

## Determinación del espectro infrarrojo de Penicilina G usando TFD Determination of the infrared spectrum of Penicillin G using DFT

D. A. Arteaga-Céh <sup>a</sup>, J. Lozada-Coronel <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Escuela Superior de Apan, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 43920, Apan, Hidalgo, México.

### Resumen

Los antibióticos han sido de gran utilidad en términos de salud y de investigación científica. Para poder estudiar el mecanismo mediante el cual un antibiótico funciona, es necesario conocer su composición química. Esto se logra mediante técnicas de caracterización. Al ser compuestos orgánicos se pueden degradar o sufrir cambios al someterse a ciertos tratamientos. Una técnica de caracterización que no compromete a la muestra es la espectroscopía infrarroja la cual puede ser realizada en laboratorio o de manera teórica con ayuda de sistemas computacionales. En este trabajo se generó el espectro infrarrojo (IR) de Penicilina G (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S) usando DFT, se logró mediante el diseño de la geometría molecular, cálculo de optimización de geometría y frecuencias vibratorias. El espectro obtenido posee similitud con aquellos obtenidos experimentalmente, por tal motivo puede ser utilizado para confirmar la presencia de Penicilina G en alguna muestra de origen orgánico.

*Palabras Clave:* TFD, Espectro infrarrojo, Espectroscopía, Penicilina, Simulación molecular.

### Abstract

Antibiotics have been very useful in terms of health and scientific research. In order to study the mechanism by which an antibiotic works, it is necessary to know its chemical composition. This is achieved by characterization techniques. Being organic compounds, they can degrade or undergo changes when subjected to certain treatments. A characterization technique that does not compromise the sample is infrared spectroscopy, which can be performed in the laboratory or theoretically with the help of computer systems. In this work, the infrared (IR) spectrum of Penicillin G (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S) using DFT, it was achieved through the design of molecular geometry, geometry optimization calculation and vibrational frequencies. The spectrum obtained is similar to those obtained experimentally, for this reason it can be used to confirm the presence of Penicillin G in any sample of organic origin.

*Keywords:* DFT, Infrared spectrum, Spectroscopy, Penicillin, Molecular simulation.

### 1. Introducción

La espectroscopía infrarroja es una técnica que estudia los fenómenos de interacción entre la radiación de origen infrarrojo y la materia, en la cual, sus resultados nos proporcionan información de los procesos de absorción y emisión que ocurre en las moléculas (Aparicio *et al.*, 2012). Esto sucede por un efecto de resonancia entre la frecuencia de un fotón con la frecuencia de un enlace molecular. Una molécula conseguirá pasar de un estado de vibración fundamental (estado basal) a un estado excitado, si la energía proveniente de un fotón logra ser absorbida por un dipolo molecular y en consecuencia se aumentará la vibración de los enlaces atómicos (Mondragón, 2017).

Esta técnica se realiza en un espectrofotómetro de infrarrojo, sin embargo, en ocasiones los procesos de obtención y purificación de la muestra puede ser costosa por el tiempo o reactivos de laboratorio. Por estas razones se ha buscado mejores maneras para poder entender el comportamiento de los átomos, y así es como le ha empleado la química computacional.

La química teórica, también llamada química computacional, es una rama de la química que utiliza modelos matemáticos desarrollados con ayuda de herramientas computacionales para comprender procesos químicos (Cuesta & Meneses, 2020). Gracias al mejoramiento de las tecnologías, la química computacional es capaz de realizar cálculos con resultados que pueden ser

\*Autor para la correspondencia: josue\_lozada@uaeh.edu.mx

Correo electrónico: ar357255@uaeh.edu.mx (Daniel Arturo Arteaga Céh), josue\_lozada@uaeh.edu.mx (Josué Lozada Coronel).

similares a los experimentales (Cuesta & Meneses, 2020), consiguiendo así ahorrar recursos gastados dentro de un laboratorio. Algunos de los cálculos que podemos realizar con ayuda de software es la obtención del espectro infrarrojo (IR). Este cálculo puede ser de ayuda para identificar compuestos nunca antes descritos o en situaciones donde un espectro IR no sea fácilmente identificable, para generar un espectro de esta manera se puede diseñar la molécula del compuesto, realizar una optimización de geometría y posteriormente calcular sus frecuencias vibratorias (Lewars, 2016).

La penicilina, perteneciente a los antibióticos betalactámicos fue descubierta en 1928, por Alexander Fleming, siendo así el primer antibiótico producido por un microorganismo en ser usado con fines terapéuticos. Gracias a su descubrimiento múltiples problemas de salud han sido solucionados (Kardos & Demain, 2011). En 1959, se aisló el llamado núcleo de la penicilina, ácido 6-aminopenicil  nico (6-APA); Figura 1. A partir de este compuesto se han producido antibióticos s  nticos (Kardos & Demain, 2011).

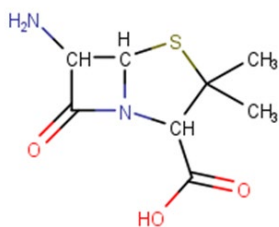


Figura 1. Estructura química de ácido 6-aminopenicil  nico, (6-APA).

Los distintos tipos de antibióticos betalactámicos conservan la estructura del 6-APA, sin embargo, se diferencian en algunos grupos funcionales. (Abulyaissova *et al.*, 2018). Como ejemplo tenemos a la Penicilina G (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S), en la que su grupo funcional característico es un grupo metilo unido a un benceno, ver Figura 2. (Abulyaissova *et al.*, 2018).

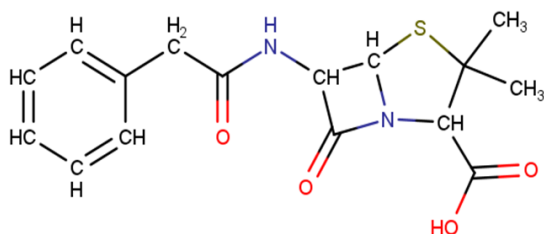


Figura 2. Estructura química de Penicilina G.

Al ser un compuesto que puede estar presente en muestras homogéneas provenientes de microorganismos, es importante tener una estrategia para la identificación del compuesto. Es aquí donde podemos hacer uso de la espectroscopía infrarroja. Existen bases de datos sobre compuestos químicos, dentro de las cuales encontramos diversa información del compuesto. En algunos casos, el espectro IR puede ser consultado en alguna de estas bases de datos. Desafortunadamente, no es el caso de la Penicilina G, para la cual no existe un espectro IR en las bases de datos, por tal motivo el objetivo de esta investigación es generar un espectro infrarrojo mediante métodos teóricos que pueda ser

consultado para la caracterización de muestras donde se sospeche la presencia del antibiótico Penicilina G. Se optó por el uso de química computacional para ahorrar recursos de laboratorio.

## 2. Metodología

### 2.1 Diseño de geometría molecular

Para poder realizar un correcto diseño molecular de la penicilina tipo G se consult   la estructura química en diversas bases de datos. A cada una de las estructuras encontradas en las distintas bases de datos se les prest   atención a la cantidad de átomos por la que está conformada la Penicilina G, así como la distribución de los mismos. De esta manera se generó un consenso de la estructura molecular de la Penicilina G en el programa de Avogadro, el cual es un software de libre acceso utilizado que posee diversas herramientas de utilidad en la química computacional (Avogadro, 2023).

### 2.2 Cálculos de optimización geometría

Optimizar una geometría es encontrar la geometría que minimice la energía total, donde el primer paso es tener algún tipo de geometría aproximada para obtener una disposición de átomos razonable. Este cálculo, así como aquellos que se presenten en los puntos siguientes, se realizó en el software de química computacional Orca, con ayuda de dicho programa pueden realizarse diversos cálculos de química computacional (Neese, 2022).

El programa Avogadro cuenta con extensiones que generan archivos de entrada para el software Orca, dicha extensión ofrece la posibilidad de escoger distintos métodos como, DFT, Hartree-Fock, MP2, así como escoger distintos conjuntos de base. Se utilizaron dichas extensiones para generar los archivos que contienen la información de entrada para realizar cálculos en Orca.

El método elegido para la realización de estos cálculos fue Teoría del funcional de la densidad (TFD), igual mencionado como DFT por sus siglas en inglés, porque se considera que otorga un buen nivel de precisión a un coste computacional redituable (Cramer, 2004). Los niveles de teoría elegido para los cálculos están representados en la Tabla 1.

Tabla 1. Nivel de teoría empleado en cada cálculo.

Método	Funcional	Conjunto de base	Correcciones
DFT	BP86	def2-SVP	RI, def2/J
DFT	BP86	def2-TZVP	RI, def2/J
DFT	BP86	def2-TZVPP	RI, def2/J

### 2.3 Cálculos de frecuencias y generación del espectro

Al terminar el cálculo de optimización de geometría, se genera un archivo que contiene las coordenadas optimizadas de la molécula. A las nuevas coordenadas generadas se les realizó un cálculo de frecuencias vibratorias, con la finalidad de obtener el espectro IR, de la misma manera los archivos fueron generados con ayuda de Avogadro con la misma configuración establecida en Tabla 1.

Al terminar el c culo dentro del archivo generado se obtiene el espectro IR, dichos datos fueron graficados en Excel para una mejor visualización.

#### 2.4 Análisis del espectro

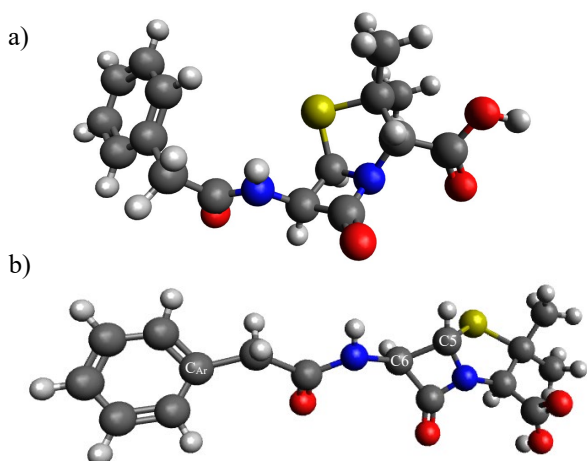
Como una primera evaluación a los espectros IR generados se les realizó el análisis a las bandas con picos más marcados dentro del espectro, principalmente aquellas con número de onda mayor a  $1500\text{ cm}^{-1}$ . Una vez identificadas las bandas se analizó a que grupos funcionales podrían estar asociadas. Y posteriormente los grupos funcionales se identificaron en la estructura molecular de la Penicilina G.

#### 2.5 Comparación con espectros experimentales

Se buscaron espectros IR que se hubieran obtenido bajo métodos experimentales con la finalidad de comparar el espectro generado mediante DFT. De igual manera, los espectros que fueron encontrados, fueron sometidos al análisis descrito en el punto 2.4, y se compararon para notar la similitud entre los patrones de las bandas.

### 3. Resultados

Se consultaron distintas bases de datos de la estructura de Penicilina G y se eligió la estructura encontrada en la base de datos PubChem (NCBI, 2023) como base para realizar un diseño de elaboración propia. Durante la elaboración de geometría, la medida y los ángulos entre los enlaces tuvieron algunas variaciones respecto a las medidas de la estructura recuperada de PubChem. Después se realizó la optimización de geometría para generar geometría molecular con enlaces químicos apropiados para realizar el c culo de frecuencias vibratorias, Figura 3b.



**Figura 3.** Geometría molecular de Penicilina G: Geometría recuperada de PubChem; b) geometría obtenida después de la optimización de geometría.

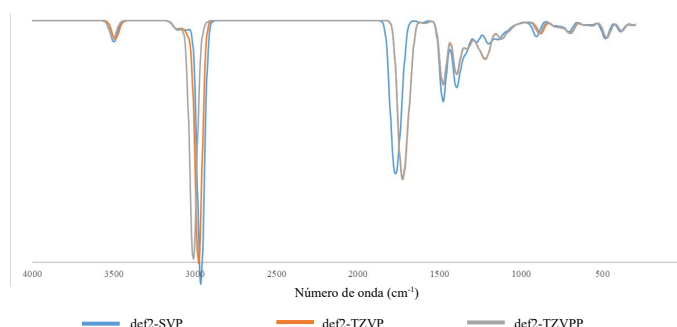
Los ángulos de los enlaces de las estructuras generadas fueron comparados con las medidas reportadas por (Abulyaissova *et al.*, 2018) y también se compararon con los ángulos que presenta la estructura de penicilina G depositada en la base de datos Pubchem. Esta comparación est 

representada en Tabla 2 donde únicamente se muestran las medidas de las estructuras más relevantes.

**Tabla 2.** Comparación de la medida de los ángulos de enlaces entre las estructuras de penicilina G a las cuales se tuvo acceso.

�ngulo ( $^\circ$ )	Estructura		
	HF/cc-pVDZ (Abulyaissova <i>et al.</i> , 2018)	PubChem	BP86/TZVPP (Este trabajo)
C <sub>6</sub> -N-C	122.015	123	122.4
N-C-C(H <sub>2</sub> )	117	112.1	116.4
C-C(H <sub>2</sub> )-C <sub>Ar</sub>	118.005	113.3	117.5
C5-C6-N-C	129.784	103.5	64.5
H6-C6-N-H	177.831	150	5.5
C6-N-C-C(H <sub>2</sub> )	179.513	-179.9	176.7
N-C-C(H <sub>2</sub> )-C <sub>Ar</sub>	-11.154	119.9	3.9
C-C(H <sub>2</sub> )-C <sub>Ar</sub> -C	-81.77	-90	-88.4

Una vez realizado el c culo de frecuencias vibratorias, con las coordenadas optimizadas, se generaron los datos necesarios para poder dibujar el espectro Infrarrojo de la estructura diseñada. Se representaron los distintos espectros en una imagen para poder comparar los resultados al usar distintos conjuntos de base como se muestra en Figura 4, en la cual podemos observar cierta similitud entre los espectros generados. A partir de este momento los posteriores análisis se realizaron únicamente al espectro IR obtenido con el conjunto de base def2-TZVPP al ser el espectro IR generado con la base de mayor nivel de teoría que se realizó con éxito.



**Figura 4.** Distintos espectros infrarrojos obtenidos con los diferentes conjuntos de base. De azul se muestra el obtenido con el conjunto de base def2-SVP, de naranja el conjunto de base def2-TZVP y de gris el conjunto de base def2-TZVPP.

Se identificaron algunos de los números de onda donde existían vibraciones de los enlaces químicos, dichas regiones se encuentran en Tabla 3, junto con su grupo funcional al que son atribuidos las bandas presentes en el espectro.

**Tabla 3.** Regiones más representativas dentro del espectro IR de Penicilina G

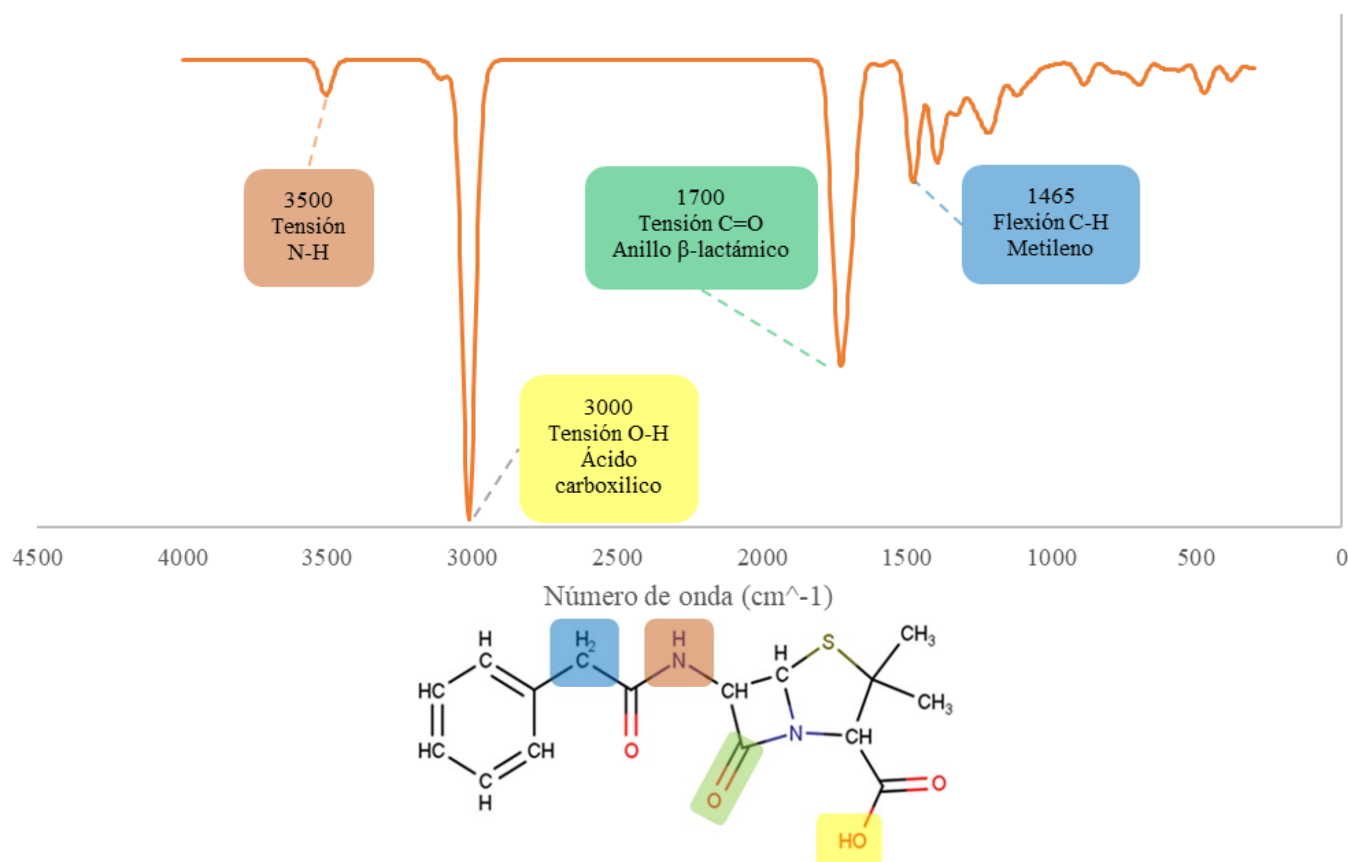
Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Enlace químico asociado	Referencia
3500	Estiramiento del enlace N-H.	(Lorca,2007)
3000	Estiramiento del enlace O-H ubicado dentro del grupo ácido carboxílico.	(Lorca,2007)
1700	Estiramiento del enlace C=O ubicado en el anillo betalactámico.	(Lorca,2007)
1465	Flexión de "tijereteo" en el	(Coates,2006)

plano del enlace C-H  
ubicado en el grupo  
metileno.

una misma imagen junto con el obtenido experimentalmente,  
para comparar la similitud entre los espectros, ver Figura 7.

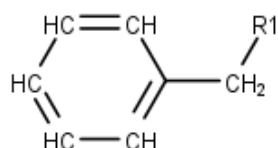
Realizando la interpretación de las bandas de los espectros

### Espectro IR generado con el nivel de teoría def2-TZVPP



**Figura 5.** Relación entre las bandas del espectro IR generado con el conjunto de base def2-TZVPP con los grupos funcionales dentro de la geometría molecular de Penicilina G. Rojo, enlace N-H. Amarillo, enlace O-H del grupo ácido carboxilico. Verde, enlace C=O del anillo betalactamico. Azul, C-H del grupo metileno.

Los grupos funcionales que se identificaron gracias al análisis del espectro infrarrojo, fueron relacionados con la geometría molecular de Penicilina G, la asociación entre bandas identificadas y geometría molecular se puede observar en Figura 5. Tres de los grupos, N-H, C=O, C-H, se ubican dentro de la región perteneciente al 6-APA, por lo tanto, tenemos 3 elementos que nos garantizan que el espectro obtenido pertenece a un antibiótico del tipo betalactamico. Para poder diferenciar el tipo de penicilina, encontramos un grupo metileno, el cual es parte del grupo funcional que diferencia a la Penicilina G de los demás tipos de antibióticos betalactamicos (Abulyaissova *et al.*, 2018), Figura 6.



**Figura 6.** Grupo funcional atribuido a la Penicilina G.

Para darle mayor validez al espectro generado, utilizamos espectros obtenidos por (Xu *et al.*, 2011) y (Yariv *et al.*, 2015) los cuales dentro de sus trabajos reportaron espectros infrarrojos de penicilina G obtenidos con métodos experimentales. Ambos espectros fueron representados en

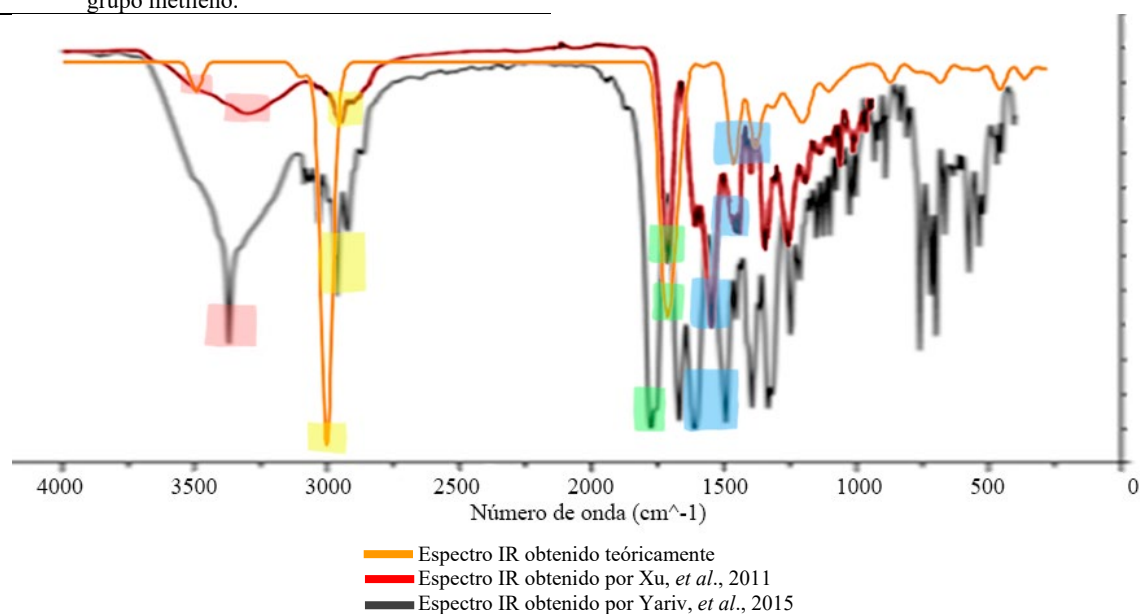
IR experimentales se identificaron las bandas más representativas del espectro IR teórico generado, las frecuencias identificadas se pueden observar en Tabla 4.

**Tabla 4.** Frecuencias de mayor relevancia identificadas en los espectros IR experimentales consultados en esta investigación, se incluyen las encontradas dentro del espectro IR teórico generado para poder comparar las cercanías entre los resultados.

Rango de números de onda (cm <sup>-1</sup> )	Enlace quimico asociado	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )		
		Este trabajo	Xu <i>et al.</i> , 2011	Yariv <i>et al.</i> , 2015
3500-3400	Estiramiento del enlace N-H.	3500	3275	3350
3000-2500	Estiramiento del enlace O-H ubicado dentro del grupo ácido carboxilico.	3000	2950	2980
1750-1630	Estiramiento del enlace C=O ubicado en el anillo betalactamico.	1700	1725	1750
1470-1430	Flexión de "tizereteo"	1465	1450	1500

1380-1370 en el plano del enlace C-H ubicado en el grupo metileno.

que como pudimos observar, en ocasiones es necesaria la comparación entre ambas para poder validar los resultados.



**Figura 7.** Comparación del espectro IR generado junto con espectros obtenidos a través de métodos experimentales. Los recuadros de colores indican los grupos funcionales identificados previamente: Rojo, enlace N-H. Amarillo, enlace O-H del grupo ácido carboxílico. Verde, enlace C=O del anillo betalactámico. Azul, C-H del grupo metileno. Las líneas son los espectros IR de penicilina G: Naranja, método teórico. Línea roja y negra, espectros IR obtenidos mediante métodos experimentales.

Las bandas de los espectros experimentales se encontraban ligeramente desfasadas respecto al IR generado (incluso existen diferencias entre ambos espectros IR experimentales), sin embargo, esto puede deberse a factores durante la toma de muestra durante el protocolo experimental, influyendo en la representación del espectro IR (Mondragón, 2020), o porque los grupos funcionales identificados no poseen un número de onda específico dentro del cual pueden ser identificados, sino que las bandas pueden presentarse dentro de un rango de números de ondas (Lorca, 2007), (Coates, 2006). Por tal motivo, las bandas pueden ser igualmente atribuibles a aquellos grupos funcionales identificados dentro de la geometría molecular de penicilina G. Así mismo, el patrón que siguen las bandas a través del espectro es similar para los espectros analizados.

Por tal motivo, después de los análisis realizados, podemos inferir que el espectro IR generado mediante DFT, posee concordancia con aquellos que han sido reportados en trabajos experimentales. Por lo tanto, nuestro espectro IR obtenido mediante herramientas de química computacional es una buena aproximación teórica frente a los obtenidos por métodos experimentales.

#### 4. Conclusiones

La obtención de espectros IR mediante técnicas computacionales presenta ventajas frente a los métodos experimentales, durante la elaboración de nuestro trabajo el único recurso utilizado fue un hardware computacional, no se tuvo que recurrir a material e insumos para realizar espectroscopía IR, así como evitamos realizar los procesos de purificación previos a someter una muestra a analizar. La química computacional es una gran herramienta, pero no debemos restarle importancia a la química experimental, ya

Una correcta combinación teórico-experimental proporcionará mejores resultados.

La metodología empleada en este trabajo puede ser utilizada para la elaboración de espectros infrarrojo de referencia, a bajo costo y de rápida elaboración (para compuestos pequeños), pudiendo ser utilizados para confirmar la presencia de un compuesto ya conocido dentro de una muestra. En las situaciones donde un compuesto no cuenta con un espectro IR reportado en alguna base de datos, como fue el caso de la Penicilina G, el investigador puede generar el espectro IR del compuesto que desea confirmar su presencia sin la necesidad de realizar espectroscopía IR, pudiendo evitar el uso del material e insumos requeridos para realizar dicha técnica.

Una vez generado el espectro IR, servirá como referencia para comparar con el obtenido por la muestra sometida a espectroscopía IR. Además, en un contexto computacional se descarta la presencia de algún contaminante que comprometa los resultados.

#### 5. Recomendaciones

Las ligeras variaciones entre los espectros IR pueden deberse a algunos factores que influyen mientras se realiza la toma de muestra en el laboratorio (Mondragón, 2020), así mismo puede ser debido al método utilizado en nuestra investigación. Con la finalidad de enriquecer los resultados generados en este trabajo y tener mayor información que nos permita realizar mejores evaluaciones de los resultados, recomendamos realizar la misma metodología, pero escogiendo diversos funcionales pertenecientes al método DFT, esto porque en ocasiones se recomienda someter el cálculo a diversos niveles de teoría para elegir el más apto (Ruiz, 2017). También se recomienda el uso de un equipo de



supercómputo para que el tiempo de cálculo no sea una limitante para realizar cálculos con niveles de teoría más demandantes.

## Agradecimientos

Agradecemos al programa educativo de la Licenciatura en Ingeniería en Biociencias y a la Escuela Superior de Apan perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH) por el apoyo brindado para realizar este proyecto.

## Referencias

- Abulyaissova, L., Kasymova, M., & Minayeva, Y. (2018). Theoretical calculations of natural penicillins: structural and electronic properties. *Bulletin of the Karaganda University. "Chemistry" Series*, 92(4), 28–34.
- Aparicio Marengo, D., Ariza Daza, J., Calvo Trujillo, M., Daza Cuello, J., & Ech  vez Plata, E. (2012). Espectroscopia infrarroja: una técnica alternativa para la identificación de microorganismos. *Ciencia y Salud Virtual*, 4(1), 123.
- Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool. Version 1. XX.
- Coates, J. (2006). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry* (eds R.A. Meyers and M.L. McKelvy).
- Cramer, C. J. (2004). Essentials of Computational Chemistry Theories and Models. In *Essentials of Computational Chemistry* (Vol. 42, Issue 2).
- Cuesta H., S., & Meneses O., L. (2020). La química computacional como herramienta para entender procesos químicos y bioqu  micos a nivel molecular. *InfoANAL  TICA*, 70–101.
- Kardos, N., & Demain, A. L. (2011). Penicillin: The medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 92(4):677-687
- Lewars, E. G. (2016). *Computational chemistry: Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics*. Third Edition (pp. 1–728). Springer International Publishing.
- Lorca, P. (2007). Caracterización química de metabolitos bioactivos de cepas fúngicas de suelos de praderas de la x región de Chile [Tesis de licenciatura, Universidad Austral de Chile].
- Mondragón, P. (2017) Espectroscopia de infrarrojo para todos...y 51 espectros de alimentos consumidos en México. 1st ed., CIATEJ, Guadalajara, Jalisco 03-27.
- Mondragón, P. (2020) Análisis de los espectros de infrarrojo. En *Principios y aplicaciones de la espectroscopia de infrarrojo en el análisis de alimentos y bebidas* (66-82). Guadalajara: CIATEJ.
- National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 5904, Penicillin G. Recuperado el 8 de septiembre, 2023.
- Neese, F. Software update: The ORCA program system—Version 5.0. *WIREs Comput Mol Sci*. 2022; 12: e1606.
- Ruiz, A. (2017). Cálculos DFT de las geometrías de equilibrio de complejos de rutenio (ii) con ciclopentadienilo [Universidad de Almer  a].
- Xu, W., Xie, P., Fan, L., Cao, C., Xi, T., & Zhou, P. (2011). Synthesis and characteristics of a novel artificial hapten using the copper mercaptide of penicillenic acid from penicillin G for immunoassay of heavy metal ions. *Science China. Life sciences*, 54(9), 813–821.
- Yariv, I., Lipovsky, A., Gedanken, A., Lubart, R., & Fixler, D. (2015). Enhanced pharmacological activity of vitamin B and penicillin as nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 10, 3593–3601.