

Vesículas fosfolipídicas como sistemas de distribución en modelación QSAR

*Fleming Martínez**¹

*Myriam Tello**

*Alfredo Gómez***

Resumen

Experimentalmente se ha encontrado que el comportamiento biológico de muchas sustancias en estudios QSAR no se describe adecuadamente utilizando el coeficiente de reparto octanol/agua ($\log P$), situación que ha llevado a la utilización de liposomas, los cuales se asemejan a estructuras celulares. En este trabajo se presentan los aspectos termodinámicos del reparto de solutos entre vesículas fosfolipídicas y medios acuosos y además se hace una revisión de los estudios adelantados con fármacos y otros compuestos de interés farmacéutico.

Palabras clave: Liposomas – QSAR – Coeficiente de reparto – Termodinámica de transferencia – Actividad biológica.

Summary

Phospholipidic vesicles as distribution systems in QSAR analysis

Experimentally it was found that biological behavior of a lot of compounds was not adequately described using the octanol/water partition coefficient ($\log P$), for this reason the liposomes are used. In this article, the thermodynamic aspects of transfer of solutes between phospholipid vesicles and aqueous media, and a brief review of the investigations in the pharmaceutical field about this topic are presented.

Key words: Liposomes - QSAR - Partition coefficient - Thermodynamics of transfer - Biological activity.

Recibido para evaluación: Junio de 2000

Aprobado para publicación: Agosto de 2000

* Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Farmacia, A.A. 14490, Bogotá D. C., Colombia.

1. E-mail: fmartine@ciencias.unal.edu.co

** Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Química, A.A. 14490, Bogotá D. C., Colombia.

Introducción

La distribución de fármacos en membranas fue descrita cuantitativamente por primera vez por Collander en 1951 (1), estableciendo una estrecha relación con el coeficiente de reparto en sistemas solvente orgánico – agua. Desde entonces se han evaluado muchos solventes y se ha encontrado que con los semipolares, se obtienen mejores modelos de correlación frente al reparto de solutos en membranas biológicas que los encontrados con solventes no polares (2, 3). En particular se ha observado que el octanol es un sistema de referencia útil para estudios extratermodinámicos en una amplia variedad de sistemas (4). En un artículo anterior, realizamos una descripción fisicoquímica del reparto de solutos entre solventes orgánicos y medios acuosos (5).

Aunque el sistema octanol saturado – agua presumiblemente posee características estructurales como resultado de la formación de racimos de octanol alrededor del agua (6), se ha planteado que los solventes orgánicos carecen de suficiente similitud estructural con las membranas biológicas, como se esperaría para explicar el papel de los efectos estéricos de la estructura molecular del fármaco sobre el reparto en la membrana, el transporte, las interacciones fármaco – receptor y por consiguiente, la actividad biológica (7).

El análisis mediante QSAR de varios procesos de transporte ha sido pobremente modelado por el sistema octanol – agua (8); debido a esto se han utilizado otros solventes orgánicos para describir en forma más adecuada los procesos biológicos, entre los que se tienen el miristato de isopropilo que simula de mejor forma el comportamiento de los lípidos de la piel, para estudios de permeabilidad percutánea (9), y el dipelargonato de propilenoglicol (PGDP), un diéster usado industrialmente como plastificante y como base para cosméticos, el cual presenta

ciertas ventajas sobre los solventes de reparto más tradicionales como el octanol y otros alcoholes, principalmente en lo relacionado con la proporción de grupos donores y aceptores de hidrógeno presentes en dichas moléculas (10).

Reparto de solutos entre liposomas y agua

Nuevas aproximaciones a la modelación de la distribución de solutos en sistemas *in vivo* utilizan membranas artificiales tales como liposomas como fase lipofílica, puesto que la importancia de las interacciones fármaco–membrana en el diseño de nuevas moléculas ha sido generalmente poco estimada y ha recibido menos atención que las interacciones fármaco–proteína. Uno de los métodos para analizar interacciones fármaco - membrana es a través de la medida de los coeficientes de reparto entre sistemas acuosos tamponados y modelos de fase de membrana, formados por vesículas fosfolípídicas (11).

De otra parte, el sistema liposoma – agua ha demostrado una mejor capacidad para discriminar solutos ramificados que los solventes orgánicos de carácter semipolar similar (3) y además las hidrofobicidades en el sistema liposoma – solución salina correlacionan mucho mejor para la actividad biológica de derivados del cloranfenicol que en el sistema octanol – agua (12).

El estudio del reparto octanol – agua y ciclohexano – agua permite evaluar el efecto de las interacciones por enlace de hidrógeno soluto – solvente que se presentan en octanol, a diferencia de lo que ocurre en el caso del ciclohexano que es un solvente aprótico. Para esto se ha desarrollado el concepto $\Delta \log P$ o parámetro de Seiler: $\log P - \log K_{\text{ciclohex/agua}}$ (13); y como una mejor aproximación al comportamiento biológico, se adelantan los estudios del

reparto liposoma – agua, ya que al ser los liposomas vesículas fosfolipídicas, se asemejan más a estructuras celulares; además, recientemente se ha planteado un concepto similar al parámetro de Seiler, basado en la diferencia $\log P - \log K_{\text{liposoma/agua}}$ que representa la contribución al reparto por atracciones electrostáticas entre el fármaco y los liposomas, a los cuales se les confiere la carga por incorporación de fosfato de dicetilo o estearilamina según requieran carácter negativo o positivo, respectivamente.

Experimentalmente se ha encontrado que las aminas básicas presentan un coeficiente de reparto mucho mayor en membranas artificiales del tipo vesícula que el que se esperaría considerando los correspondientes coeficientes de distribución entre octanol y agua. Los solventes hidrofóbicos como el octanol sólo pueden contribuir al reparto de la forma neutra del fármaco. En cambio una bicapa fosfolipídica puede soportar el reparto de las formas neutra y cargada de las aminas. En muchos casos el reparto de la forma cargada es tan favorable o incluso mayor que el reparto de la forma neutra, debido al hecho de que las aminas protonadas pueden interactuar gracias a su carga positiva con el grupo fosfato cargado negativamente del fosfolípido de la membrana. La naturaleza ordenada de los fosfolípidos de la membrana hace que esta interacción sea posible. La distribución de carga y la hidrofobicidad del fármaco son complementarios a las propiedades de la membrana fosfolipídica ordenada, situación que no se presenta con un solvente hidrofóbico isotrópico (14, 15).

Barton y col. han demostrado que los sitios de distribución de fármacos en los tejidos pueden ser modelados en forma más adecuada si se consideran simultáneamente los coeficientes de distribución octanol – agua y membrana – agua en lugar de hacerlo independientemente (14).

Aspectos generales de los liposomas

En la actualidad los liposomas son aceptados como agentes farmacéuticos que mejoran la actividad terapéutica de una amplia variedad de compuestos ya que pueden operar como sistemas de transporte y entrega de fármacos, esto es básicamente debido a su estructura organizada que permite la acomodación de principios activos en la fase acuosa o en la lipídica dependiendo de la solubilidad del fármaco (16, 17). Además son reconocidos como excelentes modelos de membranas biológicas para estudios *in vitro* de permeación de fármacos, conducentes a la propuesta de relaciones QSAR (18).

Los liposomas son vesículas fosfolipídicas uni o multilaminares cuyo tamaño varía de 25 nm a 10 μm de diámetro, y se preparan disolviendo en un solvente orgánico, como el cloroformo, un fosfolípido, p.ej. fosfatidilserina o fosfatidilcolina, y un lípido anfifílico, generalmente colesterol, permitiendo la evaporación del solvente orgánico para formar una fina capa de lípidos en las paredes del recipiente. Posteriormente se realiza la adición de un medio acuoso para formar las vesículas por agitación.

Los liposomas terminados son casi esféricos y pueden estar formados por una o más láminas de bicapas lipídicas que alternan con regiones acuosas. Las capas fosfolipídicas pueden atrapar fármacos solubles en lípidos y las capas acuosas pueden disolver compuestos solubles en agua; éstos se introducen en los liposomas por simple mezclado de la película fina de fosfolípidos y otros componentes lipídicos con una solución acuosa del fármaco (19).

Los liposomas se clasifican de acuerdo a sus parámetros estructurales: tamaño y laminaridad o según el método de preparación (16). En estudios QSAR se utilizan generalmente liposomas tipo MLV, vesículas multilaminares,

que son las formadas normalmente bajo las condiciones de reparto utilizadas (18). Estas vesículas están constituidas básicamente por alguna lecitina de alta pureza, que puede ser, dimiristoil-fosfatidilcolina (DMPC), dipalmitoil-fosfatidilcolina (DPPC), o dioleoil-fosfatidilcolina (DOPC). Pueden llevar colesterol y además el componente para conferir carga.

En la actualidad los liposomas encuentran gran aplicación en diferentes áreas del conocimiento. En la Tabla 1 se presentan algunos ejemplos de estas aplicaciones.

Con fines de aplicación en estudios farmacotécnicos y farmacéuticos físicos, las vesículas fosfolipídicas 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. Dependiendo de la naturaleza del soluto la correlación con la actividad biológica puede obtenerse por debajo o

por encima de la temperatura de transición de fase, T_c , lo que sugiere claramente que la estructura y el orden dentro de las bicapas fosfolipídicas son parámetros importantes en el grado de interacción con el soluto. Lo anterior contribuye notablemente al entendimiento de los procesos de transferencia y al planteamiento de relaciones QSAR (18).

Aspectos fisicoquímicos del reparto Liposoma – Agua (21)

Por las mismas consideraciones mencionadas en el caso del reparto en sistemas líquido – líquido (5), en este artículo incluimos también una descripción fisicoquímica de la transferencia de solutos desde medios acuosos hasta vesículas liposomales. Los coeficientes de reparto molales aparentes (K'_m), se calculan a partir de los resultados de distribución mediante la siguiente ecuación:

Tabla 1. Algunas aplicaciones de los liposomas (20)

Disciplina	Aplicación
Matemáticas	Topología de superficies bidimensionales en espacios tridimensionales gobernados por la elasticidad de la bicapa.
Física	Comportamiento de agregación de fractales, formas, fluctuaciones de formas, materiales de alta y baja resistencia.
Biofísica	Permeabilidad, transiciones de fase en dos dimensiones.
Fisicoquímica	Estabilización de estados excitados en moléculas fotosensibles, fotosíntesis artificial, catálisis, creación de compartimientos para estudio de reacciones.
Bioquímica	Reconstrucción de proteínas de membrana dentro de estructuras artificiales.
Biología	Modelos de membranas biológicas, biomineralización.
Farmacología	Estudio de funciones celulares, acción de fármacos.
Medicina	Liberación de principios activos y diagnóstico de enfermedades.

$$K'_m = W_1 (C_i - C_w) / (C_w \cdot W_2) \quad (\text{Ec } 1)$$

Donde,

C_i concentración inicial del fármaco (mg/mL) en la fase acuosa antes del equilibrio

C_w concentración final del fármaco (mg/mL) en la fase acuosa

W_1 peso (g) de fase acuosa

W_2 peso (g) de fosfolípido en la muestra

De la misma forma que en el caso de la distribución de solutos entre fases líquidas inmiscibles, el coeficiente de reparto en este sistema, también es dependiente del pH (5), y los valores corregidos se calculan a partir de las ecuaciones 2, 3 y 4, para fármacos ácidos, básicos y anfotéricos, respectivamente (22).

$$K_m = K'_m (1 + 10^{\text{pH}-\text{pKa}}) \quad (\text{Ec } 2)$$

$$K_m = K'_m (1 + 10^{\text{pKa}-\text{pH}}) \quad (\text{Ec } 3)$$

$$K_m = K'_m (1 + 10^{\text{pKa1}-\text{pH}} + 10^{\text{pH}-\text{pKa2}}) \quad (\text{Ec } 4)$$

En las cuales, K'_m es el coeficiente de reparto aparente y pKa , pKa1 y pKa2 son las respectivas constantes de disociación.

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

$$\Delta G^\circ_{w \rightarrow l} = -RT \ln K_m \quad (\text{Ec } 5)$$

La dependencia del coeficiente de reparto frente a la temperatura se utiliza para obtener información sobre la entalpía del proceso basado en la relación (23):

$$(\partial H^\circ_{w \rightarrow l} / \partial T)_P = T (\partial S^\circ_{w \rightarrow l} / \partial T)_P \quad (\text{Ec } 6)$$

Asumiendo que $\Delta H^\circ_{w \rightarrow l}$ y $\Delta S^\circ_{w \rightarrow l}$ son casi independientes de la temperatura dentro del intervalo estudiado (24).

Puesto que:

$$\ln K_m = -\Delta H^\circ_{w \rightarrow l} / RT + \Delta S^\circ_{w \rightarrow l} / R \quad (\text{Ec } 7)$$

Una gráfica lineal ponderada de $(-\ln K_m)$ en función de (T^{-1}) permite obtener $\Delta H^\circ_{w \rightarrow l}$ a partir de la pendiente y $\Delta S^\circ_{w \rightarrow l}$ del intercepto.

Sin embargo el cambio de entropía de transferencia se puede obtener a partir de:

$$\Delta S^\circ_{w \rightarrow l} = (\Delta H^\circ_{w \rightarrow l} - \Delta G^\circ_{w \rightarrow l}) / T \quad (\text{Ec } 8)$$

$\Delta H^\circ_{w \rightarrow l}$ y $\Delta S^\circ_{w \rightarrow l}$ tienen el significado físico del cambio en la entalpía y la entropía respectivamente, cuando una mol de soluto es transferida desde el agua hasta el lípido a dilución infinita (23).

Aspectos extratermodinámicos

El reparto de solutos orgánicos entre vesículas fosfolipídicas y ambientes acuosos es uno de los ejemplos en los cuales las relaciones extratermodinámicas encuentran utilidad en el tratamiento de problemas bioquímicos y biológicos. En algunos trabajos (23, 25, 26) en los cuales se ha estudiado el efecto de compensación, se ha encontrado linealidad entre ΔH y ΔS , pero cuando se usan coordenadas de ΔH y ΔG se ha evidenciado un comportamiento más complejo.

Los liposomas tienen una estructura particular que se altera con la temperatura, de tal forma que por debajo de la temperatura de transición T_c , estas vesículas existen en un estado cristalino o congelado mientras que por encima de ella se presentan en un estado líquido o fundido. El efecto de la transición de fase no se refleja en las energías libres de distribución pero sí en los términos entálpico y entrópico, de forma que por debajo de T_c , estos parámetros son a menudo reportados como una magnitud más positiva. Lo anterior ha sido interpretado en términos de que en el estado cristalino, las colas hidrocarbonadas de la lecitina se empaquetan más cerca una de la otra, de tal forma que la inserción de moléculas de soluto en la membrana requiere del rompimiento de fuerzas intermoleculares hidrocarburo – hidrocarburo, hecho que no es necesario en el estado de fase líquida. Aparte de esto, la fracción de

volumen de bicapa lipídica ocupada por el soluto puede incrementarse con la temperatura (23).

Ejemplos particulares de estudios de compensación en el reparto de solutos de interés farmacéutico y bioquímico entre vesículas liposomales y medios acuosos, y su correspondiente interpretación han sido presentados por Tomlinson (27).

Estudios realizados sobre el reparto de solutos liposoma/agua

El reparto de solutos entre liposomas y agua ha sido estudiado casi exclusivamente por el método de van't Hoff, aunque recientemente se ha empezado a utilizar la titulación termométrica para determinar la entalpía de transferencia.

Según el método de van't Hoff

En la literatura se encuentran reportados estudios termodinámicos del reparto de solutos de interés farmacéutico, realizados mediante tratamientos de van't Hoff por estudio de la variación del coeficiente de reparto liposoma – agua en función de la temperatura.

Una comparación de los mecanismos de reparto de alcoholes polares en un sistema solvente – agua contra liposoma – agua utilizando una aproximación termodinámica ha sido realizada por Katz y Diamond (23), sus resultados apuntan a una mayor inmovilización de los solutos en las bicapas fosfolipídicas que en los solventes orgánicos como el octanol.

Rogers y col. encontraron relaciones lineales entre el coeficiente de reparto y el recíproco de la temperatura en el estudio de *p*-halofenoles y *p*-alquilfenoles en el sistema liposoma DMPC – agua, por encima y por debajo de la temperatura de transición del fosfolípido, T_c , encontrando energías libres negativas lo que indica

que los alquilfenoles se estabilizan mejor en las bicapas que en el ambiente acuoso externo y la facilidad de acomodación se da con el aumento en la longitud de la cadena alquílica (28).

Se han encontrado entalpías y entropías positivas para el reparto de derivados fenólicos en liposomas de DMPC por debajo de la T_c (29, 30), y en sistemas hidrocarburo – NaCl 0.15 M (30). Sin embargo, se han determinado entalpías y entropías de reparto negativas en el sistema octanol – agua (7, 30) y por encima de la T_c en liposomas de DMPC (29). La termodinámica del reparto de fenotiazinas en sistemas solvente – agua y liposomas – agua ha sido reportada (31), con entalpías y entropías positivas en el intervalo de 5 a 40 °C en los sistemas formados por ciclohexano, octanol y liposomas frente a soluciones acuosas de pH 6.0.

Anderson y col. mediante la determinación espectrofotométrica del coeficiente de reparto de fenoles *p*-sustituídos en sistemas solvente orgánico – agua y vesícula fosfolipídica – agua, hicieron el estudio termodinámico correspondiente y examinaron los resultados a la luz de la teoría del parámetro de solubilidad de Hildebrand y Scott, y de los complejos de colisión entre el solvente orgánico y el soluto. Además discutieron el posible uso de los datos de coeficiente de reparto de los sistemas evaluados en estudios de relaciones estructura – actividad de fármacos (30).

Go y col. estudiaron la termodinámica de reparto de la 7-cloro-4-(4'-metoxi)-anilinoquinolina y de la 3-cloro-8-metoxi-11H-indolo(3,2-c)quinolina en los sistemas octanol – agua y liposoma – agua. Obtuvieron gráficos lineales de van't Hoff para el reparto de los dos compuestos en el sistema octanol – agua, encontrando que el reparto de la primera sustancia es controlado entrópicamente, mientras que el reparto de la segunda es controlado entálpicamente (32).

Recientemente, Go y Ngiam estudiaron el reparto de la mefloquina, un fármaco antimalárico, en los sistemas ciclohexano – agua, octanol – agua y bicapas fosfolipídicas – agua, realizando también el correspondiente tratamiento termodinámico, y comparando los resultados obtenidos con los presentados por la quinina, también usada como agente antimalárico (33).

Rogers y col., han utilizado liposomas de diferentes composiciones para estudiar el reparto de algunos tipos de fármacos y con la información generada han planteado relaciones QSAR que describen más adecuadamente el comportamiento biológico de estos compuestos, comparado con los modelos que utilizan el octanol como simulador del ambiente lipídico de los tejidos. Los grupos de fármacos estudiados por estos investigadores han sido: β -bloqueadores (21), nitroimidazoles (34), agonistas α -adrenoceptores (35), algunos derivados de imidazolidina (36), además han realizado estudios termodinámicos de tipo van't Hoff con β -bloqueadores en sistemas liposoma – agua y octanol – agua (21), encontrando comportamientos diferentes por encima y por debajo de la T_c de las vesículas formadas por DMPC; similar a lo hallado en el estudio de otros fármacos (33).

Betageri y Dipali estudiaron la termodinámica del reparto del dipiridamol en los sistemas octanol – agua y liposoma – agua, encontrando que éste es mayor en el caso de los liposomas que en octanol, y además es mayor en liposomas de DMPC que en las de DPPC a todas las temperaturas estudiadas. Concluyeron que la interacción de esta sustancia depende de la rigidez de las bicapas lipídicas y que los liposomas constituyen un sistema de reparto más selectivo que el sistema octanol – agua (37).

Betageri y col. estudiaron la termodinámica del reparto de fármacos antiinflamatorios no

esteroidales (AINEs) en los sistemas octanol – agua y liposoma – agua, encontrando que las interacciones de estos agentes dependen de su estructura y que los liposomas son más adecuados que el octanol para identificar las diferentes interacciones que pueden presentarse entre los fármacos y el medio biológico (38).

Wunderli-Allenspach y col. mediante el uso de vesículas de fosfatidilcolina, evaluaron el efecto del pH sobre el reparto liposoma – agua de diferentes fármacos, entre ellos: (RS)-propranolol y (S)-dihidroalprenolol a 37 °C (39), y más recientemente los fármacos: lidocaína, diazepam, warfarina, ácido salicílico y ciclosporina A (11).

Austin y col. (40), analizaron también el efecto del pH sobre el reparto de los solutos de interés farmacéutico: amilodipina, ácido 5-fenilvalérico, 4-fenilbutilamina y 5-hidroxi-quinolina, entre vesículas de DMPC y soluciones acuosas. En un trabajo más reciente, evaluaron el efecto de la fuerza iónica sobre el reparto de salmeterol y proxicromil entre vesículas de DOPC y soluciones acuosas a pH 7.4 (41).

En un estudio reciente Fruttero y col. evaluaron el comportamiento del reparto de algunas *p*-(metilbencil) alquilaminas en los sistemas octanol – agua y liposoma – agua, enfatizando en los efectos de la lipofilicidad en series homólogas e interpretando los resultados en términos de interacciones polares y electrostáticas (42).

Si bien, en los trabajos de Wunderli-Allenspach y col. (11, 39), Austin y col. (40, 41), y Fruttero y col. (42), sólo se reportan resultados a una temperatura y no se hacen estudios calorimétricos; a partir de los valores de coeficiente de reparto liposoma – agua puede hallarse la energía libre de transferencia, quedando pendiente la información correspondiente a la entalpía y la entropía del proceso, propiedades que contribuyen de forma notoria a la propuesta de posibles mecanismos

para explicar los fenómenos de transporte involucrados.

Estudios calorimétricos

Puesto que los estudios de reparto con liposomas se realizan a concentraciones muy bajas de soluto, los métodos calorimétricos clásicos no resultan adecuados para la determinación de las energías de transferencia, recientemente se ha empezado a usar la calorimetría de titulación isotérmica (ITC) como método estándar para la investigación de la unión de ligandos a las moléculas del receptor y para el estudio del reparto de solutos entre agua y vesículas fosfolipídicas, en este caso los solutos se mezclan con las membranas y se miden los correspondientes calores de incorporación (43).

Rowe y col. han estudiado la termodinámica del reparto de alcoholes frente a membranas artificiales utilizando calorimetría de titulación, evaluando el papel de los efectos hidrofóbicos sobre la transferencia (44).

Más recientemente Heerklotz y col. han presentado una fórmula general que permite la modelación de los calores obtenidos por ITC en sistemas de unión ligando – receptor y de reparto de solutos (43).

Se espera que muy pronto se adelanten investigaciones para determinar calorimétricamente la entalpía de transferencia de fármacos desde medios acuosos hasta vesículas liposomales.

Reconocimientos

Dedicamos estos trabajos a la memoria del profesor Fernando Jiménez-Muñoz (QEPD), quien fue uno de los primeros investigadores en nuestro país en adelantar estudios clásicos y computacionales en QSAR, y que además contribuyó a la evaluación teórica y práctica de los

liposomas como posibles sistemas de entrega de fármacos.

Bibliografía

1. R. Collander, The partition of organic compounds between higher alcohols and water, *Acta. Chem. Scand.*, **5**, 774 (1951).
2. A. Leo, C. Hansch y D. Elkins, Partition coefficients and their uses, *Chem. Rev.*, **71**, 525 (1971).
3. J.M. Diamond y Y. Katz, Interpretation of nonelectrolyte partition coefficients between dimyristoyl lecithin and water, *J. Membr. Biol.*, **17**, 121 (1974).
4. C. Hansch y W.J. Dunn III, Linear relationship between lipophilic character and biological activity of drugs, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 1 (1972).
5. F. Martínez, M. Tello y A. Gómez, Solventes orgánicos como sistemas de reparto en modelación QSAR, *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.*, **29**, 16 (2000).
6. J. Sangster, "Octanol – Water Partition Coefficients: Fundamentals and Physical Chemistry", John Wiley & Sons, Chichester, England, 1997.
7. J.A. Rogers y A. Wong, The temperature dependence and thermodynamics of partitioning of phenols in the n-octanol – water system, *Int. J. Pharm.*, **6**, 339 (1980).
8. Y.C. Martin, A practitioner's perspective of the role of quantitative structure – activity analysis in medicinal chemistry, *J. Med. Chem.*, **24**, 229 (1981).
9. N. Barker y J. Hadgraft, Facilitated percutaneous absorption: a model system, *Int. J. Pharm.*, **8**, 193 (1981).
10. D.E. Leahy, P.J. Taylor y A.R. Wait, Model solvent systems for QSAR. Part I. Propylene glycol dipelargonate (PGDP), a new standard solvent for use in partition

- coefficient determination, *Quant. Struct. – Act. Relat.*, **8**, 17 (1989).
11. C. Ottiger y H. Wunderli-Allenspach, Partition behaviour of acids and bases in a phosphatidylcholine liposome – buffer equilibrium dialysis system, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **5**, 223 (1997).
 12. R.E. Brown y B.J. Brown, Liposome/saline partitioning for the chloramphenicol family of drugs, En: “QSAR Des. Bioactive Compounds”, Prous, Barcelona, 1984, pp 13-24.
 13. M.H. Abraham, H.S. Chadha, G.S. Whiting y R.C. Mitchell, Hydrogen bonding. 32. An analysis of water – octanol and water – alkane partitioning and the $\Delta\log P$ parameter of Seiler, *J. Pharm. Sci.*, **83**, 1085 (1994).
 14. P. Barton, A.M. Davis, D.J. McCarthy y P.J.H. Webborn, Drug – phospholipid interactions. 2. Predicting the sites of drug distribution using n-octanol/water and membrane/water distribution coefficients, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 1034 (1997).
 15. R.P. Mason, D.G. Rhodes y L.G. Herbert, Reevaluating equilibrium and kinetic binding parameters for lipophilic drugs based on a structural model for drug interaction with biological membranes, *J. Med. Chem.*, **34**, 869 (1991).
 16. Y. Barenholz y D.J.A. Crommelin, Liposomes as pharmaceutical dosage forms, En: “Encyclopedia of Pharmaceutical Technology”, Editado por J. Swarbrick y J.C. Boyland, Marcel Dekker, 1994, Vol 9, pp 1 – 39.
 17. H.J. Barbosa, O.C. Beltrán, M.J. Escobar, F. Jiménez y F. Martínez, Caracterización de vesículas liposomales. 1. Efecto de la composición fosfolipídica sobre el volumen atrapado, *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.*, **27**, 31 (1998).
 18. G.V. Betageri y J.A. Rogers, The liposomes as a distribution model in QSAR studies, *Int. J. Pharm.*, **46**, 95 (1988).
 19. A.N. Martin, P. Bustamante y A.H.C. Chun, “Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences”, 4th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, USA, 1993.
 20. D.D. Lasic, “Liposomes: from Physics to Applications”, Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1993.
 21. G.V. Betageri y J.A. Rogers, Thermodynamics of partitioning of β -blockers in the n-octanol – buffer and liposome systems, *Int. J. Pharm.*, **36**, 165 (1987).
 22. A. Kristl, A. Mrhar y F. Kozjek, Intermolecular interactions of association and/or solvation type of guanine derivatives, En: “Proc. 11th Pharmaceutical Technology Conference”, Manchester, 1992, Vol 1, pp 361-377.
 23. Y. Katz y J.M. Diamond, Thermodynamic constants for nonelectrolyte partition between dimyristoyl lecithin and water, *J. Membr. Biol.*, **17**, 101 (1974).
 24. P.D. Cratin, Partitioning at the liquid – liquid interface, *Ind. Eng. Chem.*, **60**, 14 (1968).
 25. B.E. Cohen, The permeability of liposomes to nonelectrolytes I. Activation energies for permeation, *J. Membr. Biol.*, **20**, 205 (1975).
 26. M. Ahmed, J.S. Burton, J. Hadgraft y I.W. Kellaway, Thermodynamics of partitioning and efflux of phenothiazines from liposomes, *J. Membr. Biol.*, **58**, 181 (1981).
 27. E. Tomlinson, Enthalpy – entropy compensation analysis of pharmaceutical, biochemical and biological systems, *Int. J. Pharm.*, **13**, 115 (1983).
 28. J.A. Rogers, N. Anderson y S.S. Davis, The effect of functional groups on the

- energetics of partitioning of phenols between liposomes and water, *J. Pharm. Pharmacol.*, **31**, 82P (1979).
29. J.A. Rogers y S.S. Davis, Functional groups contributions to the partitioning of phenols between liposomes and water, *Biochim. Biophys. Acta*, **598**, 392 (1980).
 30. N.H. Anderson, S.S. Davis, M. James y I. Kojima, Thermodynamics of distribution of p-substituted phenols between aqueous solutions and organic solvents and phospholipid vesicles, *J. Pharm. Sci.*, **72**, 443 (1983).
 31. A.M.S. Ahmed, F.H. Farah y I.W. Kellaway, The thermodynamics of partitioning of phenothiazines between phosphate buffer and the lipid phases of cyclohexane, n-octanol, and DMPC liposomes, *Pharm. Res.*, **3**, 119 (1985).
 32. M.L. Go, T.L. Ngiam y J.A. Rogers, Thermodynamics of the partitioning of 7-chloro-4-(4'-methoxy) anilinoquinolone and its cyclized analog in octanol – buffer and liposome systems, *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 289 (1995).
 33. M.L. Go y T.L. Ngiam, Thermodynamics of partitioning of the antimalarial drug mefloquine in phospholipid bilayers and bulk solvents, *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 2055 (1997).
 34. G.V. Betageri y J.A. Rogers, Correlation of partitioning of nitroimidazoles in the n-octanol/saline and liposome systems with pharmacokinetic parameters and Quantitative Structure – Activity Relationships (QSAR), *Pharm. Res.*, **6**, 399 (1989).
 35. Y.W. Choi y J.A. Rogers, The liposome as a model membrane in correlations of partitioning with α -adrenoceptor agonist activities, *Pharm. Res.*, **7**, 508 (1990).
 36. J.A. Rogers y Y.W. Choi, The liposome partitioning system for correlating biological activities of imidazolidine derivatives, *Pharm. Res.*, **10**, 913 (1993).
 37. G.V. Betageri y S.R. Dipali, Partitioning and thermodynamics of dipyridamole in the n-octanol/buffer and liposome systems, *J. Pharm. Pharmacol.*, **45**, 931 (1993).
 38. G.V. Betageri, A. Nayernama y M.J. Habib, Thermodynamics of partitioning of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the n-octanol/buffer and liposome systems, *Int. J. Pharm. Adv.*, **1**, 310 (1996).
 39. G.M. Pauletti y H. Wunderli-Allenspach, Partition coefficients in vitro: artificial membranes as a standardized distribution model, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1**, 273 (1994).
 40. R.P. Austin, A.M. Davis y C.N. Manners, Partitioning of ionizing molecules between aqueous buffers and phospholipid vesicles, *J. Pharm. Sci.*, **84**, 1180 (1995).
 41. R.P. Austin, P. Barton, A.M. Davis, C.N. Manners y M.C. Stansfield, The effect of ionic strength on liposome – buffer and 1-octanol – buffer distribution coefficients, *J. Pharm. Sci.*, **87**, 599 (1998).
 42. R. Fruttero, G. Caron, E. Fornatto, D. Boschi y col., Mechanism of liposome/water partitioning of (p-methylbenzyl)alkylamines, *Pharm. Res.*, **15**, 1407 (1998).
 43. H.H. Heerklotz, H. Binder y R.M. Epand, A “release” protocol for isothermal titration calorimetry, *Biophys. J.*, **76**, 2606 (1999).
 44. E.S. Rowe, F. Zhang, T.W. Leung, J. S. Parr y P. T. Guy, Thermodynamics of membrane partitioning for a series of n-alcohols determined by titration calorimetry: role of hydrophobic effects, *Biochemistry*, **37**, 2430 (1998)