

Estudio Termodinámico del Reparto de Algunas Sulfonamidas entre Liposomas de Lecitina de Huevo y Sistemas Acuosa

Carolina M. ÁVILA¹, Alfredo GÓMEZ² y Fleming MARTÍNEZ^{1*}

¹Área de Tecnología Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Bogotá D.C., Colombia.

²Área de Físicoquímica, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Bogotá D.C., Colombia

RESUMEN. En este trabajo se presentan las funciones termodinámicas relativas a la transferencia de un grupo de sulfonamidas estructuralmente relacionadas, desde medios acuosos hasta vesículas liposomales obtenidas a partir de lecitina de huevo. En todos los casos estudiados las entalpías y las entropías de transferencia fueron positivas, por lo cual se concluye que la conducción de este proceso es de naturaleza entrópica, debido probablemente al desorden generado en el interior de las bicapas fosfolípicas por la acomodación de las sulfonamidas.

SUMMARY. "Thermodynamic Study of the Partitioning of Some Sulfonamides in Egg Lecithin Liposome/Buffer System". The thermodynamic functions relatives to the transfer of some structurally related sulfonamides between egg-lecithin phospholipid vesicles and aqueous media are presented. In all cases the enthalpies and the entropies of transfer from water to liposomes were positives; therefore the partitioning of sulfonamides in this system is driven by entropy, probably due to disorder into the hydrophobic core of bilayers.

INTRODUCCIÓN

Las vesículas fosfolípicas se han investigado como posibles modelos para el estudio de distribución de solutos en membranas, puesto que los liposomas se asemejan a las estructuras ordenadas características de las membranas biológicas. Uno de los métodos para analizar interacciones fármaco-membrana es a través de la determinación de los coeficientes de reparto entre liposomas y sistemas acuosos en función de la temperatura y realizando el correspondiente tratamiento termodinámico^{1,2}.

Los coeficientes molales de reparto ($K_{l/w}$), se calculan a partir de los resultados de reparto mediante la siguiente ecuación:

$$K_{l/w} = W_w (C_1 - C_2) / (C_1 W_l) \quad (1)$$

Donde, C_1 es la concentración inicial del fármaco (mg/mL) en la fase acuosa antes del equilibrio, C_2 es la concentración final del fármaco (mg/mL) en la fase acuosa, W_w es el peso (g)

de fase acuosa y W_l es el peso (g) de fosfolípido en la muestra.

El cambio de energía libre estándar $\Delta G_{w \rightarrow l}$, debido al proceso de reparto está dado por:

$$\Delta G_{w \rightarrow l} = -RT \ln K_{l/w} \quad (2)$$

La dependencia del coeficiente de reparto frente a la temperatura se utiliza para obtener información sobre la entalpía del proceso³, basado en la relación:

$$[\partial (-\ln K_{l/w}) / \partial (1/T)]_P = \Delta H_{w \rightarrow l} / R \quad (3)$$

Asumiendo que $\Delta H_{w \rightarrow l}$ y $\Delta S_{w \rightarrow l}$ son casi independientes de la temperatura dentro del intervalo estudiado⁴, el cambio de entropía de transferencia se puede obtener a partir de:

$$\Delta S_{w \rightarrow l} = (\Delta H_{w \rightarrow l} - \Delta G_{w \rightarrow l}) / T \quad (4)$$

$\Delta H_{w \rightarrow l}$ y $\Delta S_{w \rightarrow l}$ tienen el significado físico del cambio en la entalpía y la entropía, respecti-

PALABRAS CLAVE: Coeficiente de reparto, Liposomas, Sulfonamidas, Termodinámica de transferencia.
KEY WORDS: Liposomes, Partition coefficient, Sulfonamides, Thermodynamics of transfer.

* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: fmartine@ciencias.unal.edu.co

vamente, cuando un mol de soluto es transferido desde el agua hasta el lípido a dilución infinita, en la escala de molalidad ⁴.

En esta investigación se evalúa el reparto de algunas sulfonamidas estructuralmente relacionadas, entre liposomas de lecitina de huevo y soluciones buffer, como aporte a la generación de información conducente al establecimiento de relaciones cuantitativas entre la estructura molecular y la actividad biológica (estudios QSAR) ⁵.

MATERIALES Y MÉTODOS

En esta investigación se utilizó: sulfanilamida (SA) Merck; sulfapiridina (SP), sulfadiazina (SD), sulfamerazina (SMR), sulfametazina (SMT) Sigma Chemical Co.; sulfacetamida (SCM), sulfatiazol (STL), sulfametoxazol (SMX) Calidad USP ⁶; lecitina de huevo Tipo XV-E ref. P 9671 Sigma Chemical Co.; agua destilada (W) conductividad < 2 μ S, Laboratorio de Farmacia Industrial; cloroformo P.A. Mallinckrodt; cloruro de potasio R.A., fosfatos mono y disódico R.A., ácido cítrico e hidróxido de sodio R.A., ácido acético y acetato de sodio R.A. Merck; ácido clorhídrico P.A. Mallinckrodt; nitrito de sodio P.A., sulfamato de amonio P.A., diclorhidrato de N-(1-naftil)-etilen-diamina P.A. Merck; microtubos de polipropileno de 2.0 mL con tapa rosca para centrífuga.

Efecto de la concentración de liposomas sobre el reparto

Se prepararon soluciones acuosas de las sulfonamidas a pH isoelectrico en concentración cercana a 10 μ g/mL utilizando material aforado y balanza analítica digital, Mettler AE 160 de sensibilidad 0,1 mg. Se colocaron volúmenes de 2,50, 5 y 10 mL de solución clorofórmica de lecitina de huevo de concentración 10 mg/mL en balones de fondo redondo de 50 mL. Posteriormente se evaporó el cloroformo en rotavapor Buchler Instruments a 40 °C y 180 rpm, hasta formar películas lipídicas en los balones. Se adicionaron 5 mL de la solución acuosa de cada sulfonamida a los balones, agitando manualmente y con vórtice usando un equipo Mistral[®] Mixer, Model 1192, Lab-Line Instr., hasta obtener dispersiones homogéneas. Una vez formadas las dispersiones, se colocaron volúmenes de 1,2 mL de dispersión de liposomas en microtubos de polipropileno de 2 mL con tapa rosca usando micropipetas graduables Nichiryo[®], y posteriormente se dejaron en baño termostático Magni Whirl Blue M., a 25 °C durante 48 h, agitando manualmente varias veces al día.

Transcurrido este tiempo, las fases acuosas y lipídicas fueron separadas por centrifugación a 15000 rpm por una hora a la misma temperatura en un equipo Biofuge 15R Heraeus Instr.

La concentración de las sulfonamidas en la fase acuosa se determinó por espectrofotometría visible en un equipo Unicam UV/Vis UV2-100 v 4.00, tomando 0,5 mL del sobrenadante y aplicando el método colorimétrico de Bratton *et al.* ⁷, llevando a un volumen final de 2 mL (0,75 mL de agua destilada + 0,25 mL de HCl 50 % v/v + 0,125 mL de nitrito de sodio al 0,1 % + 0,125 mL de sulfamato de amonio al 0,5 % + 0,25 mL de la amina para copulación), leyendo a la longitud de onda de máxima absorción para cada sulfonamida y utilizando las correspondientes curvas de calibración ^{4,8}. En todos los casos se corrieron blancos usando únicamente solución buffer en lugar de las soluciones de sulfonamida. Los coeficientes de reparto liposoma/agua se calcularon utilizando la Ecuación (1).

Efecto de la concentración de las sulfonamidas sobre el reparto

Se prepararon soluciones acuosas a pH isoelectrico de las sulfonamidas a diferentes concentraciones desde 50 μ g/mL hasta la saturación a 25 °C. Se elaboraron películas de lecitina de huevo colocando 5 mL de solución clorofórmica de concentración 10 mg/mL. El procedimiento seguido posteriormente es similar al descrito anteriormente.

Efecto de la temperatura sobre el reparto de las sulfonamidas

Se prepararon soluciones acuosas de las sulfonamidas a pH isoelectrico en concentración cercana a 10 μ g/mL. Las películas lipídicas se formaron colocando 5 mL de la solución clorofórmica de lecitina de huevo (10 mg/mL) en balones de fondo redondo de 50 mL y evaporando en rotavapor. Los liposomas se formaron por adición de 5 mL de las soluciones acuosas de las sulfonamidas agitando manualmente y por vórtice hasta obtener dispersiones homogéneas. En todos los casos se verificó la formación de los liposomas por microscopía óptica usando un equipo Zeiss ICS KF 2, según procedimientos modificados de los reportados previamente ⁹.

Posteriormente se transfirieron volúmenes de 1,2 mL de la dispersión formada a microtubos de polipropileno de 2 mL con tapa rosca, los cuales fueron colocados en baños termostáticos a las diferentes temperaturas de estudio (20, 25, 30 y 40 °C), por 48 h con agitación manual

varias veces al día. Las operaciones siguientes fueron similares a las presentadas anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estructuras moleculares de las sulfonamidas estudiadas, sus abreviaturas, y algunas de sus propiedades fisicoquímicas se presentan en la Tabla 1. Los valores de pK_{a1} y pK_{a2} fueron corregidos a fuerza iónica μ = 0,15 mol L⁻¹, similar a la del tracto gastrointestinal¹⁰, usando la ecuación de Debye-Hückel¹¹ a partir de los datos reportados por Bell & Roblin¹² y en el caso de la sulfacetamida por Budavari *et al.*¹³ y Mofat *et al.*¹⁴. En el caso del sulfametoxazol, ya que sólo se dispone en la literatura del valor de pK_{a2}¹⁴, se usó un valor promedio de pK_{a1} respecto a las otras sulfonamidas, lo cual se puede justificar si se considera que Foernzler & Martin¹⁵ demostraron mediante cálculos cuánticos de orbitales moleculares que la densidad de carga sobre el nitrógeno 4 (N4), es casi constante en los derivados de sulfanilamida con un sustituyente aromático sobre el nitrógeno 1 (N1).

Puesto que el reparto de estos compuestos depende del pH, esta propiedad se determinó a pH isoelectrico pI, donde pI = (pK_{a1} + pK_{a2}) / 2; en el pI se presenta el mayor valor de coeficiente de reparto de las sulfonamidas, ya que predomina la especie molecular sin disociar^{16,17}. El pH se ajustó a los valores de pI usando según cada caso, soluciones amortiguadoras de acetatos, fosfatos o citratos, con valores de capacidad reguladora β, entre 0,01 y 0,02 y corrigiendo los valores de pK_a de las especies participantes a μ = 0,15 mol L⁻¹.

Evaluación de las condiciones de reparto de las sulfonamidas

Puesto que el reparto es dependiente del pH y de la concentración del soluto, el reparto liposoma/agua se estudió a pH isoelectrico y se evaluó el efecto de la concentración de sulfonamida, adicionalmente se evaluó el efecto de la concentración de los liposomas sobre el reparto, lo cual no afecta en el caso del reparto líquido/líquido (relación de volúmenes de las fases), mientras que en el reparto liposoma/



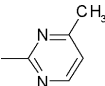
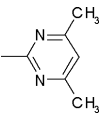

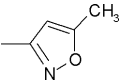
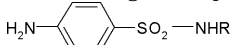
Sulfonamida	Abrev.	R (a)	MM	pK _{a1} (b)	pK _{a2} (b)	pI (c)	λ _{max} (d)
Sulfanilamida	SA	-H	172,2	2,54	10,28	6,41	538
Sulfacetamida	SCM	-CO-CH ₃	214,2	1,94	5,26	3,60	534
Sulfapiridina	SP		249,3	2,74	8,29	5,52	538
Sulfadiazina	SD		250,3	2,14	6,34	4,24	540
Sulfamerazina	SMR		264,3	2,24	6,92	4,58	541
Sulfametazina	SMT		278,3	2,54	7,22	4,88	543
Sulfatiazol	STL		255,3	2,54	6,98	4,76	542
Sulfametoxazol	SMX		253,3	2,5	5,45	4,0	537

Tabla 1. Sulfonamidas, abreviaturas, sustituyente, masa molar (g/mol), pK_{a1}, pK_{a2}, pI y λ_{max} (nm), (a) Sustituyente sobre la estructura básica de la sulfanilamida: 

(b) Corregido a μ = 0,15 mol L⁻¹ mediante la ecuación de Debye-Hückel¹¹. (c) pI = (pK_{a1} + pK_{a2}) / 2. (d) Valor presentado por el derivado azo-colorante en agua.

agua se ha reportado que esta propiedad sí se ve afectada por la proporción de los fosfolípidos, en el caso de solutos tales como fenotiazinas y algunos otros ^{18,19}.

Efecto de la concentración de liposomas sobre el reparto

En la Tabla 2 se presenta el coeficiente de reparto de las sulfonamidas en función de la concentración de liposomas en la dispersión a 25 °C; la concentración de partida de las sulfonamidas en solución fue de aproximadamente

10 µg/mL. Puede verse que en todos los casos esta propiedad es dependiente de la concentración y que salvo en el caso de SA, el coeficiente de reparto es mayor en la concentración de liposomas de 5 mg/mL que en 10 mg/mL y mayor aún que en la correspondiente a 20 mg/mL. Se decide por lo tanto trabajar el reparto a concentración de 10 mg/mL, que es el valor más comúnmente usado para este tipo de investigaciones de acuerdo a lo presentado en la literatura ²⁻⁴.

Sulfa	Concentración de lecitina / mg/mL		
	5	10	20
SA	10,71 (0,05)	10,81 (0,07)	7,59 (0,18)
SCM	27,61 (0,37)	13,04 (0,18)	13,34 (0,38)
SP	24,31 (0,26)	15,67 (0,17)	8,36 (0,30)
SD	18,44 (0,42)	16,46 (0,48)	14,40 (0,35)
SMR	15,23 (0,45)	9,47 (0,14)	8,109 (0,092)
SMT	18,84 (0,42)	7,97 (0,18)	7,01 (0,18)
STL	43,8 (1,3)	26,71 (0,56)	14,72 (0,40)
SMX	159,7 (1,9)	150,2 (5,0)	138,3 (5,7)

Tabla 2. Reparto en el sistema liposomas de lecitina de huevo/agua en función de la concentración de liposomas (± desv. estándar). Concentración inicial de sulfonamida cercana a 10 µg/mL a 25 ± 0,1 °C.

Efecto de la concentración de las sulfonamidas sobre el reparto

En la Tabla 3 se presenta el coeficiente de reparto de las sulfonamidas entre liposomas de lecitina de huevo y agua en función de la concentración de las sulfonamidas a 25 °C, empleando una concentración de lecitina de 10 mg/mL que es la escogida en el presente estu-

dio. Debe aclararse que en el caso de SD el valor empleado de concentración a 100 µg/mL corresponde a la solubilidad en saturación a 25 °C que es 67,2 µg/mL, mientras que para SP, SMR, SMT, STL y SMX tabuladas a 500 µg/mL, los valores de solubilidad a 25 °C son 261,5, 211,7, 445,2, 458,5 y 372,3 µg/mL, respectivamente ^{4,20}.

Sulfa	Concentración de sulfonamida / µg/mL				
	10	50	100 (a)	500 (b)	1000
SA	10,81 (0,07)	8,723 (0,050)	8,55 (0,10)	8,43 (0,17)	8,28 (0,18)
SCM	13,04 (0,18)	10,91 (0,24)	9,686 (0,053)	9,524 (0,043)	9,075 (0,092)
SP	15,67 (0,17)	8,59 (0,15)	8,36 (0,18)	8,40 (0,15)	-
SD	16,46 (0,48)	13,33 (0,54)	12,1 (0,14)	-	-
SMR	9,47 (0,14)	7,15 (0,20)	6,923 (0,049)	6,700 (0,085)	-
SMT	7,97 (0,18)	5,360 (0,095)	4,980 (0,056)	4,832 (0,074)	-
STL	26,71 (0,56)	24,62 (0,74)	23,74 (0,56)	22,27 (0,36)	-
SMX	150,2 (5,0)	120,4 (3,7)	97,8 (4,0)	96,0 (3,6)	-

Tabla 3. Reparto en el sistema liposomas de lecitina de huevo/agua en función de la concentración de las sulfonamidas (± desv. estándar). Concentración de lecitina: 10 mg/mL. Temp: 25 ± 0,1 °C. (a) Concentración de SD: 67,2 µg/mL, (b) Concentración de SP: 261,5 µg/mL, SMR: 211,7 µg/mL, SMT: 445,2 µg/mL, STL: 458,5 µg/mL y SMX: 372,3 µg/mL

Puede verse en todos los casos que el mayor valor de esta propiedad se presenta a concentración de 10 µg/mL y además, que a valores iguales o superiores a 100 µg/mL esta propiedad permanece casi constante, independientemente de la concentración de sulfonamida. Se escoge para el trabajo posterior la concentración de sulfonamida de 10 µg/mL.

Efecto de la temperatura sobre el reparto de las sulfonamidas

En la Tabla 4 se presentan los valores de los coeficientes de reparto liposoma/agua para las sulfonamidas en función de la temperatura; se

empleó una concentración inicial de sulfonamidas de 10 µg/mL. El reparto se estudió desde 20 hasta 40 °C, intervalo de temperatura en el cual estos liposomas se encuentran en estado fluido (cristal líquido), en el que se presenta una alta flexibilidad de la membrana fosfolipídica, facilitando por tanto el reparto de solutos.

En esta tabla se puede observar que el coeficiente de reparto liposoma de lecitina de huevo/agua es plenamente dependiente de la temperatura, y que dicha dependencia es proporcional, ya que un incremento en temperatura implica un aumento en el coeficiente de reparto (en el intervalo de temperatura estudiado).

Sulfa	Temperatura (± 0,1 °C)			
	20 °C	25 °C	30 °C	40 °C
SA	8,657 (0,090)	10,81 (0,07)	13,22 (0,25)	18,37 (0,45)
SCM	12,03 (0,19)	13,04 (0,18)	13,80 (0,40)	16,17 (0,41)
SP	13,64 (0,21)	15,67 (0,17)	18,86 (0,65)	25,19 (0,64)
SD	12,33 (0,55)	16,46 (0,48)	20,61 (0,57)	30,9 (1,4)
SMR	7,390 (0,078)	9,47 (0,14)	12,87 (0,57)	22,1 (1,1)
SMT	5,86 (0,17)	7,97 (0,18)	11,93 (0,41)	19,03 (0,74)
STL	25,06 (0,39)	26,71 (0,56)	28,75 (0,38)	33,41 (0,65)
SMX	137,1 (5,0)	150,2 (5,0)	163,2 (5,2)	195,8 (8,3)

Tabla 4. Coeficientes de reparto en el sistema liposomas de lecitina de huevo/agua de las sulfonamidas en función de la temperatura (± desv. estándar).

Comparando estos resultados con otros presentados previamente ^{4,21} para otros tipos de liposomas (dimiristoil fosfatidilcolina: DMPC y dipalmitoil fosfatidilcolina: DPPC), puede observarse que en todos los casos el reparto es más alto en liposomas de lecitina de huevo y menor en liposomas DPPC, lo cual podría explicarse en términos de la composición de los liposomas y de la estructura de las vesículas en función de la temperatura. Por debajo de la temperatura de transición *T_c*, los liposomas se encuentran en estado de gel (pseudosólido) y por encima de esta temperatura en estado de cristal líquido (pseudolíquido), este último estado es el que más favorece en la mayoría de los casos, el reparto de solutos. A las temperaturas estudiadas los liposomas de lecitina de huevo (20 a 40 °C), y de DMPC (25 a 40 °C) se encuentran en estado fluido (cristal líquido), mientras que los liposomas de DPPC se encuentran en estado pseudosólido o de gel (*T_c*: 41,5 °C), por lo que el coeficiente de reparto de las sulfonamidas estudiadas es mayor en liposomas de lecitina de

huevo y de DMPC que en liposomas de DPPC ²¹⁻²³.

Comparando los resultados obtenidos con lecitina de huevo y DMPC, el reparto es mayor con lecitina de huevo, lo que puede atribuirse a que los liposomas de lecitina de huevo presentan un valor *T_c* muy inferior al correspondiente a los liposomas de DMPC, esto es: -10 °C frente a 23 °C, respectivamente ^{22,23}, por lo que la fluidez de estas bicapas fosfolipídicas es mayor y por lo tanto también lo es la permeabilidad de las membranas. Además de la temperatura de transición, es probable que la composición de los liposomas de lecitina de huevo influya también sobre el mayor grado de reparto de las sulfonamidas, ya que la lecitina de huevo aparte de los fosfolípidos presenta otros constituyentes tales como triglicéridos y colesterol que pueden ayudar a estabilizar las membranas formadas ^{24,25}. En la Fig. 1 se presenta la variación de los coeficientes de reparto de SCM, SD y SMX con la temperatura (método de van't Hoff), que son las sulfonamidas más ampliamente utilizadas en la práctica terapéutica actual ⁴.

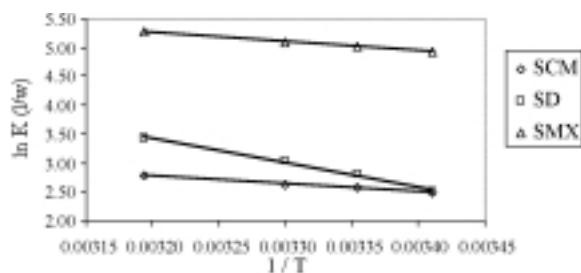


Figura 1. Coeficiente de reparto molal liposoma/agua de SCM, SD y SMX en función de la temperatura.

Aspectos termodinámicos del reparto

En la Tabla 5 se presentan los valores de las funciones termodinámicas energía libre, entalpía y entropía de transferencia de las sulfonamidas desde los medios acuosos hasta los liposomas, calculadas mediante las Ecuaciones (2), (3) y (4), a partir de los valores de coeficiente de reparto presentados en la Tabla 4, usando valores ponderados y métodos de propagación de errores^{26,27}.

En todos los casos, se observa que la energía libre estándar ($\Delta G_{w \rightarrow l}$) es negativa (puesto que $K_{l/w} > 1$), lo que indica que el proceso de transferencia es espontáneo en estas condiciones. La energía libre estándar disminuye en el siguiente orden para las diferentes sulfonamidas, disminuyendo también la espontaneidad del proceso de transferencia: SMX > STL > SD > SP > SCM > SA > SMR > SMT.

Considerando valores presentados previamente para otros tipos de liposomas^{4,21}, la entalpía de transferencia ($\Delta H_{w \rightarrow l}$) de las sulfonamidas es positiva en todos los casos y en general es mayor en liposomas de DPPC que en liposomas de lecitina de huevo y de DMPC, lo que indica que el proceso de transferencia en todos los casos es endotérmico, requiriendo mayor energía para la transferencia de compuestos

desde el agua hasta liposomas en estado de gel (rígido), que la requerida para liposomas en estado de cristal líquido (fluido). Lo indicado anteriormente es de esperar, ya que en el caso de liposomas de DPPC es necesario suministrar más energía para crear las cavidades para acomodar el soluto en el interior de las bicapas lipídicas más altamente organizadas (comparado con lecitina de huevo y DMPC). La única excepción a lo anterior es SA, que presenta valores de entalpía mayores en liposomas de DMPC y de lecitina de huevo, que en liposomas de DPPC, lo que podría explicarse como un posible efecto del pequeño tamaño molecular, al compararse con las otras sulfonamidas, además del diferente grado de las interacciones soluto-soluto presentadas por este compuesto en solución^{4,21}.

Los valores de $\Delta H_{w \rightarrow l}$ en liposomas de lecitina de huevo disminuyen en el siguiente orden, disminuyendo también el requerimiento energético para el proceso de transferencia: SMT > SMR > SD > SA > SP > SMX > SCM > STL.

En todos los casos la entropía de transferencia ($\Delta S_{w \rightarrow l}$) de las sulfonamidas desde los medios acuosos hasta los liposomas es positiva, lo que indica un favorecimiento entrópico al proceso de transferencia. Partiendo de la observación de que los valores de entalpía son positivos, puede concluirse que la conducción del reparto de las sulfonamidas en los diferentes sistemas liposoma/agua es de naturaleza entrópica^{4,21}. Lo anterior indica que el aumento del desorden a nivel molecular es el principal responsable de la transferencia, el cual se manifiesta principalmente por la desorganización creada en el interior de las bicapas fosfolipídicas, ocasionado por la incorporación de las moléculas de soluto.

Bajo las condiciones de pH isoelectrico estu-

Función	Sulfonamidas							
	SA	SCM	SP	SD	SMR	SMT	STL	SMX
$\Delta G_{w \rightarrow l} /$ kJ mol ⁻¹	-5,90 (0,02)	-6,37 (0,03)	-6,82 (0,03)	-6,94 (0,07)	-5,57 (0,04)	-5,14 (0,06)	-8,14 (0,05)	-12,42 (0,08)
$\Delta H_{w \rightarrow l} /$ kJ mol ⁻¹	38,1 (1,6)	14,6 (1,4)	31,4 (2,0)	46,3 (2,3)	55,6 (3,8)	61,0 (2,3)	14,5 (1,2)	17,8 (1,8)
$\Delta S_{w \rightarrow l} /$ J mol ⁻¹ K ⁻¹	147,6 (5,5)	70,3 (4,5)	128,1 (6,7)	178,5 (7,9)	205 (13)	221,9 (7,8)	75,9 (4,0)	101,5 (5,9)

Tabla 5. Funciones termodinámicas del reparto de sulfonamidas en el sistema liposomas de lecitina de huevo/agua (\pm desv. estándar).

diadas, las sulfonamidas presentan el menor grado de disociación, encontrándose preferentemente en su forma molecular y por lo tanto sin carga iónica^{16,17}, por lo que es muy poco probable que la interacción entre las sulfonamidas y los liposomas se presente por efectos electrostáticos con las cabezas polares de los fosfolípidos. Debido a las diferencias en la energía libre de transferencia entre los liposomas de DMPC y de DPPC puede plantearse que el atrapamiento de las sulfonamidas se presenta en el interior de las bicapas^{4,21,28}. Salvo para SA, las entropías de transferencia son mayores en liposomas de DPPC que en liposomas de DMPC, lo que puede explicarse en términos del mayor desorden producido al crear la cavidad en la bicapa fosfolipídica para acomodar las moléculas de sulfonamida cuando las membranas se encuentran en estado de gel que en estado de cristal líquido^{4,21}.

Comparando los valores de entropía en liposomas de lecitina de huevo y de DMPC, en casi todos los casos (excepto SA y SCM que son las sulfonamidas de menor tamaño molecular²⁹) esta propiedad es mayor en el primer tipo de liposoma, lo cual puede explicarse por la mayor complejidad en la composición de los liposomas de lecitina de huevo, los cuales como se indicó anteriormente, además de fosfolípidos contienen otras sustancias tales como triglicéridos y colesterol que pueden actuar como estabilizantes de las vesículas formadas^{24,25}. Los valores de $\Delta S_{w \rightarrow l}$ en liposomas de lecitina de huevo disminuyen en el siguiente orden, disminuyendo también el desorden molecular provocado por la acomodación molecular durante el proceso de transferencia: SMT > SMR > SD > SA > SP > SMX > STL > SCM.

Compensación entálpica-entrópica

En la literatura^{30,31} se ha planteado que la obtención de gráficos lineales de compensación entálpica-entrópica en análisis extratermodinámico de este tipo de procesos, sugiere la existencia de mecanismos similares para la transferencia de solutos, lo cual se ha realizado en el caso de liposomas para diferentes clases de fármacos, tales como beta-bloqueadores³ y antiinflamatorios no esteroideos³². Inicialmente se utilizaron coordenadas de $\Delta S_{w \rightarrow l}$ contra $\Delta H_{w \rightarrow l}$, sin embargo se recomienda utilizar preferentemente coordenadas de $\Delta G_{w \rightarrow l}$ contra $\Delta H_{w \rightarrow l}$, en especial cuando el cambio entálpico se obtiene por el método de van't Hoff, ya que en varios estudios se ha encontrado linealidad usando el

primer tipo de coordenadas, mientras que este mismo comportamiento no se obtiene al utilizar el segundo tipo de coordenadas, lo cual evidencia comportamientos más complejos². Por lo tanto, en la Figura 2 se presenta el gráfico de compensación de $\Delta G_{w \rightarrow l}$ contra $\Delta H_{w \rightarrow l}$ para las sulfonamidas estudiadas, donde puede observarse que salvo SMX, los compuestos estudiados presentan aparentemente un comportamiento lineal, lo cual sugiere que el mecanismo de transferencia desde el agua hasta las vesículas fosfolipídicas es similar, con excepción de SMX que es el compuesto con los mayores valores de coeficiente de reparto.

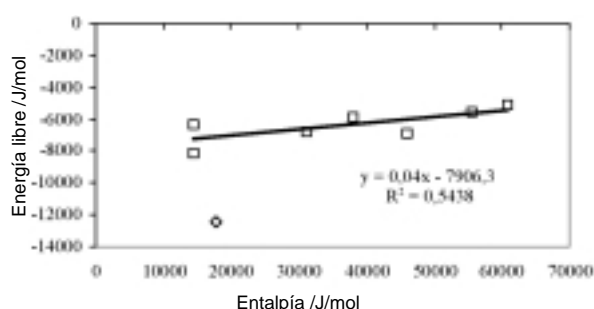


Figura 2. Gráfico de compensación $\Delta G_{w \rightarrow l} - \Delta H_{w \rightarrow l}$ en molalidad a 25 °C. (Δ) SMX.

CONCLUSIONES

El reparto de las sulfonamidas estudiadas se ve más favorecido en liposomas de lecitina de huevo que en otros sistemas tales como liposomas de DMPC o de DPPC y octanol/agua^{4,21}. Además, es dependiente de la concentración del compuesto en solución y de la concentración de lecitina en la dispersión liposomal. La conducción del proceso de transferencia de las sulfonamidas desde los medios acuosos hasta las vesículas liposomales es de naturaleza entrópica, lo cual puede explicarse en términos del desorden generado en el interior hidrofóbico de las bicapas fosfolipídicas, encontrándose una gran influencia del grupo sustituyente presente en el nitrógeno 1 (N1) sobre el reparto y, por lo tanto, sobre las correspondientes funciones termodinámicas de transferencia.

Actualmente se adelanta el estudio de la relación entre la actividad biológica presentada por estos fármacos y algunas propiedades fisicoquímicas de transferencia tales como coeficientes de reparto, solubilidades y volúmenes de transferencia entre fases líquidas^{4,33}. Se espera que estas investigaciones sean conducentes a la explicación de las diferencias en la potencia, en términos de la estructura molecular.

Agradecimientos. Formalmente agradecemos a la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República y a la DINAIN de la Universidad Nacional de Colombia (U.N.C.) por el apoyo financiero. Igualmente agradecemos al Departamento de Farmacia de la U.N.C., por facilitar los equipos e instalaciones empleados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pauletti, G.M. & H. Wunderli-Allenspach (1994) *Eur. J. Pharm. Sci.* **1**: 273-82.
- Martínez, F., M. Tello & A. Gómez (2001) *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* **30**: 16-25.
- Betageri, G.V. & J.A. Rogers (1987) *Int. J. Pharm.* **36**: 165-73.
- Martínez, F. (2001) *Tesis de Doctorado*, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia.
- Sangster, J. (1997) *“Octanol-Water Partition Coefficients: Fundamentals and Physical Chemistry”*, John Wiley & Sons, Chichester, England.
- USP23-NF18 (1994) *“The United States Pharmacopeia”*, 23rd edition, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, págs. 1449-67.
- Bratton, A.C., E.K. Marshall, D. Babbitt & A.R. Hendrickson (1939) *J. Biol. Chem.* **128**: 537. Resumen en *Chem. Abstr.* **33**: p 1939 ref 5017 (1939).
- Rojas, J.H. & S. de Nigrinis (1993) “Colorimetría Cinética: Determinación de Sulfonamidas”, en *“Guías de Prácticas de Laboratorio de Análisis Instrumental”*, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá D.C., Colombia.
- Beltrán, O.C., M.J. Escobar, F. Jiménez, H.J. Barbosa & F. Martínez (1999) *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* **28**: 117-22.
- Cevc, G. (1993) “Lipid properties as a basis for membrane modeling and rational liposome design”, en: *“Liposomes Technology”* (G. Gregoriadis, ed.), CRC Press, BocaRaton, Vol 1, págs. 1-36.
- Martin, A.N., P. Bustamante & A.H.C. Chun (1993) *“Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences”*, 4th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, págs. 160-3.
- Bell, P.H. & R.O. Roblin (1942) *J. Am. Chem. Soc.* **64**: 2905-17.
- Budavari, S., M.J. O’Neil, A. Smith & P.E. Heckelman (1989) *“The Merck Index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals”*, 11th edition, Merck & Co., Inc., Rahway, N.J., págs. 1151-58.
- Moffat, A.C., J.V. Jackson, M.S. Moss & B. Wid-dop (1986) *“Clarke’s Isolation and Identification of Drugs, in Pharmaceuticals, Body fluids, and Post-mortem Material”*, 2nd edition, The Pharmaceutical Press, London, págs. 979-95.
- Foernzler, E.C. & A.N. Martin (1967) *J. Pharm. Sci.* **56**: 608-15.
- Takacs-Novak, K., M. Jozan & G. Szasz (1995) *Int. J. Pharm.* **113**: 47-55.
- Florence, A.T. & D. Attwood (1998) *“Physico-chemical Principles of Pharmacy”*, 3rd edition, MacMillan Press Ltd, London, págs. 183-6
- Ahmed, M., J.S. Burton, J. Hadgraft & I.W. Kellaway (1981) *J. Membr. Biol.* **58**: 181-9.
- Ahmed, A.M.S., F.H. Farah & I.W. Kellaway (1985) *Pharm. Res.* **3**: 119-24.
- Martínez, F. & A. Gómez (2001) *J. Solution Chem.* **30**: 909-23.
- Martínez, F. & A. Gómez (2002) *J. Phys. Org. Chem.* **15**: 874-80.
- Lipidat (2001) *“Lipid Thermotropic Phase Transition Database”*, Ohio State University. Dirección en Internet: <http://www.lipidat.chemistry.ohio-state.edu>.
- Koynova, R. & M. Caffrey (1998) *Biochim. Biophys. Acta* **1376**: 91-145.
- Belitz, H.D. & W. Grosch (1985) *“Química de los Alimentos”*, Editorial Acirbia S.A., Zaragoza, España, págs. 151-4, 441.
- Darnell, J., H. Lodish & D. Baltimore (1988) *“Biología Celular y Molecular”*, Editorial Labor, S.A., Barcelona, España, págs. 90-3
- Bevington, P.R. (1969) *“Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences”*, McGraw-Hill Book, Co., New York, págs. 26-65.
- Barrante, J.R. (1998) *“Applied Mathematics for Physical Chemistry”*, 2nd edition, Prentice Hall, New Jersey, págs. 179-91.
- Diamond, J.M. & Y. Katz (1974) *J. Membr. Biol.* **17**: 121-54.
- Martínez F., A. Gómez & C.M. Ávila (2002) *Acta Farm. Bonaerense* **21**: 107-18.
- Leffler, J.E. & E. Grunwald (1963) *“Rates and Equilibria of Organic Reactions”*, Wiley, New York, págs. 128-314.
- Tomlinson, E. (1983) *Int. J. Pharm.* **13**: 115-44.
- Betageri, G.V., A. Nayernama & M.J. Habib (1996) *Int. J. Pharm. Adv.* **1**: 310-9.
- Yamazaki, M., N. Kakeya, T. Morishita, A. Kamada & M. Aoki (1970) *Chem. Pharm. Bull.* **18**: 708-14.