

COMUNICACION CORTA

Triglicéridos insaturados ozonizados como precursores de ácidos dicarboxílicos urinarios en ratas Wistar

Daniel Jardines, Oscar Ledea y Zullyt Zamora.

Centro de Investigaciones del Ozono, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 11 de octubre del 2000. Aceptado: 14 de febrero del 2001.

Palabras clave: triglicéridos, ácidos dicarboxílicos, aceite de girasol ozonizado, OLEOZON®, ácido azelaico.
Key words: triglycerides, dicarboxylic acids, ozonized sunflower oil, OLEOZON®, azelaic acid.

La administración oral de aceite de girasol ozonizado (OLEOZON®) a ratas Wistar produce cambios en los perfiles de sus ácidos orgánicos urinarios.¹ Los cambios indican un incremento de varios ácidos dicarboxílicos (ADC). Estos ácidos son: heptanodioico, octanodioico, octenodioico, nonanodioico, decenodioico y el dodecenodioico. De estos ácidos los de mayor incremento son los heptanodioico (pimélico) y nonanodioico (azelaico). La hipótesis de trabajo planteada es que estos ácidos, según el mecanismo propuesto (Fig. 1),¹ provienen del metabolismo de los compuestos que se obtienen por la ozonización de los ácidos oleico y linoleico, componentes principales de los triglicéridos del aceite de girasol, con un 28 a 35 % y de 60 a 70 %, respectivamente.²

El objetivo principal de este trabajo fue demostrar esta hipótesis, mediante la determinación por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), del perfil de ácidos orgánicos urinarios en ratas tratadas oralmente con compuestos modelos ozonizados como la trioleína y la trilinoleína. Ambos triglicéridos modelos fueron de un 99 % de pureza (Merck, Alemania).

Para ello, se compararon los perfiles cromatográficos de ácidos carboxílicos metilados de orinas de ratas hembras Wistar (200 a 225 g) en dos series experimentales divididas en grupos de seis animales:

Grupo 1- ratas tratadas oralmente con 3,3 mL de trioleína ozonizada/kg de peso corporal a dosis única.

Grupo 2- ratas tratadas oralmente con igual dosis de trilinoleína ozonizada y una sola administración.

Los triglicéridos ozonizados obtenidos en similares condiciones a las que se produce el OLEOZON® fueron administrados a los animales a través de una cánula intragástrica. Las muestras de orina fueron recolectadas durante 24 h, post-tratamiento, por separado. En un estudio previo realizado en similares condiciones, se evaluó tanto al aceite de girasol como al OLEOZON®.¹

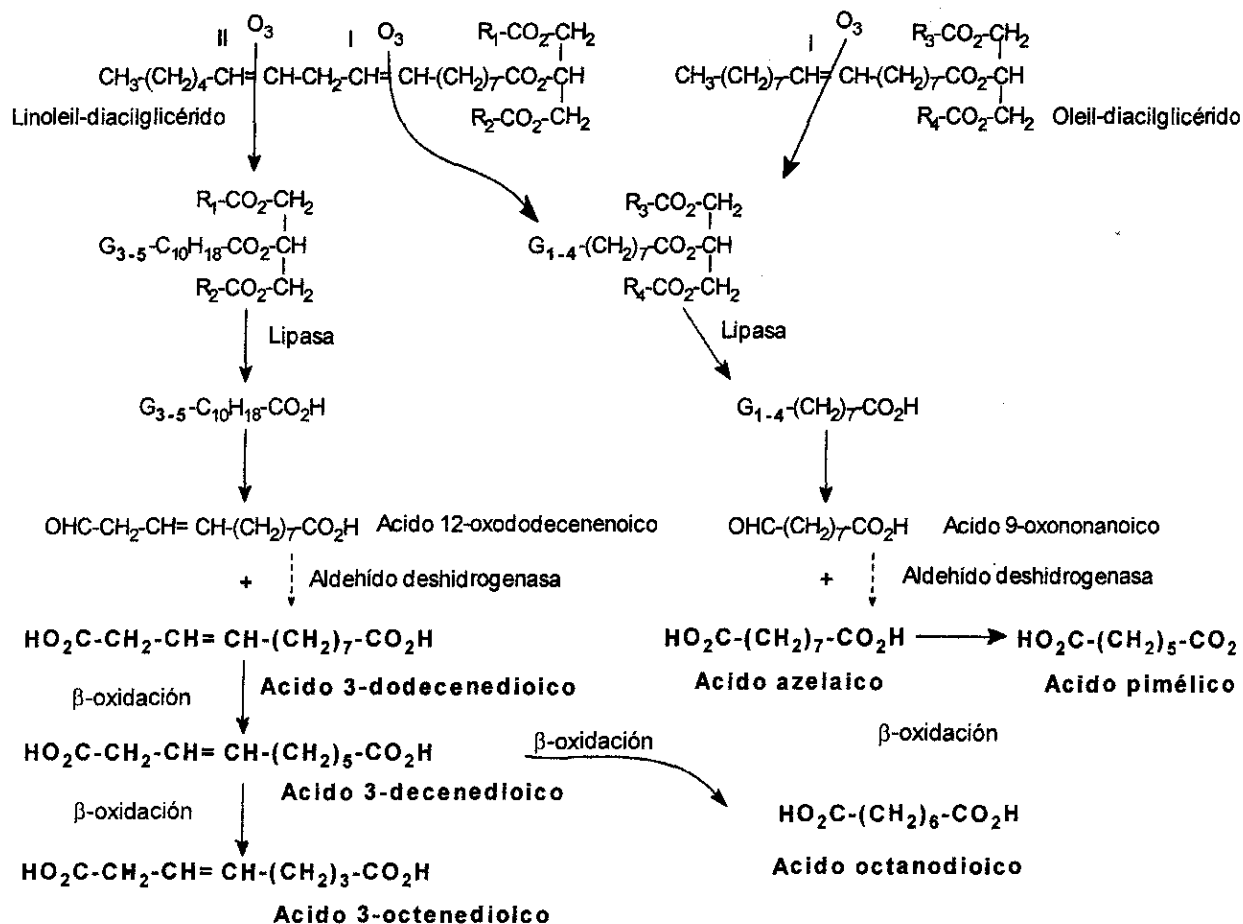
La extracción y metilación de los ácidos orgánicos urinarios se realizó según Jardines y col.¹ En el análisis cualitativo y cuantitativo se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolar de la serie Automass, con un cromatógrafo de gases de la serie 610 (UNICAM, Inglaterra) en las condiciones reportadas por Jardines.³ La determinación cuantitativa se realizó por el método del estándar interno. El patrón utilizado fue el ácido heptadecanoico (ácido margárico (AG 17), Merck, Alemania).

Con la administración de la trioleína ozonizada el perfil de ácidos orgánicos urinarios (Fig. 2) varió según lo esperado. Los ácidos que se incrementaron fueron los ácidos dicarboxílicos heptanodioico (ADC 7) y nonanodioico (ADC 9), no fueron encontrados los restantes ácidos informados para el OLEOZON®. Estos ADC son los únicos que deben aparecer si se sigue la vía I del mecanismo propuesto (Fig. 1).

Por lo contrario, en la administración de trilinoleína ozonizada el perfil de ácidos urinarios indica la presencia de todos los ADC (Fig. 3). Este perfil resulta similar al encontrado en la administración oral del medicamento,³ lo que sustentaría la vía II del mecanismo propuesto.

Las concentraciones obtenidas (Tabla 1) para los ácidos pimélico, octenodioico y azelaico en este estudio fueron superiores a las encontradas en la administración oral del OLEOZON®, para el cual fueron informadas las concentraciones de 9,6, 1,6 y 69,0 µg/mg de creatinina respectivamente para los distintos ácidos.³ Este resultado pudiera ser explicado teniendo en cuenta que la composición de las distintas sustancias de partida influye en el resultado. Para el caso de la trioleína, por poseer un solo doble enlace (C₉ y C₁₀) todo el ozono administrado reacciona por esa única posición.⁴ Esto explica el incremento de las concentraciones de los ácidos azelaico (ozonólisis directa) y pimélico (como resultado de la β-oxidación del primero). Sin embargo, en la trilinoleína se tienen dos dobles enlaces (C₉ y C₁₀; C₁₂ y C₁₃) debido a que el ozono puede atacar, por lo tanto, hay otras sustancias que se forman, además de las que se originan de la ozonización de la trioleína, lo que da lugar a concentraciones diferentes de los distintos productos.

Partiendo del hecho de que se ozonizaron en las mismas condiciones, tanto la materia prima del OLEOZON®, como a los triglicéridos modelos y que la trilinoleína es el triglicérido mayoritario en el aceite



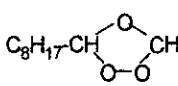
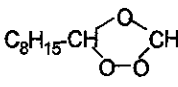
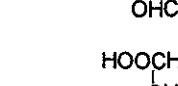
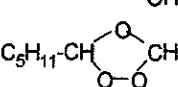
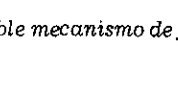
G	Proceso	Producto
1 	Reducción	OHC- OHC-
2 	Reducción	OHC- OHC-
3 	Oxidación	HO ₂ C-
4 	Oxidación	HO ₂ C-
5 	Reducción	OHC- OHC-

Fig. 1. Posible mecanismo de formación de los ácidos dicarboxílicos durante el metabolismo del OLEOZON®.

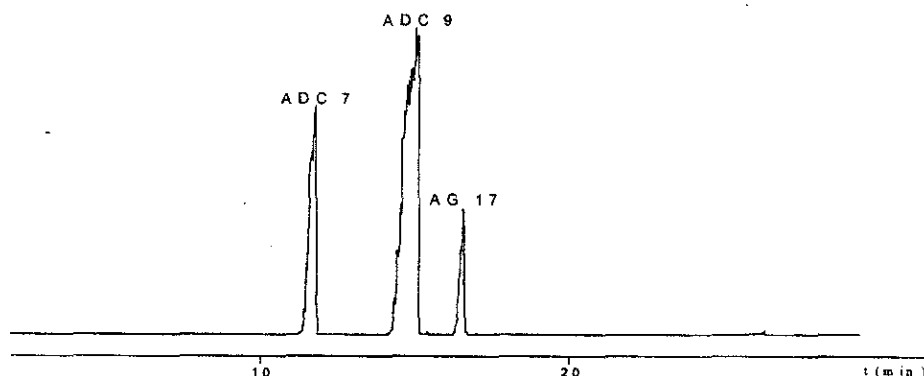


Fig. 2. Perfil de ácidos orgánicos urinarios metilados en ratas tratadas oralmente con trioleína ozonizada. Acido heptanodioico (ADC 7), ácido nonanodioico (ADC 9), ácido heptadecanoico (AG 17).

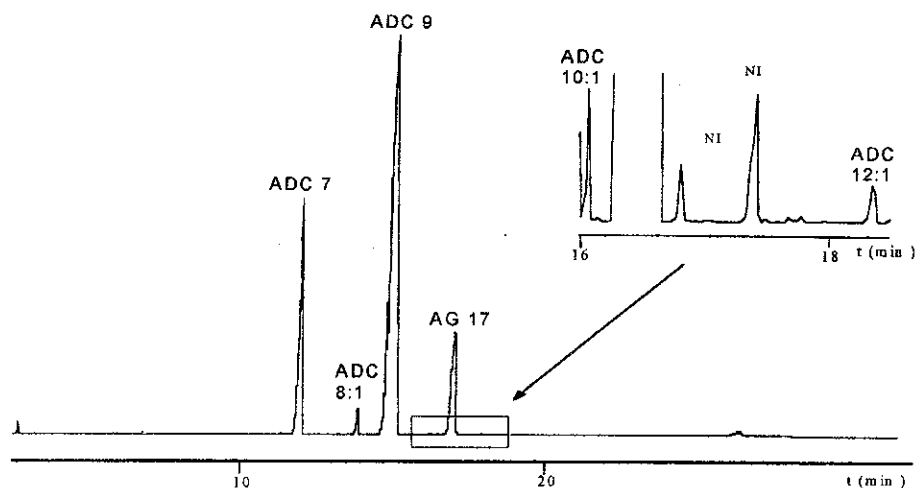


Fig. 3. Perfil de ácidos orgánicos urinarios metilados en ratas tratadas oralmente con trilinoleína ozonizada. NI- no identificado. Ácidos dicarboxílicos: heptanodioico (ADC 7), octenodioico (ADC 8:1), nonanodioico (ADC 9), decenodioico (ADC 10:1), dodecenodioico (ADC 12:1), ácido heptadecanoico (AG 17).

Tabla 1. Concentración de los metabolitos ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina) al utilizar compuestos modelos ozonizados.

Acido	Trioleína ozonizada	Trilinoleína ozonizada
	(N = 6)	
Pimélico	$32,6 \pm 1$	$23,4 \pm 0,9$
Subérico	-	$0,27 \pm 0,05$
Octenodioico	-	$1,9 \pm 0,1$
Azelaico	1 ± 5	79 ± 4
Decenodioico	-	$0,040 \pm 0,007$
Dodecenodioico	-	$0,020 \pm 0,005$

de girasol, es lógico esperar que el perfil de ácidos dicarboxílicos urinarios del OLEOZON[®] sea similar al del patrón de trilinoleína ozonizada. Las diferencias encontradas (fundamentalmente en la concentración de ácido pimélico) se deben a tres factores fundamentales:

1. En el OLEOZON[®] además de presentarse las posibilidades descritas para los dos triglicéridos patrones se tiene un factor adicional y es que los ácidos grasos insaturados que conforman el aceite de girasol se encuentran irregularmente distribuidos alternando con ácidos grasos saturados, ya sea en las posiciones 1, 2 ó 3 del triglicérido, lo que influye negativamente en la disponibilidad del doble enlace para la reacción con el ozono, dando como resultado

concentraciones menores de los ácidos dicarboxílicos que las del compuesto modelo de trilinoleína ozonizada para igual consumo de ozono.

2. Aunque es cierto que la velocidad de reacción del ácido linoleico con el ozono, es superior a la del oleico (1,6 veces más rápido)⁵, ambas reacciones tienen constantes de velocidad del orden de 10^5 a $10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ y si se tiene en cuenta la aleatoriedad de su distribución dentro del aceite de girasol, así como las condiciones de reacción empleadas, es evidente que parte del ozono aplicado al aceite de girasol reacciona con el ácido oleico aún en presencia del ácido linoleico.

3. La presencia de antioxidantes naturales en los aceites vegetales, capaces de reaccionar con el ozono, dis-

minuye el rendimiento de los productos de la ozonización de los ácidos grasos insaturados a igual dosis aplicada de ozono. Esto no ocurre en los compuestos modelos utilizados.

A partir de triglicéridos modelos ozonizados que contienen los ácidos grasos insaturados presentes en el medicamento y utilizando la Cromatografía de Gases acoplada a la Espectrometría de Masas, se demostró el origen de los ácidos dicarboxílicos urinarios encontrados anteriormente en ratas Wistar tratadas oralmente con OLEOZON[®]. Estos resultados confirman el mecanismo propuesto anteriormente para explicar el metabolismo del OLEOZON[®].¹

BIBLIOGRAFIA

- Jardines D. y col. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, **29**, 79, 1998.
- Rezanka T. and Mares P. *J. Chromatography*, **542**, 145, 1991.
- Jardines D. Tesis en opción al grado de Maestro en Ciencias: Perfil de ácidos orgánicos urinarios de ratas tratadas oralmente con aceite de girasol ozonizado, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, junio, 1997.
- Bailey P.S. *Ozonation in organic chemistry*, Vol. 1. Academic Press, New York, 1978.
- Giamalva D.H., Church D.F., and Pryor W.A. *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 6646, 1986.