

## CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE VANCOMICINAS ADQUIRIDAS EN CUMANÁ, ESTADO SUCRE, VENEZUELA

### PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF ACQUIRED VANCOMYCINS IN CUMANÁ, SUCRE STATE, VENEZUELA

LORENA ABADÍA-PATIÑO<sup>1\*</sup>, BEATRIZ HIDALGO<sup>2</sup>, SAÚL MOSQUEDA<sup>3</sup>, JOSÉ LUÍS PRIN<sup>4</sup>

Universidad de Oriente, Vicerrectorado Académico, Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas – IIBCA “Dra. Susan Tai”, <sup>1</sup>Departamento de Biomedicina, <sup>4</sup>Departamento de Ciencia de los Materiales, Cumaná, Venezuela, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, <sup>2</sup>Departamento de Bioanálisis, <sup>3</sup>Departamento de Matemáticas, Cumaná, Venezuela

\*Correspondencia: Lorena Abadía-Patiño , E-mail: labadia@udo.edu.ve; biociencia2013@gmail.com

#### RESUMEN

Vancomicina es un antibiótico glicopéptido, empleado en infecciones graves por cocos Gram positivos, principalmente, *Staphylococcus* y *Enterococcus*. El uso de antibióticos genéricos, siempre trae desconfianza en su efectividad. En el hospital universitario “Antonio Patricio de Alcalá” en Cumaná, estado Sucre, Venezuela, se reportaron fracasos terapéuticos con el uso de diferentes vancomicinas de las marcas Behrens, Celovan, Fada Pharma, Vancocyn y Vancomax. El objetivo general del estudio fue evaluar las diferentes vancomicinas desde el punto de vista físico-químico, para determinar si había alguna diferencia que pudiera estar asociada al fracaso terapéutico. Las vancomicinas fueron reconstituidas en agua destilada, agua desionizada, Ringer lactato, cloruro de sodio (0,45%) y solución salina fisiológica (0,9%). Se midió el pH de las vancomicinas al momento de la reconstitución, a los tres y seis meses después. Fada Pharma y Vancocyn precipitaron a los seis meses. La reconstitución en Ringer lactato y agua destilada, produjo valores de pH fuera del rango teórico fisiológico. Por espectrofotometría de infrarrojo con transformada de Fourier, se demostró que en las vancomicinas estudiadas existen de 9 a 10 grupos funcionales de los 23 que contiene la molécula original y esos son los responsables de las interacciones intermoleculares de vancomicina con el precursor del péptidoglicano, para formar los cinco puentes que le confieren estabilidad al dominio bacteria-antibiótico. Se estimó el número de moléculas necesarias para unirse a los precursores del péptidoglicano y todas las vancomicinas tienen las moléculas necesarias para alcanzar el éxito terapéutico, siendo Celovan, la que más moléculas tuvo. Al estudiar las vancomicinas por microscopía electrónica, se encontró que no presentaron uniformidad en su morfología, indicando un polimorfismo claro entre las cinco marcas. Se detectaron diferencias físico-químicas que pueden alterar la entropía y entalpía de las vancomicinas.

**PALABRAS CLAVE:** Biodisponibilidad, bioequivalencia, FTIR, TEM.

#### ABSTRACT

Vancomycin is a glycopeptide antibiotic, used in serious infections by Gram-positive cocci, mainly *Staphylococcus* and *Enterococcus*. The use of generic antibiotics, always brings distrust in their effectiveness. In the university hospital “Antonio Patricio de Alcalá” in Cumaná, Sucre State, Venezuela, therapeutic failures were reported with the use of different vancomycins of the brands: Behrens, Celovan, Fada Pharma, Vancocyn, and Vancomax. The main objective of this study was to evaluate the different vancomycins from the physical chemical point of view, to verify if there was any difference that could be associated to the therapeutic failure. The vancomycins were reconstituted in distilled water, deionized water, lactated Ringer, sodium chloride (0.45%) and physiological saline solution (0.9%). The pH of the vancomycins was measured at the time of reconstitution and three and six months afterwards. Fada Pharma and Vancocyn precipitated at six months. Reconstitution in lactate ringer and distilled water produced pH values outside of the theoretical physiological range. By infrared spectrophotometry with Fourier transform, it was shown that in the studied vancomycins there are 9 to 10 functional groups of the 23 containing the original molecule and these are responsible for the intermolecular interactions of vancomycin with the precursor of peptidoglycan, to form the five bridges that give stability to the bacterial-antibiotic domain. The number of molecules necessary to bind to the peptidoglycan precursors was estimated and all the vancomycins have the necessary molecules to reach therapeutic success, being Celovan the one that had the most molecules. When studying the vancomycins by electron microscopy, it was found that they did not present uniformity in their morphology, indicating a clear polymorphism among the five marks. There are physical-chemical differences that can alter the entropy and enthalpy of vancomycins.

**KEY WORDS:** biodisponibility, bioequivalence, FTIR, TEM.

#### INTRODUCCIÓN

La estructura química de la vancomicina fue identificada con estudios de difracción de rayos X. La fórmula molecular es C<sub>66</sub>H<sub>75</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>9</sub>O<sub>24</sub>; está

constituida por residuos de glucosa, ácido aspártico, N-metil-leucina, ácido 3-metil-4cetoheptanoico, dos grupos *orto*-metil-hidroxibenceno y dos grupos *para*-metil-hidroxibenceno (Dámaso 1990). El mecanismo

de acción de vancomicina, consiste en la inhibición extracelular de la síntesis de péptidoglicano, que interactúa con los precursores del péptidoglicano, a nivel de los residuos D-alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala), mediante cinco puentes de hidrógeno (L-alanina, D-glutamina, L-lysina, D-alanil y D-alanina), evitando así la unión cruzada entre diferentes cadenas, con la consecuente inhibición de la acción de transpeptidasas y transglicosilasas (Reynolds 1989, Arthur *et al.* 1996, Pootoolal *et al.* 2002).

Los fármacos genéricos, se caracterizan por presentar las mismas características (cualitativas y cuantitativas) del principio activo, es decir, que tengan la misma forma farmacéutica y que se demuestre bioequivalencia con el innovador, mediante estudios de biodisponibilidad. Aunque los fármacos genéricos, tengan la misma fórmula química que el genérico, la preparación y los excipientes que se usan para su elaboración pueden no ser los mismos, por lo tanto, varía su biodisponibilidad y farmacocinética. En teoría no existe gran diferencia entre genéricos cuando se administran por vía intravenosa ni intramuscular (García *et al.* 2010).

Técnicas como la Espectrometría Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, por sus siglas en inglés), son utilizadas básicamente para verificar y contrastar compuestos de importancia clínica. La FTIR, es una técnica cuya radiación infrarroja (IR) es transmitida (o reflejada) a través de una muestra. Una parte de la radiación IR es absorbida por la muestra y otra es transmitida. El espectro resultante representa la absorción molecular y la transmisión, creando una impresión digital molecular de la muestra. Igual que con una impresión digital, no existen dos estructuras moleculares que generen el mismo espectro IR, lo que hace a este método muy útil para varios tipos de análisis (Saptari 2004).

La imagen que se obtiene a través de la técnica TEM es plana y monocromática, pudiendo llegar a un límite de resolución de 0,3 nm (Clarke 2002). Estas técnicas son de gran utilidad a la hora de determinar grupos funcionales y morfologías estructurales de macromoléculas como vancomicina, permitiendo estudiar las interacciones de dicho antibiótico con el sitio diana de las bacterias Gram positivas.

Este estudio fue diseñado para evaluar las diferentes vancomicinas desde el punto de vista físico-químico, para ver si había alguna diferencia, que indicara el fracaso terapéutico.

Clínicamente, es importante, porque se salvaría la vida de los pacientes, empleando genéricos que tengan efecto *in vivo*, para la erradicación de la carga bacteriana y resolución de la infección.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Antimicrobianos

Se probaron cinco vancomicinas genéricas (Behrens, Celovan, Fada Pharma, Vancocyn y Vancomax) de diferentes casas comerciales, cuya presentación farmacéutica es vancomicina clorhidrato en polvo liofilizado.

### Determinación de pH

Se pesaron 0,0256 g de cada una de las cinco vancomicinas genéricas, en la balanza analítica y se diluyeron en 10 mL de diferentes soluciones: Ringer lactato, cloruro de sodio 0,45%, solución salina fisiológica (SSF) 0,9%, agua destilada y agua desionizada. Posteriormente, se midieron los pH de cada vancomicina en las diferentes soluciones con el pH Metro (marca Jenway, modelo 3510 pH Meter), el primer día, a los tres y seis meses de experimentación. La lectura del pH a los tres y seis meses solo se midió en el agua desionizada (Williamson y Williams 1984).

### Espectros de las vancomicinas por espectrofotometría de infrarrojo con transformada de Fourier

Se tomaron cinco muestras sólidas de vancomicina en polvo comercial, se sometieron a una mufla a 110°C durante 10 días; culminado este tiempo, se mezclaron con bromuro de potasio (KBr) cada una. Esta mezcla se trituró y se prensó con el fin de obtener una pastilla translúcida que permito el paso del haz de luz. Una vez obtenidas las pastillas, se analizaron en el EITF, marca Perkin Elmer, modelo 1000 PC, con resolución de 2 cm<sup>-1</sup>, en un rango de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. En función de los espectros de cada muestra, se determinaron las áreas totales y corregidas en modo de Absorbancia. Obtenidas las áreas, se analizaron los espectros de las cinco vancomicinas con el espectro teórico para ubicar los grupos funcionales (Base de datos SDBS).

### Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Los antibióticos vancomicina se pulverizaron en un mortero, de manera de reducir significativamente la granulometría; una vez reducida se colocaron las muestras en un vial y mediante acción de gravedad fueron cayendo las partículas de diferentes tamaños en una rejilla de

3 mm de diámetro preparada en 100 mesh; se sacudieron técnicamente de manera de eliminar las partículas grandes y dejar las más pequeñas. Culminado el proceso de preparación de las muestras se analizaron en un TEM, modelo H-600, marca Hitachi con un voltaje de aceleración de 100 kV en un modo de señal de campo claro. Finalmente, los negativos fotográficos se pasaron a positivos (de Lozano *et al.* 2014).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características organolépticas de las vancomicinas genéricas

En este estudio se evaluaron macroscópicamente las características

organolépticas de las cinco vancomicinas genéricas. Todas las vancomicinas en estudio solubilizaron de forma inmediata y ninguna presentó turbidez en su reconstitución. Las soluciones de Vancocyn y Fada Pharma precipitaron al cabo de los seis meses (Tabla 1). Las cinco vancomicinas tuvieron diferencias ópticas en el tamaño de los granos del polvo y en el color. Behrens es la de grano más grueso (Tabla 1). Cuando se pesaron las cinco vancomicinas, se evidenció una diferencia importante, entre Celovan y las otras vancomicinas, ya que ésta, ocupó un mayor volumen con la misma cantidad pesada con respecto a las otras vancomicinas (datos no mostrados). La que ocupó menor espacio volumétrico fue Vancomax.

Tabla 1. Características organolépticas y solubilidad de vancomicinas genéricas (Behrens, Celovan, Fada Pharma, Vancocyn, Vancomax) analizadas en este trabajo.

Vancomicinas	Forma	Color	Gránulos	N° de lote	Precipitado
Behrens <sup>a</sup>	500 mg, polvo liofilizado	Ligeramente rosada	Gruesos	0053005	No
Vancocyn <sup>b</sup>	500 mg, polvo liofilizado	Rosada	Mediano	V061420	Precipitó a los 6 meses
Vancomax <sup>c</sup>	500 mg, polvo liofilizado	Blanca	Finos	K9303	No
Celovan <sup>d</sup>	500 mg, polvo liofilizado	Blanca	Finos	7600236	No
Fada Pharma <sup>e</sup>	500 mg, polvo liofilizado	Rosada clara	Finos	27109	Precipitó a los 6 meses

a) México, b) India, c) Argentina, d) India, e) Argentina, N°: número.

La consecuencia de estas modificaciones físico-químicas, es que el principio activo precipite, impactando la solubilidad y velocidad de disolución (biodisponibilidad), estabilidad del estado sólido (potencia), características de deformación (compactibilidad), y el tamaño de partícula y forma (densidad del polvo y propiedades de flujo). En la síntesis de los medicamentos, se puede producir durante el proceso diferencias en el tamaño de los gránulos (Manzano y Morales 2001), como lo observado en este trabajo.

### Determinación del pH de las vancomicinas

En las tablas 2 y 3 se muestran las variaciones de pH, las cuales reflejaron que, al reconstituir el polvo liofilizado de las cinco vancomicinas con

distintas soluciones, éstas arrojaron diferentes valores de pH; el rango de pH teórico de la molécula original está entre 2,5 y 4,5. En la Tabla 2 se puede observar que la reconstitución de las vancomicinas en Ringer lactato o agua destilada, alcanza niveles de pH por fuera de este rango (5,4 - 5,6 y 6,5 - 6,8, respectivamente). Al aplicar el análisis de varianza bidimensional se determinó que si hubo diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ) con 1% de confianza, al comparar las cinco soluciones utilizadas (agua destilada; agua desionizada; SSF 0,9%; cloruro de sodio 0,45% y Ringer lactato) en el experimento. La determinación de pH de las vancomicinas en agua desionizada recién reconstituidas, a los 3 y 6 meses, no presentó mayor modificación y se mantuvo siempre dentro del rango de la vancomicina original (Tabla 3).

Tabla 2. Variación de pH de vancomicinas genéricas (Behrens, Celovan, Fada Pharma, Vancocyn, Vancomax) diluidas en diferentes soluciones, analizadas en este estudio.

Vancomicinas	Agua destilada	SSF 0,9%	NaCl 0,45%	Ringer lactato
Behrens <sup>a</sup>	6,8	3,9	3,9	5,5
Vancocyn <sup>b</sup>	6,8	3,4	3,4	5,4
Vancomax <sup>c</sup>	6,5	3,4	3,4	5,5
Celovan <sup>d</sup>	6,5	3,9	3,7	5,4
Fada Pharma <sup>e</sup>	6,5	3,9	3,9	5,6

SSF: solución salina fisiológica. NaCl: cloruro de sodio. a) México, b) India, c) Argentina, d) India, e) Argentina.

Tabla 3. Evolución del pH de vancomicinas genéricas (Behrens, Celovan, Fada Pharma, Vancocyn, Vancomax) reconstituidas con agua desionizada, al inicio, a los 3 y 6 meses de experimentación.

Vancomicinas	Agua desionizada		
	pH inicial	pH 3 meses	pH 6 meses
Behrens <sup>a</sup>	3,1	3,4	3,6
Vancocyn <sup>b</sup>	3,9	4,1	4,2
Vancomax <sup>c</sup>	3,7	4,0	4,6
Celovan <sup>d</sup>	3,1	3,2	3,5
Fada Pharma <sup>e</sup>	3,1	3,1	3,3

a) México, b) India, c) Argentina, d) India, e) Argentina.

En farmacología, el pH influye en la solubilidad del fármaco, por lo que la relación entre pH y la solubilidad de los fármacos ionizados tiene gran importancia en relación a la ionización de ácidos y bases débiles. En el caso de la estructura de vancomicina que presenta grupos ionizables que se relacionan con algunas características químicas del fármaco como la capacidad de unirse a iones metálicos para formar complejos con ciertas secuencias de aminoácidos terminales de péptidos bacterianos presentes en la pared celular, que pueden generar además de partículas sólidas insolubles, la no unión de la bacteria a vancomicina (Revilla 2009).

En procesos infecciosos como los abscesos cerrados, hay ausencia de oxígeno lo cual disminuye notablemente el pH del medio. Los antibióticos activos en la pared, necesitan que las células estén en división para poder actuar, si no, no son efectivos y las condiciones en los abscesos, no son las adecuadas para la división celular (Neu 1987). Esto daría como resultado la ineficacia de vancomicina, no por un problema intrínseco de la molécula utilizada, sino de las condiciones ambientales del proceso infeccioso *per se*. La modificación del pH de un fármaco, alterará su estructura y por lo tanto afectará la farmacocinética y la farmacodinamia. Al ser

vancomicina un antibiótico con un pH muy bajo, éste puede precipitar y por ende degradar otros fármacos, por lo que se debe evitar en lo posible dichas interacciones farmacológicas para no generar fracaso terapéutico (Nath *et al.* 2004, Sweetman 2011).

### Estudio de los espectros de vancomicinas genéricas por FTIR y detección de los grupos funcionales

Se verificaron los espectros de las cinco vancomicinas por la técnica FTIR, para detectar si estaban los grupos funcionales necesarios para interactuar con el pentapéptido de la bacteria. En la Figura 1, se muestran las bandas características de los grupos funcionales más importantes de la vancomicina original. Para Behrens (Fig. 2), Vancocyn (Fig. 3), Vancomax (Fig. 4) y Celovan (Fig. 5) se observaron 10 grupos funcionales de los 23 que contiene la molécula original, sin embargo, para Fada Pharma (Fig. 6), se detectaron nueve grupos funcionales, y sin la detección del grupo NH<sub>2</sub> del intervalo de 1640-1560 cm<sup>-1</sup>. Las bandas reportadas en este estudio fueron: bandas O-H en intervalos de 2900-3400 cm<sup>-1</sup>; N-H 3180-3500 y 1640-1500 cm<sup>-1</sup>; C=O 1700-1730 cm<sup>-1</sup>; NH<sub>2</sub> 1640-1560 cm<sup>-1</sup>; C-O 1000-1300 cm<sup>-1</sup>; C-Cl 780-580 cm<sup>-1</sup>, basado en los grupos funcionales del espectro teórico de vancomicina de la base de datos SDDBS. A pesar de que en este estudio se encontraron de 9 a 10 grupos funcionales, del total (23), los grupos funcionales detectados aquí son de gran importancia, ya que son los responsables de las interacciones intermoleculares de vancomicina con el precursor del péptidoglicano terminado en D-Ala-D-Ala, para formar los cinco puentes que le confieren estabilidad al dominio bacteria-antibiótico. El grupo funcional C-Cl indica que las cinco vancomicinas estudiadas son vancomicina clorhidrato, la forma de uso clínico establecido a nivel mundial.

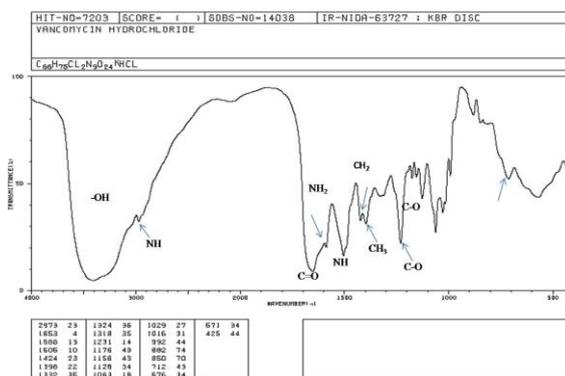


Figura 1. Curva espectral teórica de la molécula vancomicina, mostrando los principales grupos funcionales necesarios para la interacción bacteria-antibiótico

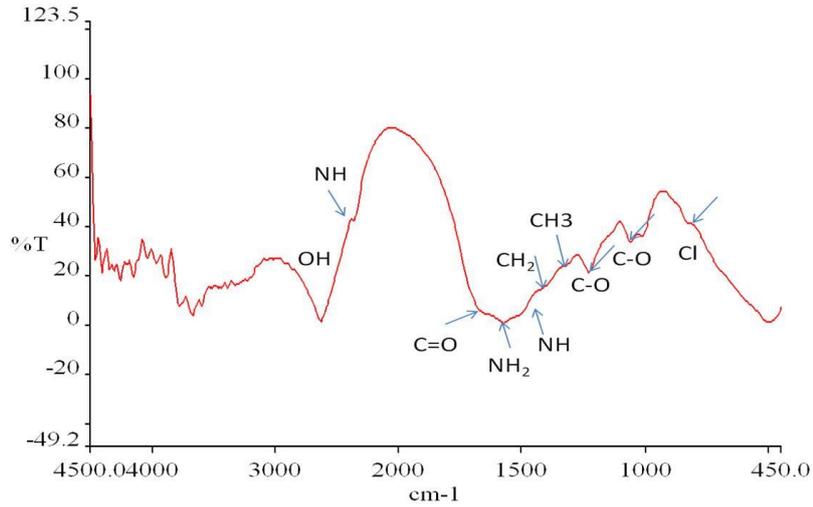


Figura 2. Curva espectral de Behrens por el método de espectrometría infrarrojo con transformada de Fourier, mostrando los principales grupos funcionales necesarios para la interacción bacteria-antibiótico

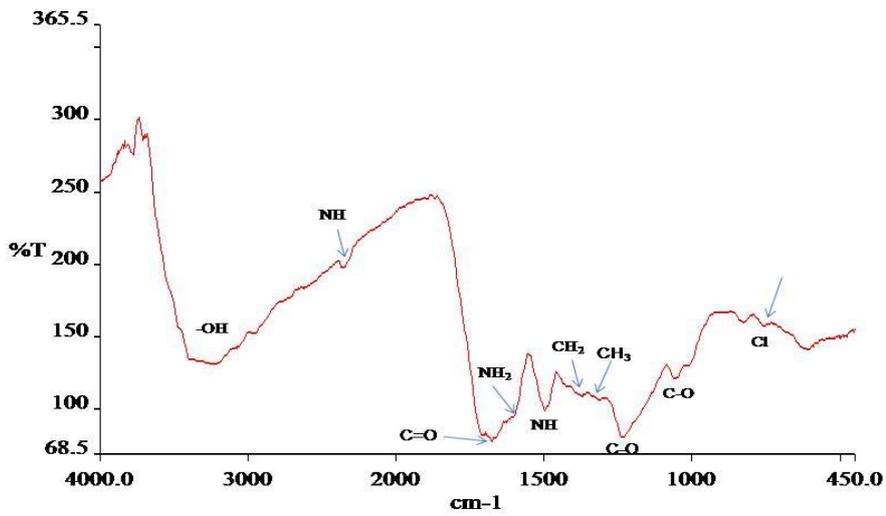


Figura 3. Curva espectral de Vancocyn por el método de espectrometría infrarrojo con transformada de Fourier, mostrando los principales grupos funcionales necesarios para la interacción bacteria-antibiótico.

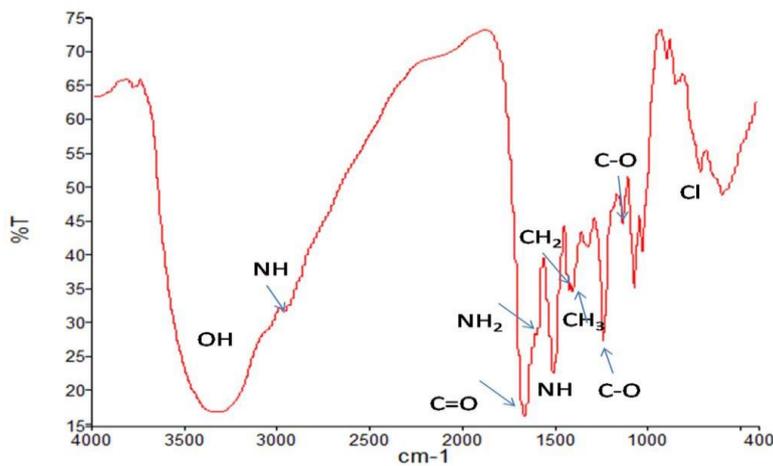


Figura 4. Curva espectral de Vancomax por el método de espectrometría infrarrojo con transformada de Fourier, mostrando los principales grupos funcionales necesarios para la interacción bacteria-antibiótico

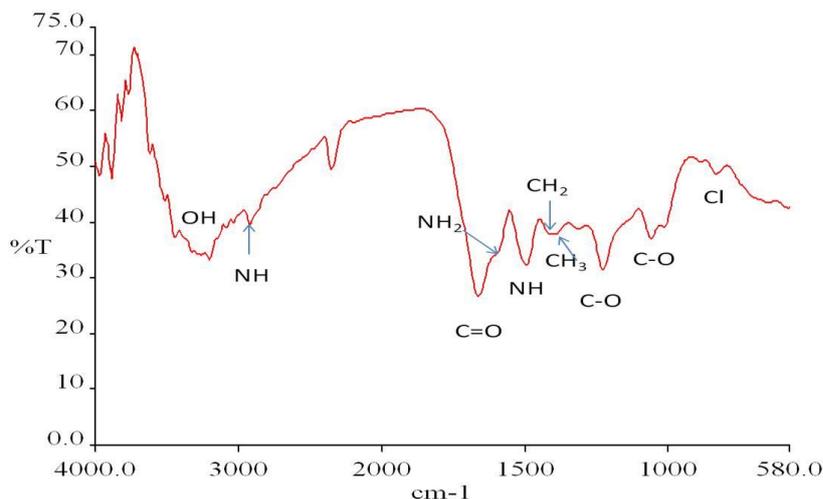


Figura 5. Curva espectral de Celovan por el método de espectrometría infrarrojo con transformada de Fourier, mostrando los principales grupos necesarios para la interacción bacteria-antibiótico.

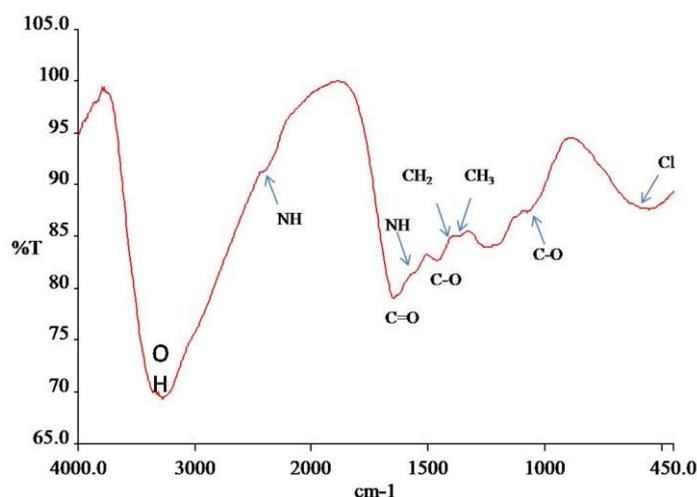


Figura 6. Curva espectral de Fada Pharma por el método de espectrometría infrarrojo con transformada de Fourier, mostrando los principales grupos funcionales necesarios para la interacción bacteria-antibiótico.

En un estudio en el cual realizaron FTIR de vancomicina obtuvieron bandas OH con longitudes de ondas entre 3383-3381 $\text{cm}^{-1}$ ; C=C 1439  $\text{cm}^{-1}$ ; C=O rango 1664-1708  $\text{cm}^{-1}$  y C-O-C 1230  $\text{cm}^{-1}$ . Asimismo, reportaron otra banda no determinada en este estudio, como la banda Ar-O-Ar, que son grupos aromáticos unidos al oxígeno (Zarif *et al.* 2012). En Irán encontraron otras bandas que no se mostraron en los estudios citados anteriormente, como son las bandas CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> con longitudes de ondas de 2950-3000  $\text{cm}^{-1}$  (Loveymi *et al.* 2012). En un estudio en India detectaron otros grupos funcionales como COOH con longitudes de onda de 3387  $\text{cm}^{-1}$ ; R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> 2935  $\text{cm}^{-1}$ ; R-NH-R 2842  $\text{cm}^{-1}$ ; R-CO-NH<sub>2</sub> 1632  $\text{cm}^{-1}$ ; R-O-R 1093  $\text{cm}^{-1}$ , R-NH<sub>2</sub> 687  $\text{cm}^{-1}$  (Lankalapalli *et al.* 2015).

Determinar los espectros de cada vancomicina estudiada permitió demostrar la presencia de los grupos funcionales necesarios

para interactuar con el pentapéptido de la bacteria. Para que vancomicina tenga acción bactericida, deben estar presentes los grupos amida (N-H) que se unen a los carboxilos del pentapéptido (C=O). En las cinco vancomicinas aquí analizadas, se encontraron todos los grupos necesarios para la farmacodinamia correcta. De hecho, no se observó ninguna diferencia entre las cinco vancomicinas en todos los ensayos *in vitro*.

#### Estimación de las moléculas disponibles en cada vancomicina genérica

Se estima que en un tratamiento de vancomicina por cada 100 mg/kg diarios, hay  $1 \times 10^{18}$  moléculas de vancomicina disponibles para unirse a los precursores del péptidoglicano. En dado caso de que exista una infección por cepas SAIV, la bacteria producirá pentapéptidos terminados en D-Ala-D-Ala y dipéptidos D-Ala-D-Ala que serán liberados al medio externo para

atrapar la vancomicina presente en el medio, mientras se sigue formando la pared celular sin interferencia de la vancomicina en el medio (Cui *et al.* 2006). En dicha infección, habrá  $10^6$  dipéptidos D-Ala-D-Ala y entre  $10^3$ - $10^4$  pentapéptidos terminados en D-Ala-D-Ala. Pero para neutralizar  $10^{12}$ - $10^{13}$  precursores del péptidoglicano, solo se necesitan  $10^3$  moléculas de vancomicina (Hiramatsu 1998).

En la Tabla 4, se visualiza que las vancomicinas Vancomax y Fada Pharma, tuvieron la menor concentración, por debajo de 30 mg, sin embargo, cuando se estimó el número de moléculas necesarias para unirse a los precursores del péptidoglicano (basados en el

área C-Cl de los espectros de las vancomicinas), todas las vancomicinas de este estudio tenían las moléculas completas para alcanzar el éxito terapéutico, lo cual viene siendo  $1,5 \times 10^{11}$  precursores del péptidoglicano. Como se puede observar, Celovan es la vancomicina que más moléculas disponibles tuvo.

Vancomicina se une a las proteínas plasmáticas entre 33 a 55%, suponiendo que vancomicina se una 30%, quedaría 70% libre para unirse a los precursores del péptidoglicano, todavía con ese cálculo, las vancomicinas probadas tendrían moléculas suficientes para alcanzar la diana, ya que están disponibles  $1,05 \times 10^{18}$  moléculas de vancomicina.

Tabla 4. Estudio del área de C-Cl de los espectros de todas las moléculas de vancomicina y la determinación de su concentración y número de moléculas disponibles.

Vancomicinas	Área (cm <sup>2</sup> ) del grupo C-Cl	Concentración del antibiótico (mg)	Número de moléculas disponibles
Behrens <sup>a</sup>	0,533	86	$0,9 \times 10^{18}$
Vancocyn <sup>b</sup>	0,412	66	$0,6 \times 10^{18}$
Vancomax <sup>c</sup>	0,165	27	$0,2 \times 10^{18}$
Celovan <sup>d</sup>	3,103	500	$5 \times 10^{18}$
Fada Pharma <sup>e</sup>	0,144	23	$0,2 \times 10^{18}$

a) México, b) India, c) Argentina, d) India, e) Argentina.

### Estudio morfológico de las vancomicinas por TEM

En fármacos sólidos, la morfología puede comprometer la calidad de la droga debido a los cambios en sus propiedades físico-químicas, particularmente, la solubilidad (Martins *et al.* 2014). Cualquier cambio en el acomodamiento intermolecular de fármacos sólidos alterará sus características físico-químicas, ya que esas características serán afectadas intrínsecamente por las conformaciones de los fármacos, afectando no solo su estabilidad sino también su biodisponibilidad (Byrn *et al.* 1999, Lee *et al.* 2011).

Vancomicina es una molécula demasiado grande, producto de un metabolito secundario de *Amycolatopsis orientalis*. Su estructura está compuesta de  $\beta$ -OH-Tyr2,  $\beta$ -OH-Tyr6, 4-OH-Phe-Gly4, 4-OH-Phe-5, 3,5-(OH) 2-Phe-Gly7, Leu1, Asn3 y dos azúcares (glucosil y vancosaminil), en conjunto producen una estructura bioactiva final (Nolan y Walsh 2009). Está bien documentado que hay propiedades que se alteran a causa del polimorfismo del principio activo de los fármacos; entre esas propiedades están la tasa de disolución y la estabilidad de la droga; la reactividad química y fotoquímica, lo

cual afecta la farmacocinética del fármaco; por otro lado, la tensión interfacial, el área de superficie y la superficie libre de energía, morfología de las partículas, modifican la farmacodinamia de la droga. Estos cambios generan trastornos en la entalpía y entropía de los fármacos (Lee *et al.* 2011).

En la Figura 7 se visualizan diferentes estructuras morfológicas de las vancomicinas obtenidas por TEM. Según las imágenes, se pudo observar que las estructuras de las cinco vancomicinas no presentaron uniformidad en su morfología. En la estructura de Behrens se observan grumos aglomerados con superficies irregulares, Vancocyn y Fada Pharma se visualizan morfologías laminares, Vancomax también presenta morfología laminar, pero con tendencia a la formación de grumos; Celovan presentó una morfología con tendencia esférica pero separada. Las vancomicinas con mayor área de superficie son Vancocyn y Fada Pharma lo cual genera una mayor tensión interfacial, que en teoría aumentaría la interacción bacteria-antibiótico. Se sabe que, según la fabricación del fármaco, se van a formar cristales, generando polimorfismos del mismo medicamento (Manzano y Morales 2001).

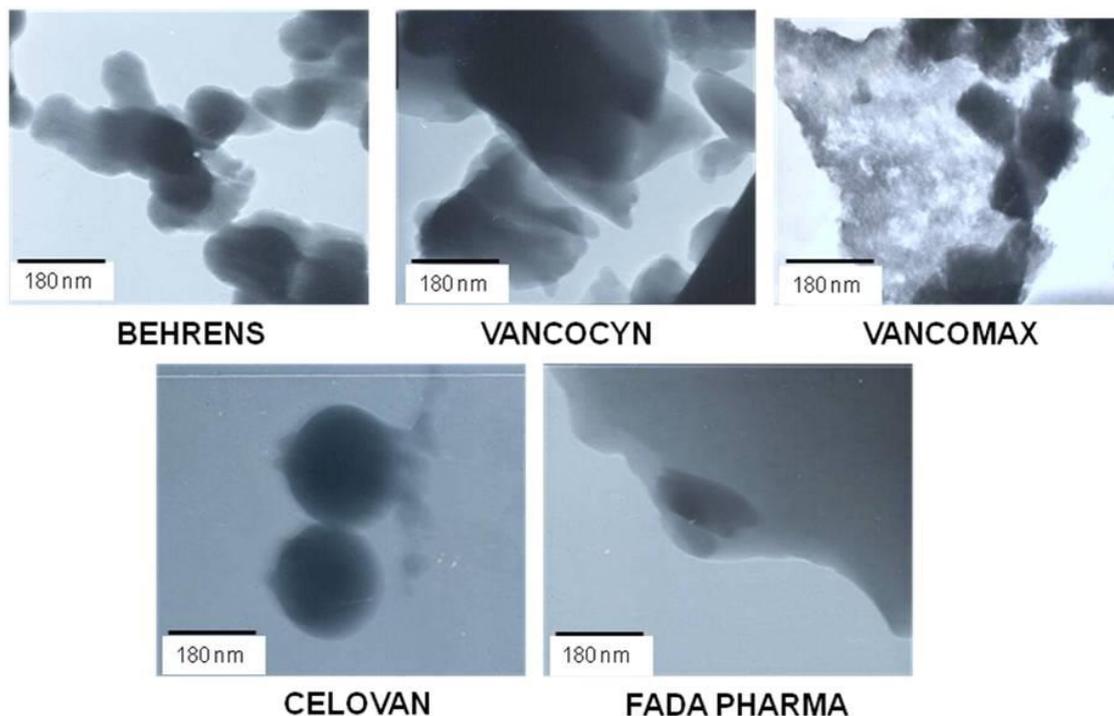


Figura 7. Morfología estructural de las cinco vancomicinas analizadas en este trabajo por microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Los pacientes hospitalizados, están polimedificados, lo cual puede traer alteraciones en la eficacia de vancomicina ya que al interactuar con otros fármacos, entra en inestabilidad físico-química, pudiendo inactivar su efecto bactericida. Sin embargo, hay que recordar que el éxito terapéutico de un antibiótico no depende solamente de la interacción antibiótico-bacteria, sino que existen otros factores asociados a ello.

### CONCLUSIONES

Existen diferencias físico-químicas que pueden alterar la entropía y entalpía de las vancomicinas, generando el fracaso terapéutico *in vivo*. Las variaciones en la entropía provocan cambios en el plegamiento peptídico y eso trae problemas en la farmacodinamia debido a su polimorfismo (claramente evidenciado por microscopía electrónica de transmisión) y no por la ausencia de algún grupo funcional indispensable para la interacción con el sitio blanco de la bacteria.

### AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Blanca Rojas de Gáscue, coordinadora del Laboratorio de Polímeros, por haber permitido el análisis de todas las muestras por FTIR en el equipo Perkin Elmer, modelo Frontier, donado por Fundación Empresas Polar, vinculado al Hospital Universitario “Antonio

Patricio de Alcalá” (HUAPA). A la Dra. Lily Figueroa, regente de la farmacia del HUAPA por haber donado las vancomicinas para su estudio. Al Dr. Daniel Loroño, por las correcciones sugeridas a la tesis que dio origen a este artículo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARTHUR M, REYNOLDS P, COURVALIN P. 1996. Glycopeptide resistance in enterococci. *Trends Microbiol.* 40(10):401-407.
- BYRN S, PFEIFFER R, STOWELL J. 1999. Solid-state chemistry of drugs. 2<sup>nd</sup> edition. West Lafayette, SSCI, Indiana, USA, pp. 574.
- CLARKE A. 2002. Microscopy techniques for materials science. CRC Press, New York, Washington, USA, pp. 111-485.
- CUI L, IWAMOTO J, LIAN H, NEOH M, MARUYAMA T, HORIKAWA Y, HIRAMATSU K. 2006. Novel mechanism of antibiotic resistance originating in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50(2):428-438.
- DÁMASO D. 1990. Glicopéptidos. *En: Antibacterianos. De Marketing Pharm*, Madrid, España, pp. 465-477.
- DE LOZANO V, YÁÑEZ M, MORALES A. 2014. Principios y práctica de la microscopía

- electrónica. Primera Edición. Buenos Aires, Argentina, pp. 499.
- GARCÍA A, HERNÁNDEZ C, AVENDAÑO C. 2010. Regulación de los medicamentos genéricos: evidencias y mitos. *Inf. Ter. Sist. Nac. Salud.* 34(3):71-82.
- HIRAMATSU K. 1998. Vancomycin resistance in staphylococci. *Drug Resist. Updates.* 1:135-150.
- LANKALAPALLI S, KUMAR V, NIMMALI S. 2015. Design and development of vancomycin liposomes. *Pharm. Res.* 49(3):208-215.
- LEE A, ERDEMIR D, MYERSON A. 2011. Crystal polymorphism in chemical process development. *Ann. Rev. Chem. Biomol. Engine.* 2(1):259-280.
- LOVEYMI B, JELVEHGARI M, ZAKERI-MILANI P, VALIZADEH H. 2012. Design of vancomycin RS-100 nanoparticles in order to increase the intestinal permeability. *Adv. Pharm. Bull.* 2(1):43-56.
- MANZANO O, MORALES M. 2001. Formas farmacéuticas sólidas tabletas. Parte IV. Disponible en línea en: <[http://datateca.unad.edu.co/contenidos/15/2001/Solidas\\_1.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/15/2001/Solidas_1.pdf)>. (Acceso 14.04.2016)
- MARTINS O, DIAS M, TAVARES J, DE SOUSA M, SAVIOLI J, DORIGUETTO A. 2014. Polymorphism: an evaluation of the potential risk to the quality of drug products from the Farmácia Popular Rede Própria. *Braz. J. Pharm. Sci.* 50(1):1-24.
- NATH N, MCNEAL E, OBENHUBER D. 2004. Particulate contaminants of intravenous medication and the limits set by USP General Chapter h788i. *Pharmacop Forum.* 30. pp. 2272-2280.
- NEU H. 1987. General concepts on the chemotherapy of infectious diseases. *Med. Clin. N. Am.* 71(6):1051-1064.
- NOLAN E, WALSH C. 2009. How nature morphs peptide scaffolds into antibiotics. *Chembiochem.* 10(1):34-53.
- POOTOOLAL J, NEU J, WRIGHT G. 2002. Glycopeptide antibiotic resistance. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 42(1):381-408.
- REVILLA N. 2009. Análisis farmacocinético-farmacodinámico de vancomicina en pacientes de UCI. Salamanca, España: Universidad de Salamanca, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica [Tesis Doctoral], pp. 149.
- REYNOLDS P. 1989. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotic. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8(11):943-950.
- SAPTARI V. 2004. Fourier transform spectroscopy instrumentation engineering. 6<sup>th</sup> edition. SPIE Press, Bellingham, Washington, USA, pp. 47-48.
- SWEETMAN S. 2011. Vancomycin. *Martindale: The Complete Drug Reference.* 37th Ed. Pharmaceutical Press, London, England, pp. 2191-3322.
- WILLIAMSON M, WILLIAMS D. 1984. Hydrophobic interactions affect hydrogen bond strengths in complexes between peptides and vancomycin or ristocetin. *Eur. J. Biochem.* 138(2):345-348.
- ZARIF M, AFIDAH A, ABDULLAH J, SHARIZA A. 2012. Physicochemical characterization of vancomycin and its complexes with  $\beta$ -cyclodextrin. *Biomed. Res-Indi.* 23(4):513-520.