

COMPARACIÓN ENTRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LAS PROPIEDADES ANTIINFLAMATORIAS DEL SEBO DE CARNERO DE ORIGEN CUBANO Y DEL SAHARA

COMPARISON BETWEEN CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIINFLAMMATORY PROPERTIES OF MUTTON TALLOW FROM CUBA AND FROM SAHARA

SALAS-OLIVET, EVA ^{1*} MSc, CUÉLLAR-CUÉLLAR, ARMANDO ¹ Dr, MARRERO-DELANGE, DAVID ¹ Dr, SAID-LABEID, BRAHIM ² Dr.

¹ Instituto de Farmacia y Alimentos Universidad de la Habana, Cuba. ² Centro de Productos Naturales CENIC, Cuba.

*Correspondencia: evaso@ifal.uh.cu

Recibido: 07-03-2013; Aceptado: 22-03-2013.

Resumen

Según CLAUS y TYLER, 1998, el sebo de carnero, corresponde a la grasa interna del abdomen de la oveja *Ovisaries* L (Fam. Bóvidae, purificada por fusión y filtrado que contiene entre 70-80 % de la mezcla de ácido esteárico y ácido palmítico y 20-30 % de ácido oleico con propiedades emolientes y uso como base para ungüentos que necesitan más consistencia que la obtenida con otros ingredientes utilizados con estos fines. En Cuba, se utiliza en fricciones para aliviar procesos inflamatorios según la medicina tradicional, por lo que se decidió realizar una comparación entre el sebo procedente de Cuba con el sebo obtenido de la región del Sahara donde tiene el mismo uso popular y evaluar en ambos su composición química así como el efecto antiinflamatorio popularmente descrito para los mismos. En el presente trabajo se realiza un análisis por CG-EM de las muestras transmetiladas. El sebo procedente de Cuba tiene un 49,8 % de ácidos grasos saturados frente a 59,3 % el del Sahara y 36,1 % y 27,7 % de ácidos grasos insaturados respectivamente. Comparando con la indometacina, utilizada como control positivo, en el ensayo de la inducción de la inflamación por carragenina, se encontró que el sebo procedente de Cuba tiene aproximadamente 40 % menos de actividad antiinflamatoria que el procedente del Sahara e igual resultado que la indometacina utilizada como control positivo.

Palabras clave: sebo de carnero; actividad antiinflamatoria, ésteres metílicos, ácidos grasos, CG-EM.

Abstract

Mutton tallow is the lipid obtained from the abdomen of the sheep *Ovisaries* L (Fam. Bovidae, purified by fusion and filtration (CLAUS y TYLER, 1998) It contains 70-80 % of the mixture of stearic and palmitic acids and 20-30 % of oleic acid. It is described as emollient and in pharmacy to prepare ointments because is a solid lipid. In Traditional Medicine in Cuba, mutton tallow is used in liniments to avoid inflammations, in Sahara bears the same property so it was decided to make a comparison between the samples from both countries in chemical composition and anti-inflammatory activity. Using GC-MS analysis, the

original samples, trans methylated were analyzed. The Cuban sample contains 49,8 % of saturated fatty acids, Sahara sample contains 59,3 % and in the case of unsaturated fatty acids Cuban sample contains 36,81 % and 27,7 % the sample from Sahara. Cuban sample shows 40 % less activity from Sahara one in comparison with indomethacin as positive control, using carrageenan assay.

Key words: mutton tallow; anti-inflammatory activity, methyl esters, fatty acids, CG-MS.

Introducción

El sebo de carnero o sebo preparado (CLAUS y TYLER, 1998) fue incluido como oficial en la USP hasta el año 1947 y en la NF hasta 1955. Corresponde a la grasa interna del abdomen de la oveja *Ovisaries* L (Fam. Bovidae, purificada por fusión y filtrado. La grasa interna del abdomen, extraída durante la matanza del animal, se desmenuza y se calienta a 65 °C en presencia de agua. Cuando el sebo fundido se acumula en la superficie, se separa por filtración y se refrigera para su solidificación. Se plantea en estas farmacopeas que contiene entre 70-80 % de la mezcla de ácido esteárico y ácido palmítico y 20-30 % de ácido oleico.

Además se describe que posee propiedades emolientes y que se utiliza como base para ungüentos que necesitan más consistencia que la obtenida con otros ingredientes utilizados con estos fines.

El ácido esteárico es oficial en la USP hasta el momento actual como una de las bases para preparar supositorios y diversas cremas así como en forma de sales de zinc para afecciones de la piel. De igual forma, el ácido oleico que es líquido en vez de sólido como el esteárico es una necesidad farmacéutica para preparar lociones y en los denominados oleatos, adicionalmente a una gran capacidad calórica. Su más importante efecto biológico se relaciona con que favorece el incremento del colesterol beneficioso, el HDL (Lipoproteína de alta densidad); reduciendo el colesterol perjudicial, el LDL (Lipoproteína de baja densidad); produciéndose la combinación más deseables de colesterol, para prevenir enfermedades.

Según el sitio <http://grasasyaceites.revistas.csic.es> visitado en noviembre del 2012, se describe la publicación 252 que plantea lo siguiente: “Se han determinado las propiedades físicas de sebo de cordero aislado de riñones, lomo e intestino mediante resonancia magnética nuclear de pulso y técnicas de punto de deslizamiento. La grasa de riñón mostró los mayores contenidos de grasa sólida medida en un rango de temperatura de 10-50°C seguido por la grasa del intestino, siendo la grasa del lomo la que tuvo el contenido más bajo de grasa sólida. El sebo de cordero contiene ácidos grasos saturados en proporción entre 52-64%, índice de yodo que oscila entre 34-44 y cantidades pequeñas de ácidos grasos trans (3-4%)”.

Este estudio describe índices que son inferiores a los requisitos planteados por las farmacopeas donde estaba registrado el sebo de carnero aunque realmente son resultados más recientes.

En Cuba, el sebo de carnero es muy popular en fricciones para procesos inflamatorios según la medicina tradicional (ROIG, 1988), según encuesta realizada por los autores en una población seleccionada de la capital del país y no se han encontrado publicaciones que avalen este uso desde el punto de vista científico, por lo que se decidió realizar el presente estudio con el objetivo de comparar el sebo procedente de Cuba con el sebo obtenido de la región del Sahara donde tiene el mismo uso popular y evaluar de forma comparativa, tanto su composición química como el efecto antiinflamatorio popularmente descrito para ambas, utilizando el modelo de inducción de la inflamación por carragenina.

Materiales y métodos

Obtención del sebo bruto: Se realiza la metodología descrita en la USP del año 1955 que plantea: La grasa interna del abdomen, extraída durante el sacrificio del animal, se desmenuza y se calienta a 65°C en presencia de agua. Cuando el sebo fundido se acumula en la superficie, se separa por filtración y se refrigera para su solidificación.

Ambos sebos se obtienen por este proceso y el procedente del Sahara tiene consistencia de aceite de color amarillo a diferencia del procedente de Cuba que es un sólido blanquecino según se observa en Fig. 1. Ambas muestras brutas se analizan transmetilándolas por CG-EM (Cromatografía Gaseosa Acoplada a Espectrometría de Masas).



Figura 1. Sebo cubano sólido blanquecino (izquierda), el del Sahara líquido oleoso amarillo (derecha)

Análisis por CG-MS

Preparación de las muestra como derivados TMS: Se pesaron 10 mg de cada muestra, se disolvieron en 0,5 mL de cloroformo y se derivatizaron con 50 μ L de MSTFA a 70°C durante 30 min.

Preparación de las muestra como ésteres metílicos por el método 108.003 del *Institute for Nutraceutical Analysis INA* de los Estados Unidos. Para preparar las muestras se pesaron alrededor de 150 mg. Se adicionaron 5 mL de cloruro de acetilo 10 % en metanol, se cerró el tubo de ensayos y se calentó a 85°C durante 2 h, con agitación ocasional. Se dejó enfriar y se añadieron 4 mL de n-hexano y 4 mL de agua destilada. Se agitó en zaranda (15 min), se dejó reposar y se extrajo una alícuota de 3 mL de la fase orgánica hacia otro tubo de ensayos, donde se añadieron 4 mL de n-hexano y 4 mL de NaOH 1 N en metanol. Se cerró y se agitó en zaranda (15 min). Se dejó reposar y se extrajo una alícuota de 4 mL hacia un vial, de donde se tomó 0,5 μ L para el análisis cromatográfico.

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases 6890N acoplado a un detector de masas, 5975 (Agilent, EUA) con columna capilar HP-5Ms (30 m x 0,25 mmd.i. y 0,25 μ m de espesor de película). El horno se programó desde 60 (2 min isotérmico) hasta 200°C a 20°C/min, y desde 200 hasta 320°C (30 min isotérmico) a 8°C/min. El helio fue utilizado como gas portador (1 mL/min). Las temperaturas de interfase, fuente, y cuadrupolo fueron: 250, 230 y 150°C, respectivamente. La energía de ionización fue 70 eV. La adquisición de los espectros de masas se realizó desde 40 a 800 m/z. en modo *scan*. La temperatura del inyector fue de 320°C.

La identificación de los componentes dentro del perfil cromatográfico se llevó a cabo por comparación de los espectros de masas obtenidos con los de las bibliotecas de espectros Wiley 275 y la NIST 11 del equipo CG-EM, así como contra patrones comerciales de ácidos grasos (Supelco 37 components FAME mixture, Catalog no: 47885-U y Lipid standards de SIGMA Catalog No 189-4 y 189-6). La cuantificación se realizó por el método de normalización interna.

Evaluación del efecto antiinflamatorio

Se desarrolló el procedimiento descrito por (CYTED, 1996) que a continuación se describe. En el ensayo se consideraron tres grupos de cinco ratas hembras, uno recibió el sebo de carnero según origen (5mL/kg), el otro grupo recibió Indometacina (como patrón) en la dosis de 7 mg/kg, y un tercer grupo al cual se le administró 5mL/kg de solución de cloruro de sodio al 0,9 %. Todos los tratamientos fueron administrados por vía oral. 24 horas antes del comienzo del ensayo se le retiró la comida y solo se les permitió el acceso al agua.

Todos los animales fueron pesados al inicio del ensayo, para que la totalidad de las ratas recibieran una dosificación exacta de acuerdo a su peso. Media hora después de comenzada la administración del extracto, se inyectó 0,2 mL de una dilución acuosa al 2 % de carragenina en la aponeurosis plantar derecha de las ratas. La medida del volumen de la pata derecha, se realizó antes de la administración de las sustancias, por inmersión de la misma en la solución que contiene el pocillo del pletismómetro hasta el maléolo lateral y en los tiempos 1, 3 y 5 horas después de inicio del mismo.

Al final del ensayo se procedió a sacrificar los animales empleando para ello una atmósfera saturada de éter, teniendo siempre en cuenta las técnicas de refinamiento planteadas actualmente para realizar los ensayos de toxicología así como los requisitos de ética de trabajo con animales que rigen estos ensayos en Cuba.

Cálculos de los resultados

El porcentaje de inflamación se realizó por diferencia entre los volúmenes de las patas medidas antes de la producción de la inflamación y a los tiempos 1, 3 y 5, utilizando la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de inflamación} = \frac{V_t - V_o}{V_o}$$

Siendo:

V_t = Volumen de la pata inflamada a un tiempo x

V_o = Volumen normal

Los volúmenes de las patas en los tiempo 0, 1, 3 y 5 se procesaron estadísticamente para determinar la media y la desviación estándar, además se utilizó la prueba Student Newman Keuls para obtener la diferencia entre los grupos para un mismo tiempo ($p < 0.05$)

Resultados y discusión

En la Fig. 2 y la Tabla 1 se muestran los cromatogramas y los productos detectados e identificados en el sebo de carnero procedente de Cuba después de realizar la transmetilación del mismo. Se aprecia la presencia de 43 compuestos, de ellos 37 correspondientes a ácidos grasos identificados (22 saturados y 15 insaturados) y la ausencia de triglicéridos de acuerdo al proceso realizado. En la tabla se resaltan los ácidos grasos de mayor porcentaje relativo.

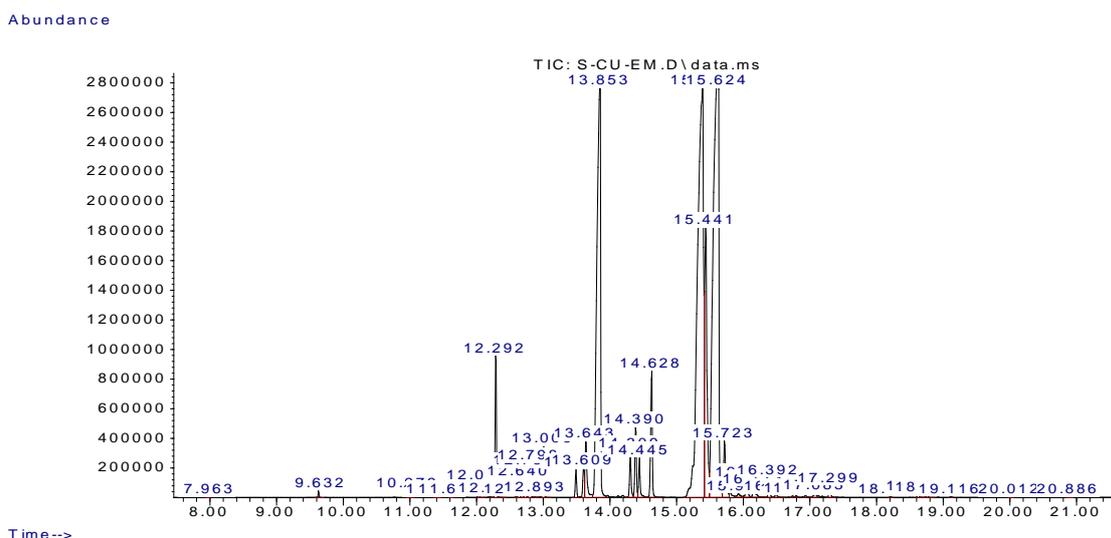


Figura 2. Análisis por CG-EM del sebo de carnero cubano transmitilado con cloruro de acetilo en metanol al 10%

Tabla 1. Compuestos determinados por CG-EM del sebo de carnero cubano transmitilado con cloruro de acetilo en metanol al 10%

No	Tr (min)	Compuesto	Contenido (%)
1	7,963	C8:0	0,004%
2	9,632	C10:0	0,079%
3	10,979	C12:0	0,073%
4	11,376	C12:0-metil	0,002%
5	11,427	AG	0,003%
6	11,609	C13:0	0,014%
7	12,033	C13:0-12-metil	0,179%
8	12,208	C14:1c	0,016%
9	12,292	C14:0	2,294%
10	12,589	AG-NI	0,008%
11	12,640	AG-NI	0,255%
12	12,733	C14:0-13-metil	0,428%
13	12,798	C14:0-12-metil	0,482%
14	12,893	C15:1	0,042%
15	13,006	C15:0	0,795%
16	13,493	C15:0-14-metil	0,446%
17	13,609	C16:1(7)	0,492%
18	13,643	C16:1(9)	1,398%
19	13,853	C16:0	18,295%
20	14,309	C16:0-15-metil	0,814%
21	14,390	C16:0-14-metil	1,295%
22	14,445	C17:1	0,712%
23	14,628	C17:0	2,542%
24	15,391	C18:2	29,078%
25	15,441	C18:1	7,753%
26	15,624	C18:0	29,156%
27	15,723	C18:2-10-metil	1,379%
28	15,932	C18:2-9-metil	0,135%
29	16,061	AG	0,434%
30	16,173	C19:1	0,320%
31	16,392	C19:0	0,377%
32	16,495	Hidroxiácido	0,094%
33	16,740	Araquidonic acid (5,8,11,14, eicosatetraenoic acid)	0,025%
34	16,793	EPA -5,8,11,14,17- eicosapentaenoic acid (eicosatetraenoic acid)	0,031%
35	16,933	AG	0,041%
36	17,083	C20:1	0,120%
37	17,299	C20:0	0,226%

38	18,208	C21:0	0,011%
39	18,627	Metil-7,10,13,16,19-docosapentanoate	0,070%
40	18,761	11-(3,4-Dimethyl-5-pentyl-2-furyl)-dodecanoic acid, methyl ester	0,046%
41	19,116	C22:0	0,018%
42	20,012	C23:0	0,009%
43	20,886	C24:0	0,006%

Nota. En la tabla se resaltan los ácidos grasos de mayor porcentaje relativo en amarillo y en verde los menos usuales para el tipo de muestra.

En la Fig. 3 y la Tabla 2 se muestran los cromatogramas y los productos detectados e identificados en el sebo de carnero procedente del Sahara después de realizar la transmetilación del mismo. Se aprecia la presencia de 57 compuestos de ellos 45 ácidos grasos identificados (28 saturados y 17 insaturados) y la ausencia de triglicéridos de acuerdo al proceso realizado. En la tabla se resaltan los ácidos grasos de mayor porcentaje relativo.

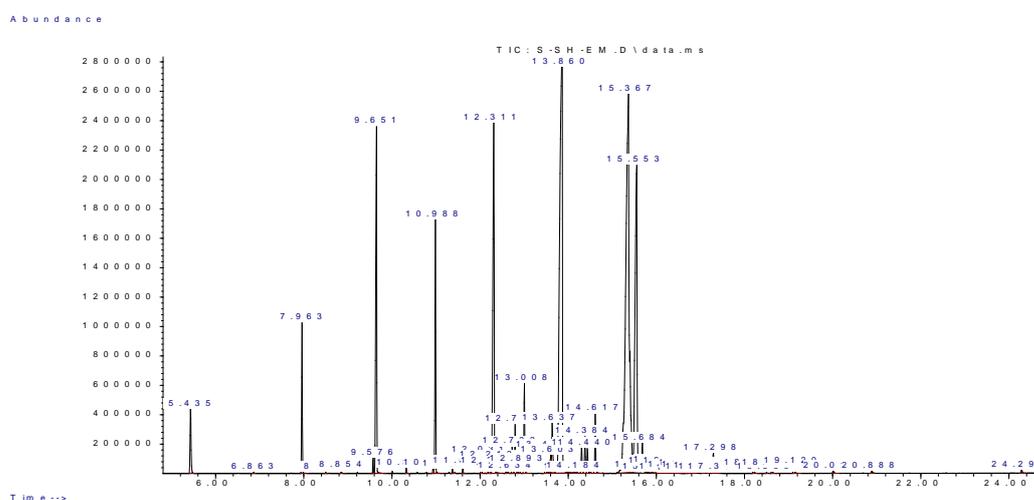


Figura 3. Análisis por CG.EM del sebo de carnero del Sahara transmetilado con cloruro de acetilo en metanol al 10%

Tabla 2. Compuestos determinados por CG.EM del sebo de carnero del Sahara transmetilado con cloruro de acetilo en metanol al 10%

No	Tr (min)	Compuesto	Contenido (%)
1	5,435	C6:0	1,350%
2	6,863	C7:0	0,014%
3	7,963	C8:0	2,231%
4	8,498	C8:0-4-metil	0,015%
5	8,854	C9:0	0,045%
6	9,576	C10:1	0,232%
7	9,651	C10:0	7,387%
8	10,330	C11:0	0,073%
9	10,938	C12:1	0,082%
10	10,988	C12:0	4,155%
11	11,375	C12:0-11-metil	0,056%
12	11,611	C13:0	0,096%
13	12,032	C13:0-12-metil	0,264%
14	12,213	C14:1c	0,194%
15	12,240	C14:1t	0,104%
16	12,311	C14:0	9,425%
17	12,586	AG-NI	0,015%
18	12,634	AG-NI	0,031%

19	12,732	C14:0-13-metil	0,427%
20	12,798	C14:0-12-metil	0,788%
21	12,893	C15:1	0,138%
22	13,008	C15:0	1,521%
23	13,491	C15:0-14-metil	0,461%
24	13,603	C16:1(7)	0,350%
25	13,637	C16:1 (9)	1,222%
26	13,860	C16:0	23,672%
27	14,120	AG	0,010%
28	14,184	AG	0,036%
29	14,306	C16:0-15-metil	0,538%
30	14,384	C16:0-14-metil	0,697%
31	14,440	C17:1	0,508%
32	14,617	C17:0	1,150%
33	15,367	C18:2+ C18:1	27,705%
34	15,553	C18:0	12,397%
35	15,684	C18:2-10-metil	0,606%
36	15,740	AG	0,019%
37	15,910	AG	0,010%
38	16,043	C18:2-9-metil	0,155%
39	16,161	C19:1	0,207%
40	16,287	AG	0,013%
41	16,384	C19:0	0,149%
42	16,487	Hidroxiácido	0,086%
43	16,677	AG	0,008%
44	16,738	Araquidonic acid (5,8,11,14, eicosatetraenoic acid)	0,108%
45	16,804	EPA -5,8,11,14,17- eicosapentaenoic acid (eicosatetraenoic acid)	0,088%
46	16,883	13-metil-eicosanoate	0,009%
47	17,073	C20:1	0,082%
48	17,181	AG	0,008%
49	17,298	C20:0	0,465%
50	17,393	AG	0,008%
51	18,211	C21:0	0,103%
52	18,500	AG poliinsaturado	0,013%
53	18,625	Metil-7,10,13,16,19-docosapentanoate	0,116%
54	19,120	C22:0	0,180%
55	20,015	C23:0	0,060%
56	20,888	C24:0	0,047%
57	24,290	Colesterol	0,070%

Nota. En la tabla se resaltan los ácidos grasos de mayor porcentaje relativo en amarillo.

En la Tabla 3 se muestran los índices comparativos entre los ácidos grasos más importantes en cada muestra. En la Tabla 3 se aprecia que en la muestra que procede de Cuba, predominan los ácidos grasos de C14, C16 y C18 mientras que en la muestra que procede del Sahara se adicionan ácidos grasos con C8, C10 y C12 de los cuales el de C12 se ha descrito como uno de los componentes importantes que tributan al efecto antiinflamatorio de otros lípidos de diversos orígenes lo cual puede explicar el mejor resultado de esta muestra en la evaluación biológica realizada. (MENDEZ *et al.*, 2006, PLOSKER *et al.*, 1996, SINGH *et al.*, 2008).

Tabla 3. Comparación del contenido total de los ácidos grasos más abundantes en las muestras evaluadas

Muestras	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Cuba				2,3	18,3	29,2	7,8	29,01
Sahara	2,2	7,0	4,2	9,4	23,7	12,4	ambos	27,7
Cuba Total						49,8		36,81
Sahara Total						59,3		27,7

Resultados de la evaluación del efecto antiinflamatorio. En la Tabla 4 se muestran los resultados de los volúmenes medios \pm desviación estándar de las patas de las ratas a los diferentes tiempos (0, 1, 3, 5).

Tabla 4. Volúmenes en valores medios \pm desviación estándar de las patas de las ratas a los diferentes tiempos del experimento

Grupo	0 hrs	1 hora	3 hrs	5 hrs
I Sebo de carnero Sahara	1,15 \pm 0,10 a	1,48 \pm 0,08 b	1,90 \pm 0,10 f	2,07 \pm 0,12 g
II Sebo de carnero Cuba	1,28 \pm 0,02 a	1,83 \pm 0,08 c	2,30 \pm 0,12 e	2,11 \pm 0,09 g
II Indometacina	1,22 \pm 0,11 a	1,50 \pm 0,10 b	1,81 \pm 0,16 f	2,0 \pm 0,09 g
III CINA 0,9 %	1,17 \pm 0,11 a	1,65 \pm 0,08 d	2,39 \pm 0,18 e	2,42 \pm 0,07 h

Medias seguidas de letras diferentes en las filas difieren ($p < 0,05$) según la prueba SNK (a,b,c,.....,g, h)= significación estadística ($p < 0,05$)

Como se puede observar en el tiempo 0 no hay diferencia entre los tratamientos, a partir de aquí o sea, en los tiempos 1, 3 y 5 no difieren el sebo del Sahara y la indometacina, sin embargo los grupos tratados con el sebo cubano y la indometacina difieren en la primera y tercera hora, más no así en la quinta hora de efectuadas las lecturas de las patas.

En cuanto a la comparación con la carragenina el sebo de carnero del Sahara, menos en el tiempo cero, difiere en todos los tiempos de la misma.

Como se puede apreciar en la Tabla 5, en todos los casos los animales a los que se les administró solución de cloruro de sodio al 0,9 % y la carragenina, muestran un porcentaje de inflamación superior a los grupos que se les administró el sebo del Sahara y la indometacina. Por otra parte el sebo cubano mostró efectos similares en la primera hora, sin embargo en la tercera y quinta hora, fue inferior por lo que se puede decir que el mismo tiene efecto antiinflamatorio.

Tabla 5. (%) de inflamación de las patas a los diferentes tiempos con relación al tiempo 0

Grupo	Horas		
	1	3	5
I Sebo Carnero Sahara.	28,69	65	80
II Sebo cubano	42,9	78,68	64,84
II Indometacina.	22,9	48,3	63

Cuando se comparan los grupos que recibieron el sebo de carnero del Sahara y el sebo cubano con la indometacina se nota que este último mostró menor efecto antiinflamatorio en la 5ta hora (80 % contra 64 % lo que equivale a un 16 % de diferencia entre ambos) y el del Sahara en la primera hora mostró menor efecto antiinflamatorio (28 % contra 42 % lo que equivale a una diferencia de 14 % entre ambos) por lo que el sebo procedente de Cuba induce más rápidamente la reducción de la inflamación que el procedente del Sahara, pero este aumenta en el tiempo su respuesta antiinflamatoria y el procedente de Cuba la reduce.

Por lo antes expuesto se puede concluir que:

Cuando se administra el sebo de carnero procedente del Sahara y el sebo procedente de Cuba, se produce efecto antiinflamatorio en el ensayo que utiliza a la carragenina para producir inflamación.

El sebo de carnero procedente de Cuba tiene una inducción del efecto más rápida en el tiempo para su inicio, pero el que procede del Sahara incrementa la respuesta al prolongarse el tiempo de exposición al mismo.

Estos resultados constituyen una contribución a la caracterización química y biológica de dichos sebos, y pudieran avalar sus posibles efectos farmacológicos y usos en la etnomedicina, así como la seguridad en su uso.

Referencias

CLAUS, E.P.; TYLER, V.E. 1998. *Farmacognosia*. Edición cubana. Capítulo 6, Lípidos. Cuba.

CYTED. 1996. *Actividad antiinflamatoria, protocolo experimental en ratas*. México. <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/252>. Consultado: 10-09-2012.

MENÉNDEZ, R.; CARBAJAL, D.; MÁS, R.; PÉREZ, Y.; MOLINA, V.; ARRUZA-ZABALA, M.L.; GONZÁLEZ, R.M. 2006, Efecto del D-004, extracto lipídico de los frutos de la palma real (*Roystonea regia*), sobre el granuloma inducido por algodón en ratas y sobre la lipooxigenasa presente en leucocitos polimorfonucleares. *Lat. J. Pharm* 25(2):213-218.

PLOSKER, G.L.; BROGDEN, R.N. 1996, *Serenoa repens* (Permixon). A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in benign prostatic hyperplasia. *Drugs Aging* 9:379–395.

ROIG, J.T. 1988. *Plantas aromáticas o venenosas de Cuba*. Editorial Ciencia y Técnica. Cuba.

SINGH, S.; NAIR, V.; JAIN, S.; GUPTA, Y.K. 2008. Evaluation of anti-inflammatory activity of plant lipids containing alpha-linolenic acid. *Indian J Exp Biol.* 46(6):453-6.9