



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

GENETICA DE METABOLISMO DE SULFAMETAZINA
EN POBLACION MEXICANA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
OLIVIA COVARRUBIAS TERRON



MEXICO, D. F.

AMBITO PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL.

CAPITULO I. INTRODUCCION Y OBJETIVO.

Introducción	1
Objetivo	2

CAPITULO II. GENERALIDADES.

Historia	3
Química	5
Espectro bacteriano	10
Mecanismo de acción	11
Resistencia bacteriana	15
Propiedades farmacocinéticas	16
Absorción	16
Distribución	17
Biotransformación	18
Unión a proteínas	18
Acetilación	19
Excreción	22
Clasificación de las sulfonamidas	25
Reacciones indeseables a las sulfonamidas	26
Sulfametazina - Monografía	29
Fenotipo acetilador	33
Fenotipo acetilador y toxicidad a los medicamentos	34

CAPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL.

Desarrollo del método analítico para la cuantificación de sulfametazina en orina	38
Método analítico	39
Validación del método analítico	41
Determinación del fenotipo acetilador	44

CAPITULO IV. RESULTADOS.

Validación del método analítico para cuantificar sulfametazina libre	46
Validación del método analítico para cuantificar sulfametazina total	46
Estudio farmacogenético	54
Histograma de frecuencias	58

CAPITULO V. ANALISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES.

Validación del método analítico para cuantificar sulfametazina libre	66
Validación del método analítico para cuantificar sulfametazina total	66
Estudio farmacogenético	68
Evaluación de curvas probit	70
Antimoda (puntos de inflexión)	71
Caracterización de los tres fenotipos	72
Conclusiones	75

CAPITULO VI.

Bibliografía

76

Apéndices

81

INDICE DE FIGURAS.

1 Fórmulas químicas del prontosil y sulfanilamida	4
2 Fórmulas químicas de las sulfonamidas más representativas	7
3 Mecanismo de acción de las sulfonamidas	14
4 Acetilación de las sulfonamidas	21
5 Distribución de las sulfonamidas en el organismo	24
6 Curva patrón de sulfametazina libre	49
7 Curva patrón de sulfametazina total	52
8 Histograma de frecuencia de % AcSMZ de 40 voluntarios	59
9 Histograma de frecuencia de AcSMZ/SMZ libre	60
10 Histograma de frecuencia de SMZ libre/AcSMZ	61
11 Histograma de frecuencia de % AcSMZ de 136 voluntarios	62
12 Curva de % AcSMZ contra unidades probit	63
13 Índice de inactivación (AcSMZ/SMZ libre) contra unidades probit	64
14 Relación molar (SMZ libre/AcSMZ) contra unidades probit	65

INDICE DE DIAGRAMAS.

1 Cuantificación de sulfametazina libre	42
2 Cuantificación de sulfametazina total	43

INDICE DE TABLAS.

I Principales efectos adversos de algunas sulfonamidas	28
II Linearidad del método analítico para la cuantificación de sulfametazina libre en orina	48
III Repetibilidad del método analítico para la cuantificación de sulfametazina libre en orina	50
IV Linearidad del método analítico para la cuantificación de sulfametazina total	51
V Repetibilidad del método analítico para la cuantificación de sulfametazina total	53
VI Valores del porcentaje de sulfametazina acetilada, SMZ libre/AcSMZ y AcSMZ/SMZ libre	55
VII Porcentaje excretado de sulfametazina de cada uno de los voluntarios	

INDICE DE APENDICES.

1 Hoja de consentimiento	81
2 Protocolo	82
3 Reacciones de la sulfametazina	84
4 Cálculos realizados	85

CAPITULO I

INTRODUCCION.

Existen algunos medicamentos como: Procainamida, Dapsona, Hidralazina, Isoniazida, Sulfapiridina y Sulfametazina que son metabolizados vía N-acetiltransferasa hepática. En la literatura se encuentran gran cantidad de reportes indicando que el metabolismo por esta vía está determinado genéticamente por herencia de tipo Mendeliana, por lo que se ha encontrado que su acetilación produce una distribución bimodal representada por dos grupos, los cuales se clasifican como acetiladores rápidos y acetiladores lentos.

La N-acetilación de las sulfonamidas se ha usado como un marcador en seres humanos para determinar genéticamente, la capacidad del sistema N-acetil-transferasa de metabolizarlos, siendo la sulfametazina la más empleada para definir el fenotipo acetilador.

El conocimiento del fenotipo acetilador del individuo es importante, ya que se puede determinar el grado de toxicidad del fármaco y también predecir la respuesta positiva del mismo, asimismo, mediante este parámetro es posible establecer el régimen de dosificación más adecuado para aquellos pacientes bajo tratamiento con fármacos que se metabolizan por esta vía.

OBJETIVO.

Aún cuando en la literatura existen reportes acerca del fenotipo acetilador de muchas poblaciones, los estudios en nuestro país son escasos, en base a lo cual se desarrolló el presente trabajo, cuyo objetivo fué:

Determinar el fenotipo acetilador predominante en población Mexicana.

CAPITULO II

HISTORIA

Con el descubrimiento de las propiedades antibacterianas de las sulfonamidas se inició una de las más grandes eras en la historia médica. (8).

En 1908, Gelmo, interesado en sintetizar colorantes fué el primero en sintetizar la p-aminobenzensulfonamida (sulfanilamida). Durante los siguientes 25 años se demostró un gran interés por este compuesto así como por otros relacionados químicamente.

En 1932, las investigaciones en la I. G. Farben Industrie produjeron una patente alemana para Klarer y Mietzch que cubría el Prontosil y varias otras azoanilinas que contenían un grupo sulfonamida. Domagk, sabía que las azoanilinas sintéticas habían sido estudiadas por su acción contra los estreptococos, lo cual lo impulsó a probar los nuevos compuestos.

En 1935, apareció un trabajo en la literatura médica alemana afirmando que el colorante azoico rojo prontosil, era capaz de proteger a los ratones contra una infección estreptocócica sistémica y de curar a los pacientes que sufrían padecimientos de ese tipo. Se descubrió que la actividad antibacteriana del prontosil se debía a que el

colorante era metabolizado en el organismo a p-amino-benzensulfonamida conocida más tarde como sulfanilamida. (11, 16).

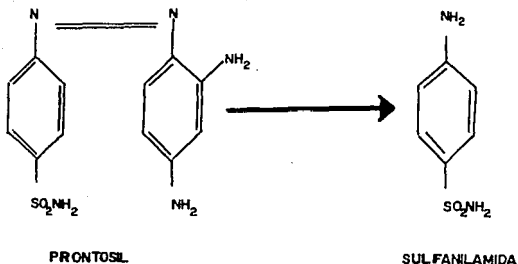


FIGURA 1. FORMULAS QUIMICAS DEL PRONTOSIL Y SULFANILAMIDA
 La reacción de reducción de la unión del compuesto azo, el cual inicia el metabolismo del prontosil, es mediado por la flora intestinal lo cual se muestra en la figura 1.

En 1940, el Dr. Woods, descubrió que el ácido p-amino-benzoico invertía la acción de la sulfanilamida sobre las bacterias. (18).

Se sintetizaron numerosos derivados de la sulfanilamida, y pronto fué posible controlar diversas enfermedades sistémicas mediante el uso de estos fármacos. Su estudio no solo revolucionó el tratamiento de muchas enfermedades

infecciosas, sino que condujo a grandes descubrimientos sobre el metabolismo bacteriano. (11).

Las sulfonaminas ó sulfamidas pronto adquirieron gran popularidad pero, la fueron perdiendo con el descubrimiento de antibióticos más activos y menos tóxicos. (7).

QUIMICA

El término sulfonamida se emplea incluso como nombre genérico para los derivados de la p-aminobenzensulfonamida (sulfanilamida). Las sulfonamidas poseen propiedades ácidas débiles debido al grupo sulfamilo, la mayoría de ellas son relativamente insolubles en agua, pero sus sales de sodio se solubilizan con rapidez, son alcalinas y sus soluciones tienen pH de 9.0 - 11.0, por lo que son muy irritantes para los tejidos y en la actualidad se emplean muy poco (15). La estructura básica de las sulfonamidas se deriva del ácido sulfanílico y es semejante al ácido p-aminobenzoico, con dos átomos de nitrógeno (nitrógeno amídico N-1 y nitrógeno amínico N-4) (7), la modificación molecular de la sulfanilamida nos conduce a la síntesis de compuestos con una actividad biológica variada. (8).

La sustitución a nivel N-1 da lugar a sulfonamidas de potente actividad antimicrobiana, mientras que la

sustitución a nivel de N-4 y N-1 a la vez da lugar a fármacos inactivos que deben desdoblarse en el organismo para perder el grupo unido a N-4 y producir así sustancias activas (7, 11). La presencia del grupo amino en posición para es esencial; si este grupo se coloca en las posiciones orto o meta desaparece su actividad. La acetilación del grupo amínico en N-1 lleva a la pérdida de toda actividad antibacteriana in vitro e in vivo, por formarse un compuesto acetilado estable con el grupo amínico bloqueado. Esta sulfonamida conjugada puede ser más o menos soluble en agua como la sulfonamida libre. (8).

No pueden introducirse sustituciones en las posiciones 2, 3, 5 ó 6, del anillo bencénico.

El grupo $-SO_2NHR_1$ no es esencial como tal, pero una característica importante es que el azufre está unido en forma directa al anillo bencénico. La sustitución de R_1 puede alterar la absorción, la distribución y la solubilidad.

El aumento de la actividad que se logra al realizar la sustitución en N-1 y las diferencias en los distintos compuestos depende de la tendencia de éstos a ionizarse como ácidos con la disociación del hidrógeno unido a N-4, pues los iones son más activos que los compuestos no

disociados; por lo tanto, la potencia farmacológica de las sulfonamidas depende de su constante de ionización : K_a . Como la ionización depende del pH del medio, en el caso del pH de los tejidos 7.4, la disociación ácida de las sulfonamidas será tanto mayor cuanto más cercano se encuentre el pK_a a 7.4.

En el figura 2, se muestran las sulfas más representativas de acuerdo a su vida media y su absorción en el tracto gastrointestinal.

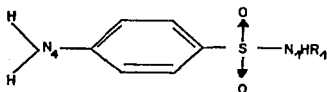
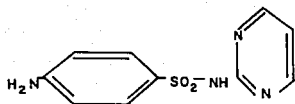
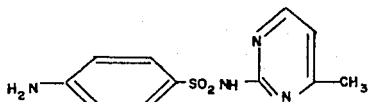


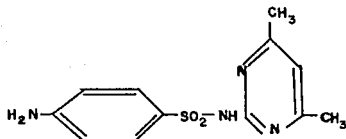
FIGURA 2. FORMULAS QUIMICAS DE LAS SULFONAMIDAS MAS REPRESENTATIVAS



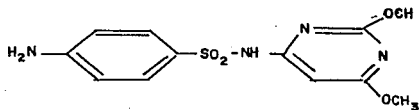
SULFADIACINA



SULFAMERACINA



SULFAMETAZINA



SULFADIMETOXINA

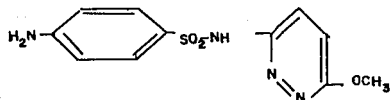


FIGURA 2. FORMULAS QUIMICAS DEL LAS SULFONAMIDAS MAS REPRESENTATIVAS. CONTINUA.

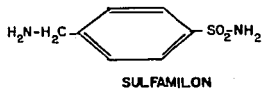
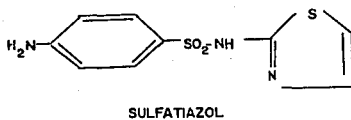
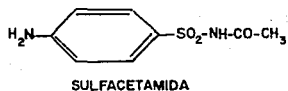
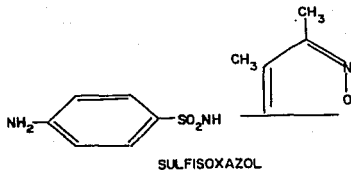


FIGURA 2 FORMULAS QUIMICAS DE LAS SULFÓNAMIDAS MAS REPRESENTATIVAS. CONTINUA.

ESPECTRO ANTIBACTERIANO.

Las sulfonamidas son bacteriostáticas a concentraciones terapéuticas (7, 9, 13), los microorganismos son inhibidos en su crecimiento y mueren por los mecanismos defensivos del organismo huésped (7, 13), especialmente la fagocitosis de los leucocitos y las células del sistema reticuloendotelial.

Entre los organismos que suelen ser sensibles in vitro a las sulfonamidas se encuentran:

- Bacterias Grampositivas: Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Bacillus anthracis, Nocardia y Corynebacterium diphtheriae.
- Bacterias Gramnegativas: La resistencia es más común en éstas, pero algunas son susceptibles como el Meningococo, Gonococo, Haemophilus ducreyi y Haemophilus influenzae.
- Otros microorganismos susceptibles son: Actinomyces, Calymmatobacterium granulomatis y Chlamydia trachomatis.

Las concentraciones mínimas inhibitorias oscilan entre 0.1 mg/ml para Chlamydia trachomatis y 4 a 64 mg/ml para Escherichia coli.

Aunque las sulfonamidas fueron utilizadas con éxito para el manejo de las infecciones meningocóccicas durante muchos años, en la actualidad la mayoría de las cepas de Neisseria meningitidis son resistentes. Una situación similar prevalece con respecto a Shigella.

Las cepas de E. coli aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario (que no han sido tratados previamente) son con frecuencia resistentes a las sulfonamidas, de tal forma que ya no constituyen el tratamiento de elección para esas infecciones. (7, 15).

MECANISMO DE ACCION.

Generalmente se acepta que las sulfonamidas son bacteriostáticas a las concentraciones utilizadas para controlar infecciones, ya que impiden el crecimiento de las bacterias, permitiendo que las células fagocíticas del cuerpo engloben a éstas y las destruyan. Solo cuando las concentraciones del fármaco son extremadamente altas, como ocurre en la orina, se obtienen concentraciones bactericidas. (8).

Este grupo de fármacos no estimula una respuesta específica por parte del huésped (inmunológica celular ó humoral), sino que su actividad está completamente dirigida hacia las

bacterias infectantes.

Long y Bliss, observaron que las sulfonamidas no erradican inmediatamente la bacteria del huésped, sino que detienen la multiplicación in vitro durante las primera horas, sugirieron que ésto se debe a una alteración en el mecanismo reproductivo del microorganismo. (8).

Para muchos microorganismos, el ácido p-animobenzoico (PABA) contituye un metabolito esencial (14). Siendo utilizado como un precursor en la síntesis de ácido fólico (20), el cual es un iniciador de la síntesis de timidina y de todas la purinas. La timidina es necesaria para la síntesis de DNA, y las purinas lo son para la síntesis de ácido nucleico. (21).

El mecanismo de acción del PABA incluye la condensación de una Pteridina con PABA en presencia de ATP para producir ácido dehidropteroico, el cual posteriormente es transformado a ácido fólico. Las sulfonamidas son análogos estructurales del ácido p-aminobenzoico (PABA) (21), por lo cual puede penetrar en lugar del PABA compitiendo por el sitio activo de la enzima. Como resultado, se forman análogos no funcionales del ácido fólico, evitando el desarrollo ulterior de la célula bacteriana. (18, 26).

En la figura 3, se muestra el mecanismo de acción de las sulfonamidas.

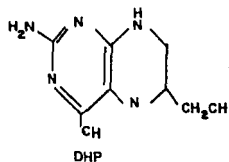
Las sulfonamidas no afectan las células de los mamíferos ya que éstas requieren de ácido fólico preformado por no poderlo sintetizar, por consiguiente, son comparables a las bacterias insensibles a las sulfonamidas las cuales utilizan folato preformado. (11, 15).

En 1962, Brown, utilizando extractos de E. coli, observó que las sulfonamidas también podían usarse como sustratos alternativos para formar productos que tal vez sean análogos de las formas reducidas del ácido pterico.

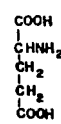
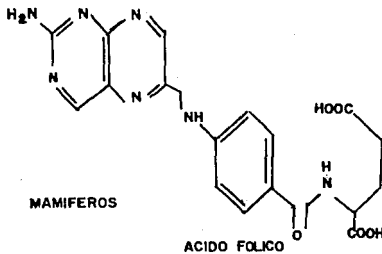
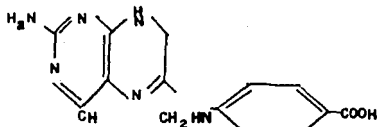
La acción inhibitoria de las sulfonamidas sobre el desarrollo bacteriano puede ser contrarrestada con un exceso de PABA en el medio ambiente (inhibición competitiva).

La acción bacteriostática de las sulfonamidas se ve antagonizada por pus, tejido necrótico y extractos de levadura. Esta acción se debe a la presencia del ácido p-aminobenzoico (7, 22). Bliss y Long, demostraron que la metionina antagoniza la acción de la sulfonamida (8, 23).

BACTERIAS



SULFONAMIDAS
DIHIDROPTE-
ROSTO SINTE-
TASA.



DIHIDROFOLATO
REDUCTASA

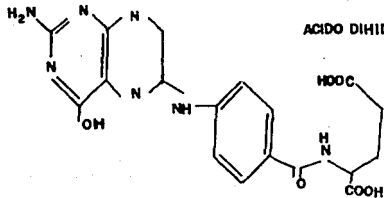
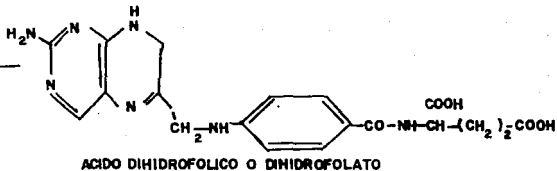


FIGURA 3. MECANISMO DE ACCION DE LAS
SULFONAMIDAS

RESISTENCIA BACTERIANA.

El problema principal que se presenta durante el uso de agentes bacterianos (sulfonamidas), es la resistencia que pueden desarrollar los microorganismos (8). Se ha observado que una vez que un organismo ha desarrollado resistencia a una sulfonamida, también la presenta para todas las demás (7, 8). La resistencia bacteriana se origina por mutación y selección al azar ó por transferencia de la resistencia mediante plásmidos. Cuando la resistencia alcanza su máximo desarrollo suele ser persistente e irreversible. La resistencia a la sulfonamida puede deberse a una alteración de la constitución enzimática de la célula bacteriana, lo cual está caracterizado por:

- La producción de una enzima dihidropteroato sintetasa con afinidad disminuida para las sulfonamidas.
- Un aumento en la capacidad para destruir o inactivar el fármaco.
- Una vía metabólica alternativa para la síntesis de un metabolito esencial.
- Aumento de producción de metabolito esencial o

antagonista del fármaco. (7, 8, 11, 15, 25).

En 1940, Woods, sugirió que la resistencia de algunas bacterias a las sulfonamidas puede estar basada en su capacidad para sintetizar suficiente PABA para antagonizar al medicamento. (18).

PROPIEDADES FARMACOCINETICAS.

ABSORCION

Las sulfonamidas al ser ácidos débiles se absorben con rapidez en el tracto gastrointestinal; esta clase de fármacos se absorben alrededor del 70 al 100% de una dosis oral y pueden encontrarse en la orina 30 minutos después de su ingestión. Existen reportes en la literatura indicando que el grado y velocidad de absorción varían para los distintos compuestos.

El intestino delgado es el sitio principal de absorción, pero parte del fármaco se absorbe en el estómago.

La absorción en otros sitios como vagina, tracto respiratorio ó piel erosionada es variable y poco confiable, pero puede ingresar una cantidad suficiente en el organismo como para causar reacciones tóxicas en las

personas susceptibles ó bien sensibilización.

DISTRIBUCION.

El volumen de distribución de la mayoría de las sulfonamidas se aproxima al del agua corporal total y todas ellas penetran en las células. (11).

Las sulfonamidas se distribuyen en todos los tejidos y líquidos pleural, peritoneal, sinovial, ocular y fluidos orgánicos similares, pudiendo alcanzar hasta un 50 a 80% de las concentraciones plasmáticas. En ellos la unión a proteínas suele ser baja, presentándose en su forma activa libre.

Este grupo de fármacos pasa con rapidez por la placenta a la circulación fetal, obteniéndose concentraciones que pueden producir efectos antibacterianos y tóxicos; también se ha demostrado que pasan al líquido cefalorraquídeo, donde las de acción corta alcanzan concentraciones efectivas. (7).

El valor del pKa y el grupo que se encuentra en la posición N-1 determinan el grado de conjugación y la liposolubilidad.

Las sulfonamidas más liposolubles se encuentran en el organismo en forma no ionizada, se distribuyen y mantienen niveles terapéuticos adecuados durante periodos más largos que los fármacos que se ionizan rápidamente.

BIOTRANSFORMACION.

Después de la absorción, una porción del fármaco puede unirse a la albúmina del plasma o puede ser metabolizada. Dependiendo del radical que se encuentre en la posición N-1 ó N-4 de la molécula, el grado en el que ocurren estos procesos puede variar.

UNION A PROTEINAS

En el plasma, la sulfonamidas se encuentran parcialmente unidas a las proteínas, el porcentaje unido varía con cada fármaco. Esto está determinado por la hidrofobicidad de cada uno de ellos, su pKa y el pH fisiológico. Los fármacos con un pKa elevado exhiben un bajo grado de unión a las proteínas y viceversa. (7, 8, 15).

La sulfonamida que se encuentra unida a la proteína plasmática es bacteriológicamente inactiva, siendo solo efectiva la forma libre; dicha unión no es muy fuerte y sirve de reservorio del fármaco en la sangre, del que

libera a medida que la fracción libre es eliminada. (8).

El grado de unión es menor en los pacientes con insuficiencia renal severa, fenómeno que no puede ser totalmente explicado en base únicamente a los bajos niveles de albúmina plasmática.

Cuando la sulfonamida se encuentra en forma acetilada se une más que cuando se encuentra en forma libre. (26).

ACETILACION.

La alteración característica en las sulfonamidas es una acetilación en el nitrógeno, resultando un metabolito acetilado, el cual ha perdido la actividad antibacteriana, pero conserva sus acciones tóxicas.

Algunas sulfonamidas como son las sulfametazina y la sulfapiridina son metabolizadas a un polimorfo acetilado, con dos fenotipos fácilmente reconocibles, (27, 28, 29, 30). Estudios genéticos han demostrado que el fenotipo acetilador de un individuo está predeterminado genéticamente (30, 31), por lo cual existen los procesos de acetilación rápida y acetilación lenta. (11, 32).

El mecanismo que gobierna esta transformación es de

naturaleza enzimática y está basado en la actividad de la N-acetil transferasa que se encuentra en la fracción soluble del hígado y también en otros tejidos (8, 33). En el hígado la sulfanilamida se acetila en la células reticuloendoteliales, en lugar de las células parenquimatosas hepáticas. (26, 33).

La acetilación de las sulfonamidas se efectúa por una acetilasa, ésta requiere de un derivado del ácido pantoténico como coenzima y de la presencia de ATP.

La coenzima A (CoA), por medio de un grupo sulfhidrilo libre reacciona con la forma activa de un ácido carboxílico para formar el derivado acil-CoA. El grupo acilo se transfiere después al aceptor adecuado, como se puede observar en la figura 4. (14, 26, 33).

Los acetiladores lentos tienen menos N-acetil transferasa en el hígado que los acetiladores rápidos. (32).

Los derivados acetilados son menos solubles que la sulfonamida por esto generalmente se evitan en la terapéutica, ya que existe el peligro de precipitación en orina ácida.

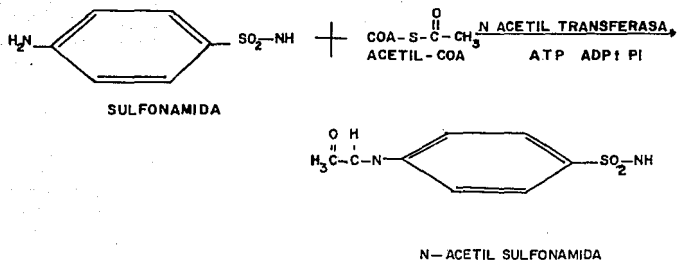


FIGURA 4. ACETILACION DE LAS SULFONAMIDAS,

EXCRECION.

Las sulfonamidas se excretan principalmente en la orina en forma libre y acetilada. La velocidad de excreción varía según los distintos compuestos y la vida media en el organismo depende de la función renal. Concentraciones apreciables de las sulfonamidas se eliminan por la bilis en proporción de 0 a 8%, que son encontradas en las heces. También se pueden detectar en fluido prostático, secreción salival y bronquial, cantidades relativamente pequeñas (1 a 2%) son encontradas en la leche.

Este grupo de fármacos se elimina vía filtración glomerular y secreción tubular. En 1940, Marshall, mostró que la sulfanilamida y la sulfapiridina, en forma libre ó acetilada, son excretadas vía filtración glomerular; la reabsorción tubular ocurre hasta en un 80% (8). La reabsorción tubular se produce en la mayor parte de las sulfonamidas tanto en forma libre como en la acetilada, siendo una excepción la sulfacetamida. (34).

La concentración de las sulfonamidas en la orina supera en mucho a la plasmática. De hecho la concentración urinaria puede ser de 25 a 50 veces mayor, lo que contribuye a la utilidad de estos agentes como antimicrobianos urinarios con dosis relativamente pequeñas por vía oral. Su

eliminación comienza a los 30 minutos de su ingestión.

La frecuencia de administración oral depende más del grado de excreción del fármaco que de otro factor, las sulfonamidas que son excretadas más lentamente se administran con menor frecuencia. (8, 34).

Sholtan, reportó que la excreción de sulfonamidas por el riñón es independiente de su grado de unión a la albúmina del plasma. (8).

La excreción de los derivados acetilados en la orina son las siguientes:

FARMACO	DERIVADO ACETILADO (%)
Sulfadiazina	30 a 40
Sulfamerazina	45 a 60
Sulfadimetoxina	70 a 80
Sulfametazina	52
Sulfacetamida	40
Sulfisoxazol	35

En la figura 5, se presenta la disposición de las sulfas en el organismo.

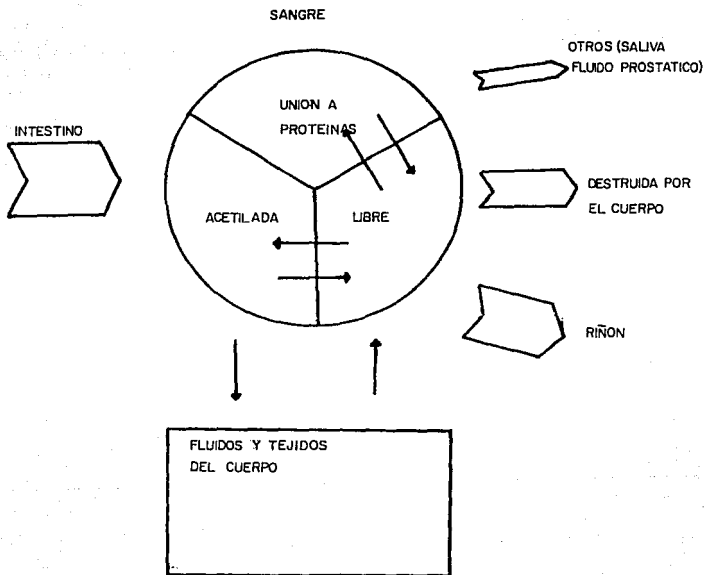


FIGURA. 5. DISTRIBUCION DE LAS SULFONAMIDAS EN EL ORGANISMO

CLASIFICACION DE LAS SULFONAMIDAS.

En base a su rapidez de absorción y de excreción, las sulfonamidas se pueden clasificar de la siguiente forma:

1.- Agentes que se absorben y excretan con rapidez:

Sulfisoxazol.

Sulfadiazina.

2.- Agentes que se absorben muy poco al administrarse por vía oral, por lo que son activos en la luz intestinal:

Sulfalazina.

3.- Sulfonamidas empleadas para uso tópico:

Sulfacetamida.

Mafenida.

Sulfadiazina de plata.

4.- Sulfonamidas de acción prolongada, que se absorben con rapidez pero se excretan con lentitud.

Sulfadoxina.

REACCIONES INDESEABLES A LAS SULFONAMIDAS.

Las reacciones tóxicas de las sulfonamidas pueden afectar prácticamente todos los sistemas del organismo. La incidencia global de reacciones es de aproximadamente el 5%.

Las manifestaciones tóxicas pueden caer dentro de dos categorías:

- a).- Alergia o idiosincrasia.
- b).- Toxicidad renal.

Las reacciones de hipersensibilidad se manifiestan generalmente después de que se ha administrado el fármaco por un periodo de varios días a varias semanas.

Las náuseas y vómitos son de los efectos más frecuentes y ocurren en un 5% de los pacientes, hay otros menos comunes como el dolor de cabeza, mareos, ataxia, depresión, irritabilidad e insomnio ó manifestaciones que tal vez sean de origen central (8).

La toxicidad renal en forma de nefrosis, cristaluria y hematuria se debe a precipitación del fármaco dentro de los tubulos renales. El mantenimiento de una diuresis adecuada

y la alcalinización de la orina pueden evitar esas complicaciones.

Las reacciones de hipersensibilidad han causado muchos problemas; entre los cuales se incluyen el síndrome de lupus eritematoso, las erupciones cutáneas pueden oscilar desde un exantema morbiliforme difuso o el eritema multiforme hasta la dermatitis exfoliativa (síndrome de Stevens-Johnson). Esta última complicación es especialmente temida a causa de su alta mortalidad.

Trastornos del sistema hematopoyético como anemia hemolítica aguda, agranulocitosis y anemia aplásica.

Algunas manifestaciones son características de ciertas sulfonamidas, como la sulfanilamida la cual produce acidosis y cianosis.

En la tabla I, se describen los principales efectos adversos de algunas sulfonamidas.

TABLA I EFECTOS TOXICOS DE LAS SULFONAMIDAS.

Efectos Tóxicos.	Sulfanila mida.	Sulfatia zol.	Sulfadia zina.	Sulfamera zina.	Sulfameta zina.	Sulfisoxa zol.	Sulfaceta mina.	Sulfisomi dina.
RENAL:								
Cristaluria	±	+++	++	+++	+	+	±	+
Hematuria	0 a +	+++	++	+++	+	-	0	
Oliguria y anuria			+	++	±	0	0	
SANGRE:								
Leucopenia	+++	++	+	+		±		
Agranulocitosis	+ a ++	±	±	±		0		
Anemia (Jave)	+++	++	+	±		+		
Anemia (Hemolítica aguda)	++	+	±	±		0		
PIEL:								
Erupción	+++	+++	++	++		+		+
DIVERSOS:								
Fiebre	+++	+++	++	++	++	+		++
Acidosis	++	0	0	0		0		
Dolor de cabeza	+++	+	+	+		±	+	
Mareos	+++	+	+	+		±		
Náuseas y vómitos	+++	++	++	++	+	++	+	+
Cianosis.	+++	±	±	±	±	0	±	±

+++ = Frecuente; ++ = menos frecuente; + = raro; ± = muy raro; 0 = no observado.

SULFAMETAZINA.

MONOGRAFIA.

1.- DESCRIPCION.

Nombre químico:

4-amino-N-(4,6-dimetil-2-pirimidinil) bencensulfonamida;
4,6-dimetil-2-sulfanilamidopirimidina;
N4-(4,6-dimetil-2-pirimidil) sulfanilamida.

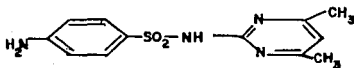
Sinónimos:

Sulfadimerazina, sulfadimezina, sulfadimetilpirimidina,
sulfametazina, sulfamidina y sulfadimidina.

Fórmula condensada:



Fórmula desarrollada:



Peso molecular:

278.3

2.- PROPIEDADES.

Apariencia:

Polvo cristalino blanco, inodoro.

Solubilidad:

Casi insoluble en agua, soluble en 1 a 20 de etanol, 1 en 2500 en eter y 1 en 600 de cloroformo, soluble en ácidos minerales diluidos y en soluciones acuosas de hidróxidos y carbonatos.

La solubilidad aumenta rápidamente con un incremento en el pH.

Punto de fusión:

197°C a 199°C .

Mecanismo de acción:

La sulfametazina actúa como un inhibidor competitivo de la enzima bacteriana dihidropteroato sintetasa que forma el ácido dihidropteroico a partir del ácido p-aminobenzoico, primer paso para la síntesis bacteriana de ácido fólico, al no existir éste en el medio, impide el crecimiento y desarrollo de la célula bacteriana.

Absorción y excreción:

Después de una administración oral se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal produciendo concentraciones en sangre de 5 a 10 mcg%.

Se une a proteínas en un 60 a 80%, pasa el líquido cefalorraquídeo en aproximadamente un 50%. Es eliminada lentamente por el riñón, tanto en forma libre como acetilada.

Metabolismo:

La sulfametazina es altamente acetilada, se encuentra en esta forma en alrededor de un 30% en sangre y 60% en orina.

La enzima N-acetil transferasa es la encargada de acetilar

a las sulfonamidas, esta acetilación está determinada genéticamente presentando una herencia de tipo Mendeliana, la cual sugiere tres fenotipos: (Ac^R / Ac^R) para una acetilación rápida en homocigotos dominantes; (Ac^R / Ac^S) para una acetilación rápida en heterocigotos dominantes y (Ac^S / Ac^S) para una acetilación lenta en homocigotos recesivos.

La velocidad para la formación del N-acetilsulfametazina es casi tres veces mayor para acetiladores rápidos que para lentos. (24, 29).

Reacciones indeseables:

La sulfametazina a dosis terapéuticas, raramente causa serios efectos tóxicos. La forma acetilada es muy soluble en orina. Los acetiladores lentos presentan náuseas, cefalea, fiebre, vértigo y fatiga con mayor frecuencia.

FENOTIPO ACETILADOR.

Existe una gran cantidad de reportes en la literatura indicando que la capacidad para metabolizar sustratos vía N-acetil transferasa está determinada genéticamente. Entre los fármacos que se metabolizan por esta vía se encuentran: Isoniazida, Hidralazina, Procaïnámica, Sulfametazina, Sulfapiridina y Dapsona. (1, 27, 28, 29, 34).

El grado de acetilación presenta una variación muy grande entre los individuos mostrando una distribución bimodal, lo que permite clasificarlos como acetiladores rápidos o lentos. Estudios genéticos han demostrado que el polimorfo acetilado es controlado por dos genes alelicos en un locus simple, identificado como R (rápido) y r (lento) (1, 3, 25). Los individuos que presentan acetilación lenta son homocigotos para el gen que controla esta característica (rr), mientras que los rápidos pueden ser homocigotos ó heterocigotos para el gen que controla la acetilación rápida (RR ó rr). (3, 31).

La proporción de acetiladores rápidos y lentos dentro de la población, varía de acuerdo al grupo étnico. Los de origen caucásico (en poblaciones de los Estados Unidos, Alemania, Finlandia, Gran Bretaña, Suecia, Checoslovaquia ó Canada); los de origen africano (en poblaciones de Estados Unidos,

Este de Africa, Sudán o Nigeria) y los del Sur de la India son acetiladores lentos. Los individuos de origen japones (en poblaciones de Estados Unidos y Japón); los de origen chino (en poblaciones de Taiwan, Singapur, Hong Kong); los de origen esquimal (en poblaciones de Canada o Alaska); así como los de origen coreano, son acetiladores rápidos. (1, 35).

FENOTIPO ACETILADOR Y TOXICIDAD A LOS MEDICAMENTOS.

El polimorfo acetilado juega un papel muy importante en la incidencia de respuestas tóxicas de cierto tipo de fármacos, por ejemplo en el caso de la Procainamida la cual es utilizada para el tratamiento de arritmias ventriculares. En pacientes con función renal normal una cantidad apreciable de la dosis se excreta inalterada y entre 20 a 40% se acetila (N-acetilprocainamida NAPA). La cantidad de NAPA formada depende del fenotipo acetilador del paciente (32). La Procainamida ha ocasionado respuestas desfavorables por el desarrollo de anticuerpos antinucleares (ANA) (35). Aproximadamente el 40% de los pacientes tratados con este fármaco por más de seis meses y algunos por un año, presentaron anormalidades inmunológicas. En los acetiladores lentos que sufren afección cardiaca se observó que la procainamida induce el ANA (anticuerpos antinucleares) más rápidamente que en los

acetiladores rápidos. La duración del tratamiento que es necesario para inducir el ANA en el 50% de acetiladores lentos y rápidos fué de 2.9 y 7.3 meses respectivamente. En estudios realizados por Woosley, Davis, Beedie y Rawlins, observaron que los acetiladores rápidos son más sensible en presentar ANA.

Una de las respuestas tóxicas de la Procainamida es el desarrollo del síndrome de lupus eritematoso (LEA). Henningsen, demostró que el 29% de los pacientes con un tratamiento por un periodo largo presentan esta toxicidad. Los acetiladores lentos pueden ser más sensibles de presentar el síndrome de LEA. (1, 35).

Asimismo, los acetiladores lentos al ingerir una dosis diaria de hidralazina, presentan concentraciones elevadas del fármaco en el plasma, ocasionando que se desarrolle el síndrome de LEA con mayor facilidad que en los rápidos. (1, 29, 35).

La Dapsona es un fármaco utilizado en el tratamiento de la lepra. Los acetiladores lentos tratados con este fármaco, son más propensos a presentar efectos hematológicos; los acetiladores rápidos requieren dosis altas para un tratamiento efectivo. (32).

En acetiladores lentos, los siguientes efectos adversos se presentan con mayor frecuencia: somnolencia, náuseas, mareos, etc. (35).

Con la administración de la Isoniazida, la hepatitis es más frecuente en acetiladores rápidos de origen oriental. Alrededor del 90% son susceptibles a adquirir lesión hepática (29, 31). Se ha demostrado que la liberación de la Acetilhidrazina (metabolito hepatóxico de la Isoniazida) en los acetiladores rápidos es la responsable de la incidencia de hepatitis.

Ellard y Gammon, sugirieron que la hepatitis inducida por la Isoniazida no depende del fenotipo acetilador (lento o rápido) y también demostraron que la Acetilhidrazina es acetilada polimórficamente en acetiladores rápidos, previniendo una mayor acumulación en el organismo a diferencia de la acetilación lenta. Se requiere realizar un número mayor de estudios para definir con precisión la relación entre el polimorfismo acetilador y la hepatitis inducida por la Isoniazida.

Los acetiladores lentos tratados con Isoniazida son más propensos a desarrollar neuropatía periférica, manifiestan efectos adversos cuando son tratados con Isoniazida y Fenitoina simultáneamente mostrando gran tendencia a

presentar anticuerpos antinucleares (ANA) y signos clínicos de lupus eritematoso. Los acetiladores rápidos responden menos favorablemente al tratamiento para tuberculosis pulmonar con el régimen de una dosis semanal de Isoniazida.

La polineuritis es bien conocida como un efecto adverso de la Isoniazida, se presenta más frecuentemente en los acetiladores rápidos que en los lentos.

La Salicilazosulfapiridina, presenta algunos efectos como cianosis, hemólisis, y reticulosis transitoria en acetiladores lentos, después de la primera dosis de 4 gramos o más. La acumulación de la Sulfapiridina en los pacientes, es la responsable del incremento en la respuesta tóxica.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

DESARROLLO DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA EN ORINA.

El método analítico utilizado para la cuantificación de sulfametazina libre y total fué el método espectrofotométrico reportado por Greshinfield y colaboradores. (2, 6, 29).

EQUIPO Y REACTIVOS.

Equipo:

- Espectrofotómetro Beckman Du-68.
- Balanza analítica Sartorius.

Reactivos:

- Acido clorhídrico, R.A., J.T. Baker.
- Nitrito de sodio, R.A., Mallinckrodt.
- Sulfamato de amonio, R.R., Sigma de México S.A.
- Clorhidrato de N-1-naftil-etilendiamina, R.A., Sigma U.S.A.

Concentraciones de los reactivos empleados:

- Acido clorhídrico 0.1 y 0.4 N.
- Nitrito de sodio al 0.1% (p/v).
- Sulfamato de amonio al 0.5% (p/v).
- Clorhidrato de N-1-naftil-etilendiamina al 0.1% (p/v).

METODO ANALITICO.

1) CURVA PATRON DE SULFAMETAZINA EN ORINA.

Pesar 10 mg de sulfametazina y aforar con orina a 100 ml (concentración de 100 mcg/ml).

Con un pipeta depositar en matraces volumétricos 1, 2, 3, 4 y 5 ml de la solución patrón, aforar con agua destilada a 50 ml .

Tomar una alícuota de 5 ml y aforar con agua a 25 ml, de cada una de estas diluciones tomar 5 ml para obtener concentraciones de 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mcg/ml respectivamente.

2) METODO.

A) Para la cuantificación de sulfametazina libre.

En un matraz volumétrico colocar 5 ml de orina problema, agregar 5 ml de ácido clorhídrico 0.4 N, 1 ml de una solución de nitrito de sodio al 0.1%. Agitar bien y dejar reposar durante 5 minutos. Añadir 1 ml de sulfamato de amonio al 0.5%, agitar y dejar reposar durante 3 minutos. Agregar un 1 ml de clorhidrato de N-1-naftil-etilendiamina al 0.1% y determinar la

absorbancia de la solución a una longitud de onda de 545 nm, utilizando como blanco una muestra de orina libre de fármaco.

La cantidad de sulfametazina libre se obtiene interpolando el valor de la absorbancia en una curva de calibración en el rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml.

B) Cuantificación de sulfametazina total (acetilada+libre).

De la muestra problema tomar una alícuota de 5 ml, agregar 5 ml de ácido clorhídrico 0.1 N, agitar y calentar a baño maría durante una hora, transcurrido ese tiempo, dejar enfriar durante 15 minutos colocando los tubos en agua a temperatura ambiente. Añadir 1 ml de nitrito de sodio al 0.1%, agitar bien, dejar reposar 5 minutos, añadir 1 ml de sulfamato de amonio al 0.5%, agitar y dejar reposar durante 3 minutos. Añadir 1 ml de clorhidrato de N-1-naftil-etilendiamina al 0.1% y determinar la absorbancia de la solución, utilizando una muestra blanco, a una longitud de onda de 545 nm.

La cantidad de sulfametazina total se determina interpolando el valor de la absorbancia en una curva de calibración en el rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml. En el diagrama 1 y 2 se observa un esquema del método

desarrollado para la cuantificación de SMZ libre y total.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO.

A) Linearidad del método.

Para asegurar que los resultados de absorbancia, son proporcionales a la concentración de la sustancia, dentro de un intervalo determinado, se prepararon tres curvas de calibración en el rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml.

A cada curva se le determinó el intercepto, pendiente y coeficiente de correlación.

B) Repetibilidad.

Para determinar la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparatos y laboratorios), se prepararon tres curvas de calibración de la misma pesada, en el rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml, calculando la media, desviación estandar y coeficiente de variación para cada una de las concentraciones estudiadas.

DIAGRAMA NO. 1
CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA LIBRE

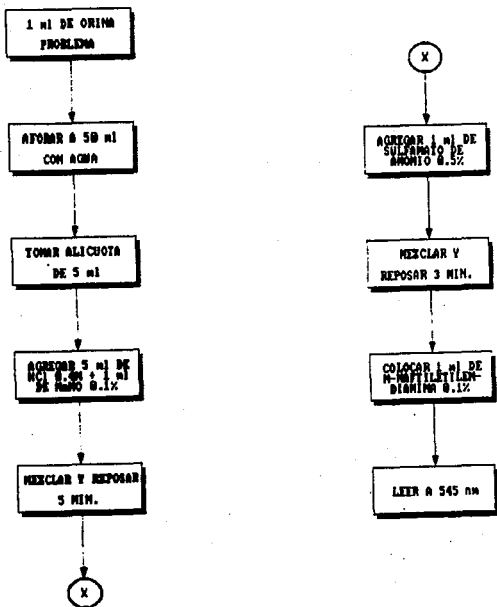
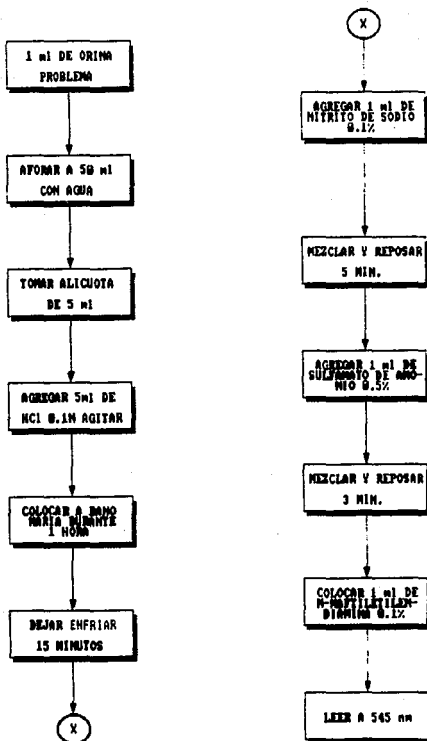


DIAGRAMA NO.2
CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA TOTAL



DETERMINACION DEL FENOTIPO ACETILADOR.

En el estudio participaron 40 voluntarios, clínicamente sanos, 16 hombres y 24 mujeres, con un peso en el rango de 44 - 90 kg y edades entre 23 - 45 años.

Los voluntarios firmaron una hoja de consentimiento. (Apéndice I). Se les proporcionó información escrita en la que se les indicaba las reacciones adversas de las sulfonamidas. (Apéndice II).

Las personas que fueron seleccionadas para el estudio presentaban las siguientes características:

- Tener ascendencia Mexicana.
- No presentar reacción alérgica o de idiosincracia a medicamentos (sulfonamidas ó penicilinas).
- No haber ingerido medicamentos ni alcohol cuando menos una semana antes del estudio.

Los individuos se ajustaron al siguiente protocolo:

- Permanecieron en ayuno desde las 23.00 horas del día anterior hasta cuatro horas después de haber ingerido el medicamento, hora a la cual se les proporcionó un desayuno ligero.

- Antes de ingerir la sulfametazina el voluntario vació la vejiga y proporcionó una muestra para el blanco.
- A las 8.00 A.M. se les administró una dosis oral de sulfametazina calculada de acuerdo al peso del individuo, la cual fué administrada en solución acuosa. Posteriormente se recolectaron muestras de orina durante las primeras ocho horas en intervalos de dos horas (2, 4, 6 y 8 horas).
- Tomaron 100 ml de agua cada hora durante el estudio.
- Al concluir los intervalos de toma de muestra, se midió el volumen de orina total y se tomaron de 10 a 15 ml dividiéndolos en dos tubos a los que previamente se les puso una gota de tolueno como conservador y se congelaron a -4° C hasta su posterior análisis utilizando el método analítico descrito anteriormente y así determinar la cantidad de sulfametazina libre y total presentes en cada muestra. La sulfametazina acetilada se determinó por diferencia entre la sulfametazina total y libre.

CAPITULO IV

RESULTADOS.

I.- VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR SULFAMETAZINA LIBRE.

A.- Linearidad.

En la tabla II se presentan los resultados obtenidos de las tres curvas de calibración de sulfametazina libre en orina y en la figura 6 se presenta la gráfica en la que se observa la linealidad del método, en un rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml con un coeficiente de correlación de 0.9998.

B.- Repetibilidad.

En la tabla III se presentan los resultados de las tres curvas de calibración de sulfametazina libre en orina, en el que se puede observar que el coeficiente de variación más alto fue 3.04%.

II.-VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR SULFAMETAZINA TOTAL.

A.- Linearidad.

En la tabla IV se presentan los resultados de las tres curvas de calibración de sulfametazina total en orina, en la figura 7 se encuentra la gráfica de la linealidad del método en el rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml, con un coeficiente de correlación de 0.9979.

B.- Repetibilidad.

En la tabla V se presenta la repetibilidad del método al preparar tres curvas de calibración de sulfametazina total en orina, observándose que el método es repetible ya que los coeficientes de variación encontrados fueron de 1.96 - 0.33%.

TABLA II

LINEARIDAD DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA LIBRE EN ORINA.

mcg/ml Abs								
	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	r	i	m
CURVA I	0.032	0.058	0.089	0.119	0.148	0.9996	0.0013	0.0732
CURVA II	0.032	0.064	0.090	0.120	0.153	0.9993	0.0024	0.0745
CURVA III	0.031	0.061	0.090	0.122	0.150	0.9998	0.0011	0.0747

i = intercepto
 m = pendiente
 r = coeficiente de correlación.

CURVA PATRON SULFAMETAZINA LIBRE

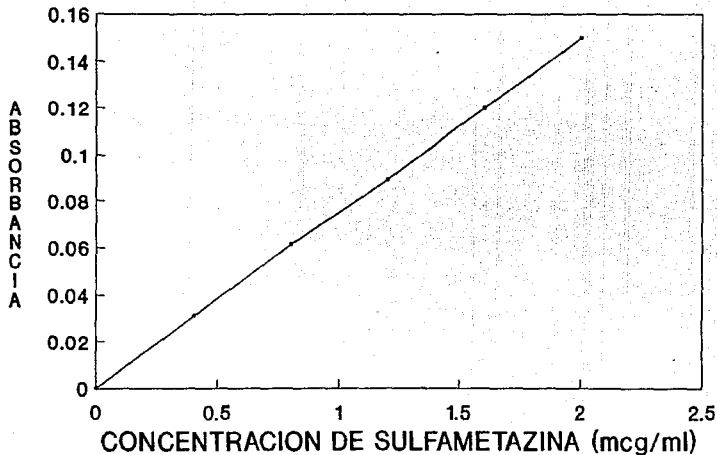


FIGURA. 6

LINEARIDAD DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA LIBRE EN ORINA.

TABLA III

REPETIBILIDAD DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA LIBRE EN ORINA

mcg/ml	Abs	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	r	i	m
CURVA I		0.030	0.061	0.089	0.120	0.150	0.9998	0.0030	0.0747
CURVA II		0.032	0.060	0.091	0.119	0.149	0.9998	0.0023	0.0732
CURVA III		0.032	0.062	0.090	0.121	0.150	0.9999	0.0025	0.0737
\bar{x}		0.031	0.061	0.090	0.120	0.149	0.9999	0.0017	0.0737
D.E.		9E ⁻⁴	8E ⁻⁴	8E ⁻⁴	8E ⁻⁴	4E ⁻⁴			
% CV		3.04	1.33	0.90	0.68	0.31			

i = Intercepto
 m = pendiente
 r = coeficiente de correlación
 \bar{x} = media
 D.E. = desviación estandar
 %CV = porcentaje del coeficiente de variación.

TABLA IV

PRECISIÓN DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA TOTAL.

mcg/ml \ Abs	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	r	i	m
CURVA I	0.028	0.054	0.078	0.112	0.140	0.9983	-0.0022	0.0705
CURVA II	0.027	0.052	0.079	0.114	0.141	0.9983	-0.0044	0.0725
CURVA III	0.029	0.053	0.079	0.113	0.142	0.9979	-0.0026	0.0715

i = intercepto
 m = pendiente
 r = coeficiente de correlación.

CURVA PATRON SULFAMETAZINA TOTAL

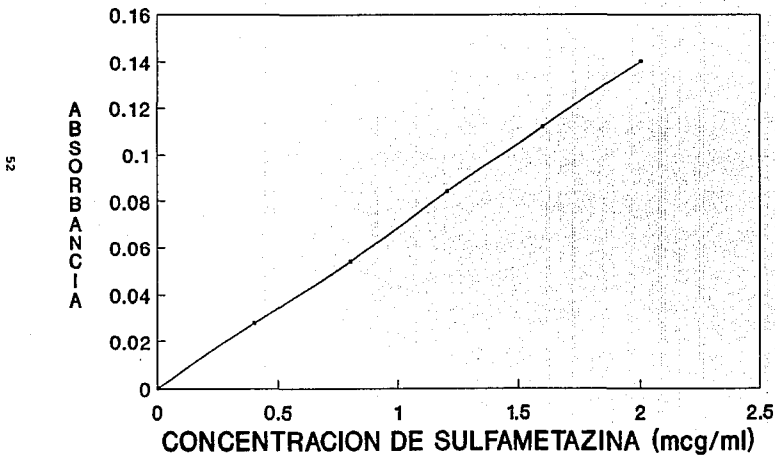


FIGURA. 7

LINEARIDAD DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA TOTAL EN ORINA.

TABLA V

REPETIBILIDAD DEL METODO ANALITICO PARA LA CUANTIFICACION DE SULFAMETAZINA TOTAL.

mcg/ml \ Abs	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0	r	i	m
CURVA I	0.024	0.055	0.078	0.114	0.140	0.9983	-0.0051	0.0727
CURVA II	0.025	0.053	0.077	0.115	0.139	0.9974	-0.0052	0.0725
CURVA III	0.025	0.054	0.079	0.116	0.140	0.9981	-0.0048	0.0730
\bar{x}	0.024	0.054	0.078	0.115	0.139	0.9980	-0.0053	0.0727
D.E.	4E ⁻⁴	8E ⁻⁴	8E ⁻⁴	8E ⁻⁴	4E ⁻⁴			
% CV	1.96	1.51	1.04	0.70	0.33			

i = intercepto
 m = pendiente
 r = coeficiente de correlación
 \bar{x} = media
 D.E. = desviación estandar
 %CV = porciento del coeficiente de variación.

ESTUDIO FARMACOGENETICO.

Para conocer el fenotipo acetilador de cada uno de los voluntarios que participaron en el estudio, se determinó la cantidad de sulfametazina libre y sulfametazina total excretada durante las primeras ocho horas después de la ingestión del medicamento. La cantidad de sulfametazina acetilada se calculó por diferencia entre la SMZ total y SMZ libre.

En la tabla VI se presentan los valores encontrados del porcentaje de sulfametazina acetilada así como los cocientes de: Índice de inactivación ($\text{AcSMZ}/\text{SMZ libre}$) y la razón molar ($\text{SMZ libre}/\text{AcSMZ}$).

TABLA VI

VALORES DEL PORCENTAJE DE SULFAMETAZINA ACETILADA, SULFA
 METAZINA LIBRE/ SULFAMETAZINA ACETILADA Y SULFAMETAZINA
 ACETILADA/ SULFAMETAZINA LIBRE.

VOLUNTARIO	%AcSMZ	SMZ LIBRE/AcSMZ	AcSMZ/SMZ LIBRE
1	14.47	0.1942	0.1691
2	15.80	0.2534	0.1876
3	16.64	0.2860	0.1996
4	17.98	0.3359	0.2193
5	23.12	0.3372	0.2008
6	27.65	0.3512	0.3823
7	32.53	0.3924	0.4823
8	32.87	0.4666	0.4898
9	34.04	0.4727	0.5161
10	38.60	0.5309	0.6288
11	39.28	0.5714	0.6470
12	40.42	0.6406	0.6786
13	41.86	0.7551	0.7202
14	42.65	0.7690	0.7430
15	45.06	0.7945	0.8203
16	46.21	0.8103	0.8593
17	46.38	0.9190	0.8649
18	47.67	0.9378	0.9110
19	48.79	0.9629	0.9528
20	49.52	0.9638	0.9899
21	50.91	1.0193	1.0374
22	50.95	1.0494	1.0391

DATOS OBTENIDOS PARA CADA UNA DE LAS TRES CONVERSIONES UTILIZADAS PARA CARACTERI
 EL FENOTIPO ACETILADOR.- CONTINUACION.

TABLA VI

VALORES DEL PORCENTAJE DE SULFAMETAZINA ACETILADA, SULFA
 METAZINA LIBRE/ SULFAMETAZINA ACETILADA Y SULFAMETAZINA
 ACETILADA/ SULFAMETAZINA LIBRE.

VOLUNTARIO	%AcSMZ	SMZ LIBRE/AcSMZ	AcSMZ/SMZ LIBRE
23	51.60	1.0975	1.0662
24	52.11	1.1560	1.0881
25	55.23	1.1636	1.2341
26	55.72	1.2189	1.2585
27	56.49	1.3458	1.3002
28	56.97	1.3883	1.3242
29	60.90	1.4735	1.5608
30	63.63	1.5459	1.7498
31	65.31	1.5902	1.8833
32	67.89	1.9374	2.1151
33	68.18	2.0416	2.1430
34	71.81	2.0733	2.5480
35	74.00	2.6154	2.8469
36	74.78	3.3235	2.9654
37	74.75	4.5592	2.9766
38	74.85	5.0074	3.4954
39	78.71	5.3282	3.9452
40	83.73	5.9106	5.1486

DATOS OBTENIDOS PARA CADA UNA DE LAS TRES CONVERSIONES UTILIZADAS PARA CARACTERI
 EL FENOTIPO ACETILADOR.

TABLA VII

PORCIENTO EXCRETADO DE SULFAMETAZINA DE CADA UNO DE LOS VOLUNTARIOS

VOLUNTARIO	% EXCRETADO
1	16.76
2	21.59
3	27.22
4	33.81
5	33.95
6	37.81
7	38.81
8	39.15
9	39.44
10	40.54
11	40.93
12	41.55
13	41.87
14	42.46
15	43.31
16	43.67
17	46.91
18	47.41
19	51.47
20	51.55
21	51.72
22	52.08
23	53.81
24	54.07
25	54.48
26	55.83
27	58.44
28	58.79
29	58.98
30	59.07
31	59.54
32	61.81
33	61.84
34	64.65
35	67.84
36	75.56
37	77.88
38	78.67
39	79.10
40	81.15

A.- HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS.

En las figuras 8, 9 y 10 se presentan los histogramas de frecuencia de: $\%AcSMZ$, $AcSMZ/SMZ$ libre y SMZ libre/ $AcSMZ$, en las que se observan las diferencias en los resultados obtenidos usando las tres conversiones expresadas en actividad de la sulfametazina. En la figura 11 se presenta la frecuencia del $\%AcSMZ$ de 136 voluntarios. (39).

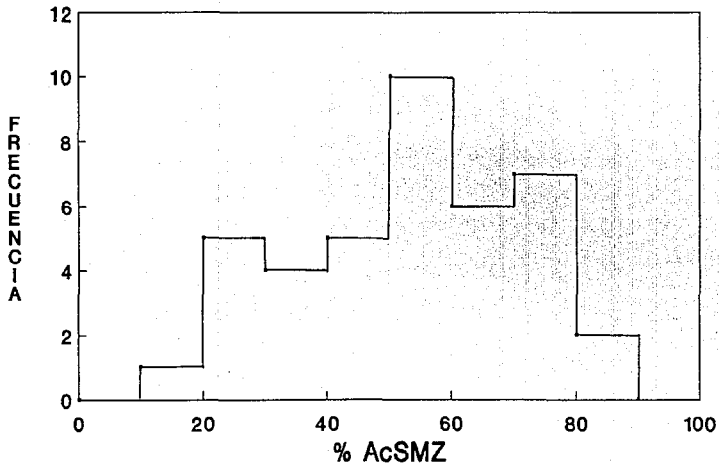
B.- CURVAS PROBIT.

En las figuras 12, 13 y 14 se presentan las siguientes relaciones:

- 1.- $\%AcSMZ$ contra unidades probit.
- 2.- Índice de inactivación ($AcSMZ/SMZ$ libre) contra unidades probit.
- 3.- Relación molar (SMZ libre/ $AcSMZ$) contra unidades probit. Las unidades probit representan una distribución de las frecuencias acumuladas.

HISTOGRAMA DE % AcSMZ

FIGURA. 8

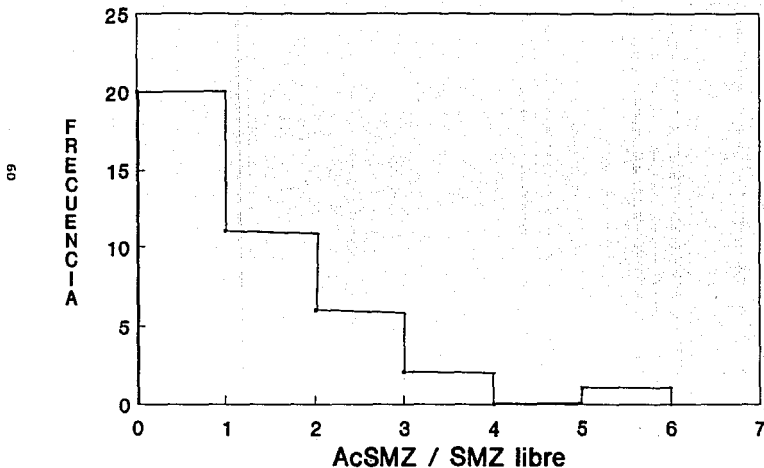


N=40 voluntarios.

DISTRIBUCION DEL FENOTIPO ACETILADOR DE 40 SUJETOS DE ORIGEN MEXICANO, MARCADOS CON SULFAMETAZINA (SMZ).

AcSMZ / SMZ libre

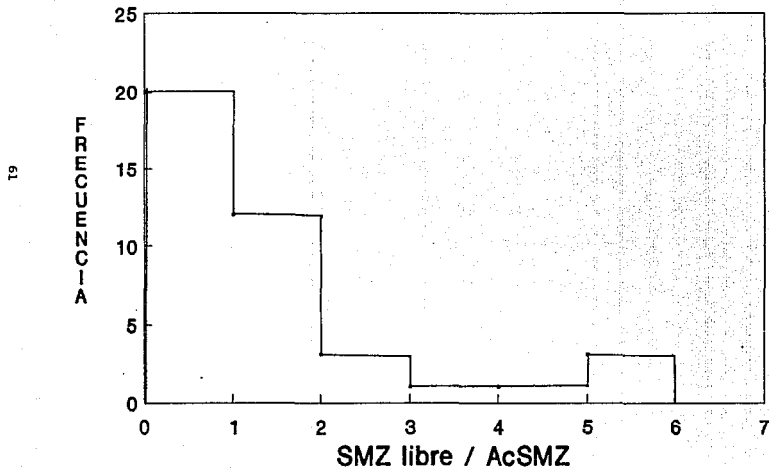
FIGURA. 9



HISTOGRAMA DE FRECUENCIA DEL POLIMORFO ACETILADO DE SULFAMETAZINA
EXPRESADO POR EL INDICE DE INACTIVACION.- LOS DATOS FUERON COLEC-
TADOS DE 40 SUJETOS DE ORIGEN MEXICANO.

SMZ libre / AcSMZ

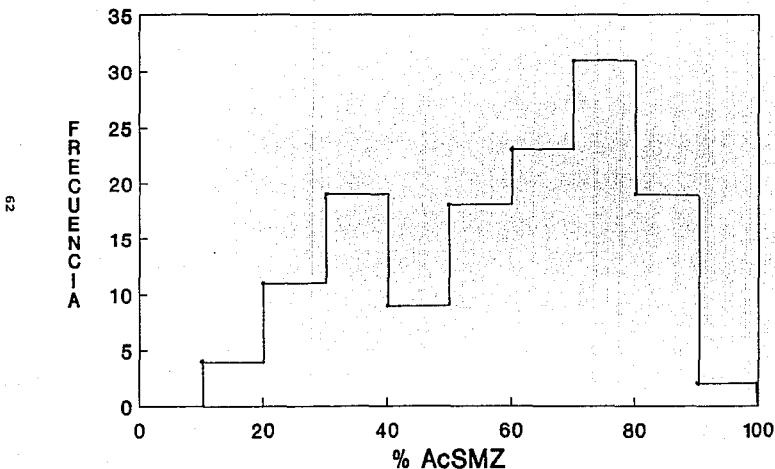
FIGURA. 10



HISTOGRAMA DE FRECUENCIA DEL POLIMORFO ACETILADO DE SULFAMETAZINA EXPRESADO POR LA RAZON MOLAR.- LOS DATOS FUERON COLECTADOS DE 40-SUJETOS DE ORIGEN MEXICANO.

HISTOGRAMA DE % AcSMZ

FIGURA. 11



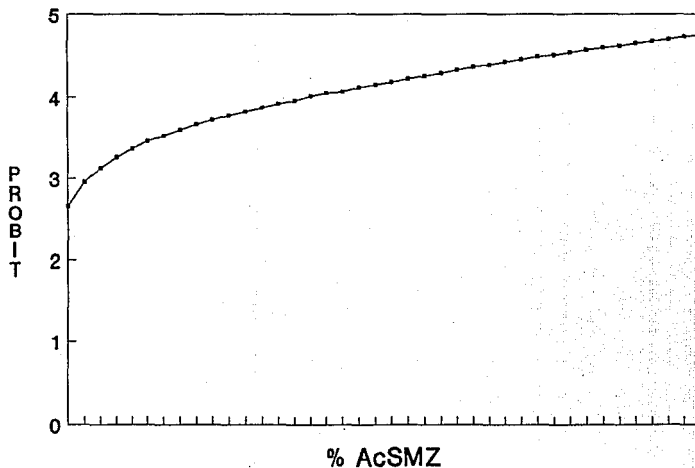
N = 136 VOLUNTARIOS

DISTRIBUCION DEL FENOTIPO ACETILADOR DE 136 SUJETOS DE -
ORIGEN MEXICANO MARCADOS CON SULFAMETAZINA (SMZ).

PORCENTAJE ACETILADO

GRAFICA 12

63

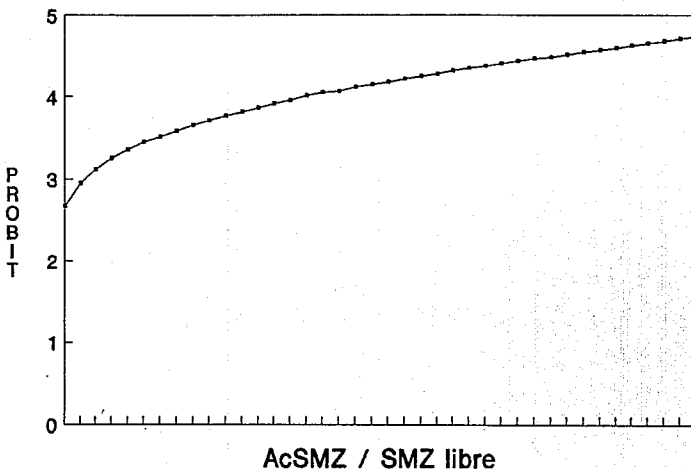


UNIDADES DE PROBABILIDAD DEL PORCENTAJE ACETILADO DE SULFAMETAZINA -
(% AcSMZ) DE 40 SUJETOS DE ORIGEN MEXICANO.

AcSMZ / SMZ libre

GRAFICA 13

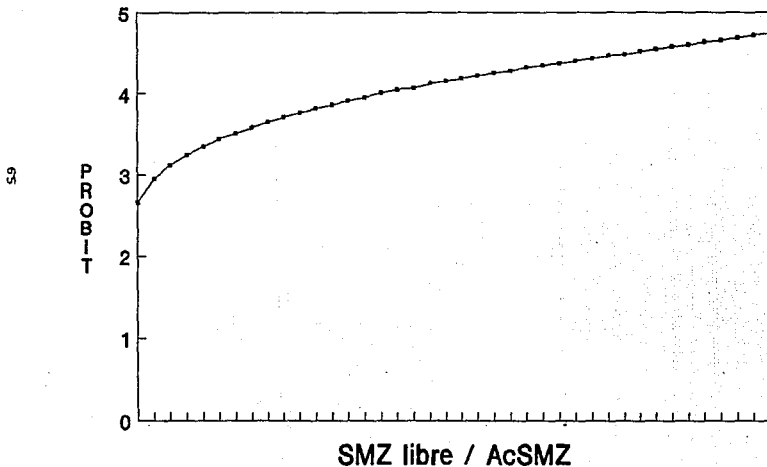
64



UNIDADES DE PROBABILIDAD CONTRA INDICE DE INACTIVACION (AcSMZ/SMZ libre).
LOS DATOS FUERON COLECTADOS DE 40 SUJETOS DE ORIGEN MEXICANO.

SMZ libre / AcSMZ

GRAFICA 14



UNIDADES DE PROBABILIDAD CONTRA RAZON MOLAR (SMZ libre/AcSMZ). LOS -
DATOS FUERON COLECTADOS DE 40 SUJETOS DE ORIGEN MEXICANO.

CAPITULO V

ANALISIS DE RESULTADOS

1.- VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR SULFAMETAZINA LIBRE.

A) Linearidad.

Como se puede observar en la figura 6, el método para cuantificar SMZ es lineal en el rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml.

Utilizando el método de mínimos cuadrados, se obtuvo la ecuación de una línea recta con pendiente 0.0742 y un coeficiente, intercepto de 0.0011 y un coeficiente de determinación de 0.9998 .

B) Repetibilidad.

En la tabla III, se puede observar que en general los coeficientes de variación de cada una de las diferentes concentraciones de la curva son adecuadas para considerar al método repetible.

2.- VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA CUANTIFICAR SULFAMETAZINA TOTAL.

A) Linearidad.

En la tabla IV, se muestran los resultados obtenidos en la validación del método analítico. Al analizar por medio de regresión se encontró que la ecuación de la línea recta tiene una pendiente de 0.0715, intercepto -0.0032 y un coeficiente de correlación 0.9979, lo cual indica que el método es lineal en el rango de 0.4 - 2.0 mcg/ml.

En la figura 7, se observa gráficamente la linealidad del método analítico utilizado.

B) Repetibilidad.

En la tabla V, se puede observar que los coeficientes de variación de cada una de las concentraciones son pequeños, por lo cual el método es repetible.

En base a las características de linealidad y repetibilidad el método se consideró adecuado para realizar la cuantificación de sulfametazina en orina.

ESTUDIO FARMACOGENETICO.

Existen diferentes reportes en la literatura (2, 3, 4, 5, 6, 7) en los cuales se ha establecido que los factores hereditarios afectan la velocidad y el grado de acetilación de un número de fármacos utilizados en la clínica.

Las implicaciones clínicas del fenotipo acetilador han incrementado su importancia. Se ha demostrado que los acetiladores lentos presentan un mayor riesgo de desarrollar efectos secundarios como lupus eritematoso sistémico y polineuritis y los acetiladores rápidos presentan niveles más elevados de los metabolitos N-acetilados, algunos de los cuales son biológicamente activos o actúan como intermediarios para producir productos tóxicos, entre ellos ciertas anilaminas carcinogénicas como: aminofluoreno, α naftilamina y β naftilamina son acetilados por la misma N-acetil transferasa que la isoniazida y la sulfametazina. La acetilación de estos compuestos representa un proceso de activación para su eventual conversión al producto carcinogénico final, de manera que la producción genéticamente controlada de los acetilados precarcinogénicos puede jugar un papel importante en la determinación del riesgo potencial que presentan los individuos a estos compuestos.

Es por ello que es importante el conocer el fenotipo acetilador tanto individual como el predominante en una población, en este caso la Mexicana.

En el presente trabajo se eligió la sulfametazina para caracterizar el fenotipo, ya que se ha demostrado que la sulfadiazina, sulfametazina y sulfapiridina presentan acetilación polimórfica, siendo la sulfametazina la que presenta una mayor caracterización de fenotipo acetilado.

De los resultados de porcentaje acetilado (tabla VI), se puede observar que de los 40 voluntarios, 4 presentan un porcentaje entre 10 - 20%; 2 de 21 - 30%; 6 de 31 - 40%; 10 de 41 - 50%; 7 de 51 - 60%; 4 de 61 - 70%; 6 de 71 - 80% y en un sujeto el porcentaje acetilado llegó al 80%.

Para caracterizar el fenotipo acetilador de la población estudiada, se utilizaron tres conversiones relacionadas con la actividad de la enzima N-acetil transferasa. En dos de ellas se presenta la expresión del fenotipo y son: el porcentaje acetilado de la sulfametazina ($\frac{A}{AcSMZ}$) y el índice de inactivación ($\frac{A}{SMZ}$ libre). La tercera conversión fue el coeficiente de acetilación molar ($\frac{A}{SMZ}$ libre/ $\frac{A}{AcSMZ}$).

Se elaboraron los histogramas de frecuencia los cuales se

muestran en las figuras 8, 9 y 10. En la figura 8 se observa una distribución bimodal en la cual es posible distinguir los dos tipos de acetiladores. En este histograma se puede observar que predominan los acetiladores rápidos pero resulta difícil establecer el valor del porcentaje acetilado que distinga a un acetilador lento de un rápido.

EVALUACION DE CURVAS PROBIT.

El segundo criterio utilizado para clasificar la población en estudio fueron los puntos llamados unidades de probabilidad, en ellos se relaciona la distribución de las frecuencias acumuladas con la proporción de sulfametazina acetilada en orina en cada uno de los voluntarios, en este método se agrupan y registran cada uno de los datos sin omisión de valores.

Este criterio sirvió para demostrar la desviación en la distribución normal en la población, así como para estimar el antimoda (punto de inflexión), para la distribución bimodal, delimitando el tamaño de la muestra.

Aunque las tres curvas presentan la misma forma al hacer la regresión múltiple, se encontró que al relacionar el porcentaje acetilado con las unidades probit (las cuales

simbolizan el número de sujetos) (figura 12) presentan dos curvas distintas, que corresponden a dos poblaciones diferentes, con pendientes y puntos de inflexión desiguales.

Teóricamente los puntos graficados representan las antimodas de la distribución de los histogramas. Estas antimodas empleadas constituyen los límites de los subgrupos de la población total.

ANTIMODA (PUNTOS DE INFLEXION).

Mediante una regresión múltiple, en el cual se analizaron los cambios de pendiente, fue posible calcular el punto de inflexión de la curva de porcentaje acetilado contra unidades probit.

El criterio para calcular el punto fue:

Fórmula

Criterio

$$\frac{\partial y}{\partial x} = mx + b$$

$m_1 - m_2 = 0$
no significativa.

$$\frac{\partial y'}{\partial x} = m$$

$m_1 - m_2 = 0$
significativa.

Diferencia de las (m) mediante la fórmula t

$$t = \frac{\bar{x} - t}{\frac{s}{\sqrt{n}}} ; \quad \frac{m_1 - m_2}{\frac{s}{\sqrt{n^2}}}$$

Valor del punto de inflexión

(3.82 ; 0.0210)

Este valor que equivale a 40.42% se tomó como base para clasificar a la población en estudio.

Los puntos que se encuentran arriba del punto de inflexión corresponden a acetiladores rápidos, los puntos abajo del punto de inflexión se clasifican como acetiladores lentos.

El presente trabajo es la continuación de otro estudio previo, en el cual se caracterizó el fenotipo acetilador de 96 voluntarios con las mismas características étnicas. En ambos estudios se siguió el mismo protocolo, excepto el tiempo de muestreo, ya que en el primer estudio se colectó la orina durante un intervalo de ocho horas después de la ingestión del medicamento y en el presente trabajo se tomaron cuatro muestras en los intervalos de: 2, 4, 6, y 8 horas con el fin de calcular la vida media y establecer con este parámetro el fenotipo acetilador. De los resultados obtenidos se encontró que los tiempos de muestreo no eran

suficientes para caracterizar la vida media, particularmente para aquellos acetiladores lentos.

Considerando que para obtener buen estimado del fenotipo, es necesario contar con una población grande, se elaboró el histograma de los 136 voluntarios de los dos estudios (figura 11) en la que se puede observar nuevamente la misma bimodalidad y concordancia de que en la población Mexicana estudiada predomina el acetilador rápido.

CARACTERIZACION DE LOS TRES FENOTIPOS.

Una vez obtenidos los resultados de los voluntarios, se procedió a caracterizar el genotipo, tomando en cuenta que las investigaciones genéticas realizadas, señalan que la acetilación está controlada por dos alelos autosomales identificados como R (rápido) y r (lento) (25).

GENOTIPO	FENOTIPO	VELOCIDAD DE ACETILACION DE SMZ.
rr	r	Lento
Rr	R	Rápido
RR	R	Rápido.

La Ley de Hardy-Weinberg, permite conocer las frecuencias de los genes R y r y la incidencia del porcentaje de acetiladores lentos en la población, mediante la expresión

$(p+q)^2$, $RR=p^2$, $Rr=2pq$ y $rr=q^2$.

De acuerdo a esta expresión, los resultados obtenidos del presente trabajo son los siguientes:

Población estudiada: $n=40$

Acetiladores rápidos = 28

Acetiladores lentos = 12

Acetiladores lentos homocigoto $rr (q)^2$.
30%

Acetiladores rápidos homocigotos $RR (p)^2$.
20.5%

Acetiladores rápidos heterocigotos $Rr (2pq)$.
49.5%

CONCLUSIONES.

- El método utilizado para la cuantificación tanto de sulfametazina libre como de sulfametazina total fué el método espectrofotométrico de Greshinfield, el cual demostró ser lineal y repetible en el rango de 0.4 -2.0 mcg/ml.
- En la determinación del fenotipo acetilador participaron 40 voluntarios, 24 del sexo femenino y 16 del sexo masculino, observandose una distribución bimodal en el metabolismo del fármaco, mediante el cual se clasificó a la población estudiada.
- El fenotipo acetilador predominante en la población estudiada fué metabolizador rápido.
- Dada la variabilidad obtenida sería conveniente fenotipar a los individuos bajo tratamiento con isoniazida, dapsona, procainamida, etc., con el fin de individualizar la dosis y de esta manera optimizar la terapia.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA.

- 1- Avery, G.S. Durg Treatment. Principles and practice of clinical pharmacology and therapeutics. Second printing. Publish Sciences Group Inc. Litteton, Massachusetts, 1976. 177-181.
- 2- Ellard, G.A. Variations between individuals and population in the acetylation of isoniazid and its significance for the tratament of pulmonary tuberculosis. Clin. Pharmacol. Ther. 1976; 19:610.623.
- 3- Chapron, D.J., Kramer, P.A., and Mercik, S.A. Kinetic discrimination of three sulfamethazine acetylation phenotypes. Clin. Pharmacol. Ther. 1980; 27:104-113,
- 4- Inaba, T., Otton, S.V., and Kalow, W. Debrisoquine hydroxylation capacity: Problems of assessment in two populations. Clin. Pharmacol. Ther. 1981; 29:218,223.
- 5- Inaba, T., and Arias, T.D. On phenotyping with isoniazid: The use of urinary acetylation ratio and the uniqueness of antimodes study of two populations. Clin. Pharmacol. Ther, 1987; 42:493-497.
- 6- Bratton, A.C., and Marshall, E.K. A new coupling component for sulfanilamide determination. J. Biol. Chem 1939; 128:537-550.
- 7- Litter, M. Farmacologia experimental y clinica. Quinta edición. El Ateneo. México 1979. 1643-1662.
- 8- Drill, V.A. Pharmacology in Medicine. Second edtion. Mc. Graw Hill Book Company Inc. New York 1958. 1103-

1144.

- 9- Burdon, K.L., and Williams, A.B. Microbiology. Sixth edition. The Macmillan Company. New York 1969. 320-322.
- 10- Krantz, J.C., and Carr, C.J. Pharmacologic principles of medical practice. Fourth edition. The Williams-Wilkins Company. Baltimore 1958. 117-123.
- 11- Goth, A. Farmacología médica. Cuarta edición. Compañía Mosby. 1968. 27, 28, 31, 32, 37, 593-604.
- 12- Levine, R.R., Farmacología: acciones y reacciones medicamentosas. Segunda edición. Salvat editores 1982. 258,259.
- 13- Cuttings, W.C. Handbook of pharmacology. Fourth edition. Appleton-century-crofts 1969. 17-21.
- 14- Goodman Gilman, A., Rall, T.W., y Nies, A.S. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Octava edición. Panamericana. México D.F., 1991. 1018-1034.
- 15- Loomis, T.A. Essentials of toxicology. Third edition. Lea Febiger. Philadelphia 1978. 58-60.
- 16- George, R., y Okon, R. Annual review of pharmacology and toxicology. 1978, 18: 525-527.
- 17- Villee, C.A. Biología. Séptima edición. Interamericana. México D.F., 1985. 384.
- 18- Pacheco, C.M.R. Guía profesional de medicamentos. Tercera edición. El manual moderno. México D.F. 1989. 83, 84.
- 19- Adelberg, E. Microbiología Médica. Doceava edición. El

- Manual Moderno. México D.F., 1987. 134-137.
- 20- Braude, A.I., Davis, C.E. Microbiología clínica. Quinta edición. Panamericana. México D.F., 1984. 274-275.
- 21- Murray, R.K., y Granner, D.K. Bioquímica de Harper. Undécima edición. El Manual Moderno. México D.F., 1988. 341-358.
- 22- Kohn, H.I. and Harris, J.S. Specific antagonism between methionine and sulfanilamide in *E. coli*. *Am. J. Physiol.* 1941; 133:354.
- 23- Maren, T.H. Relations between structure and biological activity of sulfonamides. *Committee.* 1976; 16:309-319.
- 24- Brock, T.D., Smith, D.W., y Madigan, M.T. Microbiología. Cuarta edición. Prentice Hall. México D.F., 1987. 168-169.
- 25- Goldstein, A., Aronow, L., y Kalman, S.M. Farmacología. Limusa. México D.F., 1979. 50, 51, 76-78, 186, 314, 350, 470, 536, 548, 577, 595, 619, 634, 683, 795, 839, 964.
- 26- Souich, P., Mclean, A.J., Stoeckel, K., Ohlendorf, E., and Gibalkdi, M. Screening methods using sulfamethazine for determining acetylator phenotype. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1979; 26:757-765.
- 27- Olson, W., Miceli, J., and Weber, W. Dose-dependent changes in sulfamethazine kinetics in rapid and slow isoniazid acetylators. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1978; 23:204-211.

- 28- Chapron, D.J., and Blum, M.R. Relationship of sulfamethazine Disposition Kinetics to acetylator Phenotype in Man. *J. Clin. Pharmacol.* 1976; 16:338-344.
- 29- Peters, J.H., Gordon, G.R., and Karat, B.A. Polymorphic acetylation of the antibacterials, sulfamethazine and dapsone, in south indian subjects. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 1975; 24:641-648.
- 30- Chapron, D.J., Blum, M.R., and Kramer P.A. Evidence for a trimodal pattern of acetylation of isoniazid in Uremic Subjects. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 1978; 67:1018,1019.
- 31- Gibaldi, M. *Biopharmaceutics and Clinical pharmacokinetics.* Third edition. Lea Febiger. Philadelphia 1984. 219-224, 235, 236.
- 32- Aiache, J.M., y Guyot, A.M. *Biofarmacia. El Manual Moderno.* México D.F., 1983. 52-54, 70, 71.
- 33- Souich, P. Lalka, D., Slaughter, R., Elvin, A., and Mclean, A.J. Mechanisms of nonlinear disposition kinetics of sulfamethazine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1979; 25:172-183.
- 34- Drayer, D.E., and Reidenberg, M.M. Clinical consequences of polymorphic acetylation of basic drugs. *Clinical Pharmacology and Therapeutics.* 1977; 22:251-256.
- 35- Peters, J.H., Gordon, R., and Brown, P. The relationship between the capacities of human subjects

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- to acetylate isoniazid, sulfanilamine and sulfamethazine. Life Sciences. 1965; 4:99-107.
- 36- Clarke, E.G.C. Isolation and identification of drugs. The pharmaceutical press London. 1974; 548, 549.
- 37- Wagner, J.G. Biopharmaceutics and Relevant pharmacokinetics. First edition. 1971; 247-251.
- 38- Florey, K. Analytical Profiles of Drug Substances. Academic Press New York. 1978; 7:403-422.
- 39- Díaz, G. L. Tesis. Caracterización del Fenotipo para acetilar fármacos utilizando Sulfametazina. 1990. 1-100.
- 40- La Du, B. N. Genetic Factors Modifying Drug Metabolism and Drug Response. The Williams Wilkins Company. 1972; 308-327.

HOJA DE CONSENTIMIENTO.

En forma voluntaria y en pleno uso de mis facultades mentales hago constar que he sido informado sobre los riesgos en que puedo incurrir al participar en el estudio de variaciones en metabolismo de sulfametazina.

Asimismo, me comprometo a seguir fielmente todas las instrucciones que se me dan a conocer por medio del Protocolo de dicho estudio.

FECHA. _____.

NOMBRE: _____.

EDAD: _____ SEXO: _____.

PESO: _____ DOSIS: _____.

FIRMA: _____.

RESPONSABLES:

M. en C. HELGI JUNG COOK.

OLIVIA COVARRUBIAS TERRON.

PROTOCOLO.

ESTUDIO DE VARIACIONES EN METABOLISMO DE SULFAMETAZINA.

- Para participar en el estudio es necesario que el voluntario no haya padecido reacción alérgica o idiosincracia a medicamentos.
- No haber tomado medicamentos ó alcohol por lo menos una semana antes del estudio, ni durante el mismo. Notificar al responsable del estudio en caso contrario.
- No deberá haber tomado alimento alguno, después de las 23.00 horas del día anterior al estudio. El voluntario podrá tomar un desayuno ligero cuatro horas después de la administración del medicamento.
- No tomará café durante las cuatro primeras horas del estudio.
- Antes de ingerir el medicamento, el voluntario coleccionará la orina, la cual servirá como blanco.
- El voluntario tomará el medicamento a las 8.00 A.M. y coleccionará las muestras de orina en los siguientes intervalos de tiempo: 2, 4, 6 y 8 horas. El volumen

excretado deberá anotarse, se tomarán 2 alícuotas las cuales se congelarán a -4° C hasta el momento de su análisis.

REACCIONES DE LA SULFAMETAZINA.

INDICACIONES: La sulfametazina es una sulfamida de eliminación rápida, indicada en el tratamiento de infecciones intestinales e infecciones urinarias.

CONTRAINDICACIONES Y PRECAUCIONES: Está contraindicada en personas hipersensibles a las sulfas, a las que padecen insuficiencia hepática ó renal, displasia medular así como a mujeres embarazadas y a niños menores de dos meses.

REACCIONES ADVERSAS: Puede provocar náuseas, vómito, erupciones cutaneas, cristaluria y hematuria.

La frecuencia de reacciones desfavorables es de aproximadamente del 5%.

CALCULOS UTILIZADOS.

Dosis administrada a cada uno de los voluntarios.

A) Dosis en función de la masa metabólica activa.

(Peso corporal) $\times 0.7$ = masa metabólica activa.

0.00016 kg de SMZ ----- 1 kg de masa metabólica activa.

Dosis ----- x kg de masa activa metabólica.

B) Dosis en función al peso corporal.

20 mg de SMZ ----- 1 kg de peso corporal.

Dosis ----- x kg de peso corporal.

Cálculos realizados para determinar la cantidad de sulfametazina libre y total en cada una de las muestras de orina a las diferentes horas.

A) Sulfametazina libre.

$$Cv1 = \frac{(Cl \times V \times D)}{1000} \times 5$$

Cv1 = Cantidad de sulfametazina libre en mg en cada una de las muestras de orina a las diferentes horas.

C1 = Concentración de sulfametazina en cada muestra, obtenida al interpolar el valor de la absorbancia en la curva de calibración.

V = Volumen total de orina excretado a los diferentes intervalos de colección de muestra.

D = Dilución realizada en cada una de las muestras.

B) Sulfametazina total.

$$Cvt = \frac{(Ct \times V \times D)}{1000} \times 5$$

Cvt = Cantidad de sulfametazina total en mg en cada una de las muestras de orina a las diferentes horas.

Ct = Concentración de sulfametazina en cada muestra, obtenida al interpolar el valor de la absorbancia en la curva de calibración.

V = Volumen de orina excretado en el intervalo del tiempo de colección.

D = Dilución realizada a cada muestra.

C) Sulfametazina acetilada.

$$SMZ \text{ acetilada} = SMZ \text{ total} - SMZ \text{ libre.}$$