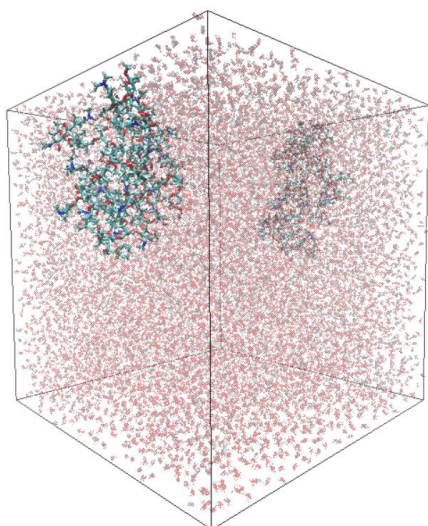
Tabla 11. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 300 K (28°C).

Sistemas	RMSD (nm)	RMSF (nm)	RG (nm)	SASA (nm ²)
25ZIT + 0OH	3.707±0.56	3.145±0.40	3.654±0.56	125.780±11.44
25ZIT + 50OH	4.418±0.41	2.930±0.31	3.729±0.56	128.692±15.97
50ZIT + 0OH	4.274±0.46	2.502±0.63	4.084±0.18	220.751±18.11
50ZIT + 50OH	3.207±0.60	2.368±0.57	3.183±0.45	204.855±16.49
75ZIT + 0OH	2.498±0.51	1.22±1.06	2.879±0.22	253.513±15.52
75ZIT + 50OH	3.471±0.28	1.509±1.00	3.166±0.19	263.787±14.92
100ZIT + 0OH	3.227±0.48	1.274±1.18	3.463±0.09	328.677±23.44
100ZIT + 50OH	2.653±0.35	1.193±1.10	3.267±0.09	345.765±15.80

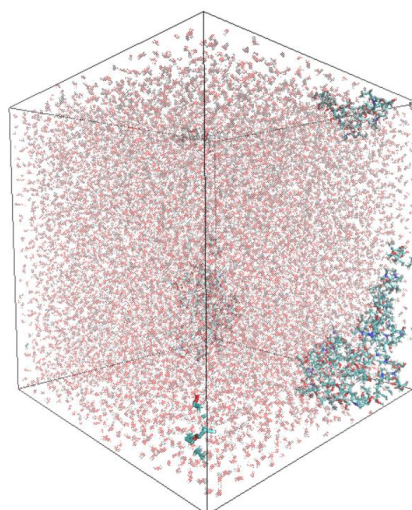
3.2.3 Simulación de dinámica molecular de los grupos análisis a temperatura de 323K (50 °C).



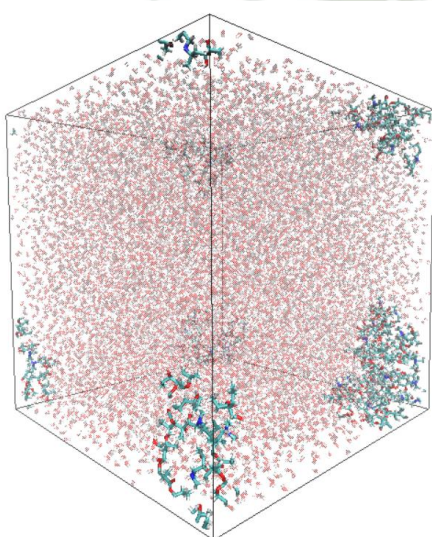
17A



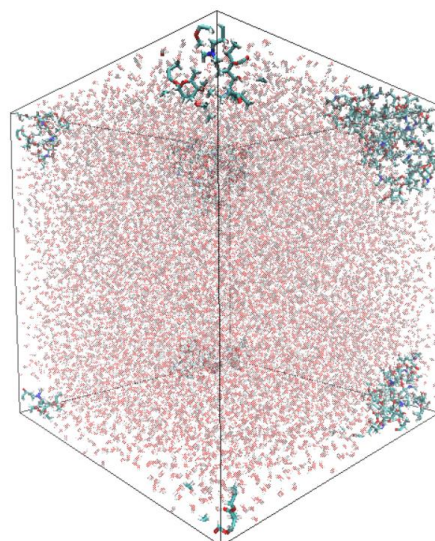
17B



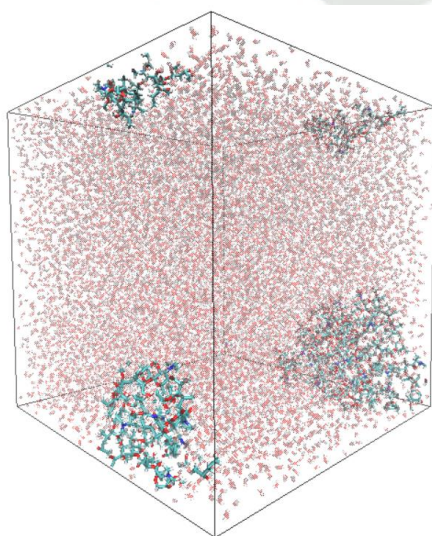
17C



17D



17E



17F

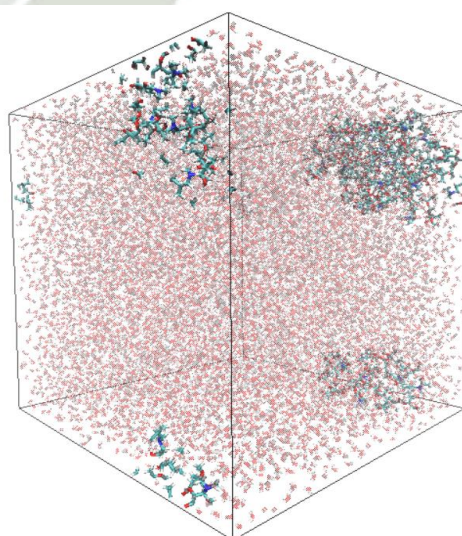
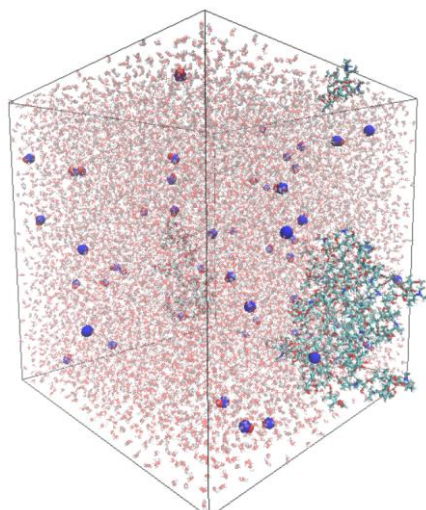
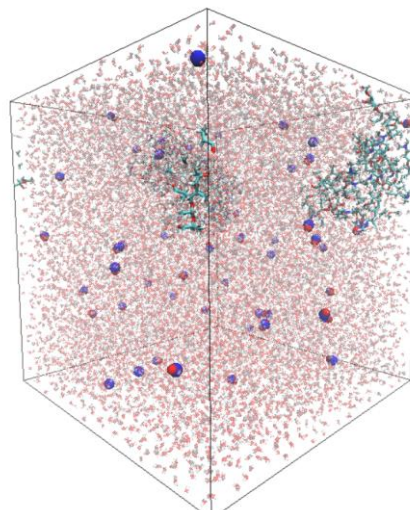


Figura 52. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **25ZIT-00H-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **17A.** 0ns, **17B.** 20ns, **17C.** 40ns, **17D.** 60ns, **17E.** 80ns y **17F.** 100ns.

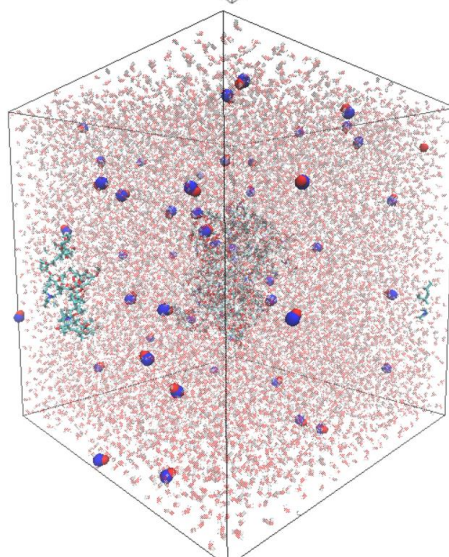
18A



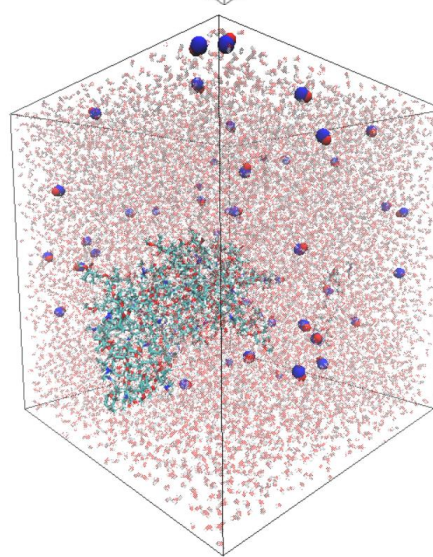
18B



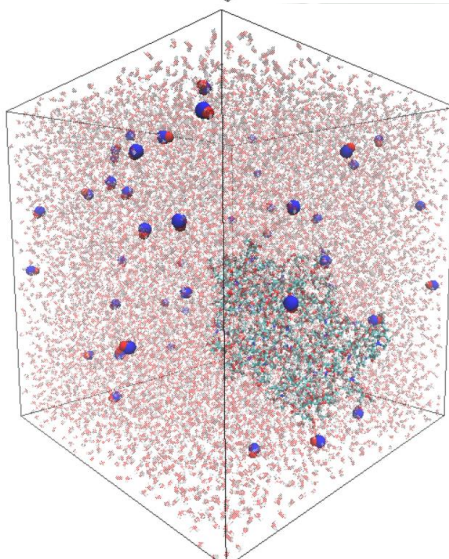
18C



18D



18E



18F

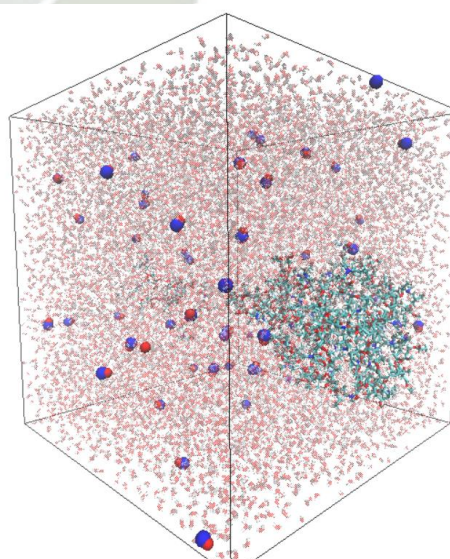


Figura 53. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema 25ZIT-50OH-50 en diferentes puntos de la trayectoria. **18A.** 0ns, **18B.** 20ns, **18C.** 40ns, **18D.** 60ns, **18E.** 80ns y **18F.** 100ns.

Se realizó el análisis de un sistema con más tiempo de simulación para conocer la interacción de los componentes del sistema y más que nada conocer la acción o mecanismo de los radicales hidroxilos frente al contaminante emergente Azitromicina, además de ello una variante de interés fue la temperatura que fue incrementada hasta 232K (50° C). En la visualización de la Dinámica Molecular por medio del programa VMD de 100 nm, en este tercer análisis demuestra que en el primer grupo de 25 moléculas ZIT presenta resultados con diferencia notoria. En primer lugar, en el sistema **25ZIT + 0OH** representado en la **Figura 52**, se observa que durante la trayectoria de simulación las moléculas de ZIT permanecen dispersas sin aglomeración de todas ellas en un punto fijo. Como se puede observar en la **Figura 54**, para los resultados de RMSD para este sistema sin radicales presento un promedio de 5.179 nm con una fluctuación de 0.61 un dato que es mayor a su contraparte que presenta la misma concentración de azitromicina pero que cuenta con la presencia de los radicales hidroxilos **25ZIT + 50OH**, este sistema presento un menor resultado con 3.562 nm, pero con una mayor fluctuación de 0.8 nm, lo que indica que los átomos del primer sistema presentan mayor presencia posicional.

En el caso de los resultados de RMSF, Radio de giro y SASA también presentan una diferencia al comparar estos dos sistemas. Para los resultados de RMSF del sistema **25ZIT + 0OH** se obtuvo 4.269 nm mientras que para el sistema con presencia de hidroxilos fue de 3.058 nm con una menor fluctuación que en el primer caso. Cabe mencionar que al analizar la representación gráfica de la Dinámica Molecular del sistema **25ZIT + 50OH** se observa que las moléculas ZIT se van aglomerando entre si generando más interacción entre los átomos de las estructuras.

Para el análisis de Radio de Giro que nos permite analizar la distribución de masa para el sistema **25ZIT + 0OH** se obtuvo datos de más de 5 nm con unas fluctuaciones de 0.36 caso que no se repitió en el sistema **25ZIT + 50OH** donde se disminuyó en aproximadamente 2 nm pero que obtuvo las fluctuaciones más altas alcanzando 1.10 nm.

En cuanto los resultados obtenidos para el análisis SASA que nos da la referencia de la superficie accesible al solvente el sistema con mayor contacto con el solvente empleado fue el sistema **25ZIT + 0OH** con $149.667 \pm 15.15 \text{ nm}^2$ que por el mismo hecho de que no presenta aglomeración es por lo que presenta datos mayores que el sistema **25ZIT + 50OH** que presento un resultado de $119.922 \pm 20.74 \text{ nm}^2$.

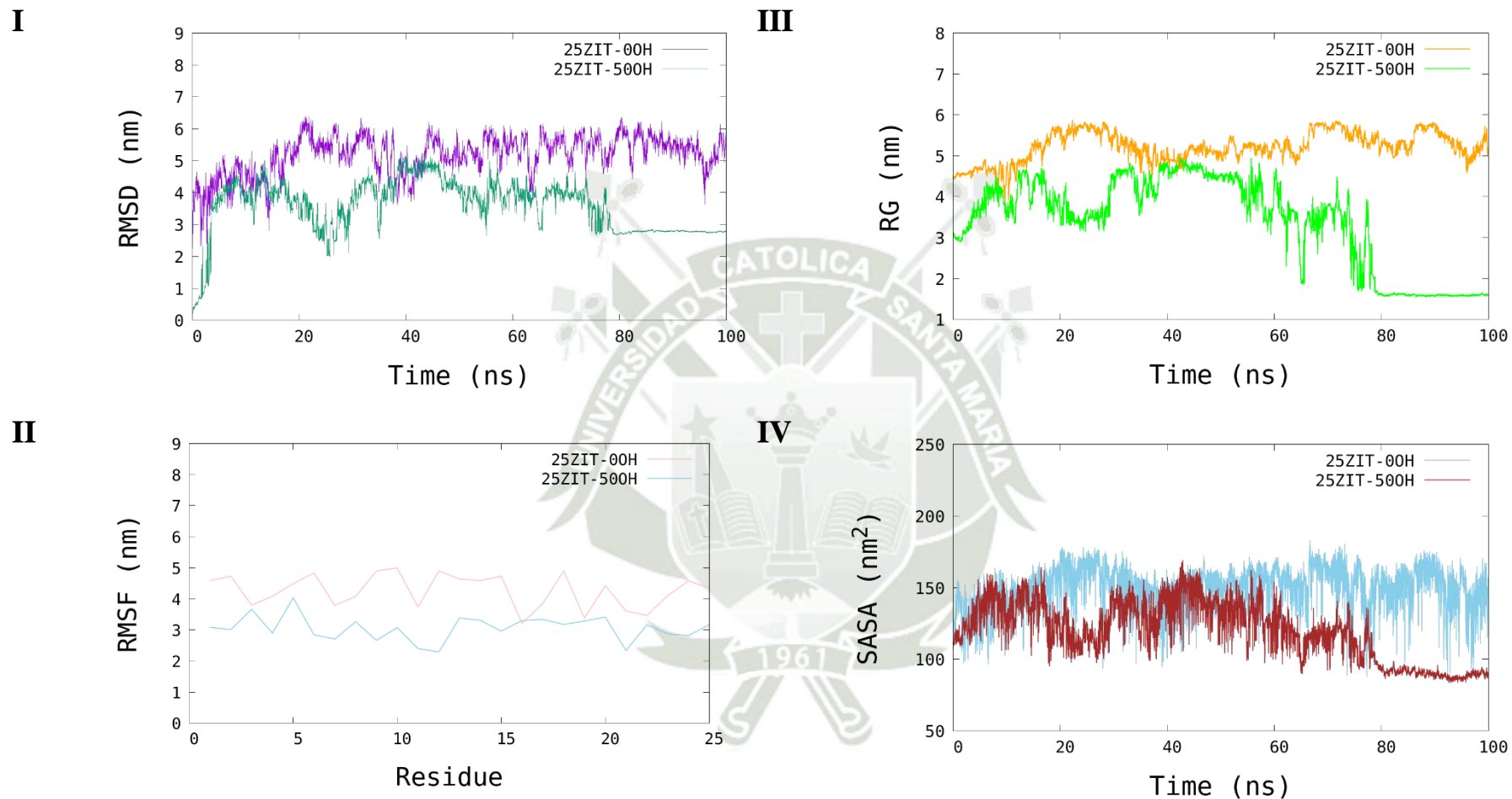
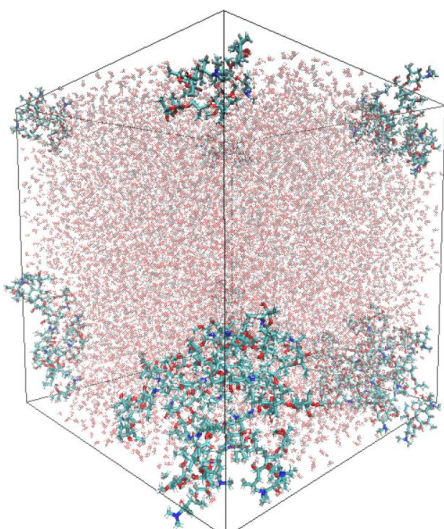
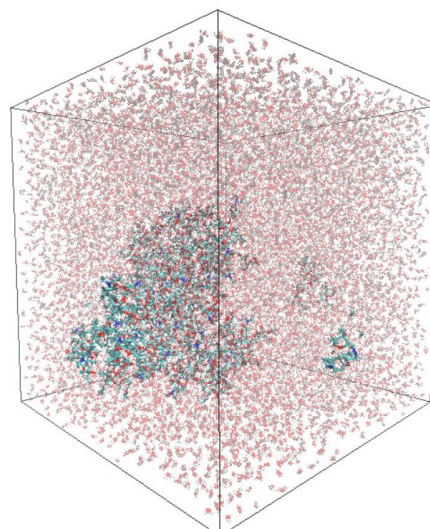


Figura 54. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 323K (50°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

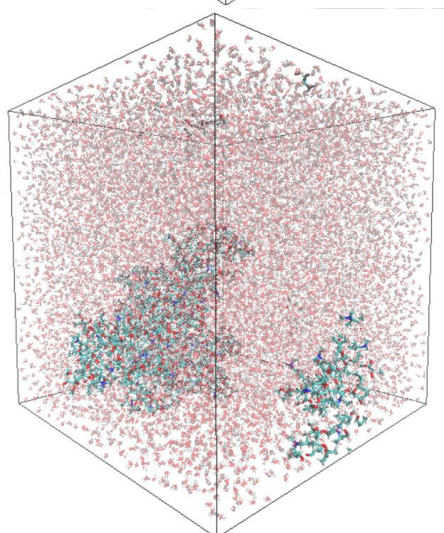
19A



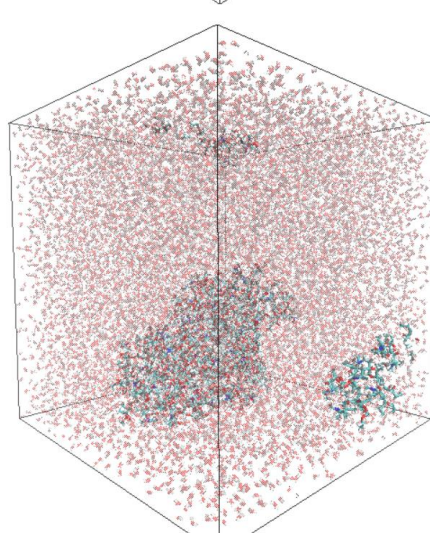
19B



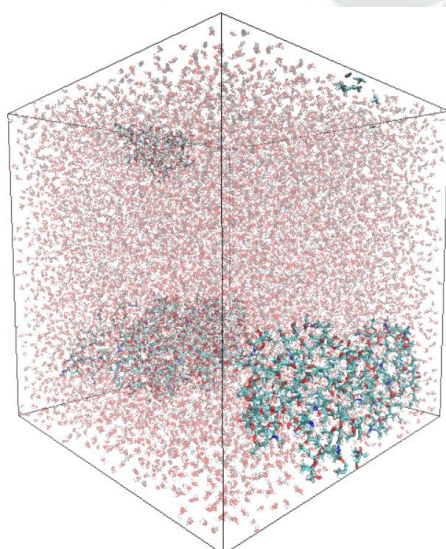
19C



19D



19E



19F

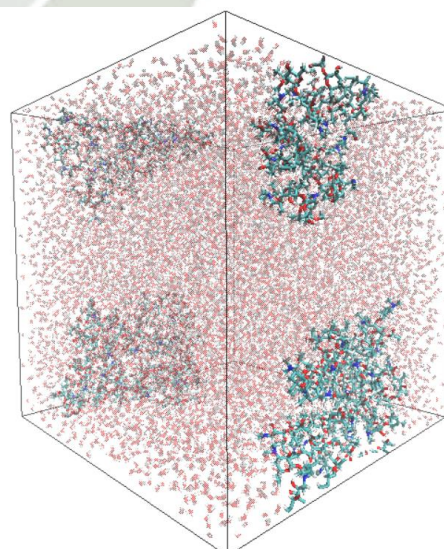
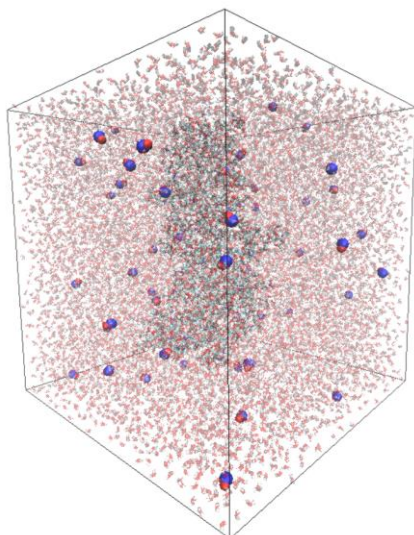
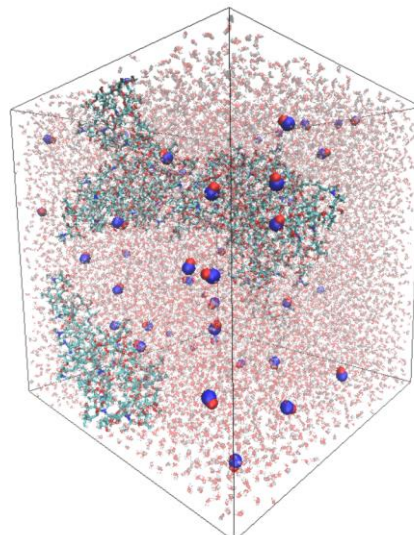


Figura 55. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-00H-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **19A.** 0ns, **19B.** 20ns, **19C.** 40ns, **19D.** 60ns, **19E.** 80ns y **19F.** 100ns.

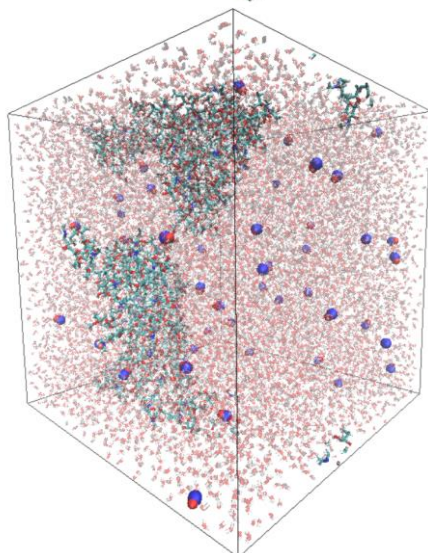
20A



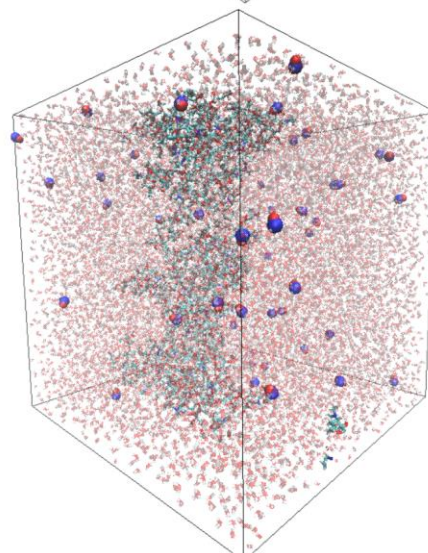
20B



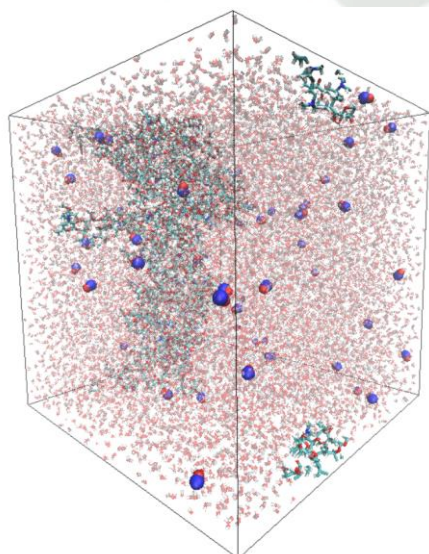
20C



20D



20E



20F

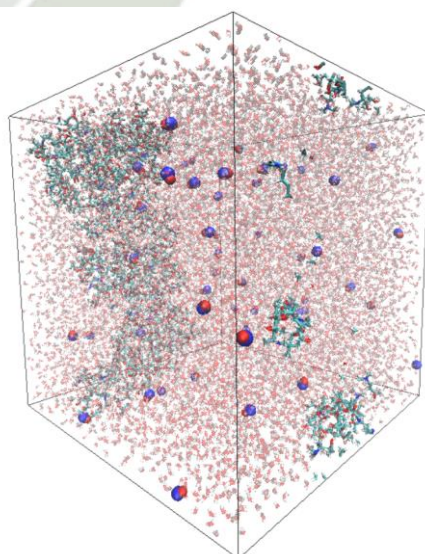


Figura 56. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **50ZIT-50OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **20A.** 0ns, **20B.** 20ns, **20C.** 40ns, **20D.** 60ns, **20E.** 80ns y **20F.** 100ns.

En la **Figura 57**, donde se puede observar los resultados de Dinámica Molecular del sistema conformado con 50 moléculas de Azitromicina **50ZIT + 0OH** debe señalarse que el comportamiento de las moléculas de interés es similar al primer grupo de 25 moléculas de ZIT, ya que es evidente que no hay una aglomeración entre ellas por ende la interacción de sus átomos se ve disminuida. Dentro de este orden de ideas es importante resaltar los datos obtenidos para el sistema que posee los radicales libre OH **50ZIT + 50OH**, observar **Figura 56**. en este caso si se observa una aglomeración de unas cuantas moléculas del contaminante, aunque no es un comportamiento notorio.

Dentro de este marco es importante señalar la relación que se obtuvo de los posteriores análisis, en primer lugar, tenemos los datos obtenidos del RMSF donde el primer sistema obtuvo 1.304 ± 0.17 nm, una fluctuación mínima, lo que indica una estabilidad en el sistema por caso contrario con el sistema **50ZIT + 50OH** donde se registró 2.316 ± 0.44 nm en la **Figura 57I** se llega a apreciar una fluctuación más notoria lo que determina la distancia promedio entre las estructuras.

Cabe mencionar, por otra parte, los datos obtenidos de RMSF donde se analizó las 50 moléculas presentes en la conformación de los sistemas, se sabe que este análisis mide la desviación promedio de las estructuras a lo largo del tiempo de trayectoria 100 ns desde una posición de referencia, teniendo en consideración este concepto el sistema **50ZIT + 50OH** presento más fluctuación con 0.917 ± 0.61 nm mientras que el sistema **50ZIT + 0OH** con 0.452 ± 0.18 nm.

Para el caso del análisis Rg y SASA en ambos el sistema con los radicales libre presentan valores superiores, para el Radio de Giro que proporciona información de la distribución de átomos para el sistema **50ZIT + 0OH** fue de 2.109 nm y para **50ZIT + 50OH** se obtuvo 2.625 nm en ambos casos las fluctuaciones fueron mínimas. Para el análisis del área de superficie accesible al solvente que se empleó en este estudio, las moléculas ZIT en el sistema **50ZIT + 50OH** presentaron mayor acceso con un resultado de 172.108 ± 12.39 nm² de igual forma para el sistema sin los radicales ya que no presentan mucha diferencia entre los valores obtenidos, el sistema antes mencionado presento un valor de 157.108 ± 10.91 nm². Podemos llegar a decir que en este grupo de análisis de 50 moléculas la estabilidad de los resultados a través de la trayectoria fue más notable, no presento mucha interacción de las moléculas para observar la mineralización del contaminante.

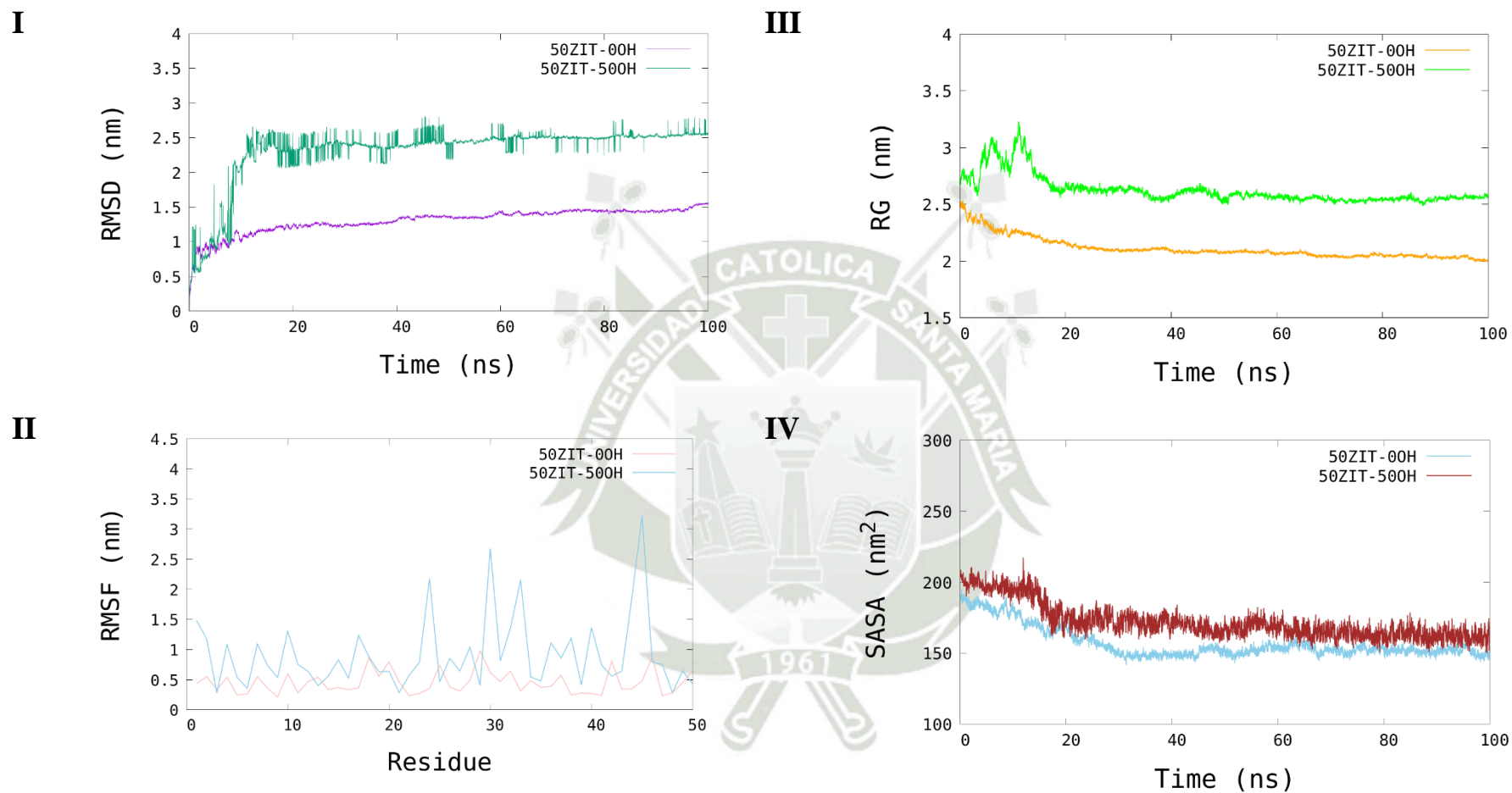
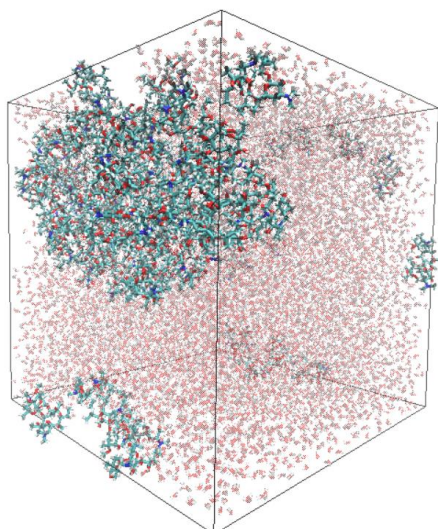
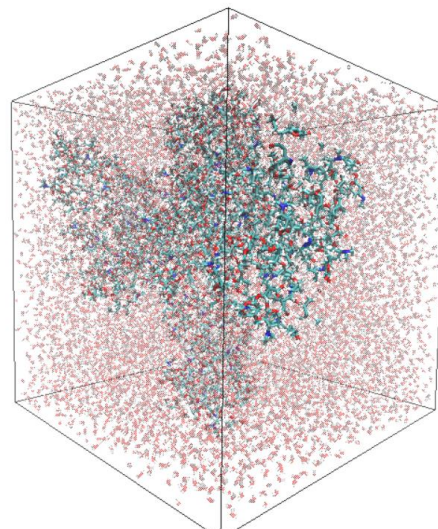


Figura 57. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 323K (50°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

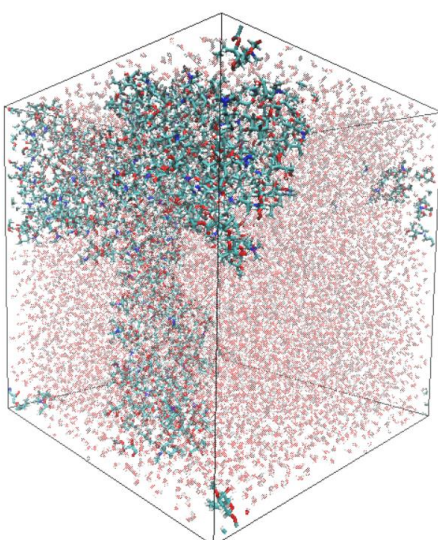
21A



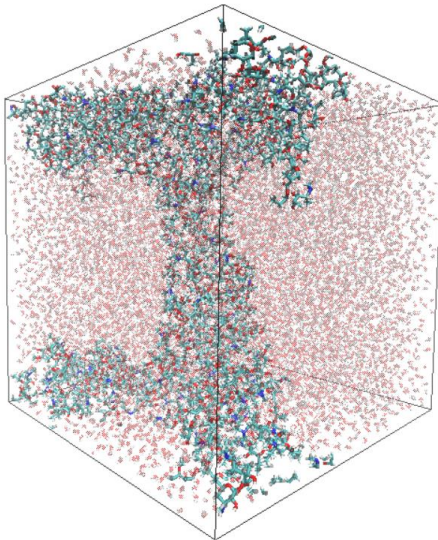
21B



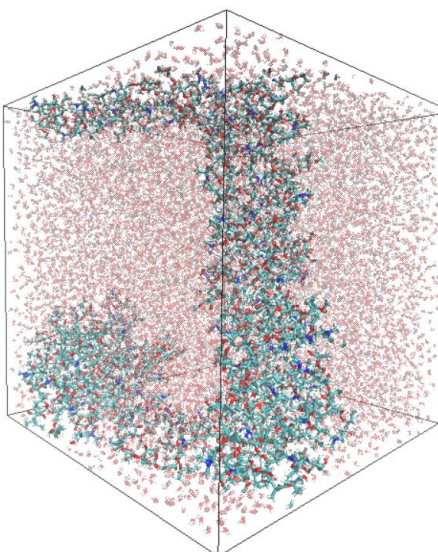
21C



21D



21E



21F

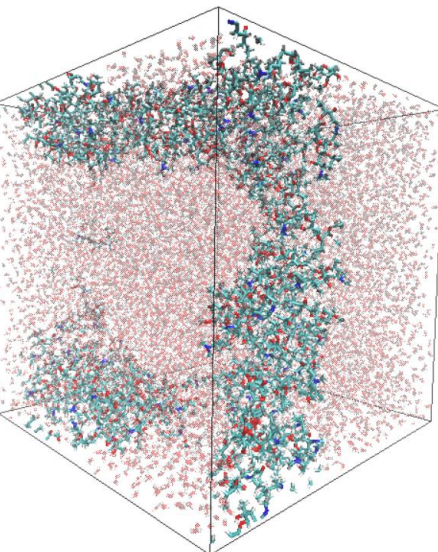
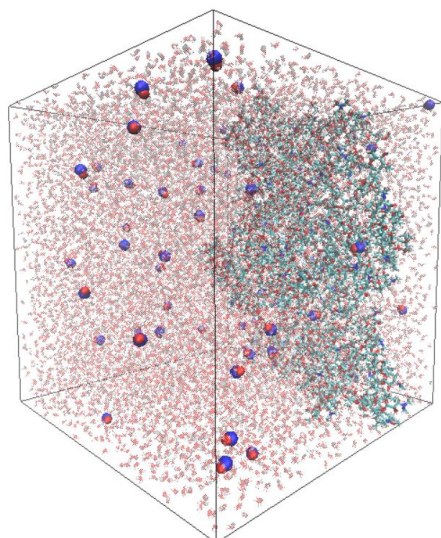
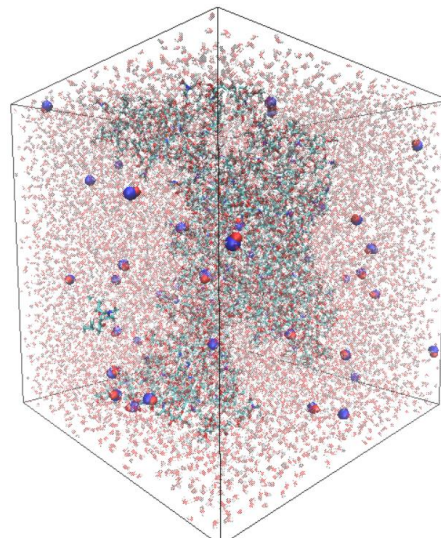


Figura 58. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-0OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **21A.** 0ns, **21B.** 20ns, **21C.** 40ns, **21D.** 60ns, **21E.** 80ns y **21F.** 100ns.

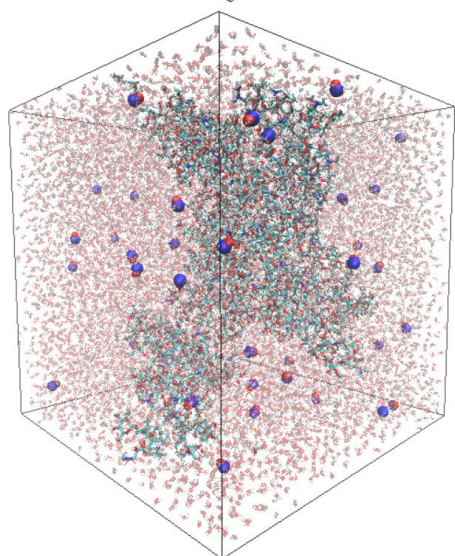
22A



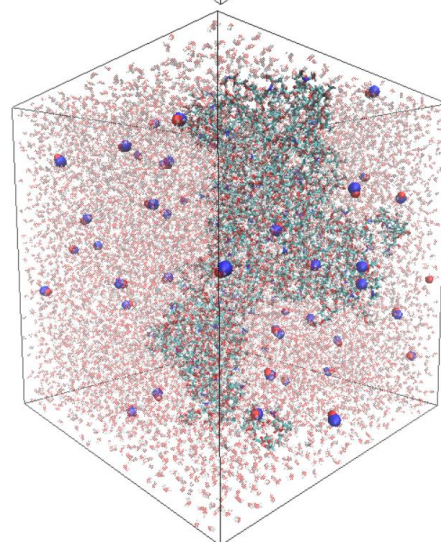
22B



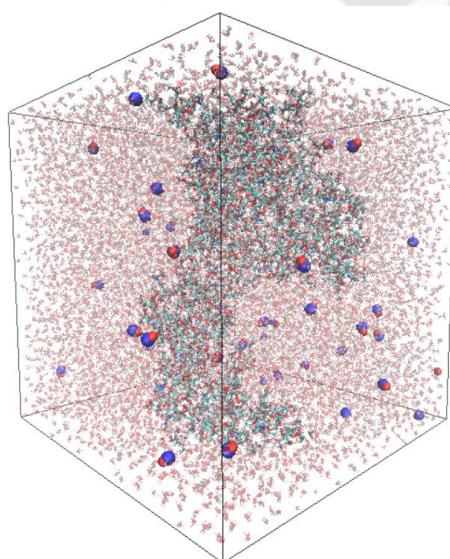
22C



22D



22E



22F

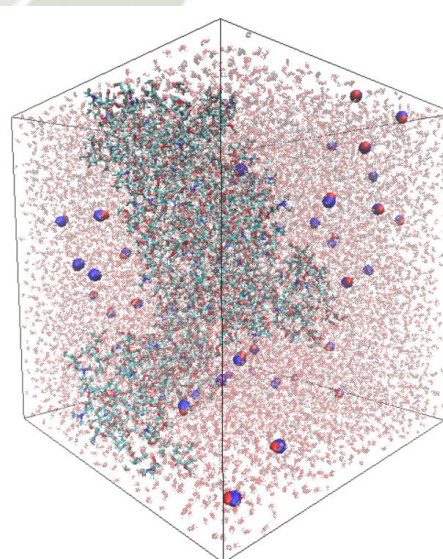


Figura 59. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **75ZIT-50OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **22A.** 0ns, **22B.** 20ns, **22C.** 40ns, **22D.** 60ns, **22E.** 80ns y **22F.** 100ns.

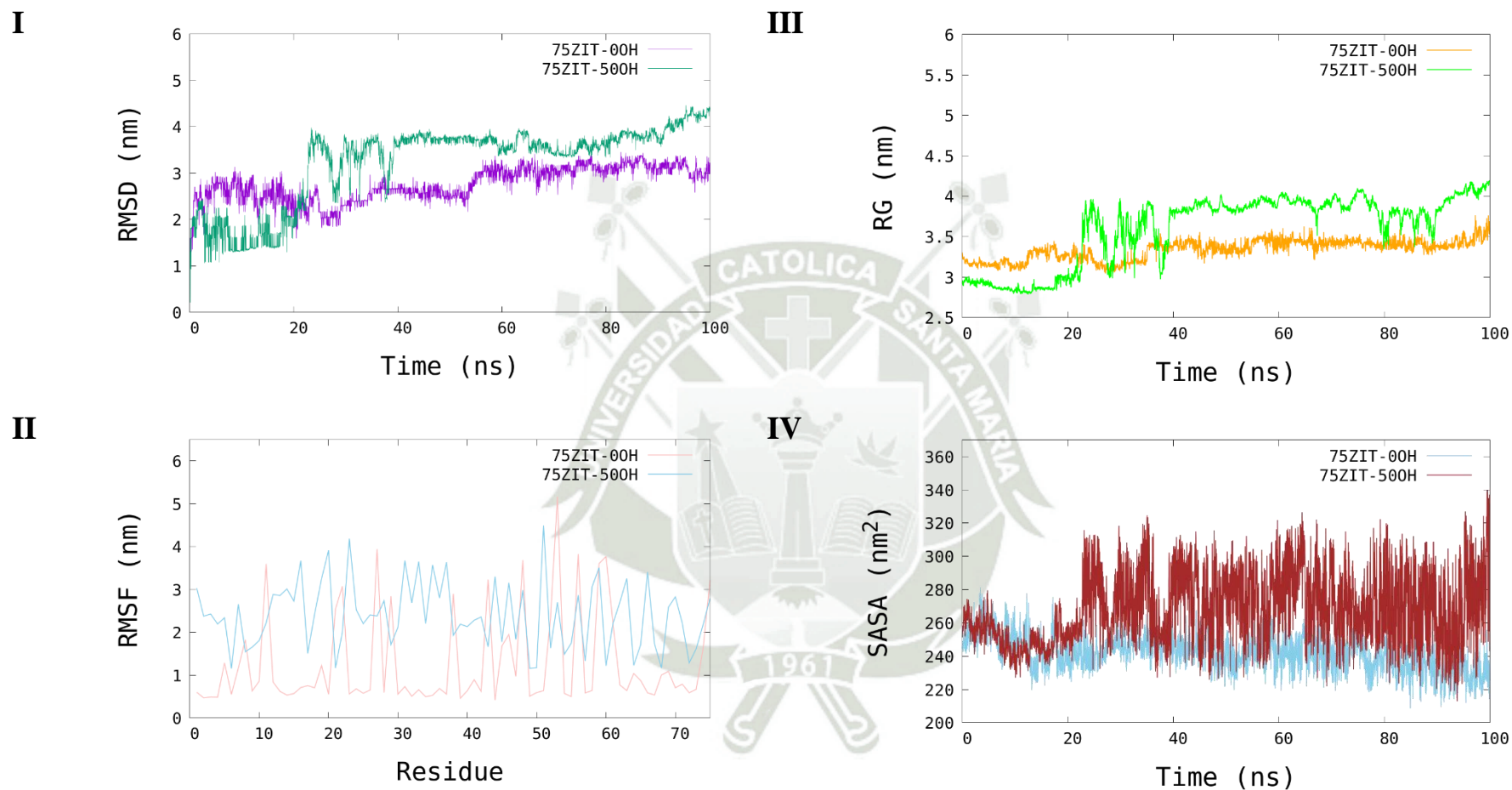
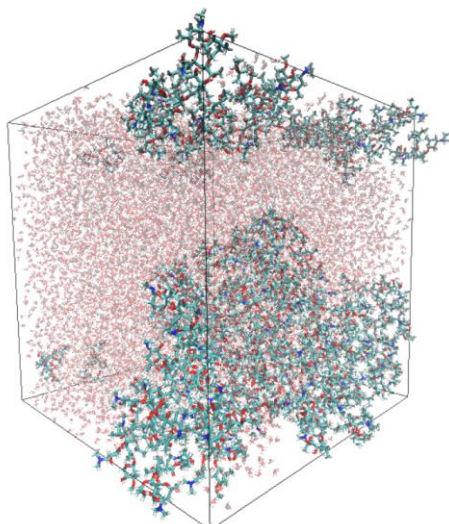
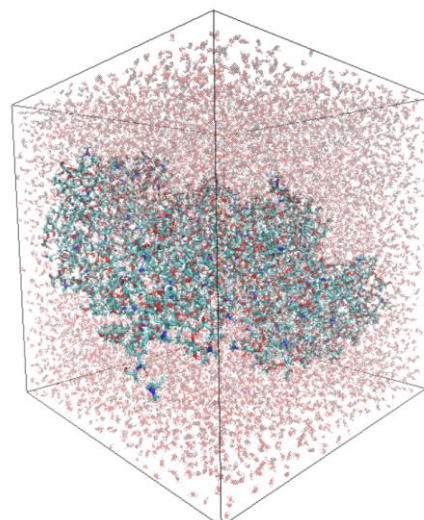


Figura 60. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 323K (50°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

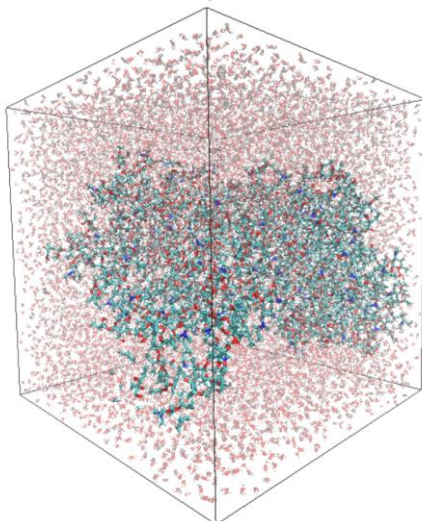
23A



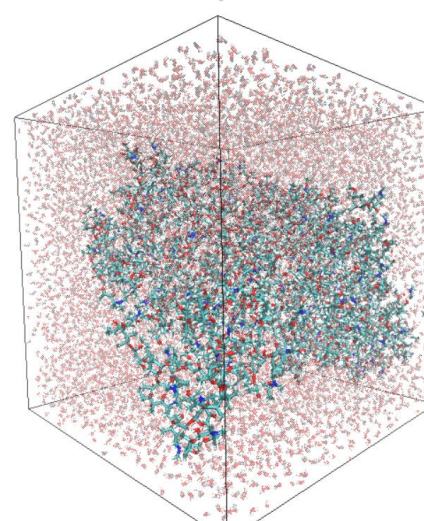
23B



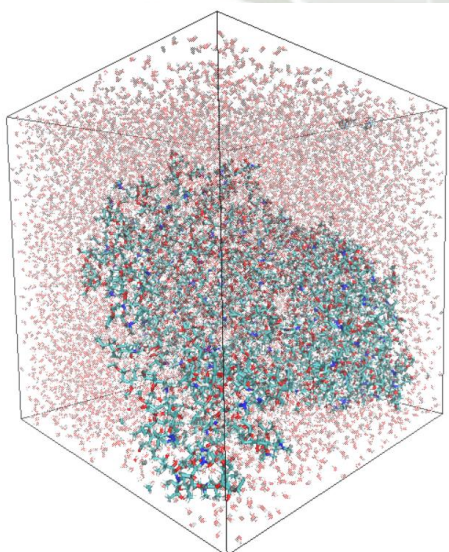
23C



23D



23E



23F

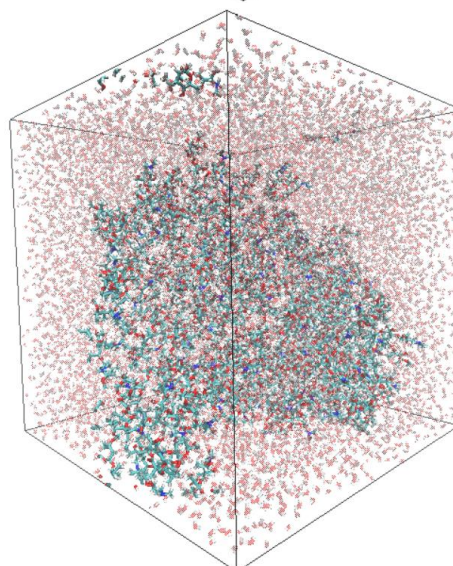
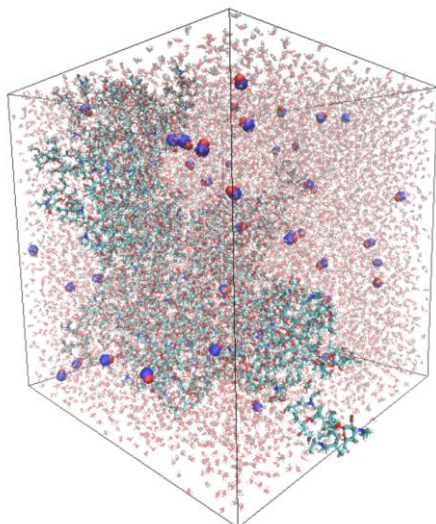
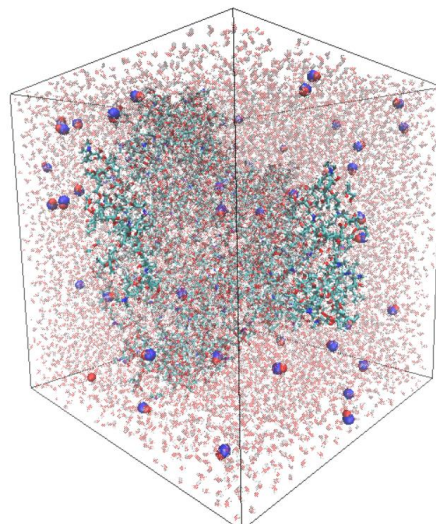


Figura 61. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-00H-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **23A.** 0ns, **23B.** 20ns, **23C.** 40ns, **23D.** 60ns, **23E.** 80ns y **23F.** 100ns.

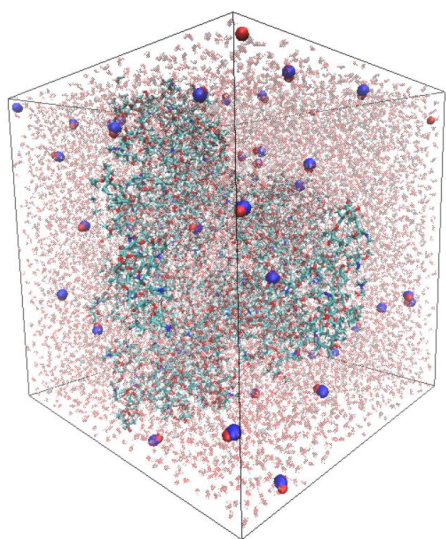
24A



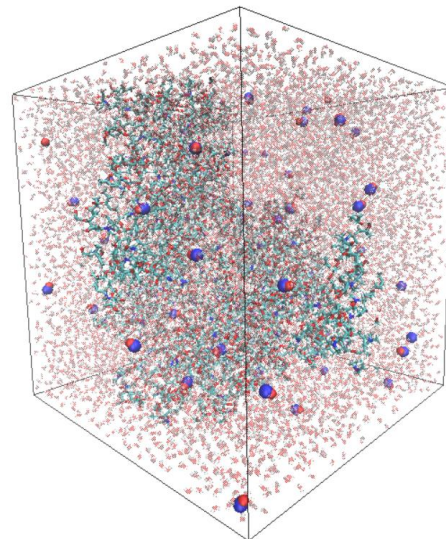
24B



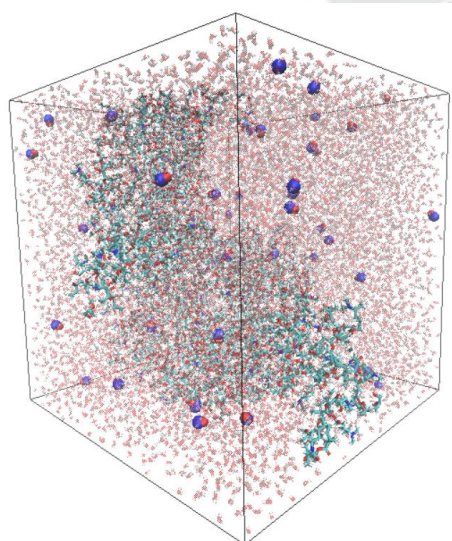
24C



24D



24E



24F

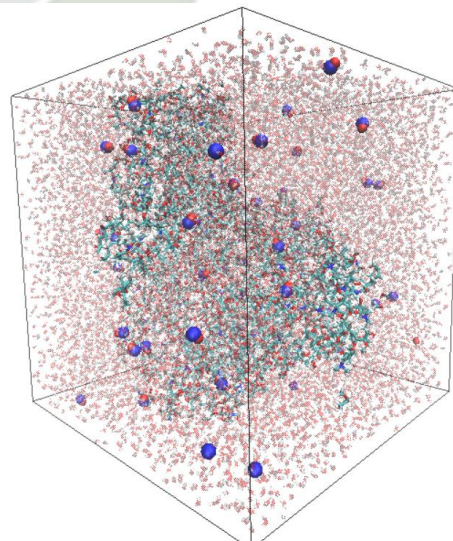


Figura 62. Visualización de la Simulación de Dinámica Molecular del sistema **100ZIT-50OH-50** en diferentes puntos de la trayectoria. **24A.** 0ns, **24B.** 20ns, **24C.** 40ns, **24D.** 60ns, **24E.** 80ns y **24F.** 100ns.

La simulación de dinámica molecular (MD) que permitió calcular las fuerzas de interacción que actúan sobre cada átomo de las estructuras de los sistemas de 75 así mismo de 100 moléculas de ZIT nos permitió conocer a través del análisis de RMSD la convergencia y la estabilidad de la simulación de 100 ns. Este cálculo se empleó como indicador de la precisión de los sistemas, es decir, que fue necesario para tener información del equilibrio y la presencia de cambios conformacionales que pudiese sufrir las moléculas. En todos los casos, observamos que el RMSD de los últimos residuos son más estables, en el caso de **75ZIT + 0OH** se obtuvo 2.756 ± 0.36 nm valor menor al compararlo al **75ZIT + 50OH** que presentó un valor de 3.230 ± 0.86 nm lo que nos indica que el primer sistema fue el que presentó más estabilidad. Debe señalarse que en el grupo de análisis de 100 moléculas presenta el mismo panorama siendo el sistema **100ZIT + 50OH** con el valor más alto 2.267 ± 0.15 mientras que **100ZIT + 0OH** contó con 1.664 ± 0.27 nm en ambos casos presentan un comportamiento más estable. RMSF cálculo de la flexibilidad de residuos individuales nos permitió conocer el comportamiento de 75 y 100 moléculas, en la **Figura 60II** se puede observar que el sistema con presencia de radicales presenta más fluctuación 2.402 ± 0.79 nm es decir que contribuyen más movimiento molecular durante el tiempo de trayectoria que su contraparte **75ZIT + 0OH** que presentó 1.269 ± 1.27 nm. El mismo caso se presenta en el sistema con 100 moléculas, la cual ambas presentaron resultados cercanos de 0.540 ± 0.70 nm y 0.693 ± 0.82 nm.

Al analizar la inercia rotacional por medio de los datos de Rg para el sistema **75ZIT + 0OH** se obtuvo un valor de 3.340 ± 0.12 nm y para **75ZIT + 50OH** 3.608 ± 0.42 nm, visto de esta forma el segundo sistema presentó mucha más aglomeración e interacción de las estructuras. Para el caso de **100ZIT + 0OH** y **100ZIT + 50OH** presentaron 2.958 ± 0.01 y 2.941 ± 0.02 respectivamente con fluctuaciones menores a 1 nm resultado de la presencia de un equilibrio de los componentes. Por su parte los resultados del análisis SASA generalmente se calcula involucrando rodamiento *in-silico* de una sonda esférica del solvente conociendo esto los resultados presentados en estos grupos son las siguientes, para **75ZIT + 0OH/ 50OH** fue de 242.155 ± 10.42 y 268.004 ± 21.57 nm, en este sentido se comprende que el segundo sistema presentó más interacción con las moléculas de agua, dentro de este orden de ideas para el sistema **100ZIT + 0OH** se obtuvo 271.513 ± 12.00 nm y su contraparte **100ZIT + 50OH** un valor de 307.112 ± 16.58 nm.

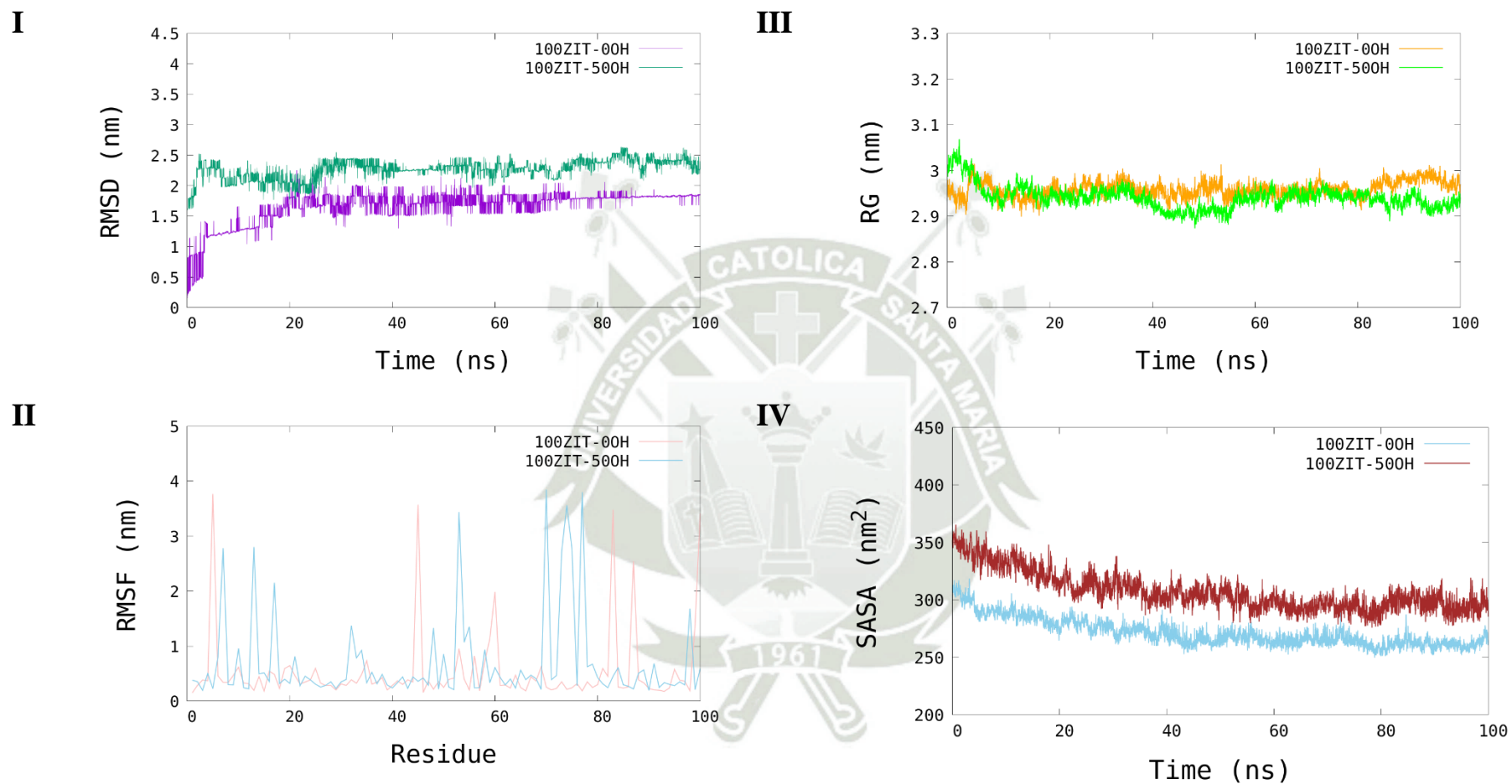


Figura 63. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua c/s 50 moléculas de OH a 323K (50°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente (SASA).

Tabla 12. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 323 K (50°C).

Sistemas	RMSD (nm)	RMSF (nm)	RG (nm)	SASA (nm ²)
25ZIT + 0OH	5.179±0.61	4.269±0.53	5.219±0.36	149.667±15.15
25ZIT + 50OH	3.562±0.84	3.058±0.40	3.403±1.10	119.922±20.74
50ZIT + 0OH	1.304±0.17	0.452±0.18	2.109±0.09	157.108±10.91
50ZIT + 50OH	2.316±0.44	0.917±0.61	2.625±0.12	172.108±12.39
75ZIT + 0OH	2.756±0.36	1.269±1.27	3.340±0.12	242.155±10.42
75ZIT + 50OH	3.230±0.86	2.402±0.79	3.608±0.42	268.004±21.57
100ZIT + 0OH	1.664±0.27	0.540±0.70	2.958±0.01	271.513±12.00
100ZIT + 50OH	2.267±0.15	0.693±0.82	2.941±0.02	307.112±16.58

3.3 Análisis de los parámetros termodinámicos obtenidos del comportamiento de la Azitromicina en los distintos sistemas.

Tabla 13. Resultados finales de RMSD, RMSF, RG y SASA generados a partir del análisis de los sistemas a diferentes temperaturas.

		SISTEMAS							
		25ZIT + 0OH	25ZIT + 50OH	50ZIT + 0OH	50ZIT + 50OH	75ZIT + 0OH	75ZIT + 50OH	100ZIT + 0OH	100ZIT + 50OH
293.15 K (20°C)	RMSD (nm)	4.938±0.60	4.336±0.49	4.722±0.48	3.615±0.39	1.681±0.37	2.384±0.50	3.005±0.29	2.273±0.32
	RMSF (nm)	4.119±0.80	3.597±0.55	3.548±0.71	1.970±0.91	0.656±0.74	1.179±1.04	0.976±0.87	0.810±1.12
	RG (nm)	4.901±0.58	4.165±0.46	4.667±0.36	3.713±0.08	2.606±0.08	3.206±0.09	3.780±0.07	2.939±0.05
	SASA (nm ²)	151.756±12.87	140.487±14.70	262.603±22.67	235.053±12.91	243.081±18.39	287.141±15.54	334.243±25.78	319.391±14.55
300 K (28°C)	RMSD (nm)	3.707±0.56	4.418±0.41	4.274±0.46	3.207±0.60	2.498±0.51	3.471±0.28	3.227±0.48	2.653±0.35
	RMSF (nm)	3.145±0.40	2.930±0.31	2.502±0.63	2.368±0.57	1.220±1.06	1.509±1.00	1.274±1.18	1.193±1.10
	RG (nm)	3.654±0.56	3.729±0.56	4.084±0.18	3.183±0.45	2.879±0.22	3.166±0.19	3.463±0.09	3.267±0.09

	SASA (nm²)	125.780±11.44	128.692±15.97	220.751±18.11	204.855±16.49	253.513±15.52	263.787±14.92	328.677±23.44	345.765±15.80
	RMSD (nm)	5.179±0.61	3.562±0.84	1.304±0.17	2.316±0.44	2.756±0.36	3.230±0.86	1.664±0.27	2.267±0.15
323 K (50 °C)	RMSF (nm)	4.269±0.53	3.058±0.40	0.452±0.18	0.917±0.61	1.269±1.27	2.402±0.79	0.540±0.70	0.693±0.82
	RG (nm)	5.219±0.36	3.403±1.10	2.109±0.09	2.625±0.12	3.340±0.12	3.608±0.42	2.958±0.01	2.941±0.02
	SASA (nm²)	149.667±15.15	119.922±20.74	157.108±10.91	172.108±12.39	242.155±10.42	268.004±21.57	271.513±12.00	307.112±16.58

En resumen, los resultados mostrados en la Tabla 13 nos indican los valores finales de las diferentes simulaciones. A una temperatura de 20 °C, el RMSD analizado para los sistemas **25ZIT+50OH**, **50ZIT+50OH** y **100ZIT+50OH** muestra una mejor estabilización estructural de estas moléculas a diferencia de los sistemas sin OH. Los resultados a la temperatura de 28 °C indican, por otro lado, que la concentración de **25ZIT+50OH** tiene un mayor RMSD a diferencia los diferentes sistemas con **50OH**, con esta información se puede interpretar que el sistema no está en equilibrio. A pesar de que se incrementa la cinética del medio a una temperatura de 50 °C, los sistemas se muestran en equilibrio con un RMSD menor a las temperaturas de 20 °C y 28 °C, a excepción del sistema **75ZIT+50OH** (Ver Figura 64).

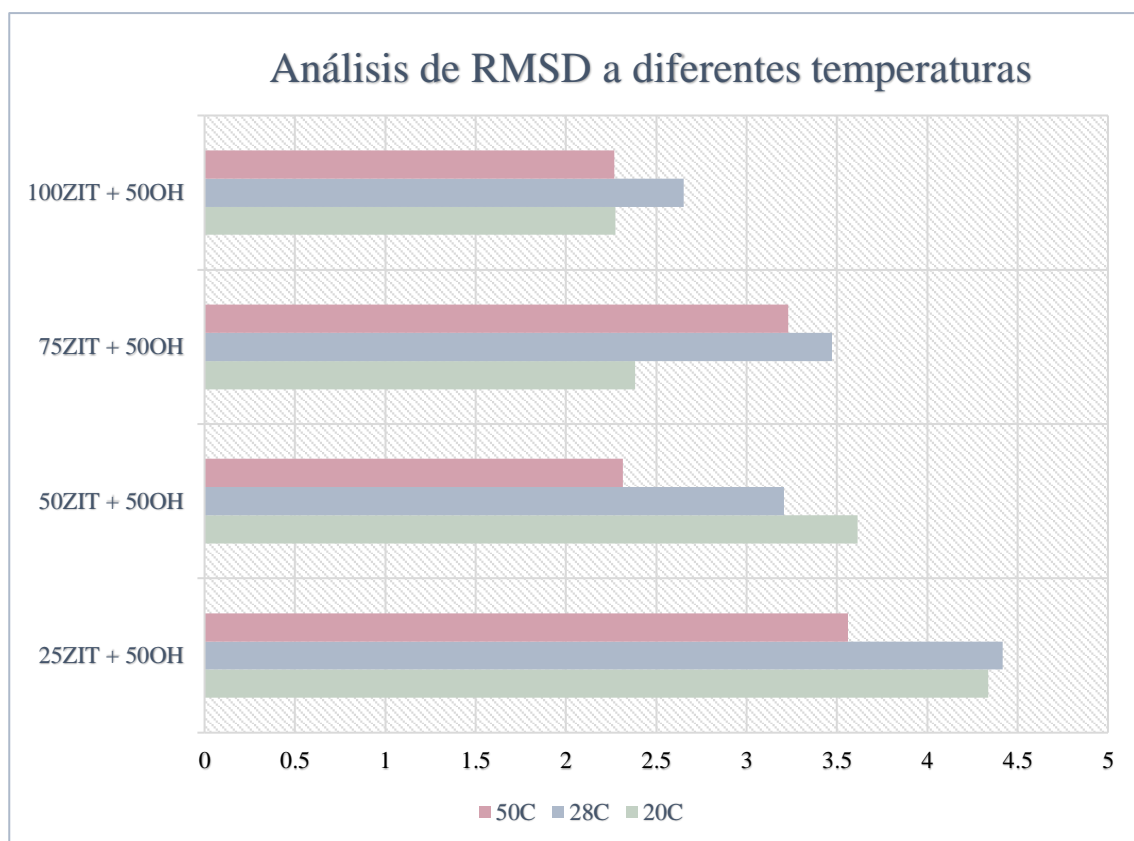


Figura 64. Resumen de los valores de RMSD para ZIT con los radicales OH.

La compactación de la azitromicina puede ser analizada teniendo en cuenta el radio de giro, lo que a su vez nos muestra la agregación de este compuesto. En nuestros sistemas pudimos observar que la mejor compactación se da cuando la concentración del sistema es **50ZIT+50OH** a una temperatura de 50 °C (Ver Figura 66). Esta mejor compactación estaría vinculada con una mayor agregación de ZIT, por lo tanto, este sistema evitaría el ingreso del agua a la superficie (valor de SASA menor) y el ingreso de los radicales para que logre interactuar con ZIT.

El mayor valor de RG obtenido se muestra en el sistema **25ZIT+50OH** a una temperatura de 20 °C (Ver Figura 66). La relación directa de los datos de RG (Figura 66) y SASA (Figura 67) del sistema **25ZIT+50OH** a las diferentes temperaturas, nos indica que a menor temperatura se muestra menor agregación y menor ingreso del agua a la superficie de ZIT a medida que la temperatura incrementa.

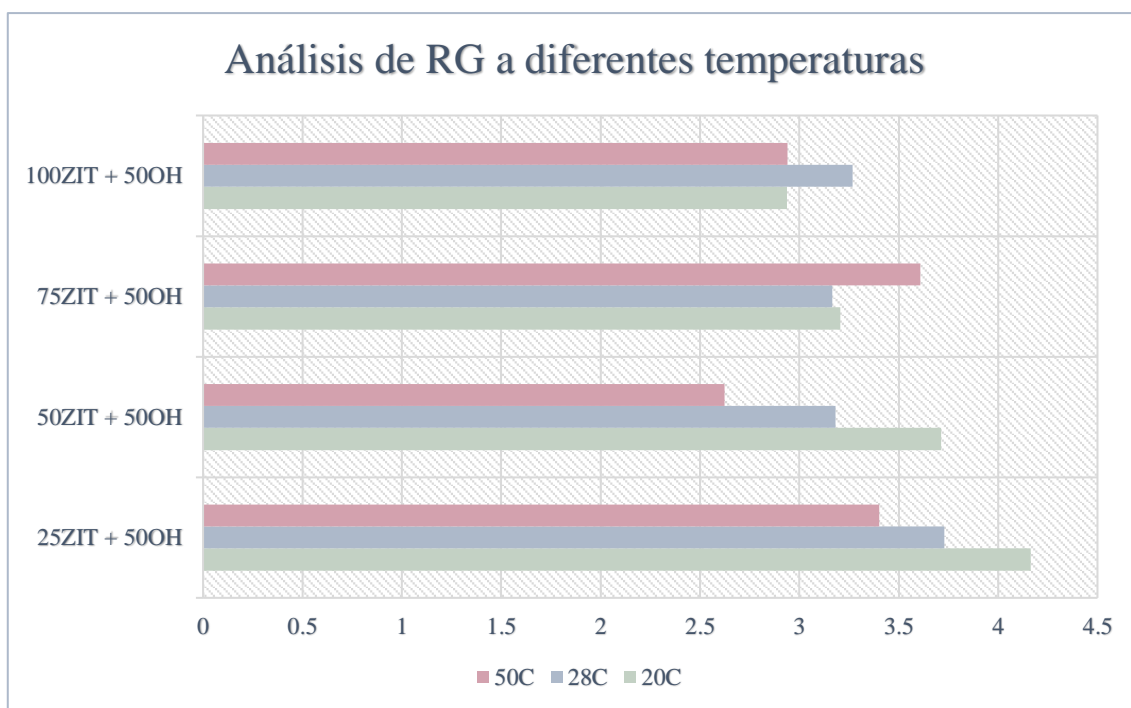


Figura 66. Resumen de los valores de RG para ZIT con los radicales OH.

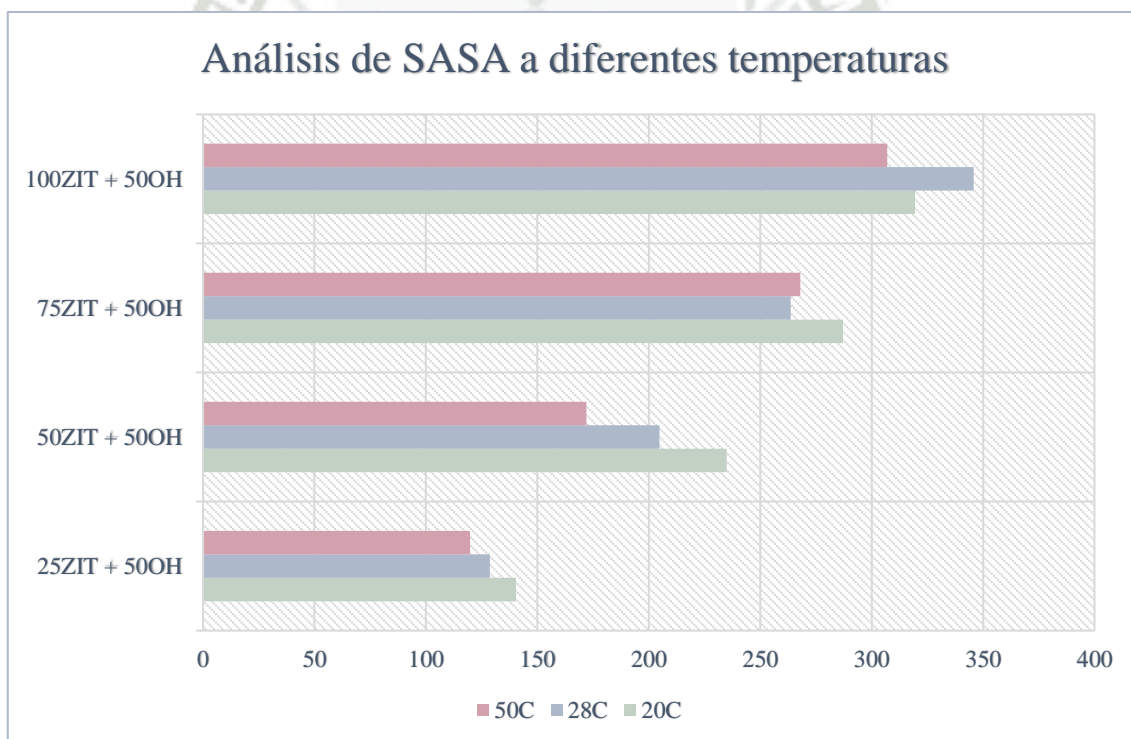


Figura 67. Resumen de los valores de SASA para ZIT con los radicales OH.

Finalmente, con estos resultados podemos ver que a una proporción de 1:2 (**25ZIT-50OH**) a 20 °C sería una alternativa interesante a tener en cuenta en los experimentos de procesos de oxidación avanzada.

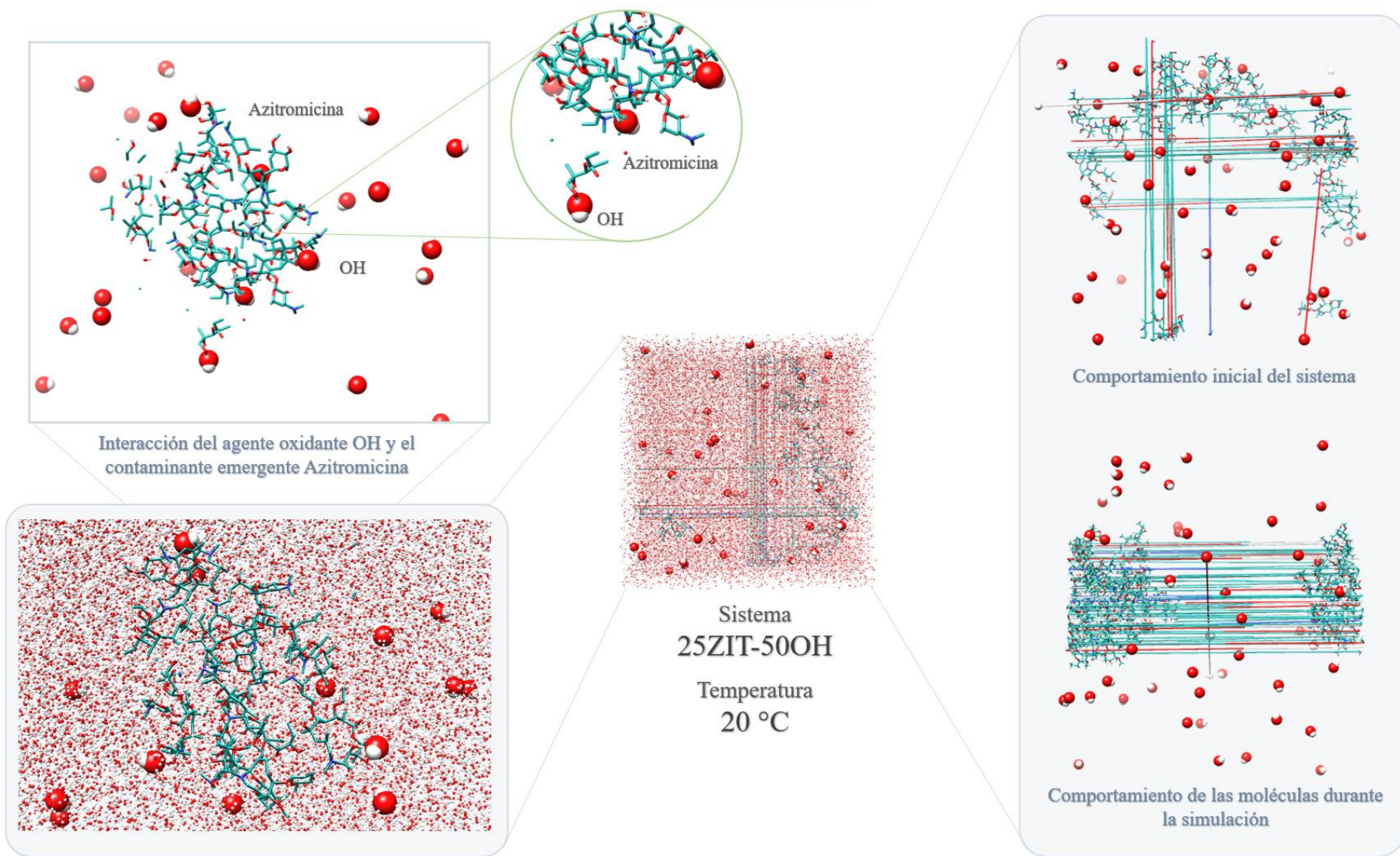


Figura 65. Representación gráfica del sistema **25ZIT-500H** a 20°C.

CONCLUSIONES

- Se logró parametrizar la información de la azitromicina mediante el campo de fuerza AMBER por medio del servidor en línea ACPYPE server, de ese modo se obtuvo la estructura molecular e información de la topología de los componentes como valores de masa y carga atómica, valores de equilibrio esencial en las longitudes y ángulos de enlace, detalles que son determinantes para el inicio de la simulación de dinámica molecular.
- Se estudió el comportamiento de las moléculas de azitromicina dentro de un sistema con un solvente determinado similar a las condiciones reales de tratamiento para lograr acercarnos lo más posible a la realidad, de esa manera evitar alteraciones en los resultados. La variación de temperaturas logro dar resultados sugerentes respecto a la cinética de masas de los reactivos empleados, ya que consideramos a la temperatura un parámetro limitante en POAE. Analizar estos datos a 20 °C, 28 °C y 50 °C nos llevó a evaluar el comportamiento del sistema influenciado a estas condiciones, a temperatura más alta se corre el riesgo de una descomposición térmica de moléculas de agua y de oxígeno en especial, además de la formación de especies menos reactivas, pero a una temperatura de 28°C y 20°C muy bien la influencia puede ser baja así como mejorar la transferencia de masas y las constantes cinéticas, ya que la oxidación de moléculas como la azitromicina dependen de ciertas temperaturas. En los resultados, la temperatura de 20 °C demostró favorecer la cinética de degradación y fomentar la interacción de las moléculas entre sí.
- Se analizó los parámetros termodinámicos del comportamiento de la azitromicina frente a diferentes condiciones, ya sea de la variación de concentración, temperatura y la presencia de un potente radical oxidante. Se logró obtener datos computacionales del desplazamiento o desviación de la posición de moléculas y átomos respecto a la posición original, la estabilidad relativa estructural de las moléculas de azitromicina así como la flexibilidad durante la trayectoria y la distribución de masas de los elementos de los sistemas planteados en el estudio, lo que nos posibilito comparar los resultados para determinar qué sistema fue más influenciado por las condiciones planteadas inicialmente y evaluar la mejor opción de tratamiento.

- Se analizó el comportamiento del macrólido considerado contaminante emergente frente al radical hidroxilo que forma parte tratamiento por medio de tratamientos electroquímicos por oxidación avanzada, en la cual los resultados de los distintos análisis demostraron la influencia de su presencia en el medio, lo cual produjo la aglomeración de las moléculas de azitromicina es decir fomento el desplazamiento de las moléculas por la generación electroquímica al interactuar entre sí, base fundamental para lograr deshacer los compuestos orgánicos hasta llegar a su mineralización.
- Al analizar el efecto del solvente en presencia o ausencia de radicales libres que interaccionen con la azitromicina por métodos bioinformáticos, se ha observado que el contaminante emergente es susceptible a la degradación independientemente del tipo de solvente utilizado. Los datos obtenidos indican que la elección y el efecto del solvente no tiene un impacto significativo en el resultado final del proceso de degradación. Esto nos muestra la capacidad de poder aportar nuevas técnicas de análisis en la prevención y remediación de la contaminación ambiental centrándose especialmente en los cuerpos de agua. Buscar un método de eliminación de contaminantes orgánicos acuosos permitió que por medio de este trabajo de investigación conocer en detalle la capacidad del radical hidroxilo en degradar compuestos recalcitrantes por su alta reactividad a pesar de su corta vida útil, un beneficio al eliminarse por sí solo del sistema de tratamiento de estudio. Teniendo en cuenta lo anterior, la investigación dio a conocer que en este caso en específico en donde nuestro contaminante emergente de interés fue un macrólido altamente utilizado los últimos años por la pandemia COVID-19 un sistema de tratamiento con parámetros de temperatura de 20 °C (293.15 K), donde la temperatura juega un papel determinante en la cinética de degradación favoreciendo la transferencia de masa así como perjudicarla a ciertas temperaturas debido a la degradación de los reactivos, además de abordar una proporción de 1:2 de 25 moléculas de azitromicina y 50 de radicales hidroxilos nos permite tener datos relevantes en el mecanismo de aglomeración para la eliminación y mineralización de este contaminante por medio de POAE apto para tener una tasa alta de degradación, remoción efectiva con un bajo consumo de energía en laboratorio.

RECOMENDACIONES

La contaminación del agua por antibióticos es un tema preocupante al finalizar la pandemia de COVID-19, por el aumento en el consumo de medicamentos durante la pandemia puede dar lugar a un aumento en la presencia de residuos farmacéuticos en las aguas residuales. La presencia de antibióticos en el agua puede generar problemas como la resistencia bacteriana y el desequilibrio en los ecosistemas acuáticos. Es esencial promover prácticas de uso responsable de antibióticos y establecer sistemas adecuados de gestión de medicamentos para evitar la contaminación del agua. Estas estrategias computacionales nos ayudaron a predecir o determinar las condiciones experimentales óptimas para la correcta formulación de los sistemas en donde las sustancias de interés interactúan y facilitan datos previos para poder hacer ensayos en laboratorio, información relevante para estos procesos electroquímicos de oxidación avanzada. Con ayuda de estas herramientas bioinformáticas se puede alcanzar mejores resultados en corto tiempo de análisis y reducir gastos de materiales, además de ello examinar de manera más detallada datos moleculares con acceso rápido y una visualización pormenorizada. Empleando este estudio previo, se espera optimizar proceso de tratamientos a escala en reactores o en plantas más complejas que conlleva estructuras especializadas en estas nuevas tecnologías con aplicabilidad a escala industrial, y poder reducir las limitaciones del proceso por la falta de información base.

De lo analizado en la presente tesis, surgen algunas sugerencias para tener en cuenta en posteriores estudios.

- Se sugiere que dentro de futuros trabajos de investigación se realice simulaciones de dinámica molecular con diferentes radicales que nos permitan conocer y evaluar los cambios que podrían tener estos contaminantes emergentes durante su interacción.
- Se considera conveniente promover futuras investigaciones dentro de este campo de la bioinformática como herramienta para la remediación con otro tipo de contaminantes emergentes de gran interés con el fin de hallar estrategias de tratamiento de cuerpos de agua contaminadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anh HQ, Le TPQ, Da Le N, Lu XX, Duong TT, Garnier J, et al. Antibiotics in surface water of East and Southeast Asian countries: A focused review on contamination status, pollution sources, potential risks, and future perspectives. *Sci Total Environ.* 2021;764.
2. Rodriguez-Mozaz S, Vaz-Moreira I, Varela Della Giustina S, Llorca M, Barceló D, Schubert S, et al. Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environ Int* [Internet]. 2020;140(March):105733. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105733>
3. Hernández F, Ibáñez M, Botero-Coy AM, Bade R, Bustos-López MC, Rincón J, et al. LC-QTOF MS screening of more than 1,000 licit and illicit drugs and their metabolites in wastewater and surface waters from the area of Bogotá, Colombia. *Anal Bioanal Chem.* 2015;407(21):6405–16.
4. dos Santos AJ, Kronka MS, Fortunato G V., Lanza MRV. Recent advances in electrochemical water technologies for the treatment of antibiotics: A short review. *Curr Opin Electrochem* [Internet]. 2021;26:100674. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.100674>
5. Amor C, March L, Lucas MS, Peres JA. Application of Advanced Oxidation Processes for the Treatment of Recalcitrant Agro-Industrial Wastewater : A Review. *Water Res.* 2019;
6. Gautret P, Lagier JC, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2020;56(1):105949. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105949>
7. Nonaka M, Pawankar R, Yagi S. Effects of macrolide antibiotics on fibroblasts. *Jpn J Antibiot.* 1997;50 Suppl A:145–7.
8. Richardson SD, Ternes TA. Water analysis: Emerging contaminants and current issues. *Anal Chem.* 2014;86(6):2813–48.
9. Gogoi A, Mazumder P, Tyagi VK, Tushara Chaminda GG, An AK, Kumar M. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundw Sustain Dev* [Internet]. 2018;6(December 2017):169–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>
10. Rasheed T, Bilal M, Nabeel F, Adeel M, Iqbal HMN. Environmentally-related contaminants of high concern: Potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. *Environ Int.* 2019;122(September 2018):52–66.
11. Jiang JQ, Zhou Z, Sharma VK. Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water - A review from global views. *Microchem J* [Internet]. 2013;110:292–300. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.04.014>
12. Verlicchi P, Al Aukidy M, Zambello E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary

- treatment-A review. *Sci Total Environ* [Internet]. 2012;429:123–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>
13. Tran NH, Chen H, Reinhard M, Mao F, Gin KYH. Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes. *Water Res* [Internet]. 2016;104:461–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.040>
 14. Bilal M, Adeel M, Rasheed T, Zhao Y, Iqbal HMN. Emerging contaminants of high concern and their enzyme-assisted biodegradation – A review. *Environ Int*. 2019;124(January):336–53.
 15. Wang Y, Liu Y, Lu S, Liu X, Meng Y, Zhang G, et al. Occurrence and ecological risk of pharmaceutical and personal care products in surface water of the Dongting Lake, China-during rainstorm period. *Environ Sci Pollut Res*. 2019;26(28):28796–807.
 16. Gago-Ferrero P, Díaz-Cruz MS, Barceló D. Occurrence of multiclass UV filters in treated sewage sludge from wastewater treatment plants. *Chemosphere* [Internet]. 2011;84(8):1158–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.003>
 17. Geissen V, Mol H, Klumpp E, Umlauf G, Nadal M, van der Ploeg M, et al. Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. *Int Soil Water Conserv Res* [Internet]. 2015;3(1):57–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.03.002>
 18. Vasilachi IC, Asiminicesei DM, Fertu DI, Gavrilescu M. Occurrence and fate of emerging pollutants in water environment and options for their removal. *Water (Switzerland)*. 2021;13(2):1–34.
 19. Kostich MS, Batt AL, Lazorchak JM. Concentrations of prioritized pharmaceuticals in effluents from 50 large wastewater treatment plants in the US and implications for risk estimation. *Environ Pollut* [Internet]. 2014;184:354–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2013.09.013>
 20. Boxall ABA, Rudd MA, Brooks BW, Caldwell DJ, Choi K, Hickmann S, et al. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? *Environ Health Perspect*. 2012;120(9):1221–9.
 21. Cleuvers M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol Lett*. 2003;142(3):185–94.
 22. Richardson SD, Kimura SY. Water analysis: Emerging contaminants and current issues. *Anal Chem*. 2020;92(1):473–505.
 23. OECD. *Pharmaceutical Residues in Freshwater* [Internet]. OECD Studies on Water. OECD; 2019. 136 p. (OECD Studies on Water). Available from: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/pharmaceutical-residues-in-freshwater_c936f42d-en
 24. *World Urbanization Prospects - Population Division - United Nations* [Internet]. [cited 2022 Jul 18]. Available from: <https://population.un.org/wup/>
 25. Zhang QQ, Ying GG, Pan CG, Liu YS, Zhao JL. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance. *Environ Sci Technol*. 2015;49(11):6772–82.

26. Lyu J, Yang L, Zhang L, Ye B, Wang L. Antibiotics in soil and water in China—a systematic review and source analysis. *Environ Pollut* [Internet]. 2020;266:115147. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115147>
27. Sim WJ, Lee JW, Lee ES, Shin SK, Hwang SR, Oh JE. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. *Chemosphere* [Internet]. 2011;82(2):179–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.026>
28. Jang HM, Kim YB, Choi S, Lee Y, Shin SG, Unno T, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes from effluent of coastal aquaculture, South Korea. *Environ Pollut* [Internet]. 2018;233:1049–57. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.006>
29. Kim B, Ji K, Kim C, Kang H, Lee S, Kwon B, et al. Pharmaceutical residues in streams near concentrated animal feeding operations of Korea – Occurrences and associated ecological risks. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;655:408–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.233>
30. Kim BN, Kim H Bin, Oh MD. Antibiotic control policies in South Korea, 2000-2013. *Infect Chemother*. 2016;48(3):151–9.
31. Carrique-Mas JJ, Choisy M, Van Cuong N, Thwaites G, Baker S. An estimation of total antimicrobial usage in humans and animals in Vietnam. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2020;9(1):1–6.
32. Thai PK, Ky LX, Binh VN, Nhung PH, Nhan PT, Hieu NQ, et al. Occurrence of antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria in effluents of pharmaceutical manufacturers and other sources around Hanoi, Vietnam. *Sci Total Environ* [Internet]. 2018;645:393–400. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.126>
33. Lin AYC, Yu TH, Lin CF. Pharmaceutical contamination in residential, industrial, and agricultural waste streams: Risk to aqueous environments in Taiwan. *Chemosphere* [Internet]. 2008;74(1):131–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.08.027>
34. He K, Borthwick AG, Lin Y, Li Y, Fu J, Wong Y, et al. Sale-based estimation of pharmaceutical concentrations and associated environmental risk in the Japanese wastewater system. *Environ Int* [Internet]. 2020;139(March):105690. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105690>
35. Hossain A, Nakamichi S, Habibullah-Al-Mamun M, Tani K, Masunaga S, Matsuda H. Occurrence and ecological risk of pharmaceuticals in river surface water of Bangladesh. *Environ Res* [Internet]. 2018;165(April):258–66. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.04.030>
36. Duong HA, Pham NH, Nguyen HT, Hoang TT, Pham HV, Pham VC, et al. Occurrence, fate and antibiotic resistance of fluoroquinolone antibacterials in hospital wastewaters in Hanoi, Vietnam. *Chemosphere*. 2008;72(6):968–73.
37. Kim J-P, Jin DR, Lee W, Minhee Chae and Junwon Park. *Livestock Wastewater Treatment Plants*, South Korea. 2020;
38. Shimizu A, Takada H, Koike T, Takeshita A, Saha M, Rinawati, et al. Ubiquitous occurrence of sulfonamides in tropical Asian waters. *Sci Total Environ* [Internet].

- 2013;452–453:108–15. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.027>
39. European Surveillance of Antimicrobial Consumption Network (ESAC-Net) [Internet]. [cited 2022 Jul 19]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/esac-net>
 40. Felis E, Kalka J, Sochacki A, Kowalska K, Bajkacz S, Harnisz M, et al. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment - occurrence and environmental implications. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2020;866(August):172813. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172813>
 41. Michael I, Rizzo L, McArdell CS, Manaia CM, Merlin C, Schwartz T, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. *Water Res* [Internet]. 2013;47(3):957–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.11.027>
 42. Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere* [Internet]. 2009;75(4):417–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
 43. Barbosa MO, Moreira NFF, Ribeiro AR, Pereira MFR, Silva AMT. Occurrence and removal of organic micropollutants: An overview of the watch list of EU Decision 2015/495. *Water Res* [Internet]. 2016;94:257–79. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.047>
 44. Vymazal J, Březinová T. The use of constructed wetlands for removal of pesticides from agricultural runoff and drainage: A review. *Environ Int*. 2015;75:11–20.
 45. Ngubane NP, Naicker D, Ncube S, Chimuka L, Madikizela LM. Determination of naproxen, diclofenac and ibuprofen in Umgeni estuary and seawater: A case of northern Durban in KwaZulu–Natal Province of South Africa. *Reg Stud Mar Sci* [Internet]. 2019;29:100675. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100675>
 46. Petrik L, Green L, Abegunde AP, Zackon M, Sanusi CY, Barnes J. Desalination and seawater quality at Green Point, Cape Town: A study on the effects of marine sewage outfalls. *S Afr J Sci*. 2017;113(11–12):1–10.
 47. Matongo S, Birungi G, Moodley B, Ndungu P. Pharmaceutical residues in water and sediment of Msunduzi River, KwaZulu-Natal, South Africa. *Chemosphere* [Internet]. 2015;134:133–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.093>
 48. K'oreje KO, Demeestere K, De Wispelaere P, Vergeynst L, Dewulf J, Van Langenhove H. From multi-residue screening to target analysis of pharmaceuticals in water: Development of a new approach based on magnetic sector mass spectrometry and application in the Nairobi River basin, Kenya. *Sci Total Environ* [Internet]. 2012;437:153–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.07.052>
 49. Waleng NJ, Nomngongo PN. Occurrence of pharmaceuticals in the environmental waters: African and Asian perspectives. *Environ Chem Ecotoxicol* [Internet]. 2022;4:50–66. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2021.11.002>
 50. Ebele AJ, Oluseyi T, Drage DS, Harrad S, Abou-Elwafa Abdallah M. Occurrence,

- seasonal variation and human exposure to pharmaceuticals and personal care products in surface water, groundwater and drinking water in Lagos State, Nigeria. *Emerg Contam* [Internet]. 2020;6:124–32. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2020.02.004>
51. Reichert G, Hilgert S, Fuchs S, Azevedo JCR. Emerging contaminants and antibiotic resistance in the different environmental matrices of Latin America. *Environ Pollut*. 2019;255.
 52. Félix-Cañedo TE, Durán-Álvarez JC, Jiménez-Cisneros B. The occurrence and distribution of a group of organic micropollutants in Mexico City's water sources. *Sci Total Environ* [Internet]. 2013;454–455:109–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.088>
 53. Bedoya-Ríos DF, Lara-Borrero JA, Duque-Pardo V, Madera-Parra CA, Jimenez EM, Toro AF. Study of the occurrence and ecosystem danger of selected endocrine disruptors in the urban water cycle of the city of Bogotá, Colombia. *J Environ Sci Heal - Part A Toxic/Hazardous Subst Environ Eng* [Internet]. 2018;53(4):317–25. Available from: <https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1401372>
 54. Campestrini I, Jardim WF. Occurrence of cocaine and benzoylecgonine in drinking and source water in the São Paulo State region, Brazil. *Sci Total Environ* [Internet]. 2017;576:374–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.089>
 55. Montagner CC, Sodr e FF, Acayaba RD, Vidal C, Campestrini I, Locatelli MA, et al. Ten years-snapshot of the occurrence of emerging contaminants in drinking, surface and ground waters and wastewaters from São Paulo State, Brazil. *J Braz Chem Soc*. 2019;30(3):614–32.
 56. de Sousa DNR, Mozeto AA, Carneiro RL, Fadini PS. Electrical conductivity and emerging contaminant as markers of surface freshwater contamination by wastewater. *Sci Total Environ* [Internet]. 2014;484(1):19–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.135>
 57. Moreira M, Aquino S, Coutrim M, Silva J, Afonso R. Determination of endocrine-disrupting compounds in waters from Rio das Velhas, Brazil, by liquid chromatography/high resolution mass spectrometry (ESI-LC-IT-TOF/MS). *Environ Technol*. 2011;32(12):1409–17.
 58. Rozas O, Vidal C, Baeza C, Jardim WF, Rossner A, Mansilla HD. Organic micropollutants (OMPs) in natural waters: Oxidation by UV/H₂O₂ treatment and toxicity assessment. *Water Res* [Internet]. 2016;98:109–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.069>
 59. Valdés ME, Santos LHMLM, Rodríguez Castro MC, Giorgi A, Barceló D, Rodríguez-Mozaz S, et al. Distribution of antibiotics in water, sediments and biofilm in an urban river (Córdoba, Argentina, LA). *Environ Pollut* [Internet]. 2021;269:116133. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116133>
 60. Nieto-Juárez JI, Torres-Palma RA, Botero-Coy AM, Hernández F. Pharmaceuticals and environmental risk assessment in municipal wastewater treatment plants and rivers from Peru. *Environ Int*. 2021;155(June).
 61. Singh R, Singh AP, Kumar S, Giri BS, Kim KH. Antibiotic resistance in major rivers in the world: A systematic review on occurrence, emergence, and management

- strategies. *J Clean Prod* [Internet]. 2019;234:1484–505. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.243>
62. Watkinson AJ, Murby EJ, Kolpin DW, Costanzo SD. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. *Sci Total Environ* [Internet]. 2009;407(8):2711–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.059>
 63. Parnham MJ, Haber VE, Giamarellos-Bourboulis EJ, Perletti G, Verleden GM, Vos R. Azithromycin: Mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2014;143(2):225–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.03.003>
 64. Hopkins S. Clinical toleration and safety of azithromycin. *Am J Med*. 1991;91(3 SUPPL. 1).
 65. Neu HC. Clinical microbiology of azithromycin. *Am J Med*. 1991;91(3 SUPPL. 1).
 66. Lalak NJ, Morris DL. Azithromycin Clinical Pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*. 1993;25(5):370–4.
 67. Echeverría-Esnal D, Martín-Ontiyuelo C, Navarrete-Rouco ME, De-Antonio Cuscó M, Ferrández O, Horcajada JP, et al. Azithromycin in the treatment of COVID-19: a review [Internet]. Vol. 19, *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. Taylor & Francis; 2021. 147–163 p. Available from: <https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1813024>
 68. Arshad S, Kilgore P, Chaudhry ZS, Jacobsen G, Wang DD, Huitsing K, et al. Treatment with hydroxychloroquine, azithromycin, and combination in patients hospitalized with COVID-19. *Int J Infect Dis*. 2020;97(June 2020):396–403.
 69. Oliver ME, Hinks TSC. Azithromycin in viral infections. *Rev Med Virol*. 2021;31(2):1–13.
 70. Kawamura K, Ichikado K, Takaki M, Eguchi Y, Anan K, Suga M. Adjunctive therapy with azithromycin for moderate and severe acute respiratory distress syndrome: a retrospective, propensity score-matching analysis of prospectively collected data at a single center. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2018;51(6):918–24. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.02.009>
 71. Doan T, Hinterwirth A, Arzika AM, Worden L, Chen C, Zhong L, et al. Reduction of Coronavirus Burden with Mass Azithromycin Distribution. *Clin Infect Dis*. 2020;71(16):2282–4.
 72. Retallack H, Di Lullo E, Arias C, Knopp KA, Laurie MT, Sandoval-Espinosa C, et al. Zika virus cell tropism in the developing human brain and inhibition by azithromycin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(50):14408–13.
 73. Madrid PB, Panchal RG, Warren TK, Shurtleff AC, Endsley AN, Green CE, et al. Evaluation of Ebola Virus Inhibitors for Drug Repurposing. *ACS Infect Dis*. 2016;1(7):317–26.
 74. Gielen V, Johnston SL, Edwards MR. Azithromycin induces anti-viral responses in bronchial epithelial cells. *Eur Respir J*. 2010;36(3):646–54.
 75. Bleyzac N, Goutelle S, Bourguignon L, Tod M. Azithromycin for COVID-19: More Than Just an Antimicrobial? *Clin Drug Investig* [Internet]. 2020;40(8):683–6.

Available from: <https://doi.org/10.1007/s40261-020-00933-3>

76. Sosa-Hernández JE, Rodas-Zuluaga LI, López-Pacheco IY, Melchor-Martínez EM, Aghalari Z, Limón DS, et al. Sources of antibiotics pollutants in the aquatic environment under SARS-CoV-2 pandemic situation. *Case Stud Chem Environ Eng*. 2021;4.
77. Chen X, Lei L, Liu S, Han J, Li R, Men J, et al. Occurrence and risk assessment of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) against COVID-19 in lakes and WWTP-river-estuary system in Wuhan, China. *Sci Total Environ* [Internet]. 2021;792:148352. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148352>
78. Botero-Coy AM, Martínez-Pachón D, Boix C, Rincón RJ, Castillo N, Arias-Marín LP, et al. 'An investigation into the occurrence and removal of pharmaceuticals in Colombian wastewater.' *Sci Total Environ* [Internet]. 2018;642:842–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.088>
79. Fernandes MJ, Paíga P, Silva A, Llaguno CP, Carvalho M, Vázquez FM, et al. Antibiotics and antidepressants occurrence in surface waters and sediments collected in the north of Portugal. *Chemosphere*. 2020;239.
80. Solaun O, Rodríguez JG, Menchaca I, López-García E, Martínez E, Zonja B, et al. Contaminants of emerging concern in the Basque coast (N Spain): Occurrence and risk assessment for a better monitoring and management decisions. *Sci Total Environ* [Internet]. 2021;765(xxxx):142765. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142765>
81. Mohapatra S, Huang CH, Mukherji S, Padhye LP. Occurrence and fate of pharmaceuticals in WWTPs in India and comparison with a similar study in the United States. *Chemosphere* [Internet]. 2016;159:526–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.047>
82. Wang Z, Zhang XH, Huang Y, Wang H. Comprehensive evaluation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in typical highly urbanized regions across China. *Environ Pollut* [Internet]. 2015;204:223–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.04.021>
83. Hernández F, Calisto-Ulloa N, Gómez-Fuentes C, Gómez M, Ferrer J, González-Rocha G, et al. Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic. *J Hazard Mater* [Internet]. 2019;363(July 2018):447–56. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.027>
84. Ghosh GC, Yamashita N, Huang X, Tanaka H. Antibiotics Removal in Biological Sewage Treatment Plants. *Pollution* [Internet]. 2016;2(2):131–9. Available from: <https://jpoll.ut.ac.ir>
85. Harrabi M, Varela Della Giustina S, Aloulou F, Rodriguez-Mozaz S, Barceló D, Elleuch B. Analysis of multiclass antibiotic residues in urban wastewater in Tunisia. *Environ Nanotechnology, Monit Manag* [Internet]. 2018;10(May):163–70. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2018.05.006>
86. Giebułtowicz J, Nałęcz-Jawecki G, Harnisz M, Kucharski D, Korzeniewska E, Płaza G. Environmental risk and risk of resistance selection due to antimicrobials' occurrence in two Polish wastewater treatment plants and receiving surface water. *Molecules*. 2020;25(6).

87. Senta I, Terzic S, Ahel M. Occurrence and fate of dissolved and particulate antimicrobials in municipal wastewater treatment. *Water Res* [Internet]. 2013;47(2):705–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.041>
88. Senta I, Krizman-Matasic I, Terzic S, Ahel M. Comprehensive determination of macrolide antibiotics, their synthesis intermediates and transformation products in wastewater effluents and ambient waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* [Internet]. 2017;1509:60–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.06.005>
89. Mirzaei R, Yunesian M, Nasserli S, Gholami M, Jalilzadeh E, Shoeibi S, et al. Occurrence and fate of most prescribed antibiotics in different water environments of Tehran, Iran. *Sci Total Environ* [Internet]. 2018;619–620:446–59. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.272>
90. Guerra P, Kim M, Shah A, Alaei M, Smyth SA. Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. *Sci Total Environ* [Internet]. 2014;473–474:235–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.008>
91. Yasojima M, Nakada N, Komori K, Suzuki Y, Tanaka H. Occurrence of levofloxacin, clarithromycin and azithromycin in wastewater treatment plant in Japan. *Water Sci Technol*. 2006;53(11):227–33.
92. Hoa PTP, Managaki S, Nakada N, Takada H, Shimizu A, Anh DH, et al. Antibiotic contamination and occurrence of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments of northern Vietnam. *Sci Total Environ* [Internet]. 2011;409(15):2894–901. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.04.030>
93. Cha JM, Yang S, Carlson KH. Trace determination of β -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2006;1115(1–2):46–57.
94. Lara-Martín PA, González-Mazo E, Petrovic M, Barceló D, Brownawell BJ. Occurrence, distribution and partitioning of nonionic surfactants and pharmaceuticals in the urbanized Long Island Sound Estuary (NY). *Mar Pollut Bull*. 2014;85(2):710–9.
95. Gibs J, Heckathorn HA, Meyer MT, Klapinski FR, Alebus M, Lippincott RL. Occurrence and partitioning of antibiotic compounds found in the water column and bottom sediments from a stream receiving two wastewater treatment plant effluents in Northern New Jersey, 2008. *Sci Total Environ* [Internet]. 2013;458–460:107–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.076>
96. Surface S. applied sciences Fast UHPLC-MS / MS for the Simultaneous Determination of. 2021;
97. Alygizakis NA, Urík J, Beretsou VG, Kampouris I, Galani A, Oswaldova M, et al. Evaluation of chemical and biological contaminants of emerging concern in treated wastewater intended for agricultural reuse. *Environ Int* [Internet]. 2020;138(February):105597. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105597>
98. Zhang R, Zhang G, Zheng Q, Tang J, Chen Y, Xu W, et al. Occurrence and risks of antibiotics in the Laizhou Bay, China: Impacts of river discharge. *Ecotoxicol Environ Saf* [Internet]. 2012;80:208–15. Available from:

- <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.03.002>
99. Santos LHMLM, Gros M, Rodríguez-Mozaz S, Delerue-Matos C, Pena A, Barceló D, et al. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Sci Total Environ* [Internet]. 2013;461–462:302–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.077>
 100. Göbel A, Thomsen A, McArdell CS, Joss A, Giger W. Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. *Environ Sci Technol*. 2005;39(11):3981–9.
 101. Gros M, Rodríguez-Mozaz S, Barceló D. Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* [Internet]. 2013;1292:173–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.12.072>
 102. Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Res* [Internet]. 2009;43(2):363–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.047>
 103. Collado N, Rodríguez-Mozaz S, Gros M, Rubirola A, Barceló D, Comas J, et al. Pharmaceuticals occurrence in a WWTP with significant industrial contribution and its input into the river system. *Environ Pollut* [Internet]. 2014;185:202–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.040>
 104. Chitescu CL, Kaklamanos G, Nicolau AI, Stolker AAML. High sensitive multiresidue analysis of pharmaceuticals and antifungals in surface water using U-HPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS. Application to the Danube river basin on the Romanian territory. *Sci Total Environ* [Internet]. 2015;532:501–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.010>
 105. Baumann M, Weiss K, Maletzki D, Schüssler W, Schudoma D, Kopf W, et al. Aquatic toxicity of the macrolide antibiotic clarithromycin and its metabolites. *Chemosphere* [Internet]. 2015;120:192–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.089>
 106. Valcárcel Y, González Alonso S, Rodríguez-Gil JL, Gil A, Catalá M. Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere*. 2011;84(10):1336–48.
 107. Moreno-González R, Rodríguez-Mozaz S, Gros M, Pérez-Cánovas E, Barceló D, León VM. Input of pharmaceuticals through coastal surface watercourses into a Mediterranean lagoon (Mar Menor, SE Spain): Sources and seasonal variations. *Sci Total Environ* [Internet]. 2014;490:59–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.097>
 108. López-Serna R, Pérez S, Ginebreda A, Petrović M, Barceló D. Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction-liquid chromatography- electropray-tandem mass spectrometry. *Talanta*. 2010;83(2):410–24.
 109. Cabeza Y, Candela L, Ronen D, Teijon G. Monitoring the occurrence of emerging

- contaminants in treated wastewater and groundwater between 2008 and 2010. The Baix Llobregat (Barcelona, Spain). *J Hazard Mater* [Internet]. 2012;239–240:32–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.032>
110. Liu H, Qu J, Zhang T, Ren M, Zhang Z, Cheng F, et al. Insights into degradation pathways and toxicity changes during electro-catalytic degradation of tetracycline hydrochloride. *Environ Pollut* [Internet]. 2019;113702. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113702>
 111. Ganzenko O, Huguenot D, van Hullebusch ED, Esposito G, Oturan MA. Electrochemical advanced oxidation and biological processes for wastewater treatment: A review of the combined approaches. *Environ Sci Pollut Res*. 2014;21(14):8493–524.
 112. Seibert D, Zorzo CF, Borba FH, de Souza RM, Quesada HB, Bergamasco R, et al. Occurrence, statutory guideline values and removal of contaminants of emerging concern by Electrochemical Advanced Oxidation Processes: A review. *Sci Total Environ* [Internet]. 2020;748:141527. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141527>
 113. Sirés I, Brillas E, Oturan MA, Rodrigo MA, Panizza M. Electrochemical advanced oxidation processes: Today and tomorrow. A review. *Environ Sci Pollut Res*. 2014;21(14):8336–67.
 114. Chamarro E, Marco A, Esplugas S. Use of Fenton reagent to improve organic chemical biodegradability. *Water Res*. 2001;35(4):1047–51.
 115. Wang J, Zhuan R. Degradation of antibiotics by advanced oxidation processes: An overview. *Sci Total Environ* [Internet]. 2019;135023. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135023>
 116. Kumar Pandey B, Kumar Pandey S, Pandey D. A Survey of Bioinformatics Applications on Parallel Architectures. *Int J Comput Appl*. 2011;23(4):21–5.
 117. Arora PK, Bae H. Integration of bioinformatics to biodegradation. *Biol Proced Online*. 2014;16(1):1–10.
 118. BioTech-GO - LO1: Biología, bases de datos biológicas y fuentes de datos de alto rendimiento [Internet]. [cited 2021 Jul 1]. Available from: <https://biotechgo.org/?view=article&id=121&catid=38>
 119. Singh AK, Chowdhary P, Raj A. In silico bioremediation strategies for removal of environmental pollutants released from paper mills using bacterial ligninolytic enzymes [Internet]. *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*. INC; 2020. 249–285 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-819001-2.00013-9>
 120. Fulekar MH. Environmental cleanup approach using bioinformatics in bioremediation. *Bioinforma Appl Life Environ Sci*. 2007;173–99.
 121. Kumar R, Sharma AK, Ahluwalia SS. Advances in Environmental Biotechnology. *Adv Environ Biotechnol*. 2017;1–288.
 122. Khan NT. Integration of Bioinformatics in Bioremediation. *Int J Biomed Data Min*. 2018;7(1):29–31.
 123. Zhan Z, Li L, Tian S, Zhen X, Li Y. Prediction of chemical biodegradability using

- computational methods. *Mol Simul* [Internet]. 2017;43(13–16):1277–90. Available from: <http://doi.org/10.1080/08927022.2017.1328556>
124. Y KPk. Bioinformatics and computational tools in bioremediation and biodegradation of environmental pollutants. *Bioremediation Environ Sustain*. 2021;421–44.
 125. Leach AR. *Ligand-Based Approaches : Core Molecular Modeling*. 2007;87–118.
 126. Chow E, Klepeis JL, Rendleman CA, Dror RO, York N. New Technologies for Molecular Dynamics Simulations [Internet]. Vol. 9, *Comprehensive Biophysics*. Elsevier Ltd.; 2012. 86–104 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374920-8.00908-5>
 127. Hansson T, Oostenbrink C, Gunsteren WF Van. *Molecular dynamics simulations*. 2002;190–6.
 128. Halgren TA. Merck Molecular Force Field. I. Basis, Form, Scope, Parameterization, and Performance of MMFF94. 1996;17(1996):520–52.
 129. Lewis-Atwell T, Townsend PA, Grayson MN. Comparisons of different force fields in conformational analysis and searching of organic molecules: A review. *Tetrahedron* [Internet]. 2021;79:131865. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2020.131865>
 130. Aduri R, Psciuk BT, Saro P, Taniga H, Schlegel HB, SantaLucia J. AMBER force field parameters for the naturally occurring modified nucleosides in RNA. *J Chem Theory Comput*. 2007;3(4):1464–75.
 131. Case DA, Cheatham III TE, Darden T, Gohlke H, Luo R, Merz Jr KM, et al. The Amber biomolecular simulation programs. *J Comput Chem*. 2005;26(16):1668–88.
 132. Lindahl E, Bjelkmar P, Larsson P, Cuendet MA, Hess B. Implementation of the CHARMM force field in GROMACS: Analysis of protein stability effects from correction maps, virtual interaction sites, and water models. *J Chem Theory Comput*. 2010;6(2):459–66.
 133. Pastor RW, MacKerell AD. Development of the CHARMM force field for lipids. *J Phys Chem Lett*. 2011;2(13):1526–32.
 134. Horta BAC, Merz PT, Fuchs PFJ, Dolenc J, Riniker S, Hünenberger PH. A GROMOS-Compatible Force Field for Small Organic Molecules in the Condensed Phase: The 2016H66 Parameter Set. *J Chem Theory Comput*. 2016;12(8):3825–50.
 135. Jász Á, Rák Á, Ladjánszki I, Cserey G. Optimized GPU implementation of Merck Molecular Force Field and Universal Force Field. *J Mol Struct*. 2019;1188:227–33.
 136. Harder E, Damm W, Maple J, Wu C, Reboul M, Xiang JY, et al. OPLS3: A Force Field Providing Broad Coverage of Drug-like Small Molecules and Proteins. *J Chem Theory Comput*. 2016;12(1):281–96.
 137. Smith A, Dong X, Raghavan V. An Overview of Molecular Dynamics Simulation for Food Products and Processes. *Processes*. 2022;10(1).
 138. Van Gunsteren WF, Bakowies D, Baron R, Chandrasekhar I, Christen M, Daura X, et al. Biomolecular modeling: Goals, problems, perspectives. *Angew Chemie - Int Ed*. 2006;45(25):4064–92.
 139. Lyman E, Zuckerman DM. Ensemble-based convergence analysis of biomolecular

- trajectories. *Biophys J* [Internet]. 2006;91(1):164–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.106.082941>
140. Smith LJ, Daura X, Van Gunsteren WF. Assessing equilibration and convergence in biomolecular simulations. *Proteins Struct Funct Genet*. 2002;48(3):487–96.
 141. Knapp B, Frantal S, Cibena M, Schreiner W, Bauer P. Is an intuitive convergence definition of molecular dynamics simulations solely based on the root mean square deviation possible? *J Comput Biol*. 2011;18(8):997–1005.
 142. Martínez L. Automatic identification of mobile and rigid substructures in molecular dynamics simulations and fractional structural fluctuation analysis. *PLoS One*. 2015;10(3):1–10.
 143. Surti M, Patel M, Adnan M, Moin A, Ashraf SA, Siddiqui AJ, et al. Ilimaquinone (marine sponge metabolite) as a novel inhibitor of SARS-CoV-2 key target proteins in comparison with suggested COVID-19 drugs: Designing, docking and molecular dynamics simulation study. *RSC Adv*. 2020;10(62):37707–20.
 144. Durham E, Dorr B, Woetzel N, Staritzbichler R, Meiler J. Solvent accessible surface area approximations for rapid and accurate protein structure prediction. *J Mol Model*. 2009;15(9):1093–108.
 145. Lee B, Richards FM. The interpretation of protein structures: Estimation of static accessibility. *J Mol Biol*. 1971;55(3).
 146. Shrake A, Rupley JA. Environment and exposure to solvent of protein atoms. Lysozyme and insulin. *J Mol Biol*. 1973;79(2):361–71.
 147. Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *J Cheminform*. 2012;4(8).
 148. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2019 update: Improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D1102–9.
 149. Burley SK, Bhikadiya C, Bi C, Bittrich S, Chen L, Crichlow G V., et al. RCSB Protein Data Bank: Powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(1):D437–51.
 150. Bakheit AHH, Al-Hadiya BMH, Abd-Elgalil AA. Azithromycin. Vol. 39, Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. 2014. 1–40 p.
 151. Khezri MR, Zolbanin NM, Ghasemnejad-berenji M, Jafari R. Azithromycin: Immunomodulatory and antiviral properties for SARS-CoV-2 infection. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2021;905(May):174191. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174191>
 152. Martínez-Polanco MP, Valderrama-Rincón JA, Martínez-Rojas AJ, Luna-Wandurraga HJ, Díaz-Báez MC, Bustos-López MC, et al. Degradation of high concentrations of azithromycin when present in a high organic content wastewater by using a continuously fed laboratory-scale UASB bioreactor. *Chemosphere*. 2022;287(September 2021).

153. Cano PA, Jaramillo-Baquero M, Zúñiga-Benítez H, Londoño YA, Peñuela GA. Use of simulated sunlight radiation and hydrogen peroxide in azithromycin removal from aqueous solutions: Optimization & mineralization analysis. *Emerg Contam.* 2020;6:53–61.
154. Almeida AC, Gomes T, Lomba JAB, Lillicrap A. Specific toxicity of azithromycin to the freshwater microalga *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021;222.



ANEXOS

A continuación, se muestra resultados de los análisis a 10 ns preliminares de los distintos sistemas a 293.15 K (20°C) y 300 K (28°C).

Tabla A1. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 293.15 K (20°C).

Sistemas	RMSD (nm)	RMSF (nm)	RG (nm)	SASA (nm ²)
25ZIT + 0OH	4.376±0.60	2.650±0.80	4.039±0.26	165.650±21.23
25ZIT + 50OH	4.147±0.82	3.180±0.84	3.993±0.26	177.026±10.30
50ZIT + 0OH	4.335±0.68	2.956±0.67	3.951±0.12	295.840±32.72
50ZIT + 50OH	3.834±0.79	2.603±1.01	4.019±0.20	299.201±22.01
75ZIT + 0OH	3.517±0.57	1.859±1.23	3.459±0.12	383.340±37.40
75ZIT + 50OH	3.180±0.58	1.650±1.17	3.349±0.09	390.424±34.08
100ZIT + 0OH	3.445±0.71	1.777±1.28	3.680±0.12	469.789±49.28
100ZIT + 50OH	2.448±0.30	1.210±0.95	3.474±0.05	481.808±40.09

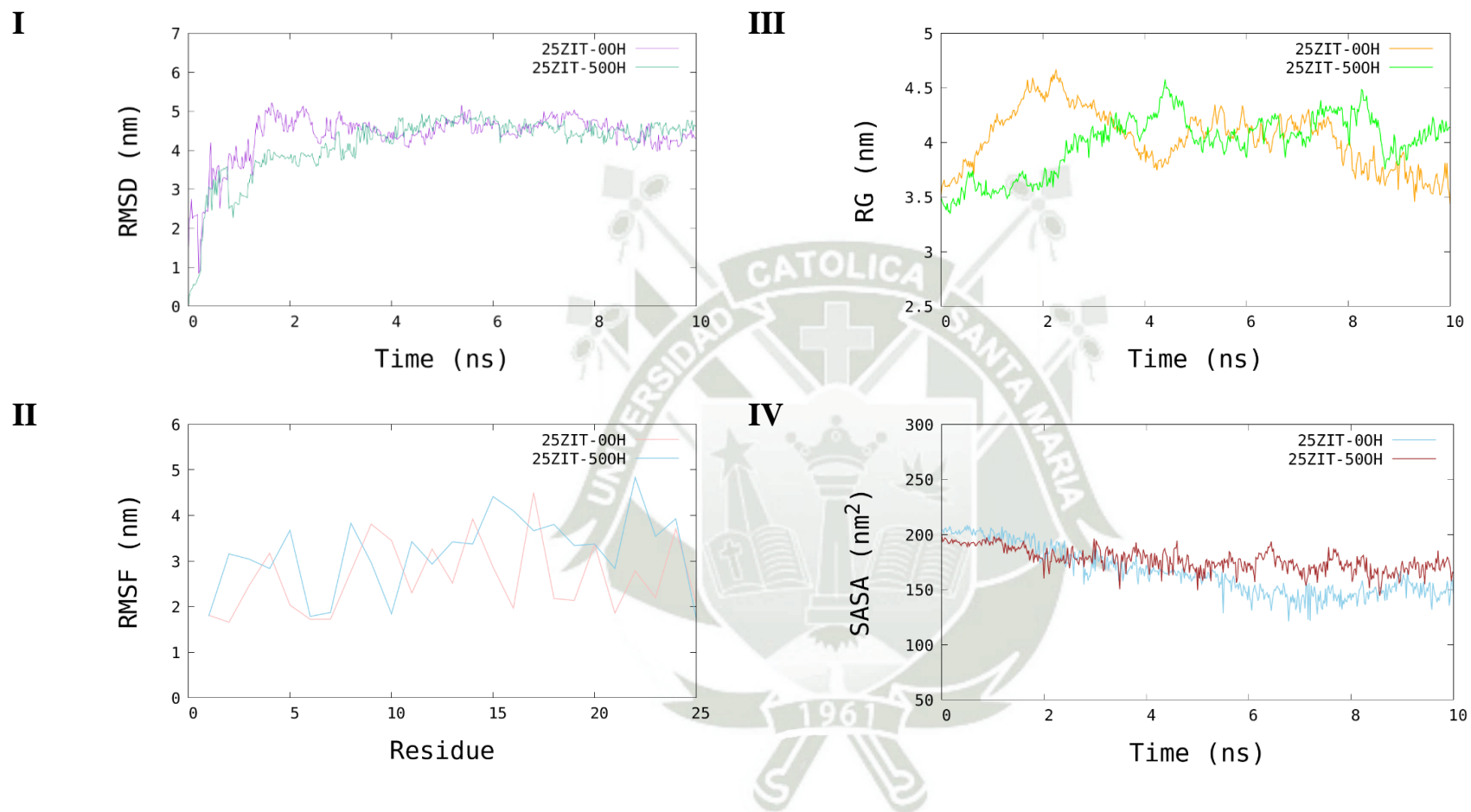


Figura A1. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación me a cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente.

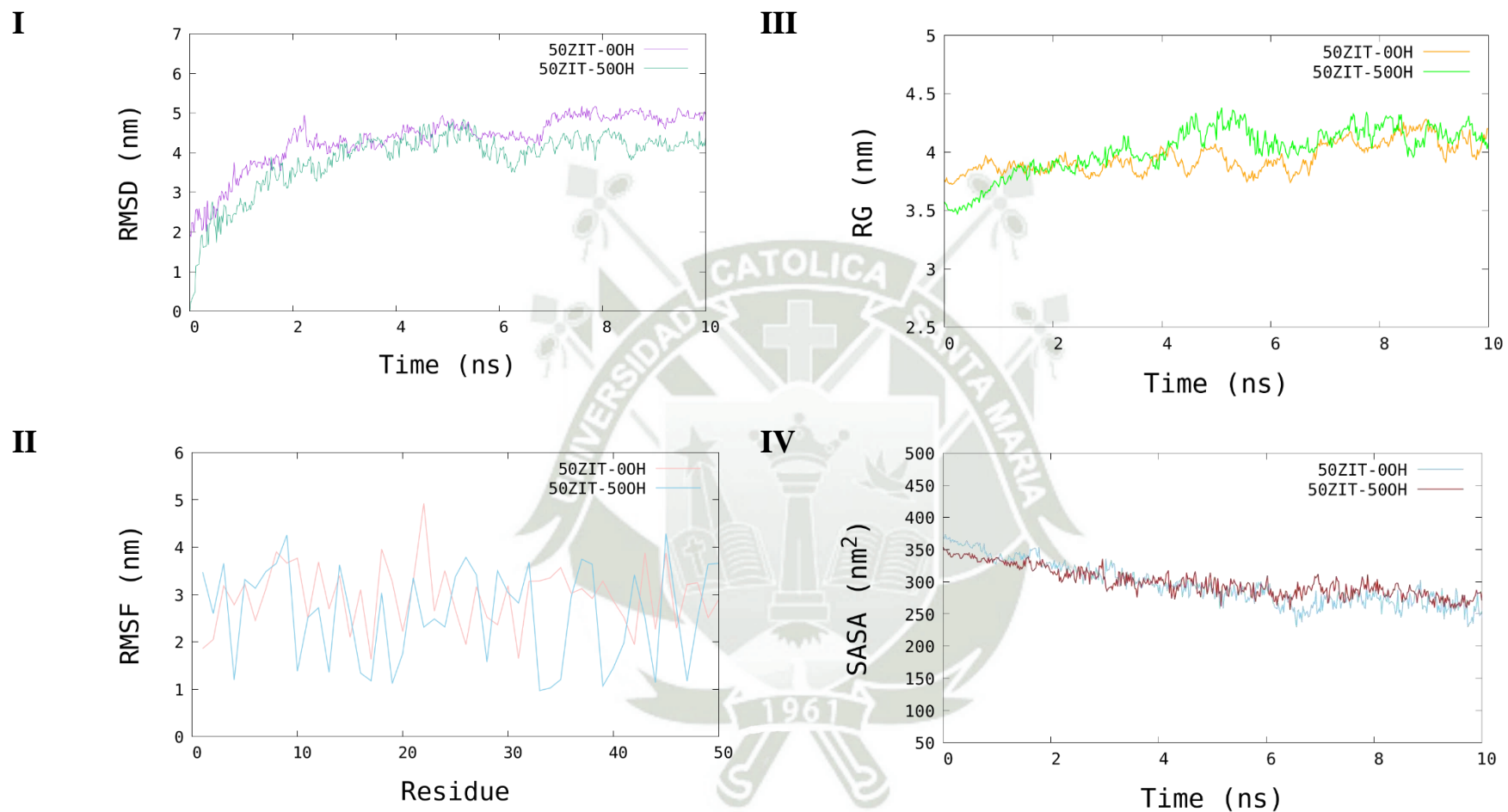


Figura A2. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). I. Desviación media cuadrática (RMSD), II. Fluctuación cuadrática media (RMSF), III. Radio de giro (RG) y IV. Área de superficie accesible a solvente.

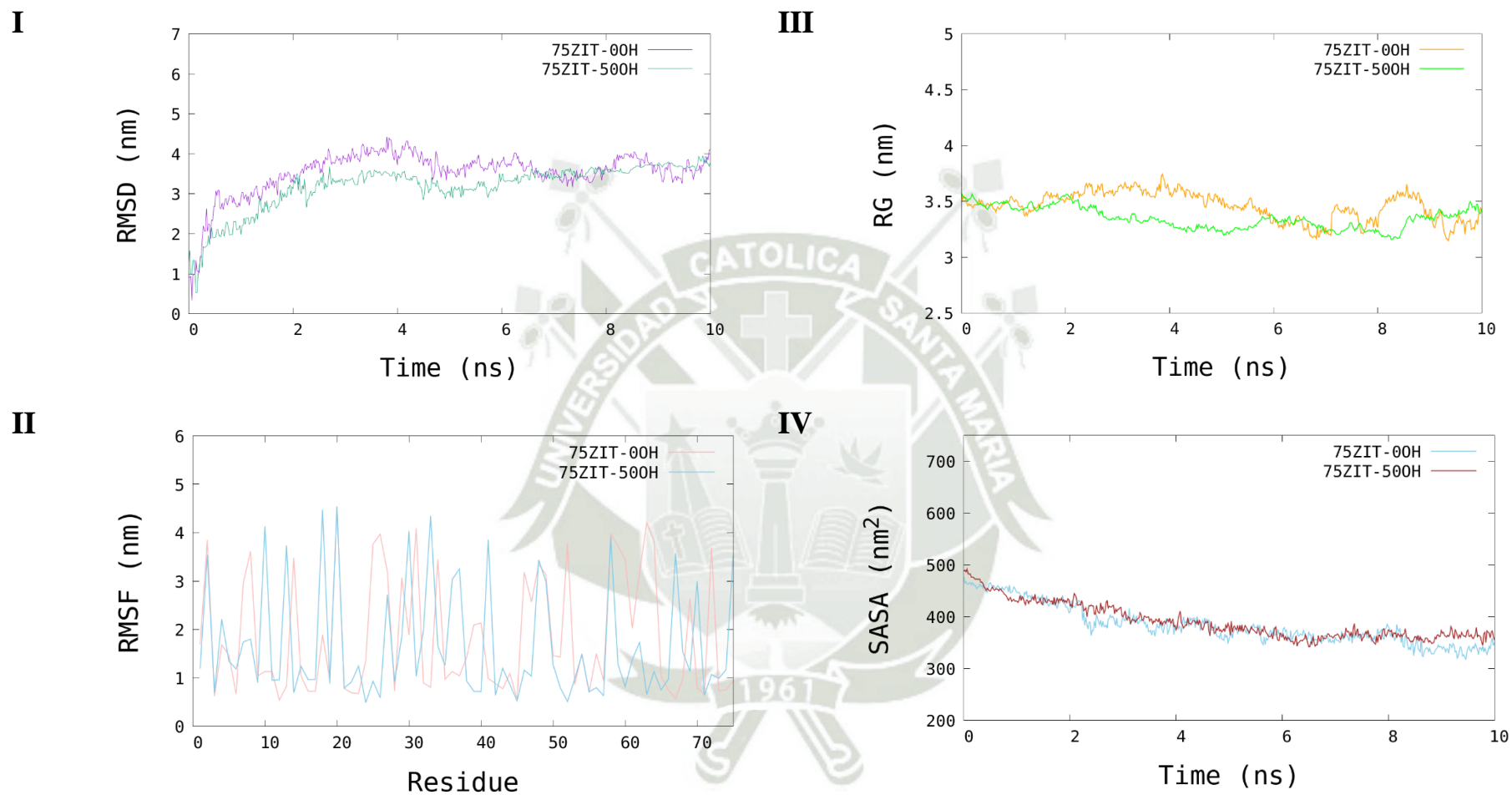


Figura A3. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solvente.

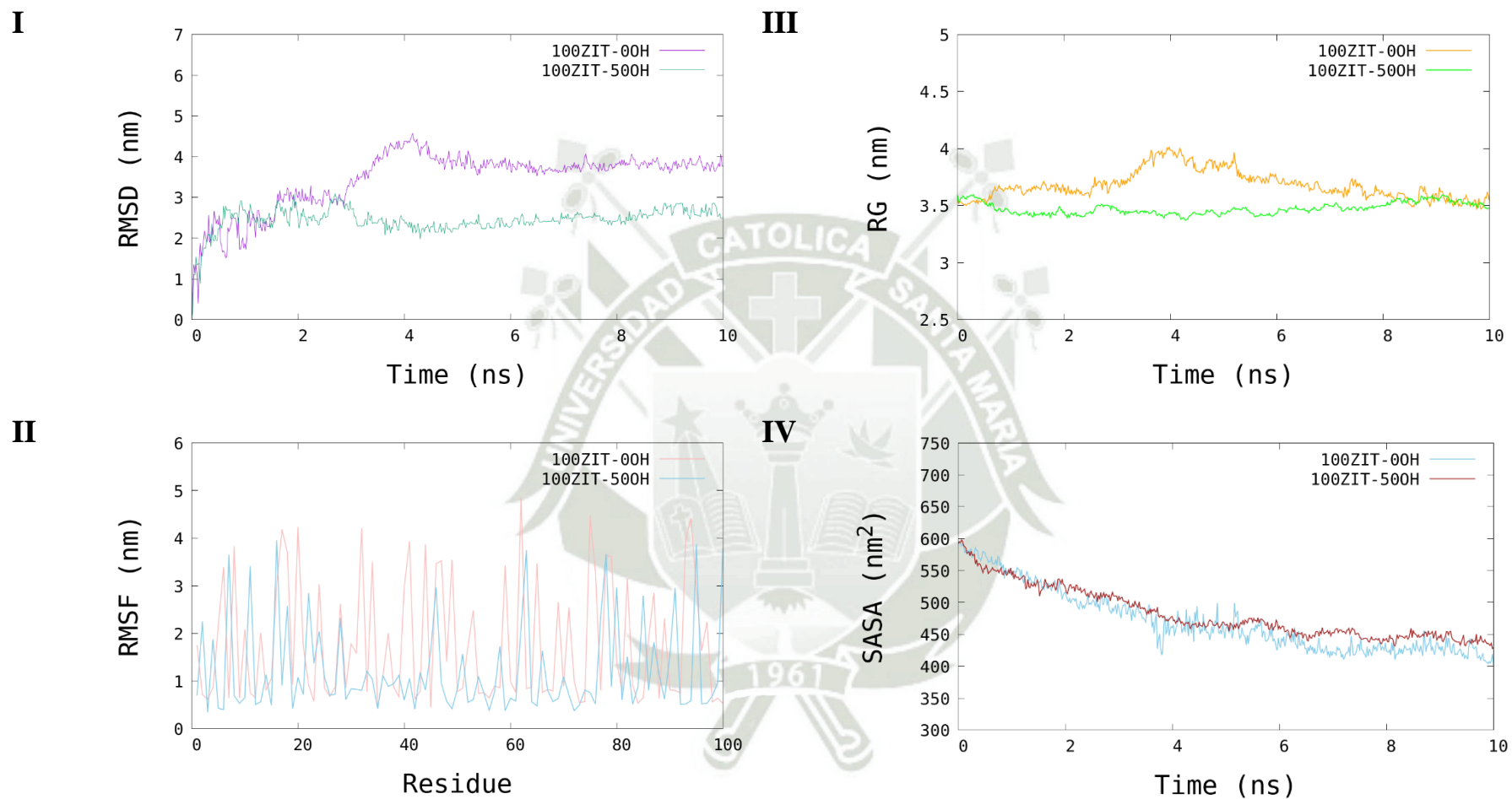


Figura A4. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 293.15K (20°C). I. Desviación media cuadrática (RMSD), II. Fluctuación cuadrática media (RMSF), III. Radio de giro (RG) y IV. Área de superficie accesible a solvente

Tabla A2. Valores promedio de RMSD, RMSF, RG y SASA del grupo de análisis a temperatura de 300 K (28°C).

Sistemas	RMSD (nm)	RMSF (nm)	RG (nm)	SASA (nm²)
25ZIT + 0OH	4.375±0.74	3.087±0.53	4.052±0.38	161.265±14.09
25ZIT + 50OH	3.950±0.62	2.688±0.90	3.514±0.45	176.967±17.04
50ZIT + 0OH	4.061±0.67	2.618±0.68	3.802±0.18	272.393±26.83
50ZIT + 50OH	4.127±0.59	2.941±0.92	3.831±0.25	296.051±26.91
75ZIT + 0OH	3.962±0.61	2.298±1.13	3.819±0.28	373.192±39.42
75ZIT + 50OH	3.149±0.64	2.112±1.03	3.740±0.10	392.135±27.21
100ZIT + 0OH	3.485±0.73	1.983±1.33	3.812±0.16	461.003±43.74
100ZIT + 50OH	2.868±0.75	1.521±1.14	3.382±0.10	469.404±38.40

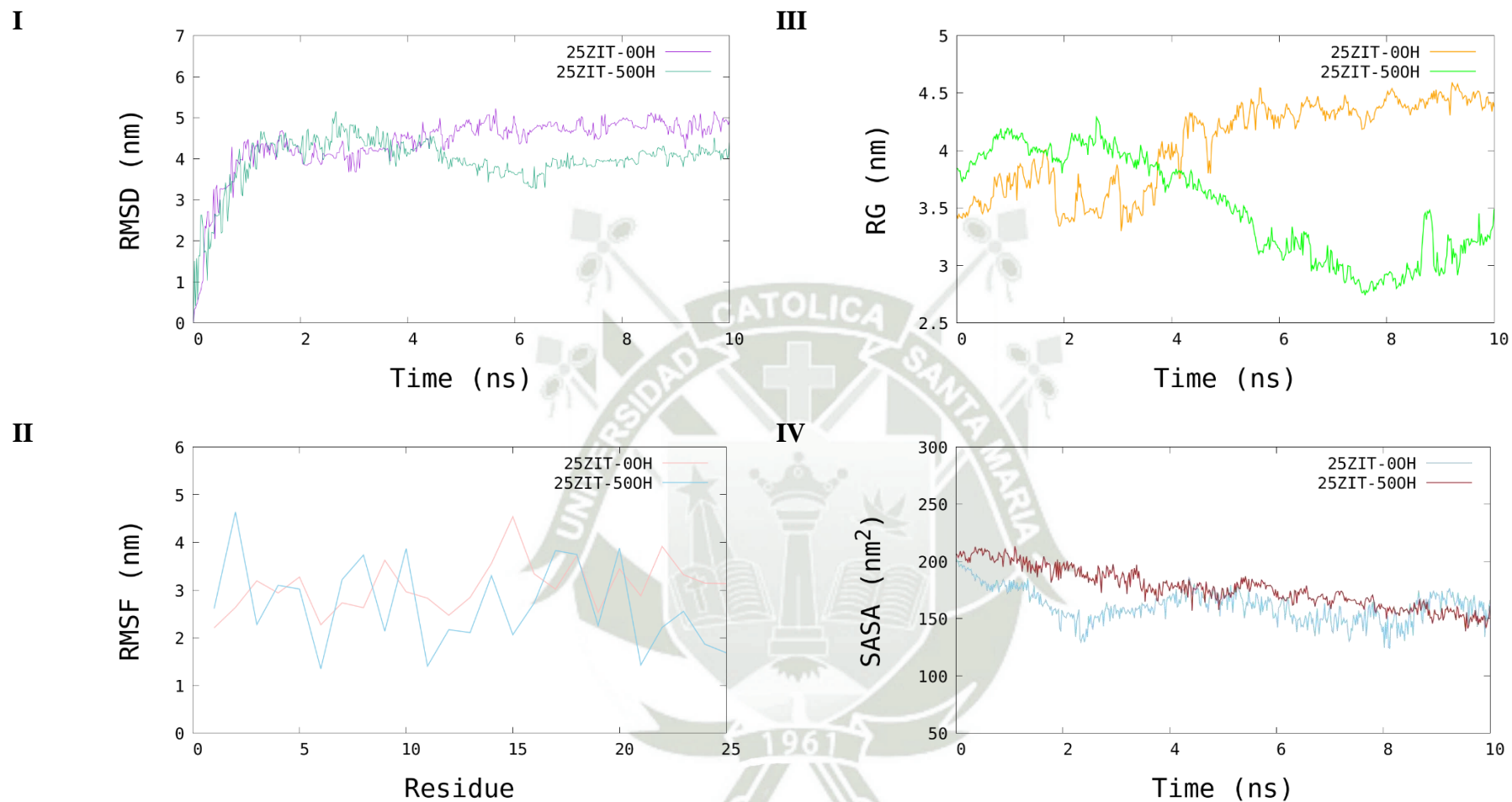


Figura A5. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 25 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes.

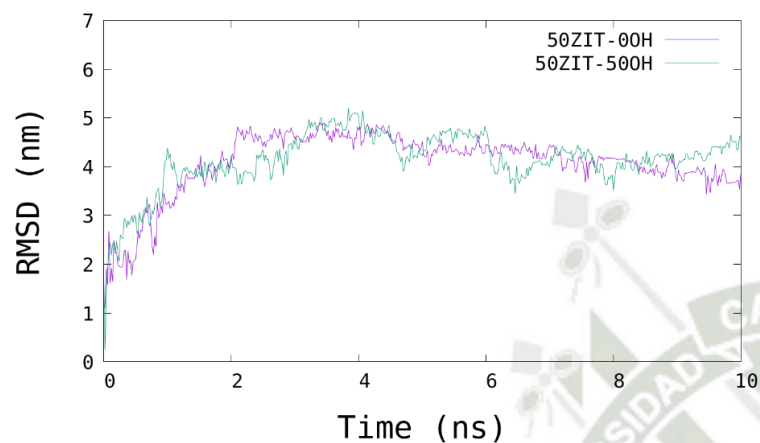
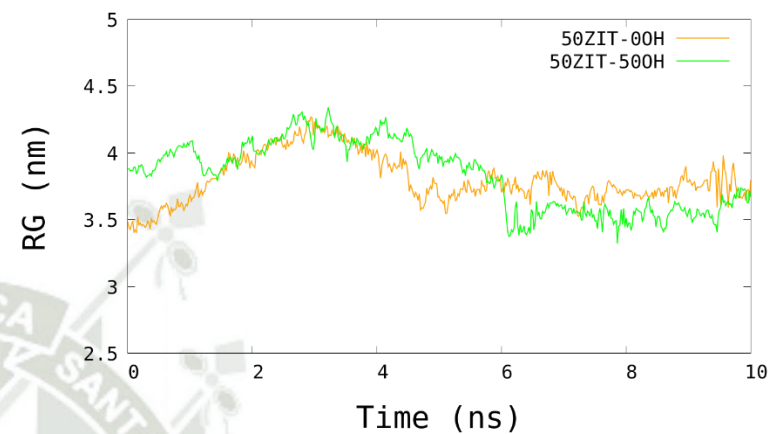
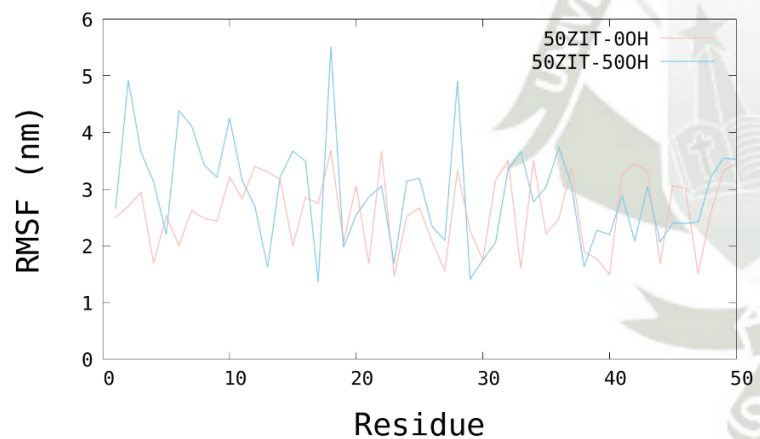
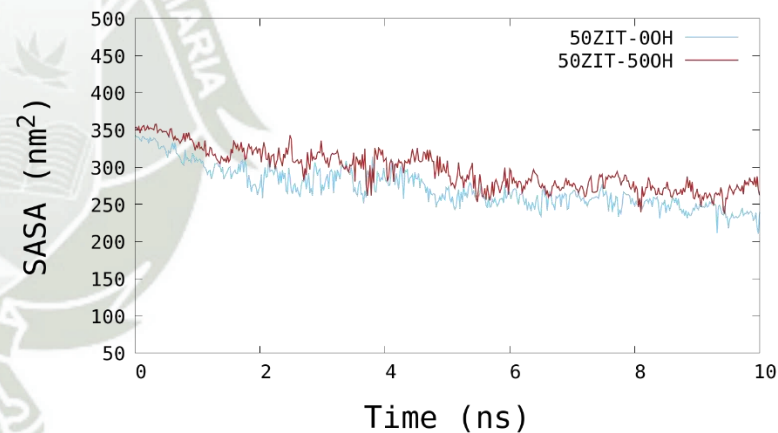
I**III****II****IV**

Figura A6. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 50 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). **I.** Desviación media cuadrática (RMSD), **II.** Fluctuación cuadrática media (RMSF), **III.** Radio de giro (RG) y **IV.** Área de superficie accesible a solventes.

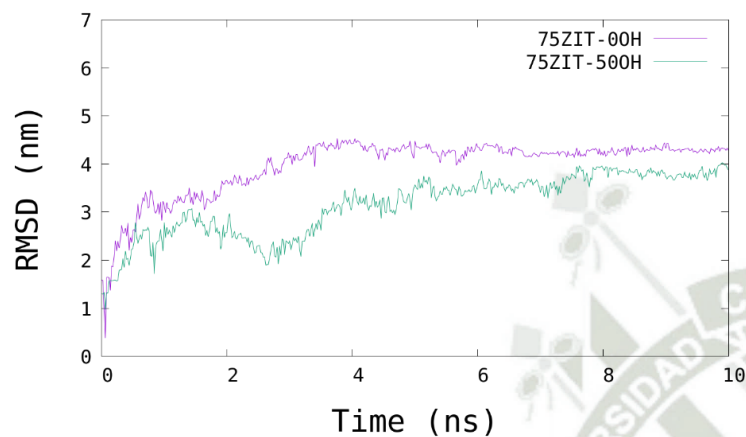
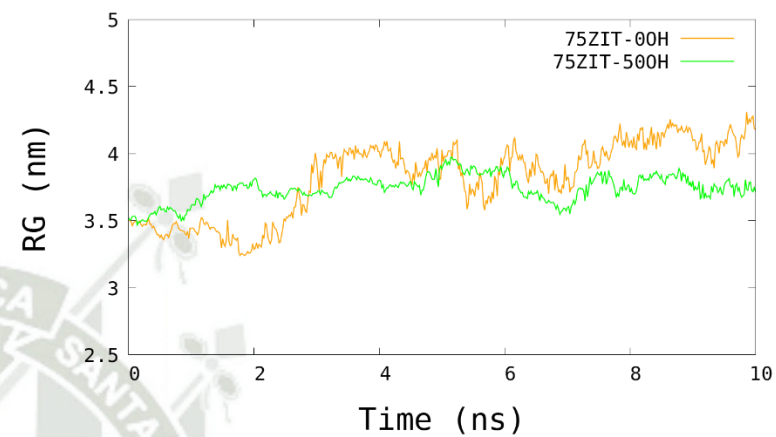
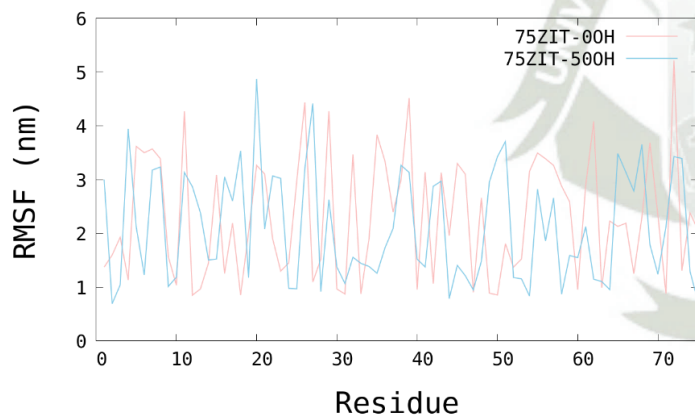
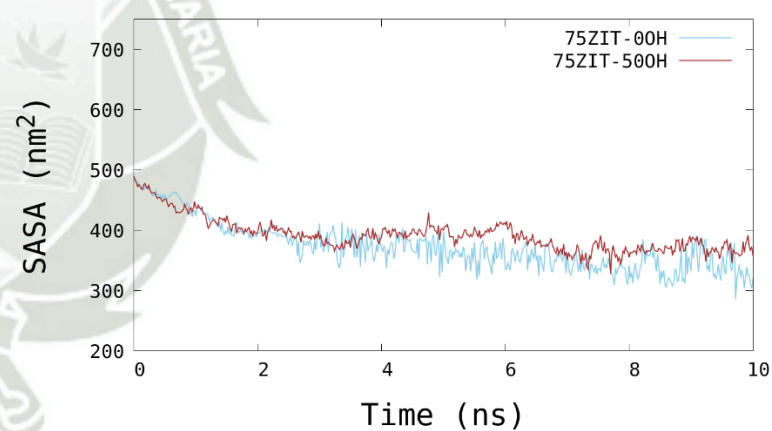
I**III****II****IV**

Figura A7. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 75 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). I. Desviación media cuadrática (RMSD), II. Fluctuación cuadrática media (RMSF), III. Radio de giro (RG) y IV. Área de superficie accesible a solvente.

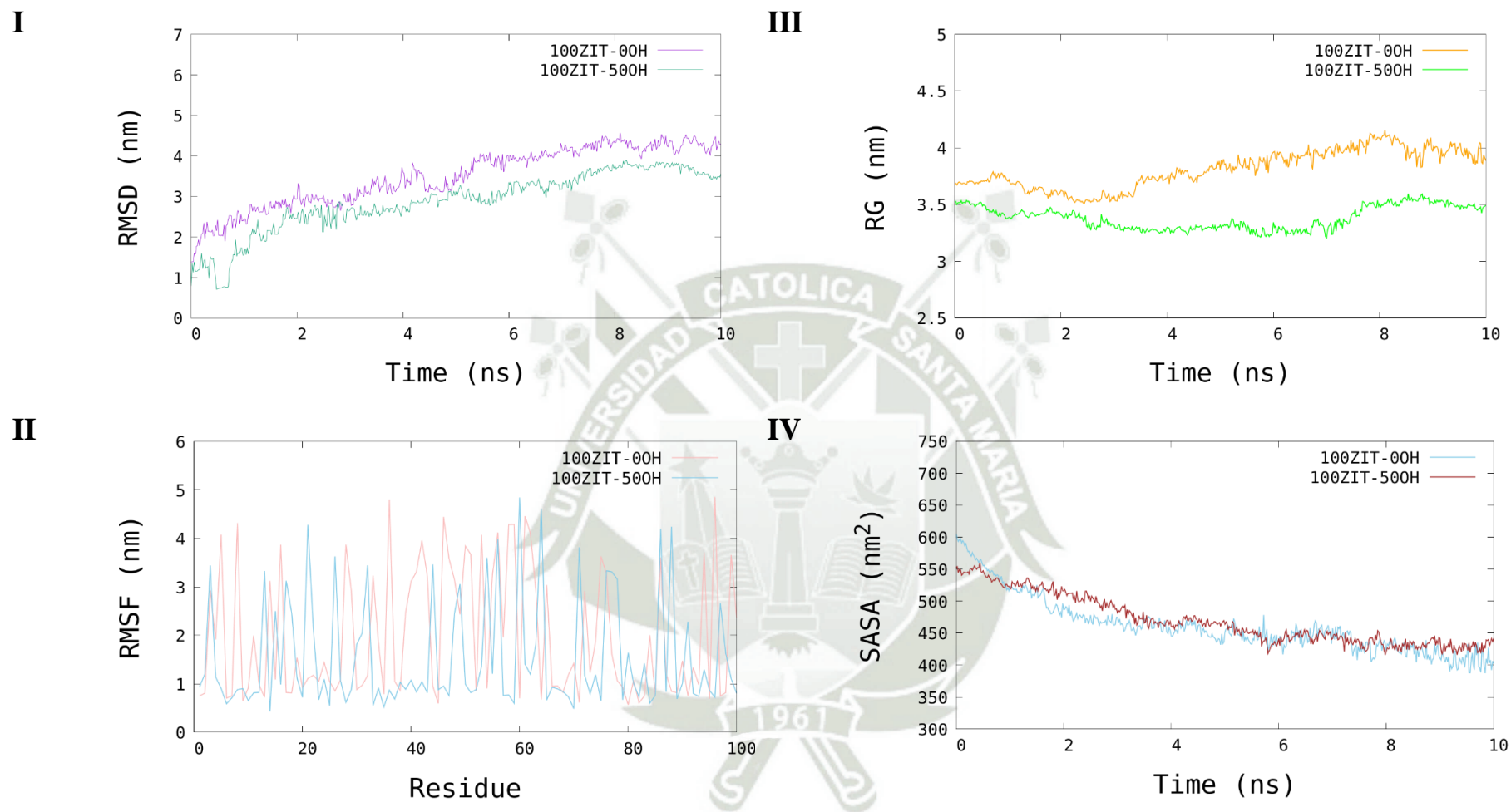


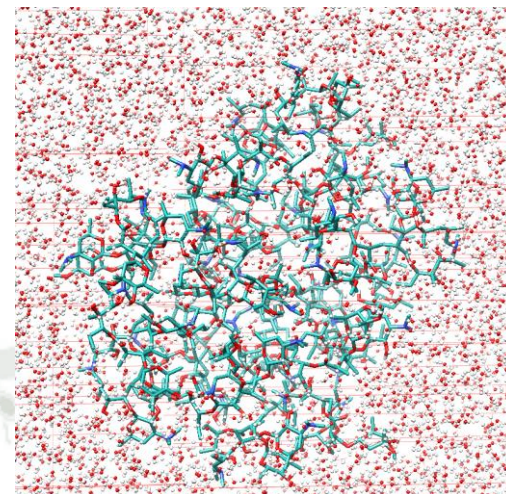
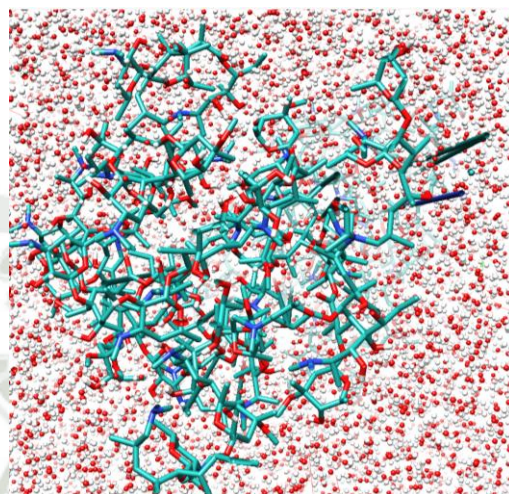
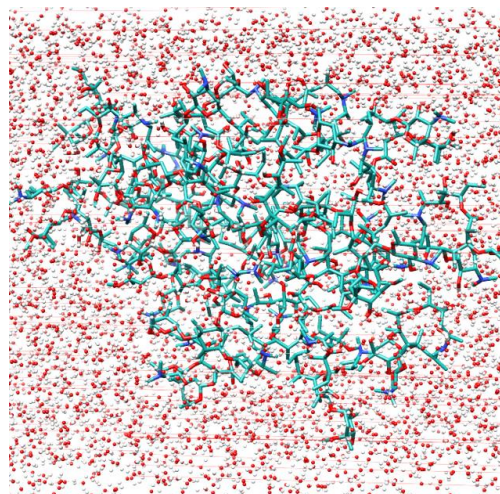
Figura A8. Representación gráfica de los parámetros de la Simulación de Dinámica Molecular de los sistemas de 100 moléculas de azitromicina en solución de agua con y sin 50 moléculas de OH a 300K (28°C). I. Desviación media cuadrática (RMSD), II. Fluctuación cuadrática media (RMSF), III. Radio de giro (RG) y IV. Área de superficie accesible a solvente.

293.15 K (20°C)

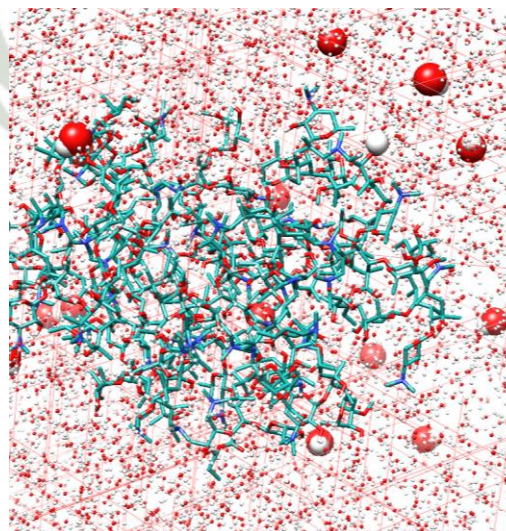
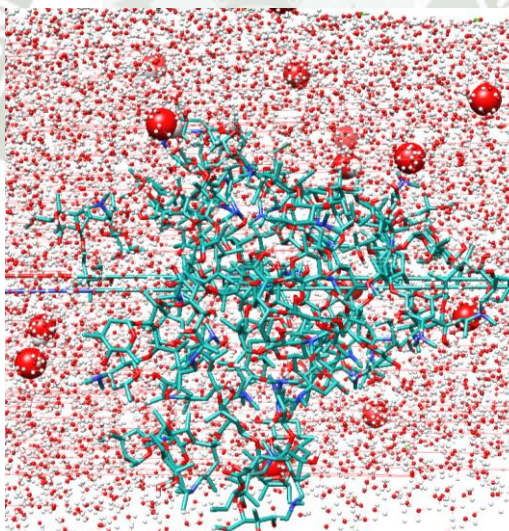
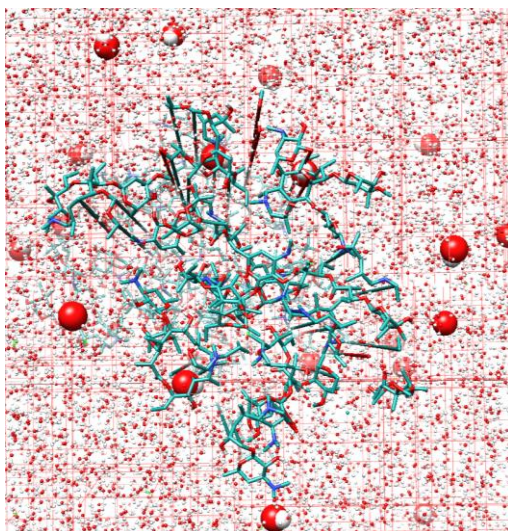
300 K (28°C)

323 K (50°C)

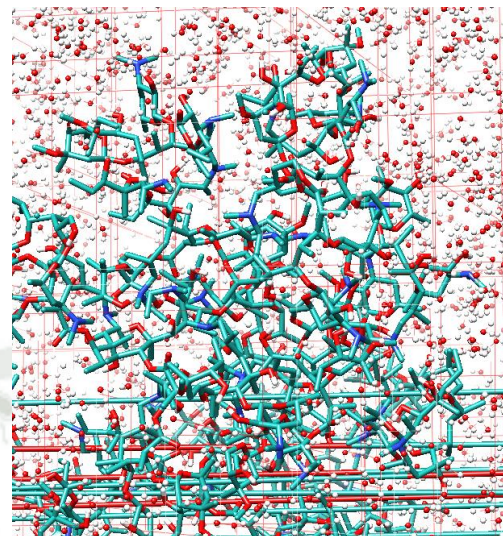
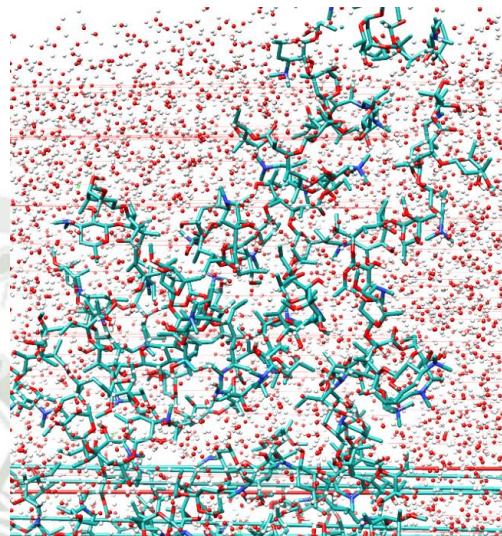
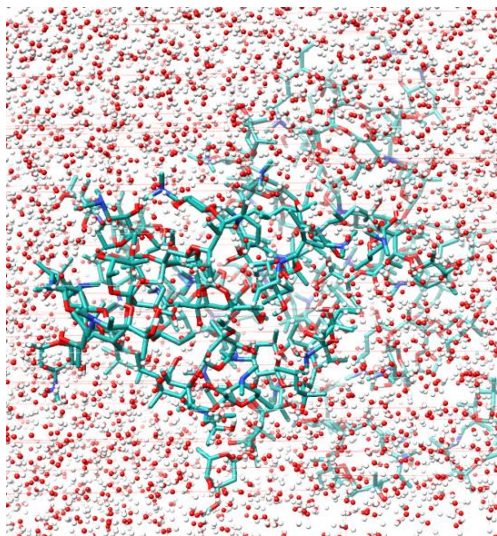
25ZIT + 00H



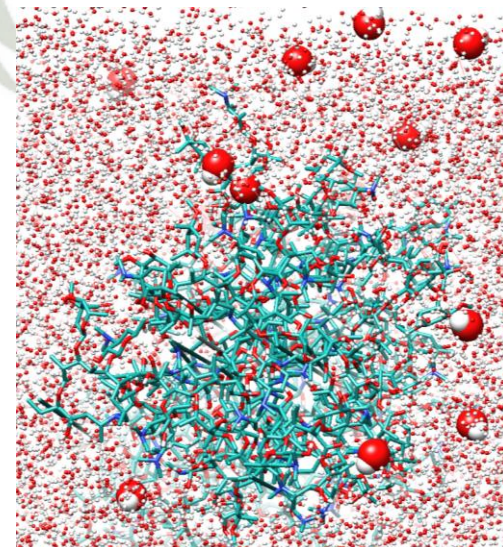
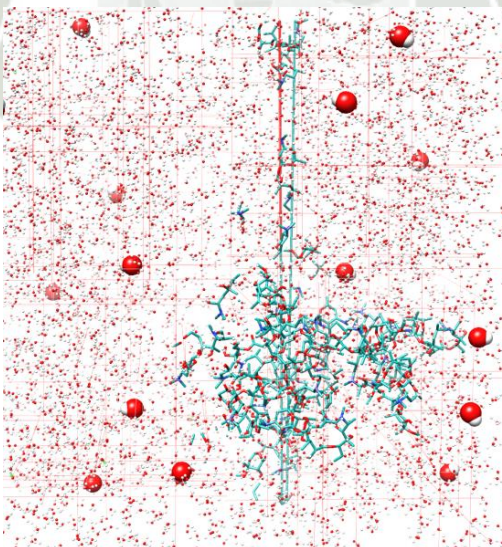
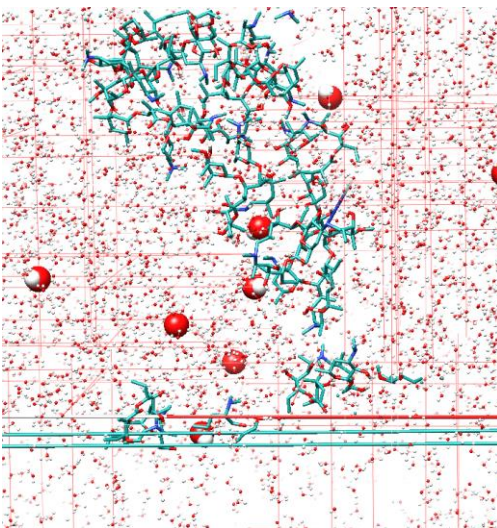
25ZIT + 500H



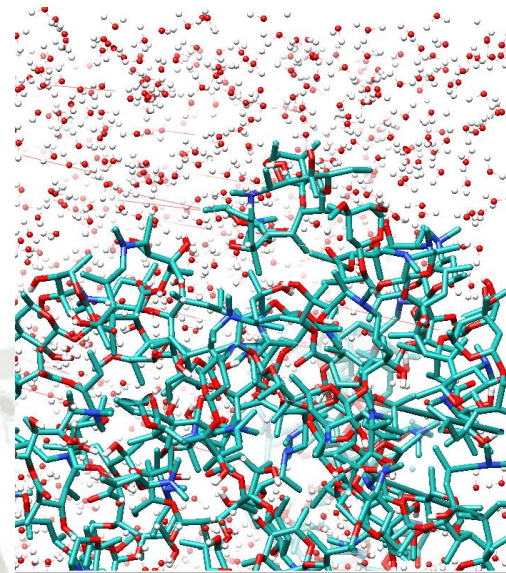
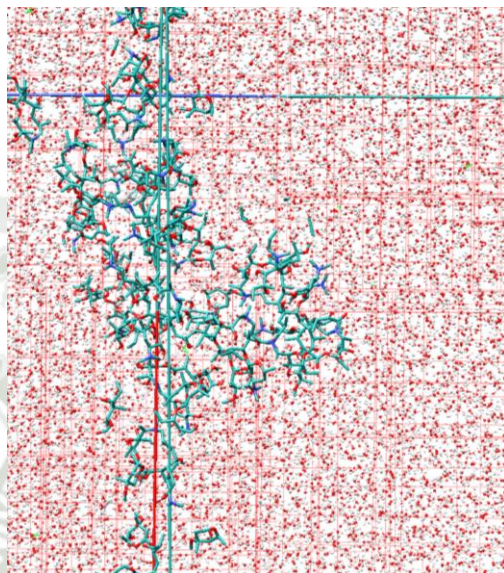
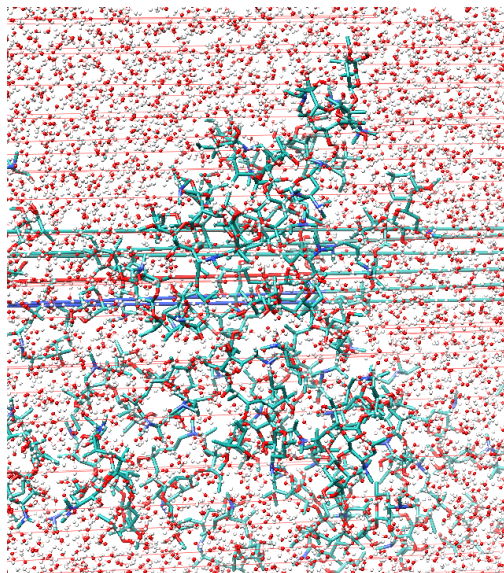
50ZIT + 0OH



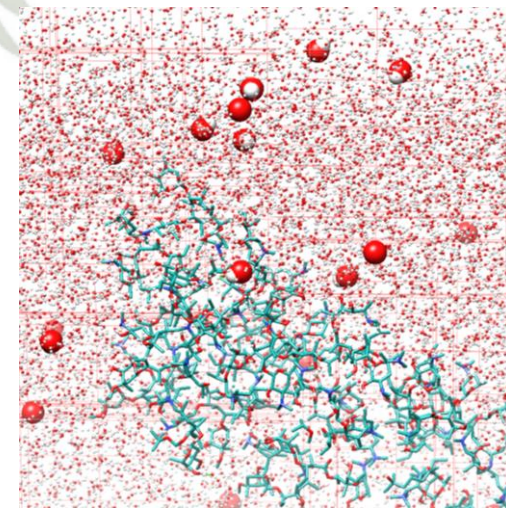
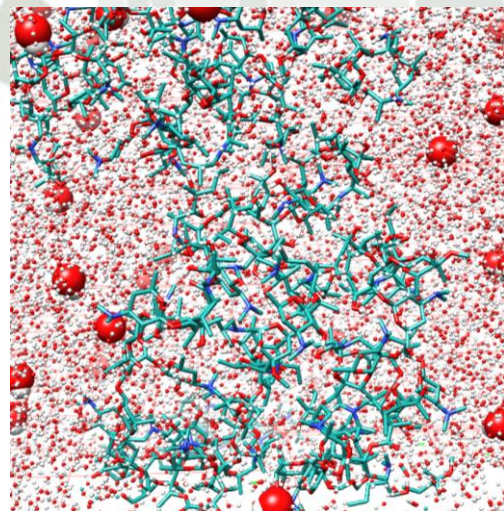
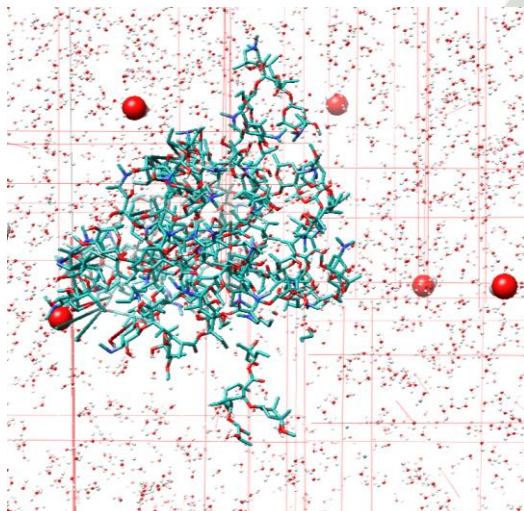
50ZIT + 50OH



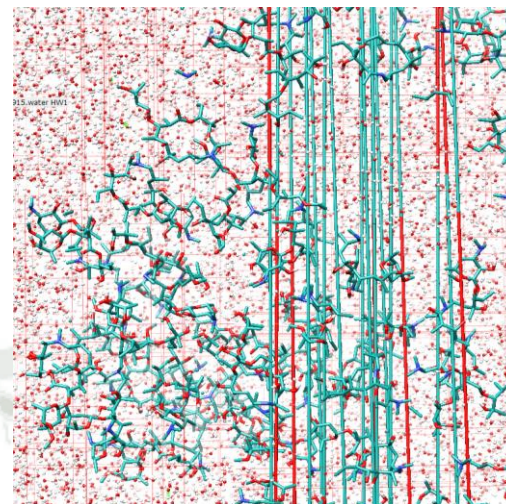
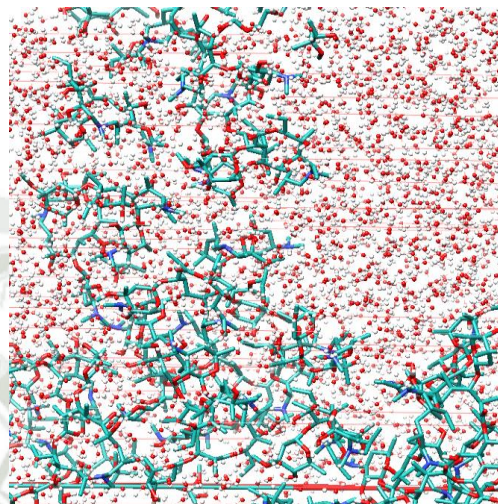
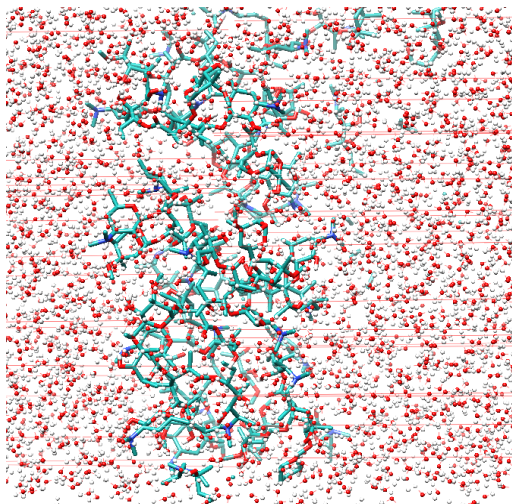
75ZIT + 0OH



75ZIT + 50OH



100ZIT + 0OH



100ZIT + 50OH

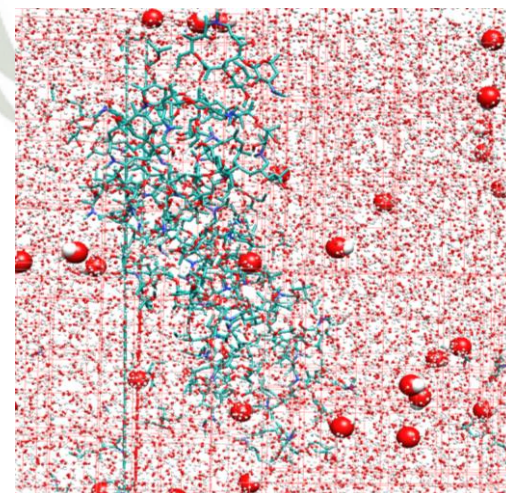
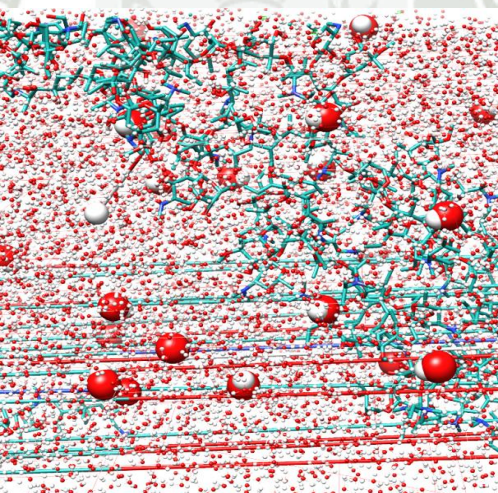
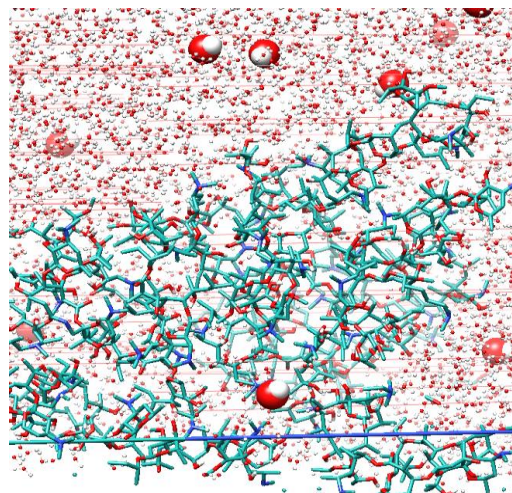
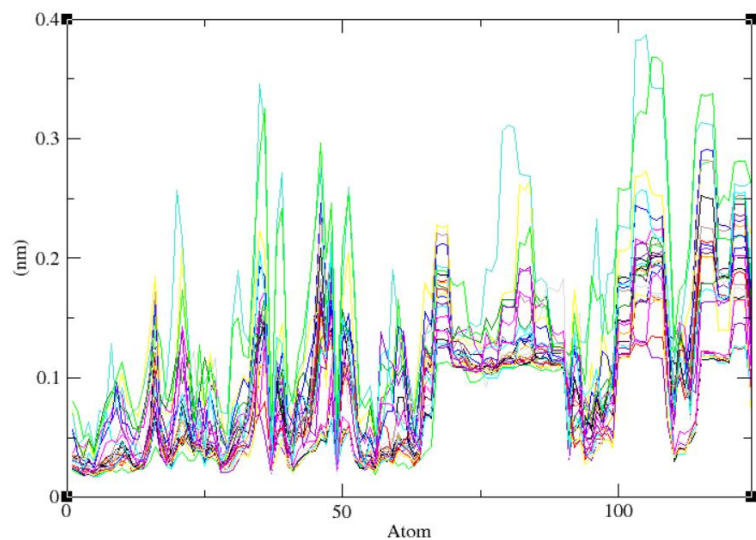


Figura A9. Visualización de la interacción intermolecular de la Azitromicina frente al solvente y el agente oxidante OH.

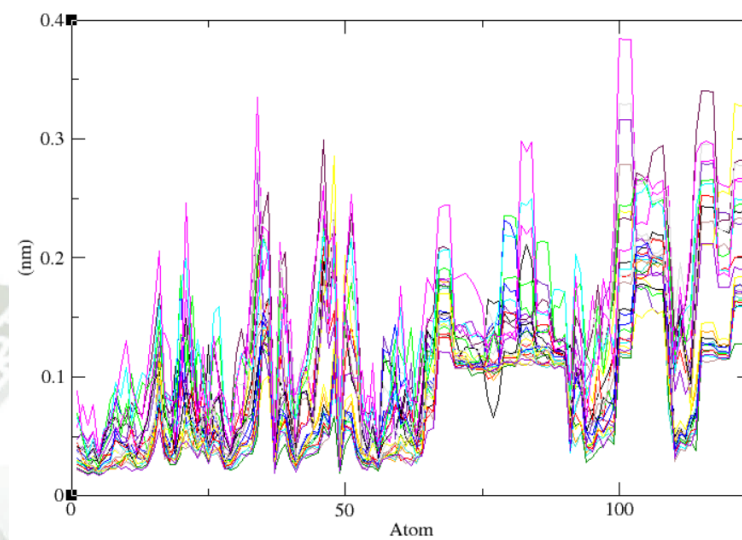
2 4

25ZIT + 0OH

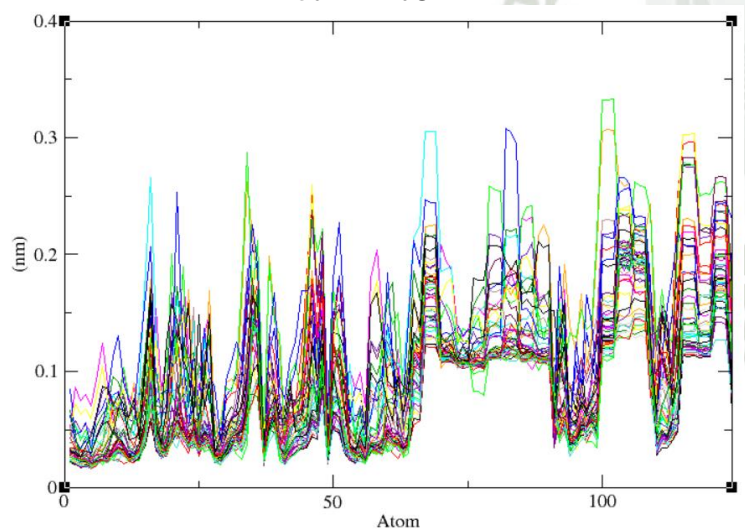
25ZIT + 50OH



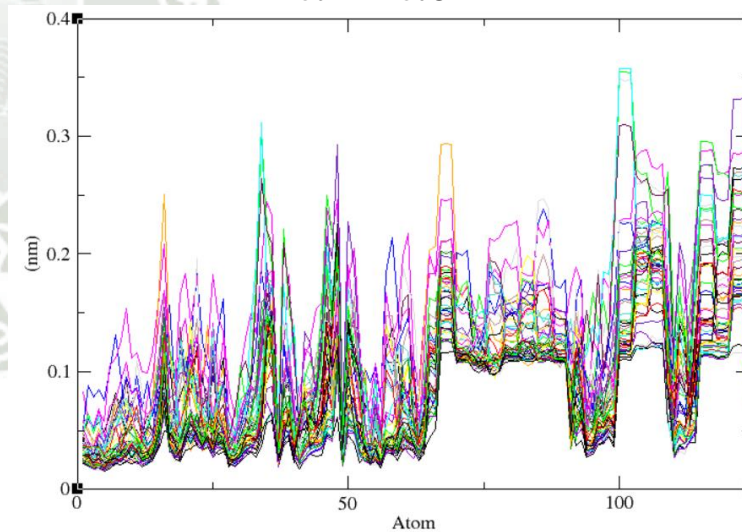
50ZIT + 0OH



50ZIT + 50OH

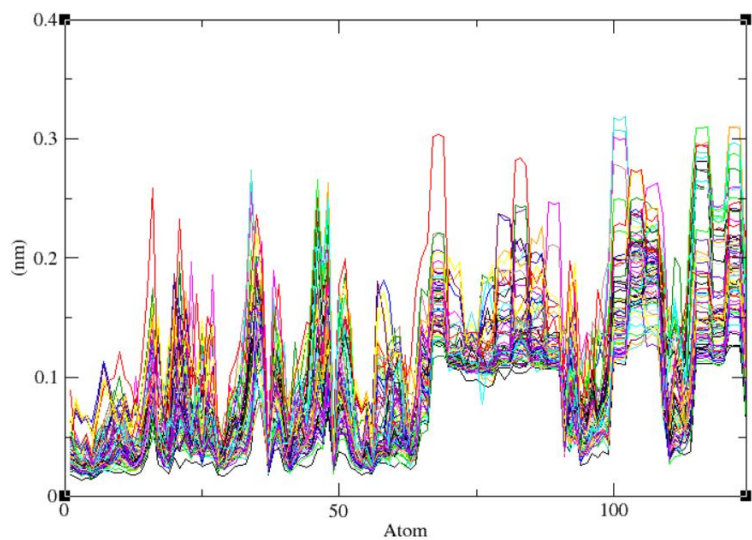


75ZIT + 0OH

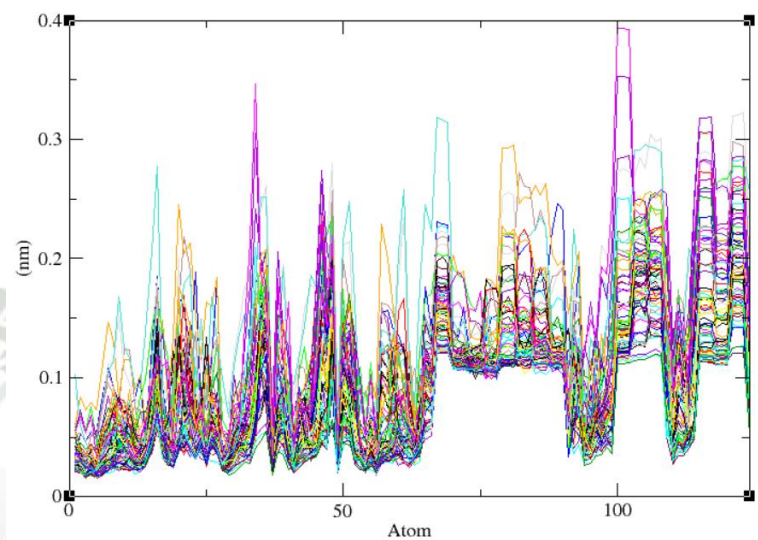


75ZIT + 50OH

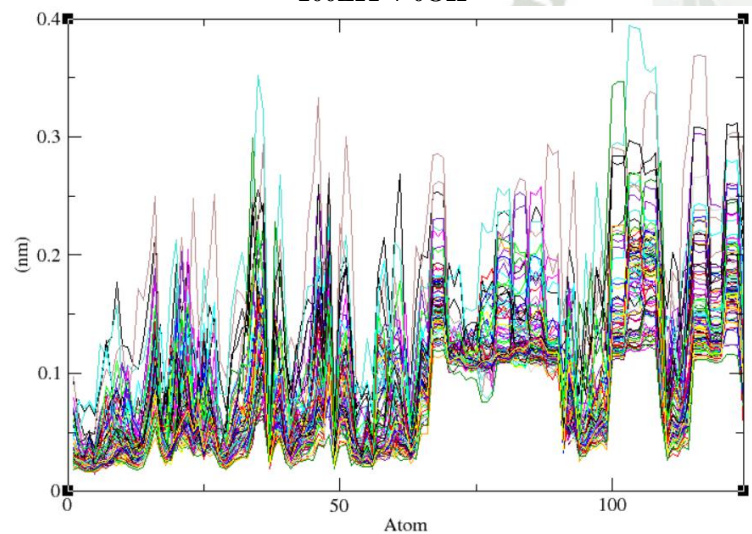
25



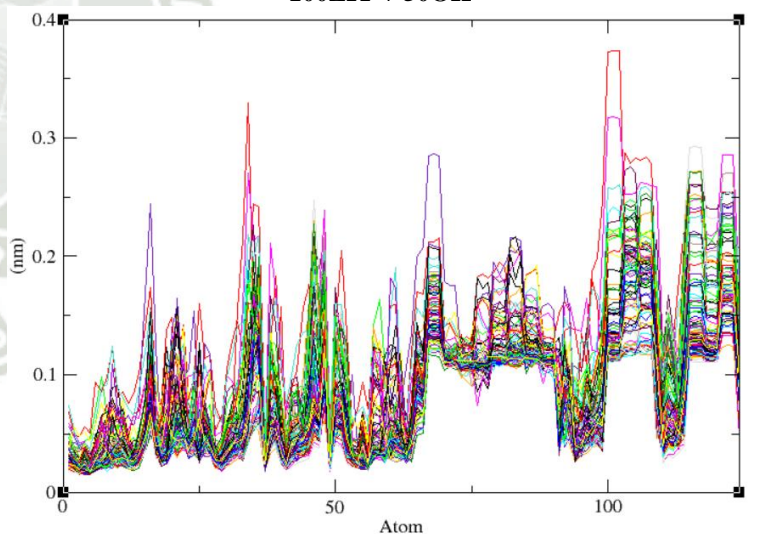
100ZIT + 0OH



100ZIT + 50OH

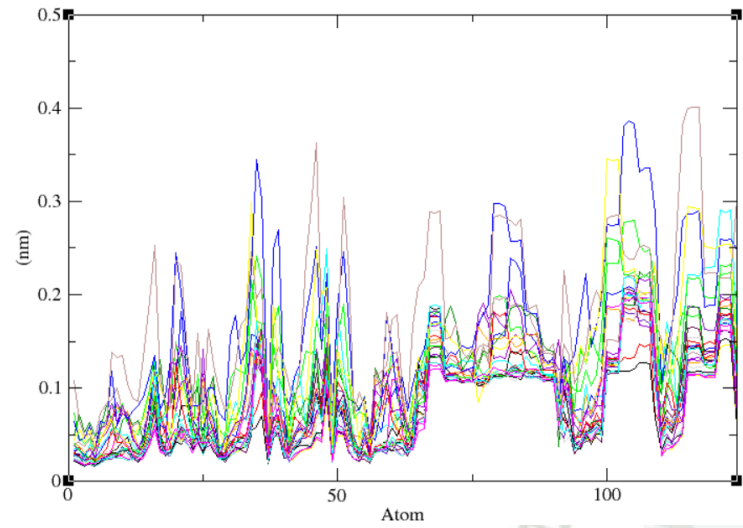


25ZIT + 0OH

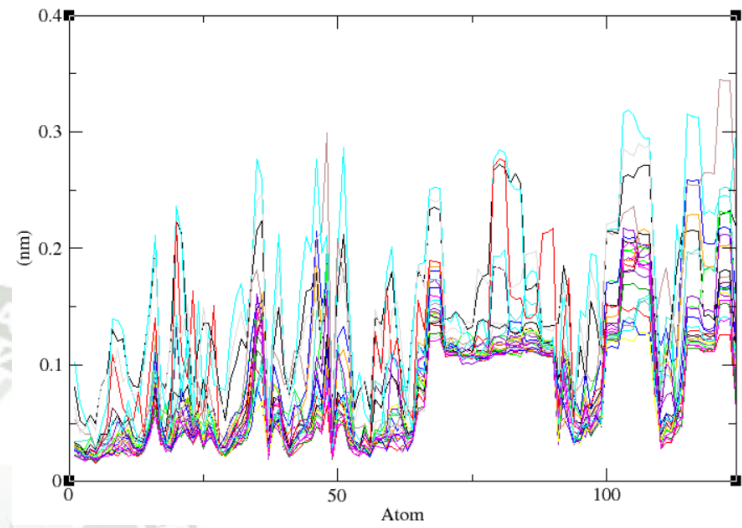


25ZIT + 50OH

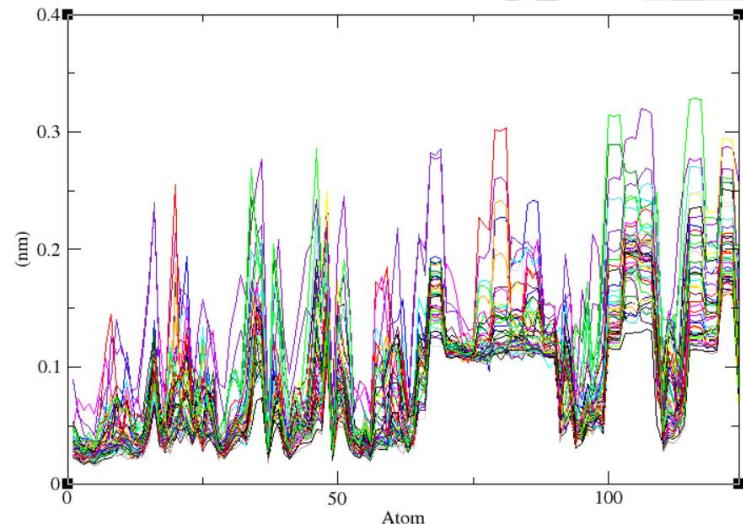
34



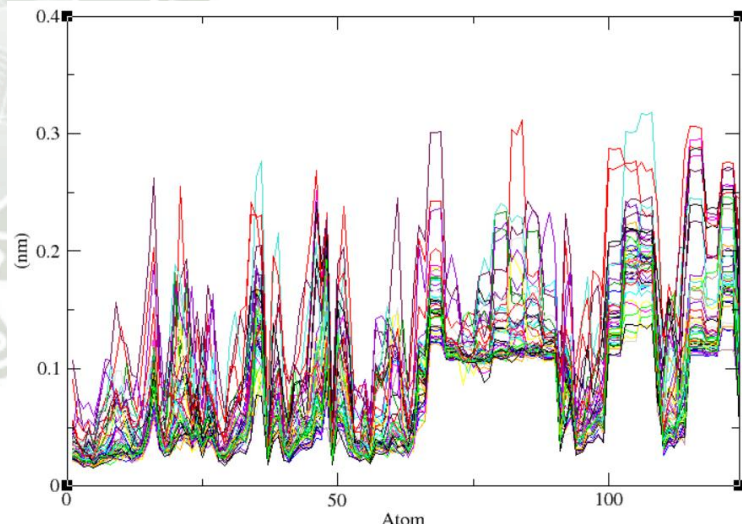
50ZIT + 0OH



50ZIT + 50OH

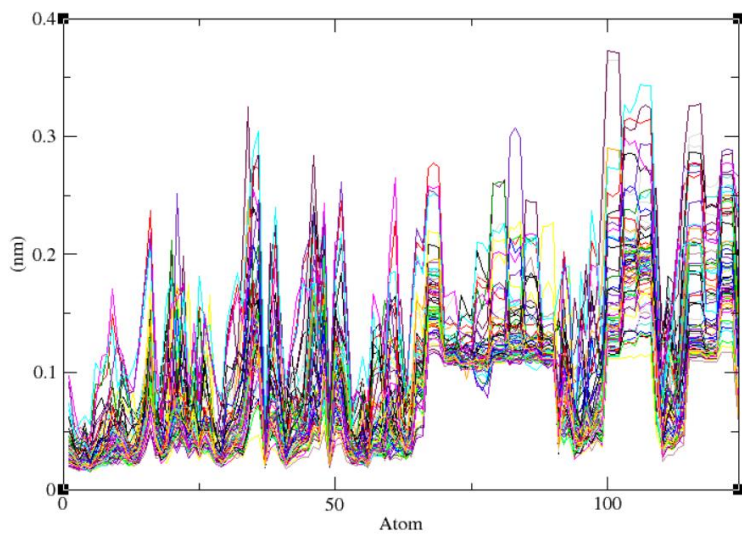


75ZIT + 0OH

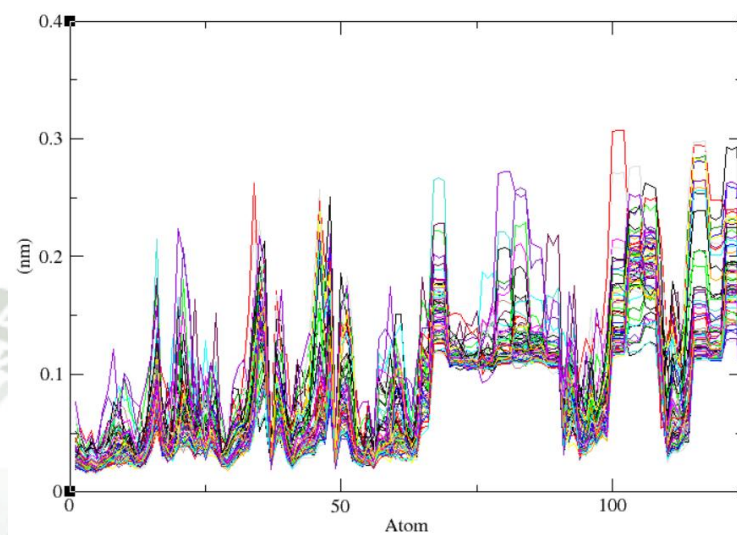


75ZIT + 50OH

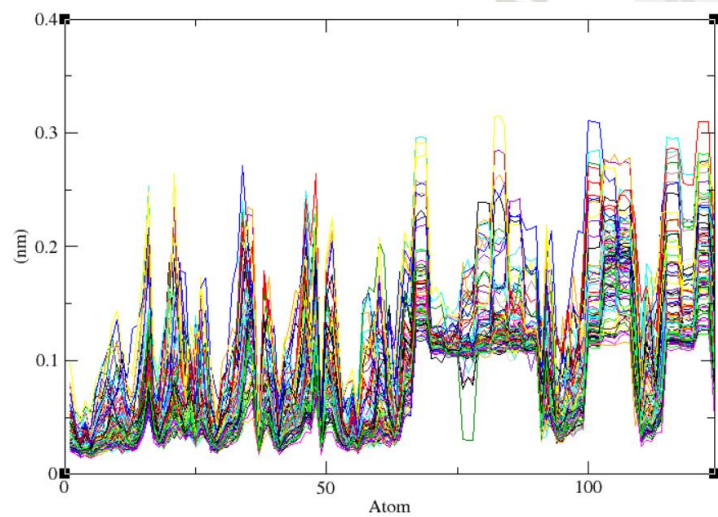
3 4



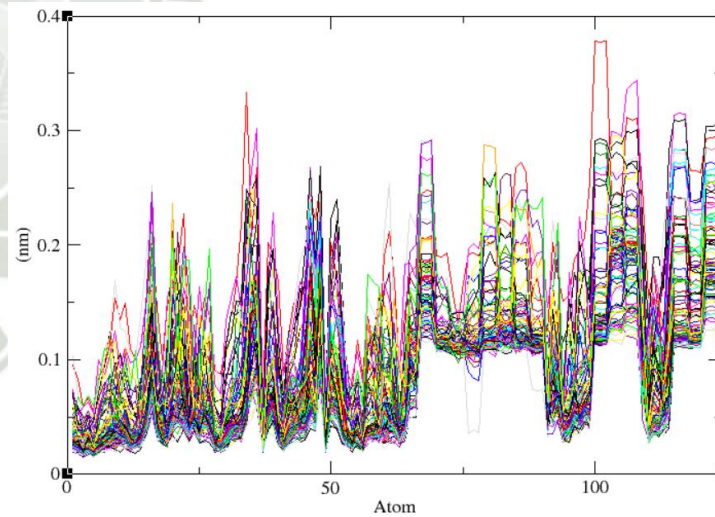
100ZIT + 0OH



100ZIT + 50OH

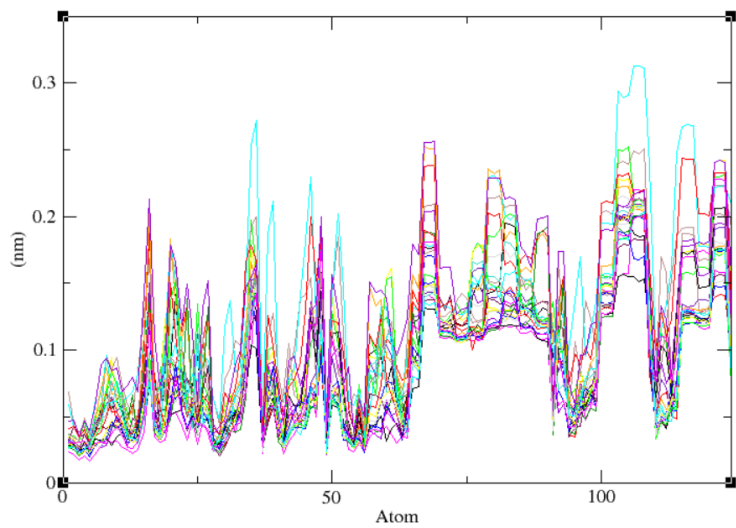


25ZIT + 0OH

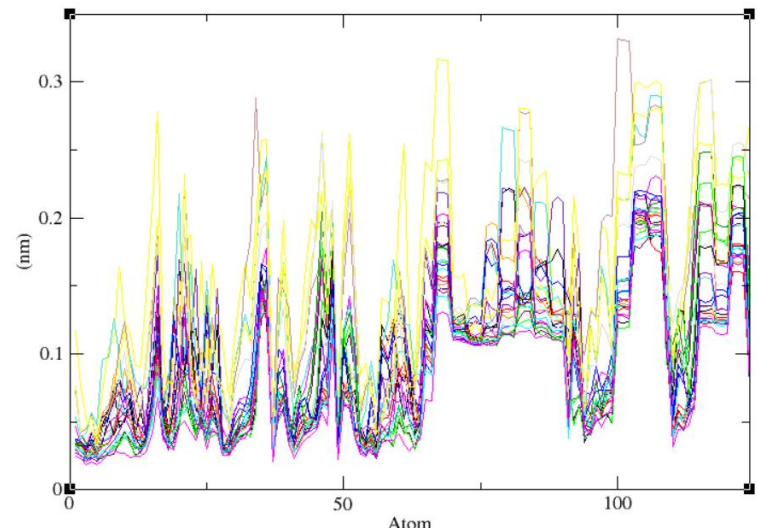


25ZIT + 50OH

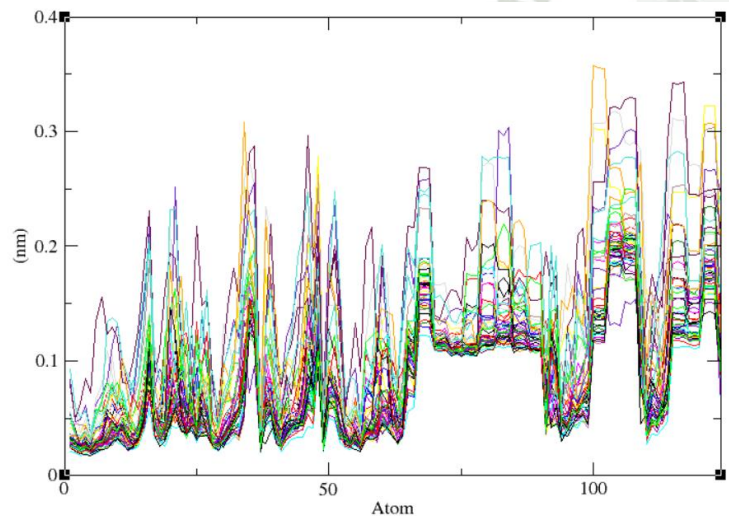
3 c



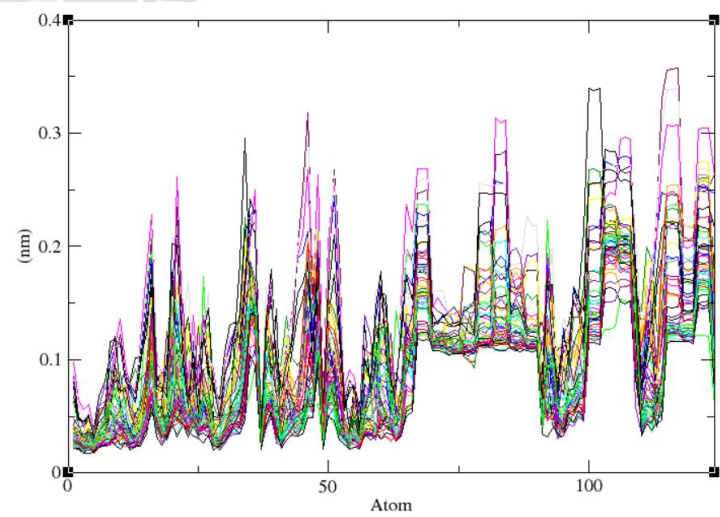
50ZIT + 0OH



50ZIT + 50OH



75ZIT + 0OH



75ZIT + 50OH

3 c

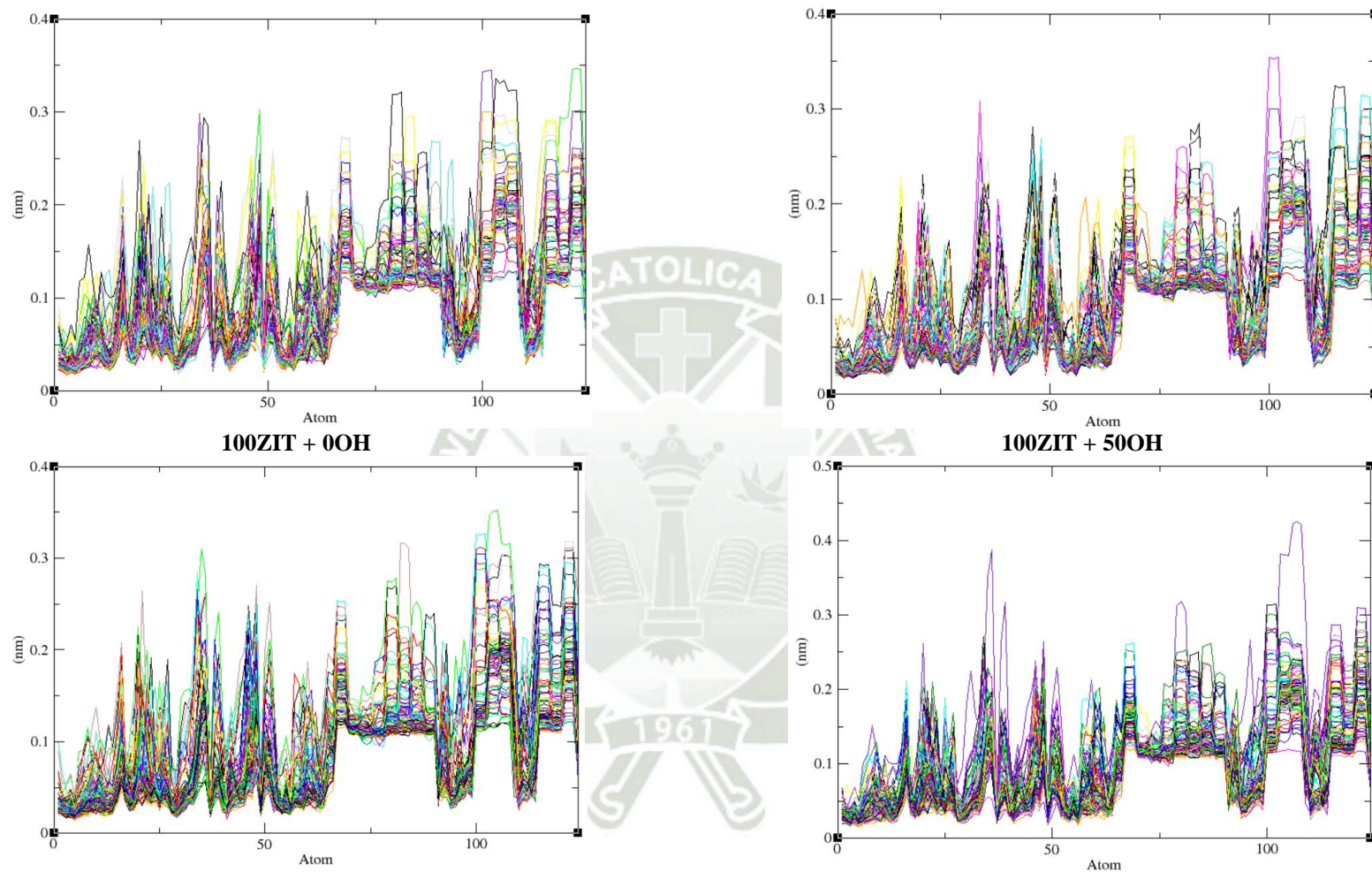


Figura A10. Representación Gráfica de RMSF de las moléculas de Azitromicina sobre puestas y la visualización del comportamiento de una respecto a otra molécula a lo largo de la trayectoria en las diferentes condiciones de estudio.

