

59
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**PROPIEDADES Y ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DE
LA SACARINA**



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A :
GRACIELA GUERRERO MENDEZ



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.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
1.- INTRODUCCION	2
2.- PROPIEDADES	
2.1 Propiedades estructurales	4
2.2 Propiedades físicas	4
2.3 Propiedades químicas	8
2.4 Usos	20
2.5 Generalidades sobre edulcorantes	25
3.- CONTROL FARMACEUTICO	
3.1 Métodos de obtención de sacarina	34
3.2 Monografías oficiales	41
3.3 Pruebas no oficiales	52
3.4 Perfil de impurezas	54
4.- ASPECTOS TOXICOLOGICOS	
4.1 Farmacología	56
4.2 Carcinogenicidad	64
4.3 Reglamentación	69
5.- DISCUSION	73
6.- CONCLUSIONES	78
BIBLIOGRAFIA	80

RESUMEN

En el presente trabajo monográfico se presenta un bosquejo histórico de la sacarina, su importancia y los objetivos contemplados para el desarrollo del mismo (Cap. 1).

Se presentan, además, sus propiedades estructurales, físicas y químicas, reacciones de identificación, usos y generalidades de edulcorantes (Cap. 2). Dentro de las propiedades químicas se hacen resaltar los diversos usos y propiedades de los derivados obtenidos a partir de sacarina.

Se incluyen los diferentes métodos de obtención de sacarina y su control farmacéutico como materia prima, de acuerdo a diversas normas oficiales. Así mismo, se presentan diversos ensayos no oficiales propuestos en la literatura, como métodos alternativos de análisis de este edulcorante (Cap. 3).

Se presenta información acerca de los aspectos farmacológicos y toxicológicos más relevantes, así como la reglamentación a la cual se encuentra sometida esta sustancia (Cap. 4).

Se incluye la discusión de los datos presentados (Cap. 5), las conclusiones obtenidas (Cap. 6) y la bibliografía consultada para consecución del mismo.

1. INTRODUCCION

Este sólido cristalino fué descubierto accidentalmente en mayo de 1878 por los químicos Ira Rensen y Constantine Fahlberg en la Universidad Johns Hopkins de Baltimore, mientras trabajaban en un proyecto acerca de la oxidación de la o-toluénsulfonamida. Su intenso sabor dulce fué descubierto después de que Fahlberg derramara un poco de la solución en su mano y posteriormente comiera un pedazo de pan.

La sacarina (cuyo nombre deriva del latín "saccharum" que significa azúcar) se comenzó a producir en gran escala y en 1900 Fahlberg produjo 190,000 Kg, lo que ocasionó que en 1902 los productores de azúcar obligaran a las dependencias oficiales a tener un control estricto sobre este producto, pudiéndose obtener exclusivamente en las farmacias.

El uso de la sacarina se incrementó ampliamente durante la Primera Guerra Mundial debido al racionamiento del azúcar, lo cual fué más evidente en Europa. En 1917 se encontraban fácilmente tabletas de sacarina tanto en Europa como en los Estados Unidos. El consumo de este edulcorante continuó durante las dos Guerras Mundiales.

Actualmente, diversas compañías en todo el mundo producen sacarina. A pesar de no tener ningún valor nutritivo, éste edulcorante es consumido diariamente por un amplio sector de la población (diabéticos y obesos principalmente).

Debido a su elevado consumo, y a que su toxicidad es un asunto de gran controversia, se considera importante incluir en este estudio sus propiedades, así como sus aspectos toxicológicos, mismos que constituyen los objetivos primarios del presente trabajo monográfico de actualización.

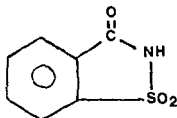
Como objetivos secundarios se contemplan: resumir las generalidades sobre edulcorantes, visualizar los usos potenciales de la sacarina y sus métodos de obtención, presentar el estatus actual para su control farmacéutico y evaluar el perfil farmacológico de este edulcorante. Todos ellos organizados según se indica en el contenido del mismo para su desarrollo.

2. PROPIEDADES

2.1 Propiedades estructurales (1,2,3).

-Fórmula empírica: $C_7H_7NO_3S$

-Fórmula desarrollada:



-Peso molecular: 183.18 g/mol

-Composición elemental: C 45.89%, H 2.75%, N 7.65%, O 26.20%,
S 17.50%.

-Nombres químicos: 2,3-Dihidro-3-oxobenzisulfonazol;
1,2-Benzisotiazol-3(2H)-ona; 1,2-Benzisotiazol-3-ona 1,1-dióxido;
2,3-Dihidro-2-cetobenzisulfonazol;
1,2-Dihidro-2-cetobenzisulfonazol; o-Benzóicosulfimida.

-Nombres comunes: sacarina, sacarina insoluble, benzosulfimida,
o-sulfobenzimida, sulfimida benzóica, glucida, garantosa,
sacarinol, sacarol, sacarina, saxina, sicos, diabetina,
zaharina.

2.2 Propiedades físicas.

-Estado: cristales blancos, monoclinicos, inodoros o ligeramente
aromáticos, que subliman al vacío en forma de agujas.

-Punto de fusión: 228.8 a 229.7 °C.

-Solubilidad: la sacarina es un compuesto poco soluble en agua. Un gramo se disuelve en: 290 ml de agua fría, 25 ml de agua hirviendo, 31 ml de alcohol, 12 ml de acetona, 50 ml de glicerol.

Es ligeramente soluble en cloroformo y éter; muy soluble en soluciones diluidas de amoníaco, en soluciones de hidróxidos alcalinos y en soluciones de carbonatos y bicarbonatos alcalinos.

-Sabor: el sabor dulce de la sacarina es detectable aún en dilución de 1:100,000. Se ha informado que esta sustancia posee un poder edulcorante de 200 a 700 veces más intenso que la sacarosa, pero para fines prácticos se considera como 300 a 500 veces.

Además de poseer su característico sabor dulce, deja un gusto amargo y metálico después de ser ingerida. Algunas personas son más sensibles a este sabor desagradable que otras; si la concentración de sacarina se incrementa, invariablemente todos los miembros en un grupo de prueba experimentarán el sabor desagradable de ésta.

-Sales: generalmente se emplea en forma de sal. La sal sódica es la más comúnmente empleada. Se presenta como un dihidrato granular blanco, inodoro o ligeramente aromático, muy soluble en agua (82g/100g). La sal de calcio, también utilizada comercialmente, se presenta como polvo blanco cristalino, inodoro o ligeramente aromático; su solubilidad en agua es de 67g/100g.

Se han informado otras sales de sacarina como las de plata, amonio, cobre, litio y potasio; sin embargo, a pesar de ser intensamente dulces, ninguna se utiliza comercialmente (4).

- Espectro Ultravioleta (UV).

Las radiaciones ultravioleta poseen energía superior a la infrarroja y su absorción se traduce en transiciones electrónicas.

La absorción no solo se debe a la promoción de electrones de el estado basal en un orbital de baja energía, a un estado excitado en el cual ocupan orbitales de mayor energía, sino también a las variaciones de las energías de vibración y rotación.

La espectrofotometría de absorción nos permite la identificación y cuantificación de diversas sustancias.

El espectro UV de sacarina se ha obtenido con disolventes como etanol (2) exhibiéndose máximos a 283, 275, 225 y 208 nm, fig.2.1.

En NaOH 0.01 N presenta máximos a 234.5 nm (E 1%, 1 cm, 351), 268 nm (E 1%, 1 cm, 89) y una inflexión a 284 nm (2,5).

- Espectro Infrarrojo (IR).

En términos generales se puede decir que el espectro IR de una sustancia orgánica es su huella digital, ya que proporciona información acerca de su estructura indicando que grupos funcionales se encuentran presentes o ausentes en la molécula.

Un grupo particular de átomos presenta bandas de absorción características. La absorción de radiación infrarroja provoca un aumento en las amplitudes de las vibraciones de los átomos enlazados, colocando a la molécula en un estado vibracional excitado. La longitud de onda a la que absorbe cierto enlace depende del tipo de vibración de éste. Diferentes tipos de enlaces absorben radiación infrarroja a diferentes longitudes de onda.

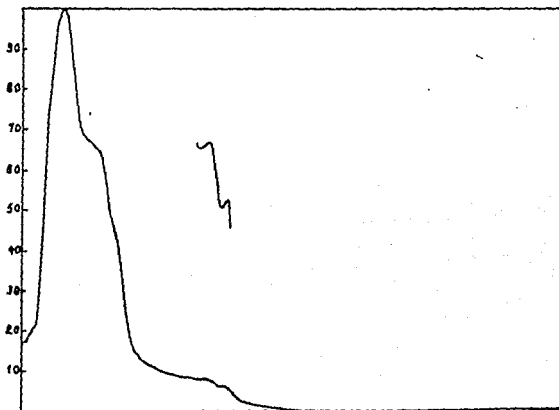


figura 2.1 Espectro UV de sacarina en etanol.

El espectro IR de la sacarina se ha realizado en pastilla de bromuro de potasio (2,5), fig. 2.2. Algunas de las asignaciones estructurales relacionadas con la frecuencia de banda se encuentran en la tabla 2.1.

-Resonancia Magnética nuclear (RMN).

Este método permite la determinación de la estructura molecular de compuestos orgánicos e inorgánicos. Se basa en el estudio de los diferentes tipos de protones de la molécula. La magnitud relativa del pico permite calcular el número de protones situados en un mismo tipo de entorno.

El espectro de RMN de sacarina se ha realizado en DMSO-D₆ (2), fig. 2.3.

- Ionización: su constante de disociación (pKa) a 25 oC es de 1.6.

2.3 Propiedades químicas.

-pH: la solución acuosa presenta reacción ácida al tornasol ya que el hidrógeno del grupo NH es ácido. El pH en solución acuosa al 0.35% es de 2.0 (1,3).

-Hidrólisis: la sacarina se hidroliza en solución dando como productos el ácido o-sulfamoylbenzónico por hidrólisis alcalina y la sal de amonio del correspondiente ácido o-sulfobenzónico por hidrólisis ácida (1).

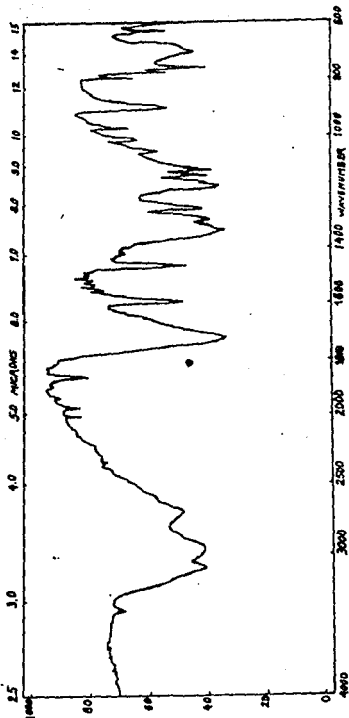


figura 2.2 Espectro IR de sacarina en pastilla de KBr.

Tabla 2.1. Asignaciones estructurales relacionadas con la frecuencia de banda en IR.

Frecuencia (cm ⁻¹)	Asignación
3410, 3100	-CO-NH-
2970, 2700	-C-H
1722	-HN-C=O
1595	-C=C- aromático
1165, 1180, 1188	-SO ₂ -N-
700-900	C-H fuera del plano

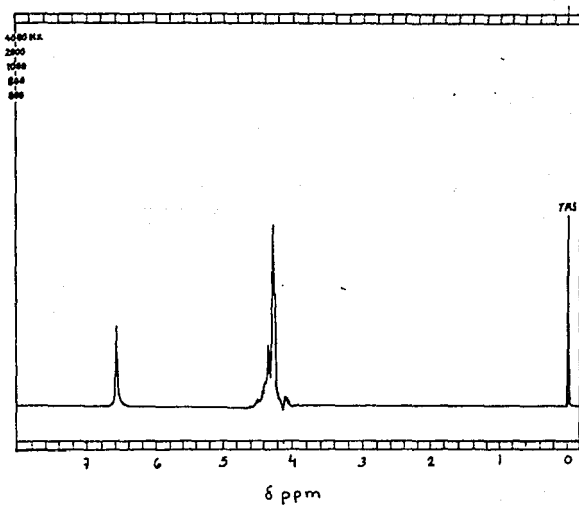
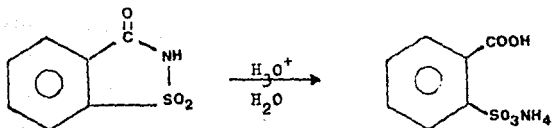
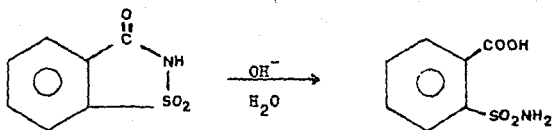


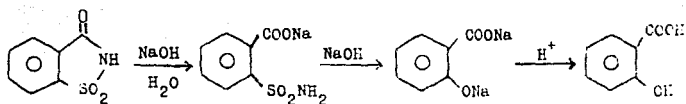
figura 2.3 Espectro de RMN de sacarina en-DMSO-D₆.



- Estabilidad: la sacarina es estable al calor, tanto en forma seca como en solución acuosa. En forma de granel no presenta un grado detectable de descomposición en periodos de hasta varios años.

Las soluciones amortiguadas a diferentes pH, desde 3.3 hasta 8.0, no sufren cambios después de ser calentadas por una hora a 150 °C. Solo bajo condiciones severas como una muy elevada temperatura, alta presión, y bajo pH, la sacarina se hidroliza en cierto grado (4).

-Reacciones de identificación: el o-sulfamoylbenzoato de sodio por fusión alcalina produce el fenolato correspondiente, el cual se transforma al ácido o-hidroxibenzoico por neutralización:



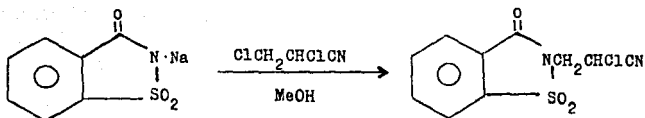
este fenol se identifica aprovechando la propiedad general de los mismos de formar complejos coloridos con soluciones de cloruro férrico. El procedimiento detallado consiste en disolver aproximadamente 100 mg de sacarina en 5 ml de solución 1:20 de NaOH, la solución se evapora a sequedad y el residuo se funde cuidadosamente sobre una flama pequeña, hasta que no haya desprendimiento de amoniaco. El residuo frio se disuelve en 20 ml de agua, la solución se neutraliza con HCl diluido y se filtra: al agregar al filtrado una gota de cloruro férrico, se produce coloración violeta.

Otra reacción de identificación consiste en mezclar aproximadamente 20 mg de sacarina con 40 mg de resorcinol, se agregan 10 gotas de ácido sulfúrico y se calienta la mezcla a 200 °C durante tres minutos. Se deja enfriar y se agregan 10 ml de agua y un exceso de NaOH: el líquido resultante toma coloración verde fluorescente.

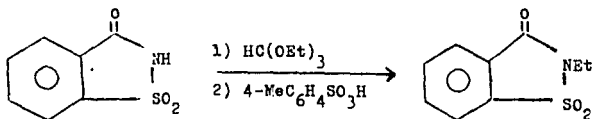
-Derivados: la sacarina es un compuesto que pertenece al grupo de las sulfimidas; al reaccionar con diferentes grupos químicos da lugar a la formación de derivados, con características propias.

Reacciones de alquilación

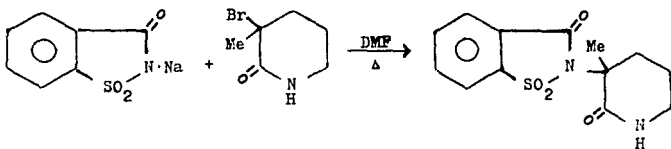
La sacarina (o sus sales) por N-alquilación, al reaccionar con alfa y beta-dihalopropionitrilos produce derivados cuya función no se informa. El rendimiento es del 57.8% (6).



La sacarina se N-alquila con ortoformiato de trietilo y el ácido p-toluensulfónico (4-MeC₆H₄SO₃H), para dar el siguiente producto (7):

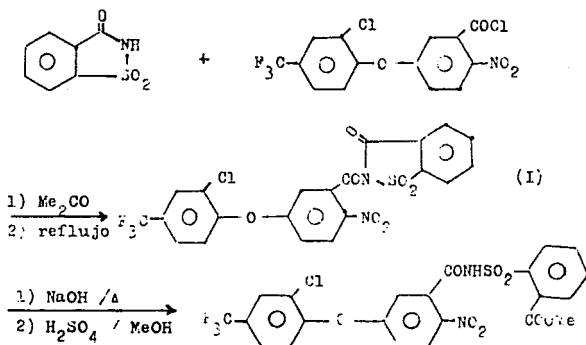


La alquilación de la sal sódica de sacarina con 3-bromo-3-metil-2-piperidinona produce el compuesto benzisotiazolil lactama, útil como depresor del Sistema Nervioso Central (8):

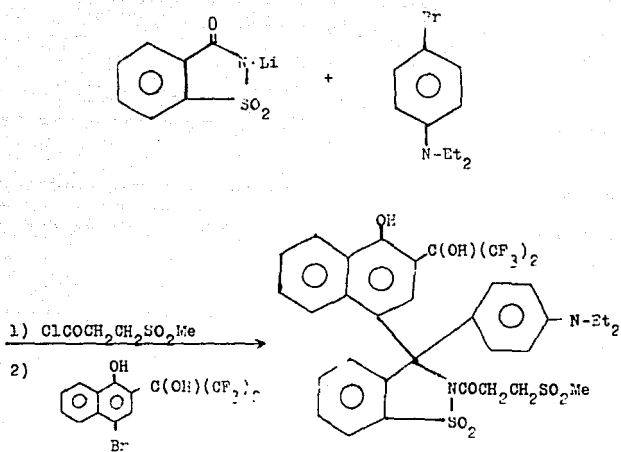


Reacciones de acilación

La acilación de sacarina en acetona con 5,2-[2,4-Cl(F₃C)C₆H₃O)(O₂N)C₆H₃COCl a reflujo, proporciona la amida (I) que al tratarla con NaOH a 100 °C forma un ácido. Este se esterifica con ácido sulfúrico en metanol para dar el éster. La fenoxibencimida formada se utiliza como herbicida (9):

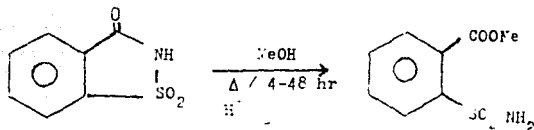


La sal de litio de la sacarina al reaccionar con N,N-dietil-p-bromoanilina (p-BrC₆H₄NET₂), seguida por la N-acilación con ClCOCH₂CH₂SO₂Me da como producto el 3-(4-dietilaminofenil)benz[d]isotiazol 1,1-dióxido, que al reaccionar con 4-bromo-2-(α-hidroxi-α-trifluorometil-β,β,β-trifluoroetil)-1-naftol produce una sulfam(na)ftaleína, útil como colorante, indicador de pH ó como material fotográfico, en la recepción de imagen (10,11):



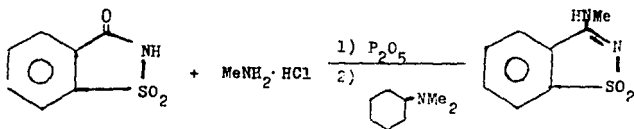
Alcoholisis

El calentamiento de sacarina con alcohol a 60-100 °C durante 4-48 hr en presencia de una resina de intercambio iónico ácida, da como producto el éster metílico del ácido o-sulfamilbenzónico (o-H₂NSO₂C₆H₄CO₂Me) (12):



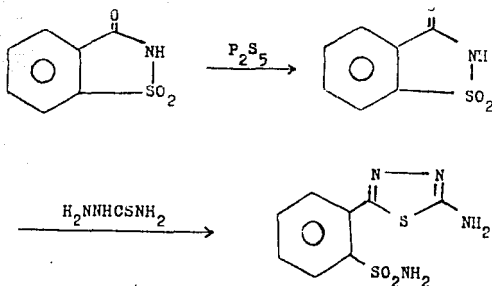
Reacción de aminación

Al calentar sacarina con clorhidratos de aminas alifáticas (primarias y secundarias), pentóxido de fósforo y N,N-dimetilciclohexilamina, se produce el dióxido de aminobenzisotiazol el cual, en una prueba biológica contra la leucemia linfocítica fué inactivo (13):



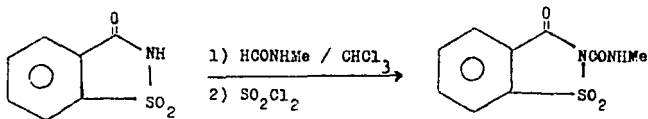
Reacción de ciclización

Al tratar sacarina con pentasulfuro de fósforo (P_2S_5) se produce tiosacarina, la cual se cicliza con tiosemicarbazida ($\text{H}_2\text{NNHCSNH}_2$) para formar el compuesto 2-amino-5-(o-sulfamoylphenil)-1,3,4-tiodiazol, el cual inhibe in vitro el virus Herpes simplex tipo 2 en un 52.4% (14):



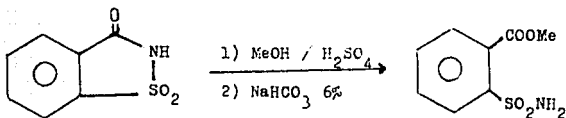
Reacción de amidación

Al tratar una mezcla de N-metil-formamida y cloroformo con cloruro de sulfurilo (SO_2Cl_2) a menos de 10°C , y adicionar sacarina en una mezcla de trietilamina-cloroformo ($\text{NEt}_3\text{-CHCl}_3$) a $15\text{-}20^\circ\text{C}$ se obtiene la sulfimida del ácido N-carbamoilbenzico (15):



Reacción de esterificación

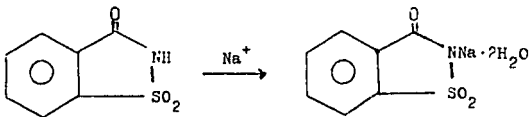
La sacarina al reaccionar con metanol en medio ácido y tratar los productos de reacción con una solución ligeramente básica, produce intermediarios de sulfonilureas útiles como herbicidas. El rendimiento es del 90% y la pureza del éster es del 98.9% (16):



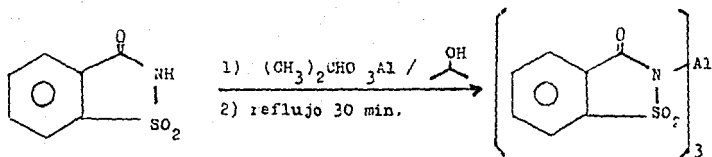
Interacción con metales

La sacarina al reaccionar con Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) y Zn(II) forma complejos del tipo $[M(C_7H_4NO_3)_2 \cdot 2H_2O]$; donde M representa al metal. Por otro lado, el Rb(II), La(II) y Pb(II), así como el sodio y calcio, dan sales iónicas solubles en agua.

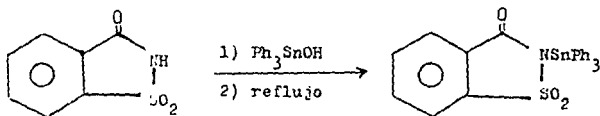
La sustitución del metal se lleva a cabo en el átomo de nitrógeno de la molécula (17):



Al reaccionar la sacarina con isopropóxido de aluminio en alcohol isopropílico caliente da como producto la sal de aluminio de sacarina, que puede utilizarse en la formulación de gomas de mascar, produciendo una retención de dulzura prolongada (18):



Al poner a reflujo sacarina con hidróxido de trifenil-estaño (Ph_3SnOH) se obtiene un rendimiento de 75 a 100% de la estanil-imida formada, la cual se utiliza como fungicida (19):



2.4 Usos.

La sacarina, el primer edulcorante artificial denominado de esta manera, fué descubierta hace más de 100 años y se ha utilizado para endulzar bebidas y alimentos por más de 80 años.

Este edulcorante se utiliza como sustituto de la sacarosa en la diabetes, obesidad y en donde el uso de sacarosa es indeseable. No posee valor nutritivo.

Se utiliza como agente edulcorante en bebidas y alimentos como: refrescos, jugos de frutas y otras bebidas. En frutas

procesadas, gomas de mascar, postres de gelatina, mermeladas, salsas, aderezos, pastas de dientes, etc.

La sacarina puede usarse sola o combinada con otros edulcorantes. En 1970 la combinación sacarina-ciclamato fué muy popular en la industria alimenticia. Esta mezcla muestra propiedades sinérgicas y mejora el perfil de degustación como se muestra en las figuras 2.4 y 2.5

Aproximadamente el 80% de sacarina que se utiliza en los Estados Unidos se adiciona a bebidas, alimentos y preparaciones como pastas de dientes y enjuagues bucales.

Con la aprobación del aspartame, se han creado mezclas sacarina-aspartame que se utilizan para endulzar bebidas refrescantes.

También se han creado mezclas de sacarina-aspartame-ciclamato en relación 1:5:8, respectivamente. En la figura 2.6 se muestra el perfil de dulzura de soluciones acuosas de sacarosa contra una mezcla de sacarina sódica-aspartame-ciclamato. Todos estos datos demuestran claramente que la combinación de edulcorantes da como resultado un mejoramiento en el perfil de dulzura, superior al de cada uno de los edulcorantes individuales (4).

Las bebidas refrescantes bajas en calorías representan un segmento importante del mercado. Hasta la reciente aprobación del aspartame (1981), la sacarina era el único edulcorante artificial utilizado en bebidas carbonadas en los Estados Unidos. El nivel de sacarina utilizada para endulzar una onza fluida (29.6 ml) varía entre 8 y 11 mg.

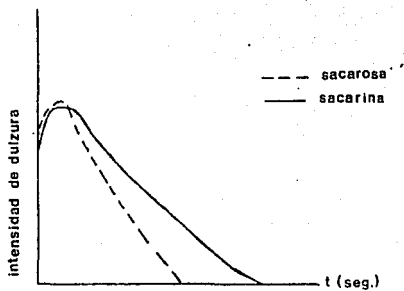


figura 2.4 Perfil de dulzura en solución acuosa de sacarosa vs sacarina .

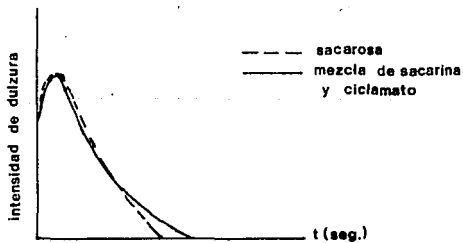


figura 2.5 Perfil de dulzura en solución acuosa de sacarosa vs la mezcla sacarina/ciclamato .

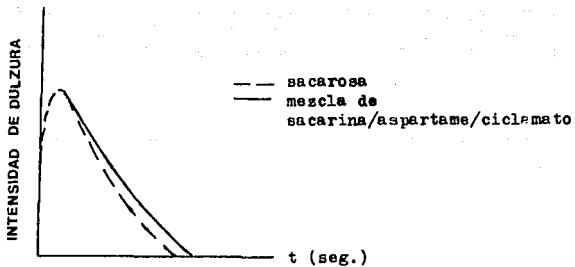


figura 2.6 Perfil de dulzura en solución acuosa de sacarosa vs sacarina/aspartame/ciclamato en mezcla.

Para endulzar gomas de mascar se requieren concentraciones de sacarina (sola o combinada con otros edulcorantes) entre 0.1 y 0.2%. Una goma de mascar típica de peso aproximado a 3 g, contiene de 3 a 6 mg de sacarina.

En cuanto a alimentos procesados, éste edulcorante se usa ampliamente en productos para hornear, especialmente por personas diabéticas. Su estabilidad al calor la hace adecuada para estos usos.

Además de los usos en la industria alimentaria, la sacarina tiene otras funciones. Es un agente antiséptico que impide la acción de los fermentos digestivos; sin embargo, no se le da este uso (20).

Se utiliza también en formulaciones para recubrimientos metálicos (electrodeposición), en los que se adiciona sacarina sódica al electrolito (aproximadamente 0.5 g/L) para producir un brillo metálico (1). Se informa de un baño que contiene una sal de níquel, un sulfato, un cloruro, ácido bórico, sacarina, ácido cinámico y 2-butino-1,4-diol, el cual se utiliza para la electrodeposición de níquel como recubrimiento abrillantador (21). Al electrodepositar aleaciones de níquel-ferro (utilizando sacarina como abrillantador) después de haber sido desgastadas con una mezcla de ácido clorhídrico, ácido nítrico y lauril sulfato de sodio, se obtiene un 90% de productos de buena calidad (22). La sacarina provoca en algunos casos el incremento en la dureza de aleaciones de níquel-fósforo (23).

2.5 Generalidades sobre edulcorantes.

Se denominan sustancias edulcorantes todas aquellas que poseen sabor dulce. En términos generales se puede decir que el sabor dulce de una sustancia es una medida subjetiva, ya que depende de factores tales como la sensibilidad del catador, la concentración del edulcorante, el pH, la temperatura, el tipo de medio usado, etc. Los resultados de los análisis organolépticos están sujetos a errores subjetivos que influyen en los valores discrepantes que se han informado acerca del poder edulcorante de los diferentes azúcares.

Para determinar el poder edulcorante de diversos compuestos se utiliza a la sacarosa como estándar asignándole un valor igual a la unidad a su poder endulzante, como se muestra en la tabla 2.2.

El edulcorante ideal debe ser tan dulce como la sacarosa, no cariogénico, de sabor agradable, que pueda ser detectado rápidamente y que su sabor no perdure mucho tiempo después de haber sido ingerido. Debe ser soluble en agua y estable tanto química como térmicamente. No debe presentar efectos tóxicos y debe ser económicamente competitivo con la sacarosa (24).

Se considera que la propiedad de los azúcares de producir una sensación de dulzura está relacionada directamente con la presencia de grupos hidroxilo en sus moléculas; sin embargo, la dulzura de otras sustancias no siempre se puede relacionar con la presencia de hidroxilos ya que la sacarina y los ciclamatos no contienen dichos grupos y son más dulces que la sacarosa. No solo se requiere de hidroxilos para que los azúcares sean dulces,

Tabla 2.2. Dulzura relativa de compuestos alternativos a la sacarosa.

EDULCORANTE ALTERNATIVO	DULZURA APROXIMADA (sacarosa= 1)
Acesulfam-K	100-200
Aspartame	150-200
Cloroderivados de sacarosa	5-2000
Ciclamato	30
Dihidrochalconas	300-2000
Fructosa pura cristalina	1.2-1.7
Glicirricina	50-100
HFCS, 55% (*)	1
HFCS, 90% (*)	1.5
L-azúcares	1
Manitol	0.7
Monelin	1500-2000
Sacarina	300-500
Sorbitol	0.5-0.7
Esteviósido	300
Talin	2000-3000
Xilitol	1

(*)= jarabe de maiz rico en fructosa

también influye su estereoquímica como en el caso de la beta-D-glucosa que es dulce mientras que su epímero, la beta-D-manosa es amarga.

Existen diferentes teorías acerca de la relación entre la estructura de un compuesto y su sabor dulce. Oertly y Myers propusieron en 1919 su teoría del "glucóforo" y el "auxoglúcido", correspondiente a los cromóforos y auxocromos de los colorantes (25,26). Esta teoría fue inaplicable para los llamados edulcorantes artificiales como la sacarina.

Shallenberger y Acree en 1967 propusieron que el sabor dulce puede ser causado por la proximidad de dos átomos electronegativos: A y B. El átomo A, unido químicamente a un hidrógeno ácido, actúa como función ácida (AH), mientras que el átomo B actúa como base (B). En esta teoría el receptor tiene una estructura similar, de tal forma que la interacción se efectúa en forma inversa (fig. 2.7).

Se requiere una distancia de 2.6 a 3.0 Å de separación de los centros electronegativos, ya que de otra manera pueden formarse puentes de hidrógeno intramoleculares que reduzcan la posibilidad de interactuar con el sitio receptor de la boca. El grado de hidrofobicidad de un compuesto influye también en el poder edulcorante; una cierta hidrofobia del agente estimulante aumenta la interacción, ya que la membrana receptora tiene carácter de lípido. Una modificación a esta teoría incluye el factor hidrófobo "gamma", localizado a 3.5 Å de AH y a 5.5 Å de B. Esta distribución forma un triángulo entre AH, B y gamma que es el

verdadero responsable del sabor dulce de las moléculas. A esta teoría se le conoce como teoría AH-B (24, 26, 27).

Todos los compuestos dulces tienen un sistema AH-B (fig. 2.8).

Este sistema explica de acuerdo a la geometría molecular del compuesto por qué las diferentes sustancias dulces poseen diversos grados de dulzura. Esto es aplicable a compuestos como la sacarina, aminoácidos y amino-nitrobenzenos, basándose en una inspección de su estructura molecular y sus funciones ácidas.

Existen algunos análogos de la sacarina los cuales solo han sido caracterizados como dulces, amargos o insaboros (tabla 2.3).

El tino 3,4-d sacarina es un análogo 1000 veces más dulce que la sacarosa y no deja un gusto amargo después de ser ingerido. No se informa si este compuesto se usa comercialmente (24).

Existen diversos edulcorantes artificiales, por ejemplo:

- Ciclamato sódico: es un polvo blanco cristalino, muy soluble en agua; es aproximadamente 30 veces más dulce que las sacarosa. Se prepara por sulfonación de la ciclohexilamina. Su sabor dulce fué descubierto en 1937 en la Universidad de Illinois. El ciclamato puede usarse en combinación con sacarina en relación de 2:1 a 10:1. Está prohibido su uso, ya que se demostró en los años 70's que su producto de degradación (ciclohexilamina) causa daño a nivel de cromosomas, deformación en fetos y carcinomas en vejiga de varios animales (28).

- Aspartame: agujas incoloras que funden a 246-247 °C. El gusto dulce del aspartame fué descubierto accidentalmente en 1965. Se considera que su poder endulzante es de 150 a 200 veces más dulce

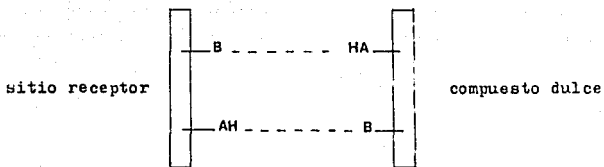


figura 2.7 Teoría AH-B de recepción del sabor.

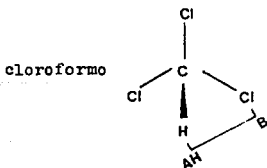
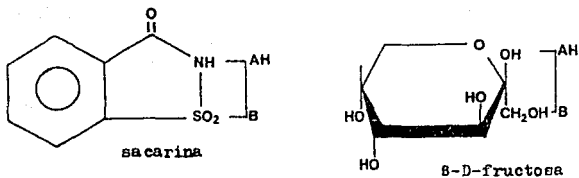
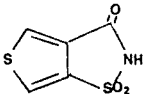
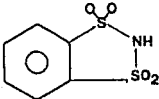
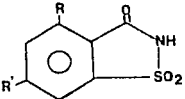


figura 2.8 Sistema AH-B de diferentes compuestos químicos.

Tabla 2.3. Análogos de sacarina.

Análogo	Potencia *
	1000
	dulce
	dulce
R= NO ₂ , R' = H	dulce
R= NH ₂ , R' = H	dulce
R= H, R' = NO ₂	dulce
R= H, R' = Cl	dulce
R= H, R' = F	dulce

* Potencia relativa a la sacarosa= 1.

que la sacarosa. A diferencia de la sacarina y el ciclamato, el aspartame no posee un sabor desagradable. Este edulcorante es metabolizado a sus partes constituyentes: ácido L-aspartico y L-fenilalanina. Su venta fué aprobada en los Estados Unidos en 1981. Existen diversos análogos del aspartame, principalmente dipéptidos o amidas. Presenta pérdida de dulzura en soluciones acuosas; no es estable a altas temperaturas.

- Dehidrochalconas: las dehidrochalconas son compuestos que se obtienen de cítricos como la naranja de Sevilla. Son aproximadamente de 200 a 300 veces más dulces que la sacarosa. Se conocen varios análogos de éstos compuestos, teniendo algunos de ellos sabor desagradable. Su aplicación comercial está restringida.

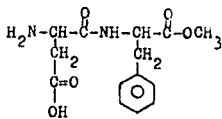
- Acesulfam: fué descubierto en 1973 por los laboratorios Farbwerke Hoechst. Posee una estructura que recuerda a la sacarina (ver figura 2.9). Es un ácido ligeramente soluble en agua. Posee un gusto tanto dulce como ácido por lo que su uso es limitado. Se ha desarrollado la sal de potasio (acesulfam-K), la cual posee un gusto parecido al del ciclamato y no posee sabor metálico. Se considera que es de 100 a 200 veces más dulce que la sacarosa. No es metabolizado y es excretado sin cambio. Puede prepararse a partir de isocianato de fluorosulfonilo. No se han encontrado efectos adversos.

- Estevióside: este compuesto funde a 198 °C. Es soluble en agua en un 0.12%. Se obtiene de las hojas de Stevia rebaudiana. También se le conoce como "yerba dulce". Es original del Paraguay. Se

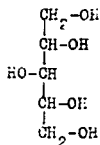
presenta en forma de cristales higroscópicos. Se ha reportado que deja un gusto a mentol después de ser ingerido.

- Perillartine: el perillartine tiene un punto de fusión de 102 °C. Es aproximadamente 200 veces más dulce que la sacarosa. Se extrae de la planta Perilla arguta. Se utiliza como edulcorante en Japón.

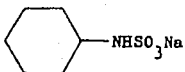
La información anterior fué extraída de las siguientes referencias: (1, 24, 28). En la figura 2.9 se presentan las estructuras de diversos edulcorantes.



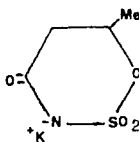
aspartame



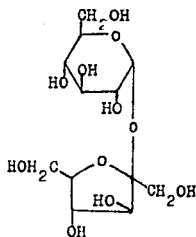
xilitol



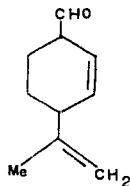
ciclamato sódico



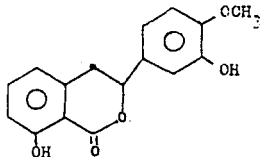
acesulfam-K



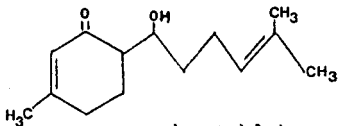
sacarosa



perillertine



filodulcina



hernandulcina

figura 2.9 Otros edulcorantes.

3. CONTROL FARMACEUTICO

3.1 Métodos de obtención de sacarina.

Existen diversa compañías en todo el mundo que producen sacarina. El único productor en Estados Unidos es el consorcio PMC Specialities Group Inc; el cual compró la tecnología a la Sherwin-Williams Company en 1985.

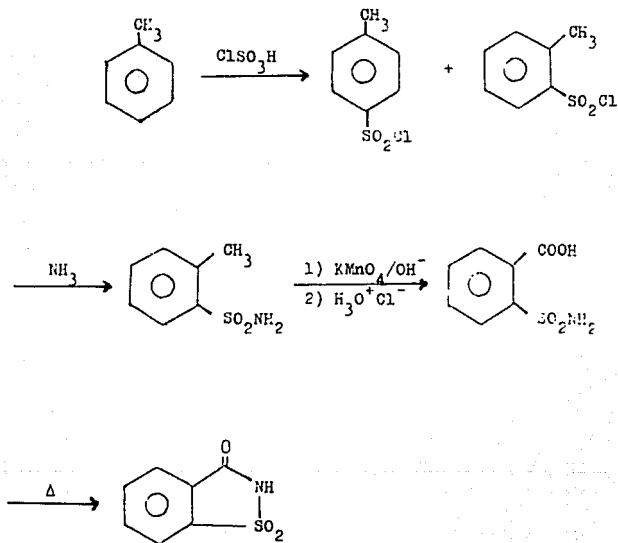
La sacarina puede obtenerse de diversas formas, los diferentes métodos se exponen clasificándolos por materia prima de partida, para fines de diferenciación, ya que casi todos ellos involucran las mismas reacciones de fondo, con variantes en cuanto a reactivos, condiciones y secuencia de las mismas.

A partir de tolueno:

Muchos productores utilizan la ruta básica descrita por Remsem y Fahlberg (4) que consiste en tratar al tolueno con ácido clorosulfónico (ClSO_3H) para formar los cloruros de orto y para-toluensulfonilo. Estos cloruros de ácido se tratan con amoníaco para formar las orto y para-toluensulfonamidas. El derivado orto es el único que proporciona sacarina.

La separación de las amidas puede hacerse por disolución en lejía de sosa diluida y precipitación con ácido clorhídrico. Precipita primero y se purifica por recristalización con alcohol el derivado orto (25).

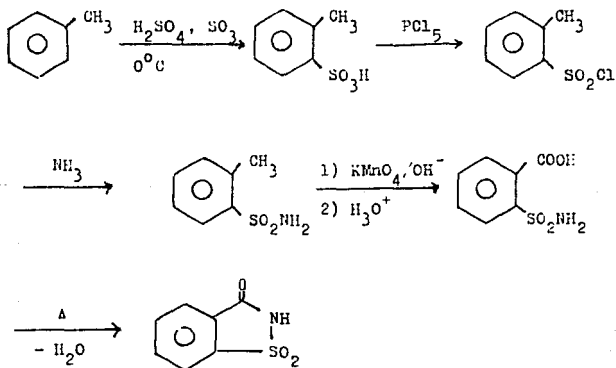
La o-toluensulfonamida se oxida con permanganato de potasio (KMnO_4) en medio alcalino y forma la sal de potasio del ácido o-fulmamilbenzónico. El ácido se libera por acidificación, pierde agua espontáneamente y se forma la sacarina (2, 24, 25, 29):



Otro método de obtención, a partir de tolueno, consiste en sulfonar dicha sustancia con oleum a baja temperatura para dar como productos una mezcla de ácidos orto y para-toluensulfónicos.

Los ácidos sulfónicos se convierten en cloruros de sulfonilo por acción de pentacloruro de fósforo (PCl_5). El cloruro de p-toluensulfonilo se elimina en gran proporción por congelamiento, mientras que el derivado orto se trata con amoníaco para formar la o-toluensulfonamida.

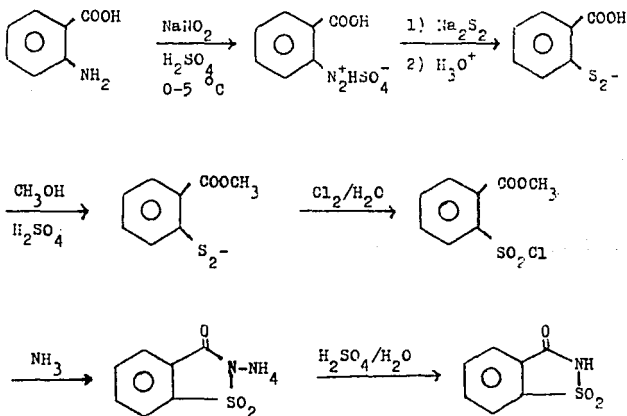
Para transformar el radical metilo en carboxilo la oxidación se efectúa con KMnO_4 en medio alcalino para formar el ácido o-sulfonamidobenzóico o mejor, su sal de potasio. La sal se descompone por acidificación y se libera el ácido que se deshidrata espontáneamente y forma la sacarina (2, 4, 25, 30).



A partir de ácido antranílico:

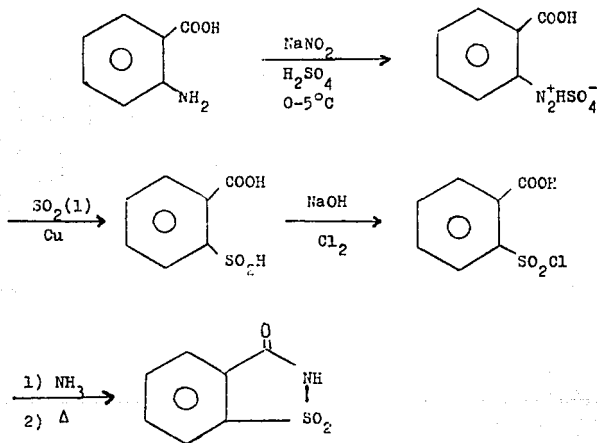
El ácido antranílico es diazoado al adicionar nitrito de sodio en presencia de ácido sulfúrico a temperatura de 0-5 °C. A la sal de diazonio resultante se le adiciona disulfuro de sodio y la mezcla se acidula para precipitar el disulfuro orgánico.

Este disulfuro se recolecta, se lava, se seca y se esterifica por tratamiento con metanol en ácido sulfúrico. El éster resultante se oxida con cloro gaseoso a cloruro de o-carbometoxibencensulfonilo. La amidación con un exceso de amoníaco da sacarina amónica y la neutralización con ácido sulfúrico produce sacarina. Este proceso es el denominado Proceso de Maumee.



Otra forma consiste en diazoar al ácido antranílico con nitrito de sodio y ácido sulfúrico; se trata con anhídrido sulfuroso líquido en presencia de cobre como catalizador.

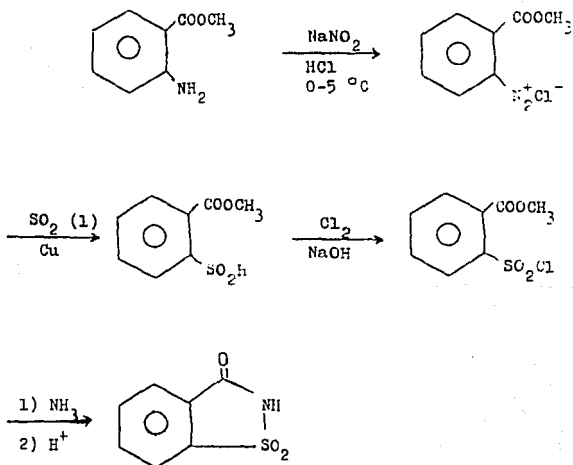
El ácido sulfínico obtenido se trata con cloro en solución alcalina, obteniéndose el cloruro de arilsulfonilo correspondiente. al cual se adiciona amoníaco y se calienta para formar la sacarina (2).



A partir de antranilato de metilo:

El antranilato de metilo se diazoa por tratamiento con nitrito de sodio y HCl para formar cloruro de 2-carbometoxibencendiazonio. La sulfonación de éste compuesto produce (en la forma descrita previamente) ácido 2-carbometoxibencensulfínico, el cual es convertido a cloruro de 2-carbometoxibencensulfonilo con cloro.

La amidación de este cloruro de sulfonilo, seguida de acidificación, forma sacarina. Esta sacarina al tratarla con hidróxido de sodio ó bicarbonato de sodio produce sacarina sódica (4, 24).



A partir de o-toluensulfonamida:

Los métodos de preparación de sacarina partiendo de esta materia prima, se basan principalmente en la oxidación de la misma (CH_2) ya sea por electrólisis o vía química y ciclización.

Ya que la remoción de electrones constituye la oxidación, el paso de una corriente a través de una celda electrolítica hace que la oxidación ocurra en el ánodo, donde hay ausencia de electrones y la reducción en el cátodo, donde los electrones están concentrados.

Son pocos los procesos de oxidación orgánica que se llevan a cabo electroquímicamente. Algunas dificultades radican en el hecho de que los líquidos orgánicos son malos conductores de la electricidad, además de ser frecuentemente insolubles o muy poco solubles en un electrolito adecuado.

- La sacarina puede prepararse dando un alto rendimiento por oxidación electrolítica directa de la o-toluensulfonamida en medio básico (Na_2CO_3) en ánodos de grafito con un diafragma o membrana de intercambio iónico a temperatura de 20-80 °C, 1.5-3.0 volts y celdas de lecho fluidizado a 0.1-10 amperes/dm² (31).

- La o-toluensulfonamida es oxidada electrolíticamente a sacarina en soluciones acuosas de carbonatos metálicos alcalinos, en ánodos recubiertos con $\text{NiO}(\text{OH})$. Esta oxidación da un 40% de rendimiento. La oxidación electrolítica ocurre con evolución de oxígeno que causa una degradación parcial de la materia prima. En medios fuertemente alcalinos (soluciones de hidróxidos de metales alcalinos) ocurre la ruptura de la unión S-NH_2 con formación de

o-toluensulfonato de amonio durante la electrólisis (32).

- La sacarina se prepara por oxidación de la o-toluensulfonamida (70 partes en peso), ácido acético, bromuro de cobalto y acetato de manganeso. Se calienta a 140 °C bajo 20 atmósferas de presión; se introduce aire durante 3 horas de manera que el efluente gaseoso contenga menos de 6% de oxígeno, para dar 25 partes en peso de sacarina con una pureza del 97% (33).

- Después de la oxidación de la o-toluensulfonamida, una mezcla cruda se acidifica con HCl a pH 3. Al tratar el filtrado a 85-95 °C con HCl al 15% se forman cristales que contienen de 99.6 a 99.8% de sacarina (34).

- La sacarina es preparada por oxidación de la o-toluensulfonamida con CrO_3 en ácido sulfúrico acuoso (50-58%) a 40-60 °C durante 8-10 horas. Las aguas madres de la mezcla de reacción se someten a electrólisis (5-8 amperes) para reciclar el agente oxidante. Este proceso evita la necesidad de presión reducida y abre la posibilidad de producir sacarina de manera automática y continua (35).

3.2 Monografías oficiales.

Las pruebas analíticas de control de materia prima son herramientas indispensables para asegurar la calidad de la misma y dar seguridad al ser humano como usuario final.

El control analítico de sacarina es recomendado por varias normas oficiales tales como la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Farmacopea de los Estados Unidos de América, Farmacopea Británica, Farmacopea de la República Italiana, etc.

Esta información ha sido resumida en forma de tablas de acuerdo al siguiente orden: Tabla 3.1 Farmacopea Mexicana (36), Tabla 3.2 U.S.P.XXI (37), Tabla 3.3 Farmacopea Británica (38) y Tabla 3.4 Farmacopea Italiana (39).

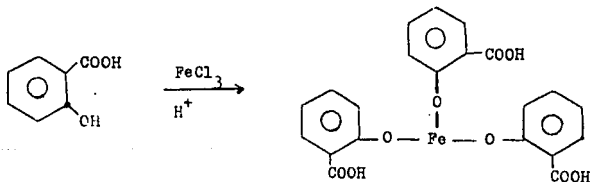
A continuación se presenta un resumen acerca de los procedimientos oficiales que se mencionan en las diferentes Farmacopeas:

Identificación (colorimétrico):

Nos permite verificar la estructura de la sacarina usando métodos colorimétricos.

a) Reacción con cloruro férrico (FeCl_3):

La sacarina se basifica con solución de hidróxido de sodio, se evapora a sequedad y se funde el residuo. Se neutraliza con HCl y al compuesto fenólico formado se le adiciona FeCl_3 produciéndose un color violeta.



b) Reacción con resorcinol:

La sacarina se mezcla con resorcinol, se acidifica y se calienta. Se enfría y se adiciona un exceso de sosa. Se produce

Tabla 3.1
MONOGRAFIA OFICIAL DE LA FARMACOPEA MEXICANA 1988 PARA SACARINA

PRUEBA	LIMITE ESPECIFICADO	METODO
Descripción	Cristales blancos o polvo blanco cristalino, inodoro o ligeramente aromático. En solución diluida es intensamente dulce y ácida al papel tornasol	Organoléptico
Solubilidad	Fácilmente soluble en solución diluida de hidróxido de amonio, en soluciones de hidróxidos alcalinos y en soluciones de carbonatos alcalinos con desprendimiento de CO ₂ ; soluble en alcohol y en agua hirviendo; ligeramente soluble en agua a temperatura ambiente, en cloroformo y éter	Visual
Identificación A: FeCl ₃ B: Resorcinol	Desarrollo de coloración violeta Desarrollo de coloración verde fluorescente	Colorimétrico
Temperatura de fusión	Entre 226 y 230 °C	MGA 471
Pérdida por secado	No más de 1.0%. Secar dos horas a 105 °C	MGA 671
Residuo de la ignición	No más de 0.2%	MGA 751
Arsénico	No más de 3 ppm	II MGA 111
Selenio	No más de 30 ppm	Espectrofotométrico.
Metales pesados	No más de 10 ppm	II MGA 561

continúa

Tabla 3.1
MONOGRAFIA OFICIAL DE LA FARMACOEPA MEXICANA 1988 PARA SACARINA

PRUEBA	LIMITE ESPECIFICADO	METODO
Sustancias relacionadas	La mancha obtenida en el cromatograma con la solución de referencia de o-toluénsulfonamida en acetona (0.017m/v) es más intensa que cualquier mancha obtenida con la solución de la muestra en acetona, y la mancha obtenida con la solución de p-toluénsulfonamida en acetona (0.005% m/v) es más intensa que cualquier mancha obtenida con la solución de la muestra en metanol (0.5% m/v)	Cromatografía en capa delgada MGA 241
Sustancias fácilmente carbonizables	La solución de la muestra no es más intensamente colorida que la solución de referencia (correspondiente al fluido I)	MGA 881
Acido salicílico y ácido benzoico	No debe aparecer precipitado ni coloración violeta al adicionar a la muestra cloruro férrico	Colorimétrico
Valoración	No menos del 98% y no más del 101% de sacarina, calculado sobre la sustancia seca	Titulación volumétrica directa con NaOH 0.1 N.

Tabla 3.2
MONOGRAFIA OFICIAL U.S.P.XXI PARA SACARINA

PRUEBA	LIMITE ESPECIFICADO	METODO
Identificación		
A: FeCl ₃	Desarrollo de coloración violeta	Colorimétrico
B: Resorcinol	Desarrollo de coloración verde fluorescente	Colorimétrico
Punto de fusión	Entre 226 y 230 °C	741
Pérdida al secado	No pierde más del 1.0% de su peso después de secarse a 105 °C por dos horas	731
Residuo de ignición	No más de 0.2%	281
Toluénsulfonamidas	No más del 0.0025%	Cromatografía de gases: 621
Arsénico	3 ppm	211
Selenio	0.003%	291
Metales pesados	0.001%	II 231
Sustancias fácilmente carbonizables	La solución no presenta mayor coloración que el fluido A	271
Acido salicílico y ácido benzoico	No debe aparecer precipitado o coloración violeta al adicionar a la muestra en solución cloruro férrico	Colorimétrico
Valoración	No menos del 98% y no más del 101% de sacarina calculada sobre base anhidra	Titulación volumétrica directa con NaOH 0.1 N.

Tabla 3.3
 MONOGRAFIA OFICIAL DE LA FARMACOPÉA BRITANICA 1980 PARA SACARINA

PRUEBA	LIMITE ESPECIFICADO	METODO
Descripción	Cristales blancos ó polvo blanco cristalino, inodoro o ligeramente aromático	Organoléptico
Solubilidad	Soluble en 290 partes de agua, 30 partes de etanol (96%), y en 12 partes de acetona; soluble en cerca de 25 partes de agua hirviendo; ligeramente soluble en cloroformo y éter. Muy soluble en amonio 5M, en soluciones de hidróxidos alcalinos y en soluciones de bicarbonatos alcalinos, con desprendimiento de dióxido de carbono	Visual
Identificación		
A: Resorcinol	Desarrollo de coloración verde fluorescente	Colorimétrico
B: FeCl ₃	Desarrollo de coloración violeta	Colorimétrico
C: pH	La solución saturada es ácida al papel tornasol	Visual
Punto de fusión	De 226 a 230 °C	Apéndice V A
Arsénico	2 ppm	Apéndice VII
Metales pesados	10 ppm	Apéndice VII
Sustancias relacionadas	La mancha obtenida en el cromatograma con la solución de referencia de o-toluénsulfonamida en acetona (0.01% m/v) es más intensa que cualquier mancha obtenida con la solución de la muestra en acetona, y la mancha obtenida con la solución de p-toluénsulfonamida en acetona (0.005% m/v) es más intensa que cualquier mancha obtenida con la solución de la muestra en metanol	Cromatografía en capa fina Apéndice III A

continúa

Tabla 3.3
 MONOGRAFIA OFICIAL DE LA FARMACOPEA BRITANICA 1980 PARA SACARINA

PRUEBA	LIMITE ESPECIFICADO	METODO
Sustancias fácilmente carbonizables	La solución de la muestra no es más intensamente colorida que la solución de referencia	II Apéndice IV B
Pérdida al secado	No más del 1% de su peso cuando se seca a peso constante a 105 °C	Gravimétrico
Cenizas sulfatadas	No más del 0.2%	Apéndice IX A
Valoración	No menos del 99% calculado con referencia a la sustancia seca	Titulación volumétrica directa con NaOH 0.1 M

Tabla 3.4
 MONOGRAFIA OFICIAL DE LA FARMACOPEA DE LA REPUBLICA ITALIANA 1965
 PARA SACARINA

PRUEBA	LIMITE ESPECIFICADO	METODO
Descripción	Polvo blanco, cristalino, inodoro, de sabor muy dulce	Organoléptico
Solubilidad	Soluble en cerca de 300 partes de agua fría y en 25 partes de agua hirviendo; soluble en 30 partes de alcohol y en 12 partes de acetona; poco soluble en éter y cloroformo, muy soluble en álcalis	Visual
Punto de fusión	Entre 226 °C y 230 °C	
Identificación		
A: FeCl ₃	Desarrollo de coloración violeta	Colorimétrico
B: Resorcinol	Desarrollo de coloración verde fluorescente	Colorimétrico
C: pH	La solución acuosa es ácida al papel tornasol	Visual
Poder edulcorante	Al disolver 0.01 g en 100 ml de agua se forma una solución de sabor dulce todavía manifiesto	Organoléptico
Sales de amonio	Al mezclar 0.5 g de sacarina con 1 g de óxido de magnesio y 10 ml de agua, no se deben desprender vapores amoniacales	Organoléptico
Metales pesados	No más de 10 ppm	II Apéndice 33
Arsénico	No más de 4 ppm	II Apéndice 32
Pérdida al secado	Secar a 105 °C por dos horas, no debe perder más del 1% de su peso	Gravimétrico
Valoración	No menos del 98% calculado en base anhidra	Titulación volumétrica directa con NaOH 0.1 N

una coloración verde fluorescente.

Temperatura de fusión (FNEUM V: MGA 471).

El punto de fusión se utiliza como un criterio de pureza para determinar la identidad de un par de compuestos. Es un método sencillo y confiable.

Residuo de la ignición (FNEUM V: MGA 751).

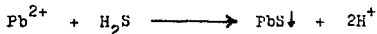
Este método se basa en el sometimiento de la muestra a un proceso de calcinación utilizando ácido sulfúrico con el fin de obtener un residuo de sales inorgánicas. La determinación cuantitativa de las sales se realiza por método gravimétrico.

Metales pesados (FNEUM V: MGA 561).

La muestra con impurezas metálicas reacciona con ácido sulfúrico. La determinación se hace por comparación visual contra una solución de referencia de plomo de concentración conocida.

El color de la solución de la muestra no debe ser más oscuro que el color de la solución de referencia.

Reacción:



Sustancias fácilmente carbonizables (FNEUM V: MGA 881).

Se basa en una comparación visual de color entre una solución que contiene a la muestra disuelta en ácido sulfúrico (94.5-95.5%) y una solución de referencia.

La solución de la muestra no debe ser más oscura ni de color más intenso que la solución de referencia.

Pérdida por secado (FNEUM V: MGA 671).

Consiste en la determinación de materia volátil de cualquier naturaleza que se elimina por desecación a una temperatura y tiempo especificado. La determinación se hace por método gravimétrico.

Arsénico (FNEUM V: MGA 111-II).

Se basa en la determinación espectrofotométrica de un compuesto colorido.

El arsénico reacciona con hidrógeno y forma arsina. La arsina reacciona con dietilditiocarbamato de plata y forma el compuesto colorido. La absorbancia de la solución colorida de la muestra no debe ser mayor a la obtenida con la solución de referencia.

El contenido de arsénico no debe ser mayor al límite indicado en la monografía respectiva.

Selenio (FNEUM V: MGA 801).

Este método se basa en la cuantificación de la reacción entre selenio y diaminonaftaleno en medio ácido con la consecuente formación de un compuesto colorido.

La determinación se hace espectrofotométricamente. La absorbancia de la solución de la muestra no debe ser mayor que la de la solución de referencia.

Sustancias relacionadas (FNEUM V: MGA 241-capa delgada).

Se basa en la determinación de toluensulfonamidas utilizando el método de cromatografía en capa fina.

Las toluensulfonamidas presentes pueden provenir de los procesos de síntesis de sacarina.

Existen variantes para el desarrollo de este procedimiento, tal y como lo indica la U.S.P.XXI.

Una vez desarrolladas las cromatoplasmas, se aplican las soluciones reveladoras especificadas. Las manchas producidas por la solución de la muestra no deben ser más intensas que las obtenidas en las soluciones de referencia de las toluensulfonamidas.

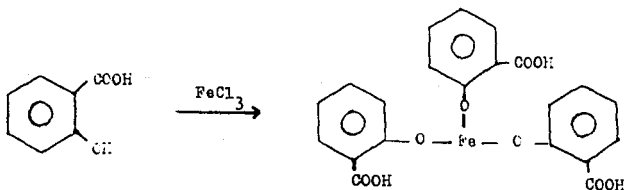
Ácido salicílico y ácido benzoico (FNEUM V: reacción colorimétrica).

Consiste en una reacción colorimétrica con el fin de determinar la presencia de impurezas tales como ácido salicílico y ácido benzoico que pudieran formarse durante el proceso de obtención.

Se adiciona $FeCl_3$ que es capaz de reaccionar con los grupos fenólicos y producir una coloración violeta.

Una solución saturada y caliente de la muestra no debe presentar coloración violeta ni debe precipitar.

Reacción:



Valoración (FNEUM V: titulación ácido-base).

Los métodos de valoración nos permiten conocer la cantidad de una sustancia presente en una muestra.

Las Farmacopeas consultadas informan el mismo método, solo la Farmacopea Británica indica una variación en cuanto al disolvente utilizado para la disolución de la muestra.

El método consiste en una titulación ácido-base directa utilizando NaOH 0.1 N como titulante y fenolftaleína como indicador.

3.3 Pruebas no oficiales.

Se informa que la sacarina en combinación con ciclamato y dulcina puede ser determinada en bebidas utilizando la técnica de cromatografía en capa fina (TLC) sobre placas de 20 x 20 cm cubiertas con sílica gel H (tipo 60) ó sílica gel 60 F 254 y con BuOH(50%)-EtOH-NH₄OH (40:4:1) como disolvente. La determinación se hace por UV a 254 nm para sacarina y un reactivo fluorescente para ciclamato y dulcina. Este método es sensible para sacarina, ciclamato ó dulcina en concentraciones de 40, 200 o 30 mg/L (40).

La sacarina y el reactivo "Nile Blue" forman un compuesto que es posible extraerse y que permite la determinación espectrofotométrica de sacarina. A 630 nm se obedece la ley de Beer a una concentración de sacarina de 0.1-3.5 mcg/ml en la fase acuosa siendo la absorptividad molar 5.8×10^4 L/mol/cm. El método muestra buena selectividad y puede aplicarse en la determinación de sacarina en mezclas de edulcorantes artificiales, bebidas y pastas de dientes (41).

Al pasar una alícuota de 1 ml de una bebida a través de una columna de extracción C 18 previamente acondicionada con dos porciones de 1 ml de metanol y dos porciones de 1 ml de ácido sulfúrico y secada al vacío, fué posible la elución de sacarina con 1 ml de CH_2Cl_2 (cloruro de metileno). El eluato se agitó con acetato de sodio 0.1 M y 20 microlitros se sometieron a cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Con éste método fué posible determinar sacarina en 0.5 mg/L de solución usada para HPLC (42).

La sacarina puede determinarse espectrofotométricamente en solución reguladora de acetatos (pH 3.0) por la adición de un colorante (naranja acridina). Se mide la absorbancia del producto colorido a 492 nm. El valor de absorptividad molar fué 7.6×10^4 L/mol/cm. La desviación estándar relativa fué menor de 2.1%. El método puede aplicarse para la determinación de sacarina en productos farmacéuticos y gomas de mascar (43).

Se utilizó una columna de HPLC C18 para determinar fructosa, sacarina, ácido sórbico, ácido benzoico, esteviósido, rebaudioside A y rebaudioside C en bebidas utilizando un detector UV (254 nm). Los límites inferiores de detección fueron de 0.2 ppm (ácido sórbico) a 0.11% (44).

Después de extraer sacarina en acetato de etilo de bebidas acidificadas, pudo separarse por la técnica de TLC en sílica gel G (cloroformo-ácido acético 27:3). Las manchas se visualizaron al utilizar como revelador una aspersión con rojo de metilo 0.12% y verde de bromocresol 0.04% en etanol. La sacarina dió una mancha

roja-rosada a un R_f de 0.7. El procedimiento detectó sacarina a concentraciones mayores o iguales al 0.1%. De un total de 955 muestras de bebidas comunes, fué posible determinar sacarina en 220 (45).

Se ha detectado sacarina y cuantificado después de su extracción de muestras de alimentos en papel filtro Whatman No. 1. Se utiliza como disolvente la mezcla $BuOH-AcOH-H_2O$ (40:10:22). Se deja eluir la muestra por 18 horas y como revelador se utiliza una aspersion que contiene una solución de ácido ftálico y anilina. La sacarina con R_f 0.17 puede cuantificarse colorimétricamente después de la elución de la mancha con ácido acético al 60% (46).

La sacarina puede detectarse y analizarse por cromatografía de gases (GC) cuando se encuentra en medicamentos y alimentos. Se extrae de la muestra con un disolvente orgánico y se convierte en éster para hacerla más volátil. Se ha utilizado el sistema siguiente: columna 3% de OV-17, soporte Chromosorb G HP-AW, longitud 180 cm x 4 mm, temperatura 200 °C, gas acarreador Ar, velocidad de flujo 45 ml/min (47).

3.4 Perfil de impurezas.

La pureza de una sustancia en la Industria Farmacéutica es de suma importancia debido a que la presencia de impurezas implica una mala purificación de la materia prima y por lo tanto, la incorporación de dichas sustancias indeseables durante el proceso de fabricación. El perfil de impurezas determinadas en sacarina grado farmacéutico (U.S.P) se indica resumido en la tabla 3.5. (2, 34, 48, 49, 50).

Tabla 3.5. Perfil de impurezas de sacarina

SUSTANCIA	ORIGEN	CANTIDAD
Toluensulfonamidas	Materia prima	< 0.0025%
Acido salicilico y ácido benzóico	Productos de degradación de la hidrólisis de sacarina	No detectado
Selenio	Proceso	0.003%
Arsénico	Proceso	3 ppm
Antranilato de metilo	Materia prima	0.005%
Acido o-sulfamoil-benzóico	Hidrólisis de sacarina	-----

4. ASPECTOS TOXICOLOGICOS

4.1 Farmacología.

Muchos de los estudios realizados para determinar la farmacocinética y la distribución de sacarina en los tejidos han sido llevados a cabo por Sweatman y Renwick.

En un estudio realizado en 1979, Sweatman y Renwick (51) informan que al administrar sacarina marcada en la vejiga urinaria de rata a bajas concentraciones (0.03-100 mg/Kg en 0.1 ml de agua), ésta se absorbe lentamente de la vejiga, mientras que al administrar concentraciones más elevadas (100 mg/Kg en 0.1 ml de agua) la permeabilidad de la vejiga a la sacarina incrementa marcadamente. Bajo estas circunstancias, puede ocurrir suficiente absorción de sacarina como para interferir en la farmacocinética plasmática. La manipulación de la vejiga juega un papel importante en la permeabilidad de ésta.

Estos mismos autores llevaron a cabo otro estudio en 1980 (52). Examinaron la cantidad de sacarina en plasma, orina y tejidos de rata, seguida por algunos regímenes de dosificación, incluyendo dietas con niveles de sacarina superiores al 10%. Se informa de una variación en la concentración diurna de sacarina muy evidente detectada en plasma (figura 4.1). Como parte del mismo experimento, se les dió a varias ratas una dieta con niveles de sacarina del 0 al 10% durante 22 días. Se determinó la concentración de sacarina en varios tejidos. Las concentraciones en pulmón, hígado, riñón, bazo y adrenales fueron mayores a las

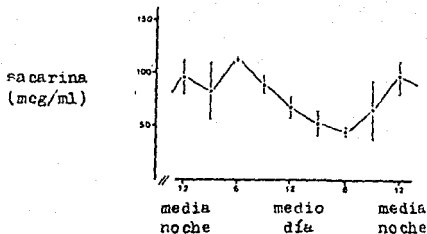


figura 4.1. Concentraciones de sacarina en plasma de ratas alimentadas con dieta de 5% de sacarina.

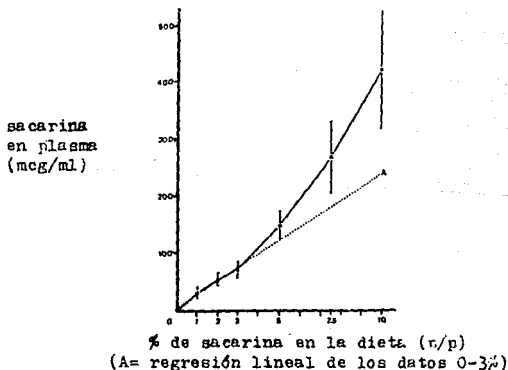


figura 4.2. Concentración de sacarina en el plasma de ratas alimentadas con dietas conteniendo 0-10% de sacarina.

que se predijeron por extrapolación lineal en los niveles del 7.5-10% , tal y como se muestra en la figura 4.2.

Cerca del 90% de la dosis fué recuperada en la orina durante las primeras 2 horas. La vida media de eliminación fué de cerca de 30 minutos. La presencia de alimento en el intestino disminuye la velocidad de absorción de sacarina (figura 4.3).

Colburn y Bekersky en 1981 (53) realizaron un estudio acerca de la cinética de la sacarina en voluntarios humanos.

Para estimar el perfil cinético se utilizaron las concentraciones de sacarina en plasma y en orina. La absorción de este edulcorante fué rápida y se obtuvieron las concentraciones plasmáticas máximas de 0.5 a 1.0 hora. La tabla 4.1 muestra los parámetros cinéticos estimados en este experimento. La sacarina no se distribuye en los depósitos grasos. Se sugiere que deben existir uno o más compartimentos de alta retención para sacarina.

Posteriormente Sweatman y Renwick relizaron otro estudio con el fin de determinar los niveles de sacarina en tejidos de rata durante dos generaciones (54). Los resultados muestran que no hay evidencia de acumulación excesiva de sacarina en la pared de la vejiga o en otros tejidos de ratas macho durante la exposición al útero o durante la lactancia.

Acerca de la excreción de sacarina, Bourgoignie y Hwang proponen que esta sustancia es excretada por una combinación de filtración y secreción tubular sin reabsorción. La secreción tubular parece que ocurre en el túbulo proximal mediante un sistema transportador de aniones orgánicos. Los patrones de

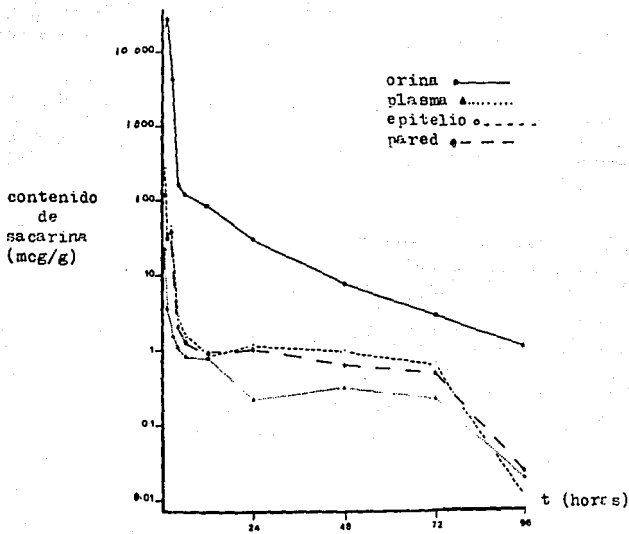


figura 4.3. Concentraciones de sacarina en plasma, tejido de la vejiga, y orina después de la administración intravenosa de sacarina marcada, en ratas.

Tabla 4.1. Parámetros cinéticos estimados en voluntarios humanos.

PARAMETRO	$\bar{x} \pm SD$
Dosis (mg/6 hr)	54 25
t max (hr)	0.58 2.0
C max/dosis	21 4.8
AUC ₀₋₆ /dosis (ng hr/ml)	54.4 11.6
V (L)	264 78.2
Xu (mg)	
0 a 6 hr	68
0 a 96 hr	135
t _{1/2} (hr)	7.5
Ff	0.225 0.255

t max= tiempo al que se observó la máxima concentración plasmática

C max= concentración máxima observada en plasma.

AUC₀₋₆= área bajo la curva de concentración vs tiempo durante el intervalo de dosificación.

V = volumen de distribución aparente.

Xu= excreción urinaria.

t_{1/2}= tiempo de vida medio.

Ff= fracción libre.

excreción y los niveles urinarios de sacarina son idénticos tanto para ratas macho como para ratas hembra (55).

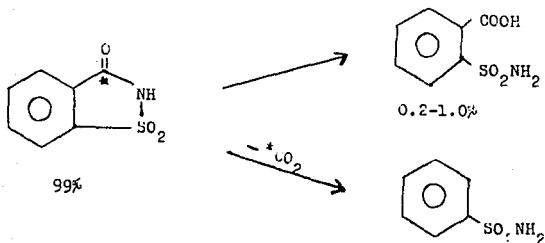
Otro estudio de excreción de sacarina, en voluntarios humanos macho, a los que se les administraron dosis orales de dicho compuesto (50, 150 y 336 mg/60 Kg peso corporal) demostró que la sacarina fué excretada en orina en un intervalo de pocas horas; aproximadamente un 60% de la dosis fué excretada sin cambio a las 6 horas y el 76% a las 24 horas (56).

En cuanto al metabolismo, la sacarina es químicamente estable a pH fisiológico y a la temperatura corporal. Presenta poco o no, metabolismo in vivo ó in vitro. Esta molécula es un nucleófilo cargado negativamente.

Sweatman y Renwick también realizaron un estudio sobre el metabolismo de sacarina en ratas (57). La exposición de las ratas a una dieta con 5% de sacarina no induce un metabolismo detectable (<0.4% de la dosis oral) de sacarina marcada [³H] in vivo. No se detectaron metabolitos (<0.06 mcg/Kg/24 horas) en la orina de ratas normales. La ausencia de metabolismo detectable a bajas concentraciones es una evidencia de que esta especie aniónica no puede actuar como un carcinógeno electrofílico.

Lethco y Wallace (58) utilizaron sacarina marcada [¹⁴C] en rata, perro, conejo y hamster. Encontraron una ligera diferencia en el patrón del perfil metabólico debido a las diferentes especies y al nivel de dosificación. Se demostró que el CO₂ (marcado) que se encontró en el aire expirado por los animales es una indicación de que la sacarina es descarboxilada en grado

minimo. Al utilizar técnicas cromatográficas para la separación de compuestos marcados se encontró que el 99% del [^{14}C] urinario fué sacarina no metabolizada, y aproximadamente el 1% del [^{14}C] fué un metabolito identificado como ácido o-sulfamoilbenzónico.



Se concluye que los metabolitos provienen de una ligera ruptura química en vez de mecanismos enzimáticos. Los metabolitos informados (ácido o-sulfamoilbenzónico y ácido o-sulfobenzónico) son más polares que la sacarina y poseen caracter aniónico. Ambos son candidatos improbables como metabolitos electrofilicos carcinogénicos.

Se han hecho diversos estudios acerca del metabolismo de la sacarina. Algunos ejemplos de lo anterior son los siguientes:

Byard (59) y Minegishi (60) realizaron estudios en ratas y demostraron la ausencia de metabolismo detectable; se hizo otro estudio en mujeres embarazadas y en mujeres alimentadas con dietas de 1 ó 5% de sacarina durante 12 meses (61) con el fin de determinar la posibilidad de inducción de metabolismo; no se

encontró metabolismo detectable.

Además de los estudios metabólicos se han informado diversos experimentos realizados con sacarina. Por ejemplo, se informó de la transferencia de sacarina a través de la placenta en humanos; al utilizar la técnica cromatográfica de HPLC se reveló la presencia de éste edulcorante en el suero del cordón umbilical de recién nacidos, así como en el suero y orina de sus madres (62). Así mismo, se informa de un experimento sobre la ausencia de actividad estrogénica de sacarina; al administrar esta sustancia en un ensayo in vivo a ratas hembra inmaduras, en un intervalo de de 5-50 mcg/Kg, la sacarina no despliega actividad estrogénica (63). Otro estudio señala que la ingestión crónica de sacarina no produce tolerancia a la morfina en ratas genéticamente seleccionadas; después de que las ratas consumieron diariamente durante 28 días aproximadamente 50 ml de solución de sacarina, no se mostró analgesia a la morfina (64).

Se han hecho estudios sobre cambios hematológicos producidos por éste edulcorante. La alimentación continua con sacarina (1.5 g/Kg) durante 90 días produce el desarrollo de neutropenia en ratones albinos (65). Un estudio similar informa que al alimentar con sacarina (0.5, 1.0 y 1.5 g/Kg/día) a ratones albinos durante 24 semanas se observan cambios hematológicos con la dosis más alta; los valores de la cuenta total de eritrocitos y hemoglobina disminuyeron (66).

Se ha informado también que la ingestión de agua endulzada con sacarina por ratas en ayuno de 24 ó 48 horas, no afecta el cambio

en el peso corporal (67). Otro estudio informa que la administración conjunta de sacarina y aspirina en la dieta de ratas produce lesiones significativas en la papila renal (68).

Existe un estudio acerca de los efectos producidos por las diferentes sales de sacarina en la vejiga urinaria de rata (69); al administrar sacarina potásica, sódica, cálcica y ácida (5%) en la dieta de ratas durante diez semanas, se observa que la sal sódica induce una proliferación epitelial significativa en la vejiga. La sal de potasio produce efectos similares a los de la sal sódica pero en menor proporción. La sal de calcio y la sacarina ácida no incrementan significativamente la proliferación epitelial de la vejiga de las ratas.

4.2 Carcinogenicidad.

Se puede considerar al cáncer como una proliferación desordenada de células somáticas. La característica fundamental de la célula cancerosa es la pérdida de la capacidad de controlar su crecimiento y división. El resultado de su proliferación desorganizada es la formación de un tumor (70).

El cáncer ocurre de manera espontánea, puede ser inducido por radiaciones ionizantes, virus y agentes químicos conocidos como carcinógenos (70, 71).

En 1948 Berenblum y Shubik descubrieron que la inducción química de cáncer involucra dos procesos distinguibles entre sí: iniciación y promoción. La iniciación es la producción de un cambio irreversible y permanente en las células, lo cual es una condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo del

cáncer. La promoción es el proceso por el cual se ocasiona que un tumor se desarrolle en un tejido en el cual ha ocurrido la iniciación. En dicho tejido, la promoción es necesaria y suficiente como para desarrollar cáncer (71, 72).

Las primeras indicaciones acerca de la toxicidad de la sacarina datan de 1951 (73).

En 1957 se llevó a cabo un experimento en el que se utilizó una técnica de cirugía para implantar en la vejiga de ratones esferas de colesterol que contenían sacarina (74), induciendo con ello una alta incidencia de tumores en dicho órgano.

La presencia de las esferas sólidas en la vejiga puede tener una acción promotora, por lo que éste método de implantación no es muy confiable (75). De estos estudios se pudo concluir que no todos los animales tratados desarrollaron tumores, por lo que se puede considerar a la sacarina como un carcinógeno débil. En contraste, los carcinógenos potentes inducen cáncer en todos los animales tratados.

Posteriormente se desarrollaron estudios basados en las etapas de inducción y promoción. Con estas investigaciones la sacarina pasa de ser un agente cancerígeno a promotor de cáncer.

Esta idea se desarrolló a través de varios experimentos, por ejemplo:

Al administrar durante varias semanas dosis únicas de un agente iniciador como el MNU (metil-nitrosourea) a un grupo de ratas, seguido por la administración de sacarina, se encontró que esta combinación da como resultado una alta incidencia de

hiperplasia y tumores epiteliales. La sacarina a dosis elevadas (2 g/Kg) modifica la respuesta del epitelio de la vejiga a dosis únicas de MNU (76).

Un experimento parecido fué realizado por Cohen y colaboradores años después. Utilizaron como agente iniciador FANFT, N-[4-(5-nitro-2-furil)-2-tiazolil]formamida, y 5% de sacarina en la dieta de ratas macho. Se obtuvieron resultados similares y se demostró que la sacarina por sí misma no produce tumores en la vejiga. La aplicación del agente promotor sin el iniciador teóricamente no induce la formación de tumores, pero la administración de éste durante largos periodos de tiempo puede dar como resultado baja incidencia de tumores. Los agentes promotores generalmente tienen la habilidad de inducir hiperplasia del órgano blanco sin la iniciación, pero ésta no progresa a cáncer hasta que el tejido haya sido iniciado (77).

En 1981 se realizó un experimento en el que se demostró un efecto dosis-respuesta de sacarina sódica en la inducción de hiperplasia de vejiga en ratas macho (78). Los datos demuestran que la sacarina sódica induce proliferación de la mucosa de la vejiga y la respuesta detectada por microscopio electrónico y autorradiografía está relacionada con la dosis. a bajas dosis de sacarina no se detectó una respuesta significativa.

Estos mismos investigadores (Cohen y Murasaki) encontraron que la ingestión prolongada de la sal sódica de sacarina es capaz de producir tumores en la vejiga, aún sin la iniciación con FANFT (79).

En 1983 la International Research Development Corporation (4) llevó a cabo un estudio en el que utilizó 2500 ratas macho de segunda generación a las que se les administró sacarina sódica en niveles de 1-7.5% en la dieta para determinar la relación dosis-respuesta. Se obtuvieron las siguientes conclusiones: se observó una clara relación dosis-respuesta para tumores de la vejiga. La pendiente de la curva dosis-respuesta demuestra que la incidencia de tumores disminuye rápidamente al disminuir la dosis de sacarina sódica. Se considera que el nivel más bajo de dosificación (1%) no afecta la incidencia de tumores en la vejiga.

En un estudio realizado por soviéticos (80) se administraron en el estómago de ratas hembra, que se encontraban en el 140, 170, y 200 día de embarazo, dosis de sacarina de 5.1 y 0.2 g/Kg. Su progenie fué observada durante todo el curso de su vida. Simultáneamente se administró sacarina (2 ó 5%) a ratas de segundas generaciones. Todos los resultados revelaron que no existe actividad carcinogénica. La o-toluénsulfonamida, como impureza de la sacarina, posee una débil actividad carcinogénica ya que induce tumores en la vejiga cuando se administra diariamente en una dosis de 200 mg/Kg.

Comunmente se acepta que un agente químico capaz de inducir mutaciones es también sospechoso de producir cáncer. En un sentido general se puede decir que una mutación es un cambio localizado en el material genético. Las mutaciones pueden ser producidas por agentes químicos (mutágenos). También ocurren espontáneamente y por mecanismos desconocidos. Sobre éste particular se han llevado

a cabo diversos experimentos para determinar si la sacarina es capaz de inducir mutaciones. Se han desarrollado pruebas a corto plazo que incluyen ensayos en células genéticas de mamíferos y de otras especies.

Las pruebas a corto plazo en bacterias miden la habilidad de un agente químico de dañar el DNA. Son particularmente útiles para determinar e identificar componentes mutagénicos en mezclas complejas. Su valor predictivo se establece empíricamente por comparación de los resultados obtenidos en las pruebas a corto plazo y los resultados de las pruebas de carcinogenicidad en animales (81).

Por otra parte, el uso de animales mamíferos superiores proporciona una aproximación muy cercana a la situación humana, pero encarece el costo de los estudios. La determinación de mutagenicidad en algunos sistemas inferiores se utiliza principalmente como indicador de la posible existencia de actividad cancerígena (81).

Dentro de los diversos estudios a corto plazo que se han desarrollado para determinar la posible actividad mutagénica de la sacarina se encuentran experimentos que miden transformación neoplástica, siendo los resultados inequívocamente negativos (82, 83). La sacarina también ha sido sometida a diversos ensayos de Ames utilizando a la bacteria *Salmonella typhimurium*. Soltz encontró en un ensayo de Ames (84) que las impurezas de este edulcorante dieron pruebas positivas de mutagenicidad en 6 de 15 lotes de sacarina comercial utilizada. Así mismo, estudios

posteriores del ensayo de Ames han demostrado que impurezas de la sacarina como las orto y para-toluénsulfonamidas exhiben efectos mutagénicos débiles. Los resultados no indican mutagenicidad ni carcinogenicidad de la sacarina, sino la posible actividad de los contaminantes (85).

Herbold en 1981 (86) hizo el mismo experimento utilizando sacarina sintetizada por el proceso de Remsem-Fahlberg y no encontró ninguna actividad mutagénica tanto para sacarina como para cualquiera de sus posibles impurezas.

Otro estudio (87), revela que la sacarina no es capaz de producir mutaciones en la prueba de Ames.

Para determinar la habilidad de la sacarina de producir aberraciones cromosómicas, se llevó a cabo un estudio en mamíferos utilizando como animales de prueba ratones macho. Los resultados fueron negativos (88). Sin embargo, en 1986 y en 1987 se realizaron experimentos en la India para determinar aberraciones cromosómicas. En ambos experimentos se encontró que al alimentar continuamente a ratones macho durante varias semanas (1.5g/Kg/día) con sacarina, se indujeron aberraciones cromosómicas en las células de la médula ósea (89, 90).

Estas respuestas positivas a las aberraciones cromosómicas a dosis fuera de lo común proveen una pequeña evidencia de que la sacarina es capaz de producir mutaciones.

4.3 Reglamentación.

La sacarina es considerada como un aditivo que pertenece al grupo de los edulcorantes no nutritivos. Los aditivos tienen que

estar regulados por la ética profesional; no deben ser usados indiscriminadamente debido al riesgo toxicológico que implican los mismos (28).

El nivel de dosificación más alto para aditivos de alimentos generalmente se establece como un 5% de la dieta, ya que niveles que excedan a dicho porcentaje pueden causar efectos crónicos no específicos y, a su tiempo, inferir en la incidencia no específica de tumores (82).

En 1964 bajo la Soft Drinks Regulations y la Soft Drinks (Scotland) Regulations se permitió el uso de la sacarina (incluyendo las sales de sodio y calcio) como un edulcorante artificial en la Gran Bretaña.

En 1969 la Artificial Sweeteners in Food Regulations permite el uso en Gran Bretaña de sacarina y sus sales sódica y cálcica en la preparación de alimentos y en la composición de tabletas (3).

En 1972 la FDA (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos, eliminó a la sacarina de la lista GRAS (Generally Recognized as Safe) o sea "generalmente reconocidos como seguros" y exigió que todos los alimentos y bebidas con sacarina tuvieran una etiqueta de advertencia (29).

En 1977, la FDA propone una restricción para el uso de sacarina ya que se encontraron datos acerca de la formación de tumores en la vejiga de ratas alimentadas con altas dosis de éste edulcorante (4, 28). Debido a fuertes oposiciones, el Congreso de Estados Unidos en noviembre de 1977 impuso una moratoria contra la acción de la FDA, la cual fué extendida en 1979 y en 1981. En

agosto de 1983 el debate de la regulación del uso de sacarina en los Estados Unidos comenzó otra vez a cuestionarse.

La Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos ha realizado varios estudios sobre la sacarina. En 1955 señaló que "La información concerniente a sacarina y a la larga experiencia con su uso, indica que esta sustancia es relativamente no tóxica". En 1968 la Academia concluyó que "La ingestión de un gramo o menos de sacarina por día, por adultos, no debe representar un daño a la salud".

Los informes de la Academia enfatizan que la inocuidad de la sacarina ha sido asegurada tanto por su largo historial de uso humano como por sus extensos estudios en animales.

En 1974 esta institución en base a estudios realizados, concluye que se encontraron tumores en la vejiga urinaria de ratas macho de segunda generación, quienes, como sus padres, habían sido alimentados con dosis de 5 ó 7.5% de sacarina en la dieta. Se concluyó que los resultados de los estudios de toxicidad no establecen si la sacarina es o no cancerígena cuando se administra oralmente a animales de prueba; por lo que se recomendaron una variedad de nuevos estudios para examinar el cáncer, además de los correspondientes sobre las impurezas de la sacarina (4).

Desde la publicación de los artículos más recientes de la Academia, se han hecho algunos estudios significativos que proveen un soporte adicional para la seguridad de esta sustancia.

En 1983 el Duke University Medical Center concluyó que "El

presente nivel de exposición de los humanos al uso de sacarina como aditivo de alimentos es improbable de provocar un riesgo de cáncer".

La JECFA (Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Expert Committee on Food Additives) revisó en 1984 el caso de la sacarina y determinó que este edulcorante puede ser usado continuamente.

También en 1984 el Comité Científico para Alimentos (SCF por sus siglas en inglés) de la Comunidad Económica Europea aprobó el uso de sacarina.

Mientras que en países como Estados Unidos, Canadá y Gran Bretaña la sacarina se encuentra sometida a constantes pruebas toxicológicas para determinar si debe o no permanecer en el mercado, en México este edulcorante goza de gran popularidad debido quizás a la poca información que recibe el público en general, en lo referente a posibles daños toxicológicos producidos por esta sustancia y a que es posible adquirir sacarina de una manera fácil y en diferentes formas farmacéuticas (tabletas solubles y en solución).

5. DISCUSION

La sacarina es un aditivo que se utiliza ampliamente en la industria alimenticia, en donde tiene su mayor aplicación; sin embargo, también una parte considerable de ésta sustancia se utiliza como abrillantador de recubrimientos metálicos.

La intensidad de la dulzura de la sacarina puede variar de acuerdo a diversas causas como la temperatura, la concentración y la presencia de otros compuestos. Este edulcorante es de 300 a 500 veces más dulce que la sacarosa, lo cual se relaciona con la hidrofobicidad de su molécula. Debido a que la membrana receptora tiene caracter de lípido, una cierta lipofobicidad de la sustancia edulcorante aumenta la interacción.

De acuerdo a sus propiedades químicas, ésta sustancia presenta diversos tipos de reacciones que dan como resultado la formación de derivados cuyos usos y funciones son muy variados.

La sacarina puede sintetizarse por diferentes métodos. Estos varían en cuanto a la materia prima de partida, reactivos y condiciones. Los métodos en los que se sintetiza sacarina a partir de tolueno se caracterizan por involucrar como intermediario precursor la o-toluensulfonamida, la cual por oxidación forma el ácido sulfonamidobenzóico que pierde agua espontáneamente y forma sacarina. Por otro lado, en los métodos en que se sintetiza esta sustancia a partir de ácido antranílico y antranilato de metilo se lleva a cabo una diazoación de las materias primas, la formación de los cloruros de aril-sulfonilo correspondientes y amidación

posterior de dichas sustancias para formar la sacarina.

Los métodos en los que se prepara sacarina a partir de o-toluensulfonamida se caracterizan en que en todos los casos se lleva a cabo la oxidación de la materia prima ya sea en forma directa o electrolíticamente. Estos métodos de obtención son más rápidos que los anteriores ya que no es necesario llevar a cabo una serie de reacciones previas a la formación de la o-toluensulfonamida (en el caso que se parta de tolueno) para obtener sacarina.

El control de calidad de sacarina como materia prima es de suma importancia; es necesario asegurar la pureza de la misma ya que se han informado de varios estudios en los que se atribuye actividad toxicológica a varias impurezas de ésta.

Diversas normas oficiales han propuesto el control analítico de sacarina como materia prima. Dentro de las farmacopeas consultadas cabe resaltar los siguientes puntos: la única farmacopea que no propone pruebas de descripción y solubilidad es la U.S.P. XXI. Todas las farmacopeas proponen las mismas reacciones de identificación; las farmacopeas Británica e Italiana proponen, además, una tercera prueba que es la determinación de pH.

La prueba de cenizas sulfatadas propuesta por la farmacopea Británica corresponde a la prueba de residuo de la ignición de las farmacopeas Mexicana y U.S.P. XXI, la farmacopea Italiana no menciona ésta prueba.

La prueba de sustancias relacionadas es una prueba muy

importante porque identifica impurezas de la sacarina como las toluensulfonamidas. Las farmacopeas Mexicana y Británica proponen el método de cromatografía en capa fina, mientras que la U.S.P. XXI propone un método por cromatografía de gases. La farmacopea Italiana no menciona esta prueba.

Las farmacopeas Mexicana y U.S.P. XXI proponen pruebas para la determinación de selenio y de los ácidos salicílico y benzóico; las otras dos farmacopeas no las mencionan.

Por otra parte, la farmacopea Italiana es la única que menciona las pruebas de poder edulcorante y sales de amonio.

Existe diversidad en cuanto al límite establecido de arsénico. La farmacopea Británica propone un límite menor a 2 ppm; la Mexicana y la U.S.P XXI establecen un límite menor a 3 ppm; la Italiana propone un límite menor a 4 ppm.

Todas las farmacopeas consultadas proponen como método de valoración una titulación volumétrica directa ácido-base utilizando sosa como titulante y fenoftaleina como indicador. Este método tiene la ventaja de ser económico y sencillo.

Puede considerarse que la farmacopea Mexicana 1988 es la más completa ya que establece un mayor número de pruebas.

Existen métodos alternativos para la cuantificación de sacarina, ya sea que se presente sola o en combinación con otras sustancias. Dentro de estas técnicas se encuentran los métodos cromatográficos: en capa fina, de gases y cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). La cromatografía de gases y la de HPLC son métodos muy sensibles y selectivos, se utilizan

principalmente para determinar sacarina en mezclas complejas o cuando se encuentra en muy bajas concentraciones.

También se mencionan los métodos espectrofotométricos en los que se hace reaccionar a la sacarina con sustancias que forman un compuesto colorido capaz de leerse en el espectro visible o leer al U.V directamente. Todos estos métodos no oficiales ofrecen la ventaja de obtener resultados rápidos y confiables; sin embargo, se requiere de equipo más costoso y sofisticado que el que se necesita para una titulación volumétrica.

Se considera que la sacarina no es metabolizada en el organismo. Al utilizar técnicas cromatográficas como HPLC se ha encontrado que un 99% de la sacarina ingerida no sufre cambios después de haber sido excretada. Los posibles metabolitos encontrados son los ácidos o-sulfamoilbenzónico y o-sulfobenzónico. En general, puede decirse que la sacarina no muestra un metabolismo detectable.

Puede considerarse a la sacarina como un agente promotor del cáncer en vez de ser un carcinógeno, aunque otros estudios establecen que esta sustancia es incapaz de producir daños toxicológicos. Algunos de los experimentos que informan de la proliferación de cáncer de vejiga atribuyen éste fenómeno a las impurezas del edulcorante. Las impurezas pueden actuar como iniciadores in vivo mientras que la sacarina actúa como promotor.

Las pruebas a corto plazo indican, en general, que la sacarina no posee potencial mutagénico. Sin embargo, impurezas como las

toluensulfonamidas dan respuestas positivas a los ensayos de Ames.

Los experimentos realizados en la India en 1986 y 1987 señalan que éste edulcorante es capaz de inducir aberraciones cromosómicas en las células de la médula ósea de ratas.

Estos datos discrepantes indican que solo al administrar continuamente dosis elevadas de sacarina (1.5 g/Kg/día) es posible apreciar su potencial mutagénico.

Cuando se realizan pruebas de carcinogenicidad en animales y se desea hacer una extrapolación de los resultados a los humanos debe tenerse en consideración cualquier diferencia de la cinética de la sustancia entre el hombre y la especie de prueba, incluyendo diferencias en la absorción, distribución, biotransformación y excreción de dicha sustancia.

6. CONCLUSIONES

Se lograron los objetivos planteados durante el desarrollo de este trabajo.

Se actualizó, resumió y organizó la información existente en la literatura sobre sacarina.

Las propiedades químicas de este edulcorante se utilizan para la obtención de diversos derivados cuyas funciones son muy variadas.

Los métodos de obtención de sacarina a partir de o-toluensulfonamida son los más rápidos ya que involucran solo la oxidación electrolítica o la oxidación química de la misma y su posterior ciclización.

El control analítico como materia prima es de gran importancia debido a que algunas impurezas de la sacarina han dado pruebas positivas de toxicidad.

La farmacopea mexicana 1988 muestra la monografía más completa de las farmacopeas consultadas.

La idea de que la sacarina es un agente capaz de producir o promover el cáncer es altamente probable. Sin embargo, existen discrepancias en los resultados de los experimentos efectuados. Mientras algunos estudios demuestran que actúa como carcinógeno débil, otros señalan que actúa como promotor del cáncer y otros más, proponen que la sacarina es incapaz de producir o promover el cáncer.

Existe contradicción acerca de la posible actividad mutagénica de éste edulcorante artificial.

La reglamentación a la cual se encuentra sometida la sacarina determinó en 1984 (JEFCA y SCF) que esta sustancia puede ser usada continuamente.

Se considera que no existe evidencia suficiente para prohibir el uso de sacarina. Tal parece que la polémica desatada en torno a sus efectos tóxicos continuará por tiempo indefinido.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Existe contradicción acerca de la posible actividad mutagénica de éste edulcorante artificial.

La reglamentación a la cual se encuentra sometida la sacarina determinó en 1984 (JEFCA y SCF) que esta sustancia puede ser usada continuamente.

Se considera que no existe evidencia suficiente para prohibir el uso de sacarina. Tal parece que la polémica desatada en torno a sus efectos tóxicos continuará por tiempo indefinido.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

- 1) Stecher P.G. Editor. The Merck Index, 8th Ed. Merck & Co. Inc. Rahway N.J. U.S.A. 1968.
- 2) Florey, K. Analytical Profiles of Drug Substances. Volume 13. Academic Press Inc. N.Y. 1984.
- 3) Martindale: The Extrapharmacopoeia. 28th Ed. The Pharmaceutical Press. U.S.A. 1982
- 4) Food Science and Technology. Alternative Sweeteners. Marcel Dekker Inc. U.S.A. 1986.
- 5) Clarke C.E. Isolation and Identification of Drugs. Pharmaceutical Press, London. 1969.
- 6) Jpn. Kokay Tokkyo koho 18, 970 (1981). C.A. 95, 80938m (1981).
- 7) Acta Chem. Scand., Ser. B 36(4), 275 (1982). C.A. 97, 215691q (1982).
- 8) Eur. Pat: 54,672 (1982). C.A. 97, 182404t (1982).
- 9) Ger. Offen: 3,215,991 (1982). C.A. 98, 125661w (1983).
- 10) U.S. Pat: 4,210,752 (1980). C.A. 95, 7259m (1981).
- 11) Ger. Offen: 2,943,628 (1980). C.A. 95, 33395x (1981).
- 12) Res. Discl: 207,291 (1981). C.A. 95, 132433q (1981).
- 13) Anorg. Chem., Org. Chem. 36B(12), 1640 (1981). C.A. 96, 122677d (1982).
- 14) Eur. Pat: 61,434 (1982). C.A. 98, 89363q (1983).
- 15) Ger. Offen: 3,221,874 (1982). C.A. 98, 143406w (1983).
- 16) Jpn. Kokay Tokkyo koho. 62,164,660 (1987).
- 17) Proc. Malays. Biochem. Soc. Conf. 12th, 234 (1986). C.A. 108,

20681z (1988).

- 18) Eur. Pat: 81,959 (1981). C.A. 99, 157076w (1983).
- 19) Khim. Tekhnol. 25(6), 690 (1982). C.A. 97, 163153u (1982).
- 20) Beckman, H. Drugs. W.B. Saunders Company. U.S.A. 1958
- 21) Rom. RO: 88,594. C.A. 107, 86105a (1987).
- 22) Diandu Yu Huanbao 8(1), 5 (1988). C.A. 108, 194712a (1988).
- 23) Deposited Doc. VINITI. 3898 (1984). C.A. 102, 228280b (1985).
- 24) Kirk D.F & Othmer F.D. Encyclopedia of Chemical Technology.
Volumes: 6, 10, 11, 22, 23. 3rd. Ed. John Wiley &
Sons. U.S.A. 1983.
- 25) Lima, G. Substancias Edulcorantes, Sacarina. Tesis. UNAM.
México, 1963.
- 26) Koivistoinen, P. Carbohydrate Sweeteners in Foods and
Nutrition. Academic Press. Finlandia, 1980.
- 27) Vergeff. Arbeitsgem. Getreideforsch. 208, 14 (1987). C.A. 107,
151932j (1987).
- 28) Valle, P. Toxicología de los Alimentos. Centro Panamericano de
Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de
la Salud. Organización Mundial de la Salud. México,
1986.
- 29) Austin, G. Manual de Procesos Químicos en la Industria. 1a.
Edición. Mc Graw-Hill. Tomo II. México, 1988.
- 30) Norman, R. Principles of Organic Synthesis. 2nd Ed. Chapman
and Hall. U.S.A. 1980.
- 31) Ger. (East) DD 248,611 (1987). C.A. 108, 175954q (1988).
- 32) J. Appl. Electrochem. 17(6), 1228 (1987). C.A. 108, 102857a

- (1988).
- 33) Jpn. Kokai Tokkyo koho JP: 58 79,985 (1983). C.A. 99, 53744w (1983).
 - 34) Czech. Cs: 238,944 (1987). C.A. 108, 169637x (1988).
 - 35) Faang Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN: 85,101,615 (1986). C.A. 107, 39800p (1987).
 - 36) Secretaria de Salud. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 5a. Ed. 1988
 - 37) The United States Pharmacopeia XXI and N.F. XVI. United States Pharmacopeial Convention, Inc. U.S.A. 1985.
 - 38) The British Pharmacopoeia 1980. Volume I,II. ed. Majesty's Stationary Office. The University Press. Cambridge, England. 1980.
 - 39) Ministero Della Sanita. Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana. 7a. Ed. Roma, Italia. 1965.
 - 40) Z. Lebensm. Unters. Forsch. 179(6), 453 (1984). C.A. 102, 77348b (1985).
 - 41) Talanta 32(4), 325 (1985). C.A. 102, 219695p (1985).
 - 42) Lebensmitte Ichem. Gerichtl. Chem. 39(1), 12 (1985). C.A. 102, 130547u (1985).
 - 43) An. Cienc. 45(1-4), 25 (1986). C.A. 108, 20621e (1988).
 - 44) Fenxi. Ceshi tonabao, 6(5), 8 (1987). C.A. 108, 54529w (1988).
 - 45) Rev. Bras. Farm. 68(1-3), 14 (1987). C.A. 108, 166206v (1988).
 - 46) J. Inst. Chem., Calcuta 41(5), 192 (1968).
 - 47) Rocz Panstw. Zaki. Hig. 31(6), 581 (1980).
 - 48) J. Chromatogr. 287(1), 113 (1984). C.A. 101, 28362x, (1984).

- 49) J. Chromatogr. 286(3), 395 (1983). C.A. 99, 211246s (1983).
- 50) Food Chem. Toxicol. 21(1), 1 (1983). C.A. 99, 193309h (1983).
- 51) J. Pharm. Pharmacol. 31(9), 650 (1979).
- 52) Toxicol. Appl. Pharmacol. 55(1), 18 (1980).
- 53) Clin. Pharmacol. Ther. 30, 558 (1981).
- 54) Toxicol. Appl. Pharmacol. 62, 465 (1982).
- 55) Am. J. Physiol. 238(1), F10, (1980).
- 56) Toxicol. Lett. 9(4), 367 (1981).
- 57) Science 205, 1019 (1979).
- 58) Toxicology 3, 287 (1975).
- 59) Food Cosmet. Toxicol. 11, 391 (1973).
- 60) Chem. Pharmaceut. Bull. 20, 1351 (1972).
- 61) Xenobiotica 7, 189 (1977).
- 62) Cancer Lett. 32(2), 151 (1986). C.A. 105, 207734z (1986).
- 63) Biol. Res. Pregnancy Perinatol. 7(1), 6 (1986).
- 64) Science 221(4613), 871 (1983).
- 65) Natl. Acad. Sci. Lett. 7(7), 235 (1984). C.A. 102, 130582b (1985).
- 66) J. Environ. Biol. 9(1), 39 (1988). C.A. 109, 127431r (1988).
- 67) Ann. Nutr. Metab. 31(5), 272 (1987). C.A. 107, 133306d (1987).
- 68) Toxicol. Appl. Pharmacol. 86(1), 80 (1986).
- 69) Cancer Lett. 30(3), 261 (1986). C.A. 105, 59590g (1986).
- 70) Scientific American. El Cáncer. 2a. Ed. Prensa Científica. España, 1986.
- 71) Goldstein, A. Principles of Drug Action. Harper & Row Publishers. U.S.A. 1969.

- 72) Cairns, J. Cancer: Science and Society. W.H. Freeman and Co.
U.S.A. 1978.
- 73) J. Am. Pharmac. Assoc. 40, 583 (1951).
- 74) Brit. J. Cancer. 11, 212 (1957).
- 75) Nature 278, 123 (1979).
- 76) Nature 243, 347 (1973).
- 77) Cancer Research. 39, 1207 (1979).
- 78) Cancer Research. 41, 942 (1981).
- 79) Cancer Research. 42, 65 (1982).
- 80) Eksp. Onkol. 5(4). 21 (1983).
- 81) Stich, H. Carcinogens and Mutagens in the Environment. Vol. I.
Food Products. CRC. U.S.A. 1982.
- 82) Science 201, 1141 (1978).
- 83) Cancer Lett. 10, 27 (1980).
- 84) Health sugar substitutes. Proc. 36 (1978). C.A. 91, 89720J
(1979).
- 85) Toxicol. Lett. 7(1), 51 (1980). C.A. 94, 190438k (1980).
- 86) Mutat. Res. 90(4), 365 (1981). C.A. 96, 67400f (1982).
- 87) Arch. Toxicol. 43(2), 141 (1979). C.A. 92, 89050m (1980).
- 88) J. Environ. Pathol. Toxicol. 2(4), 1047 (1979). C.A. 91,
14793b (1979).
- 89) Proc. Natl. Acad. Sci., India. 56(3), 219 (1986). C.A. 107,
153015m (1987).
- 90) Indian J. Exp. Biol. 25(2), 124 (1987). C.A. 107, 76290t
(1987).