

## RESUMEN TESIS PEDRO RUIZ GIMÉNEZ

En esta Tesis Doctoral se ha estudiado en modelos experimentales el potencial antihipertensivo de dos tipos de péptidos bioactivos: péptidos derivados de distintas zonas de la secuencia de la lactoferrina bovina (LF), incluido su dominio antimicrobiano lactoferricina (LfcinB), y heptapéptidos obtenidos mediante diseño racional a partir de hexapéptidos parentales. Se han realizado tres tipos de ensayos: ensayos *in vitro* para determinar los efectos inhibitorios sobre la actividad de la enzima convertora de la angiotensina I (ECA); ensayos funcionales *ex vivo*, usando segmentos arteriales aislados de conejo, para analizar los efectos inhibitorios de los péptidos sobre la vasoconstricción ECA-dependiente producida por angiotensina I (Ang I); y ensayos *in vivo* mediante la administración de los péptidos a ratas espontáneamente hipertensas (SHR) para estudiar los efectos antihipertensivos. En algunos casos, también se han realizado ensayos *in vitro* para determinar el potencial efecto tóxico de los péptidos no naturales y de digestión gastrointestinal simulada para analizar la biodisponibilidad de los péptidos.

Se obtuvieron péptidos derivados de LfcinB mediante elongaciones tanto del extremo C-t como del N-t del péptido LfcinB<sub>20-25</sub> (RRWQWR). Estos péptidos mostraron diferentes potencias de inhibición de la actividad ECA *in vitro*, e inhibieron la vasoconstricción ECA-dependiente *ex vivo*. No se encontró una clara correlación entre los resultados *in vitro* y *ex vivo*. Solamente LfcinB<sub>20-25</sub> y un fragmento derivado (WQ) producido mediante digestión gastrointestinal simulada mostraron efectos antihipertensivos *in vivo*. Sin embargo, el fragmento no mostró efecto inhibitor de la vasoconstricción ECA-dependiente en contraste con LfcinB<sub>20-25</sub>. Por otro lado, se preparó un hidrolizado de lactoferrina bovina con pepsina y se ultrafiltró para enriquecerlo en péptidos con peso molecular menor de 3 kDa (LFH<3kDa). Este hidrolizado mostró efectos antihipertensivos mantenidos hasta 24 h tras la administración oral. LFH<3kDa se fraccionó y se identificaron 38 péptidos de los cuales se sintetizaron los 11 péptidos más abundantes. Tres de estos péptidos (LIWKL, RPYL y LNNSRAP) mostraron diferentes grados de inhibición de la actividad ECA *in vitro* y efectos antihipertensivos *in vivo*, aunque solamente dos de ellos, LIWKL y RPYL, mostraron efectos inhibidores de la vasoconstricción ECA-dependiente *ex vivo*. Por último, seis heptapéptidos mostraron diferentes grados de inhibición de la actividad ECA *in vitro* y de la vasoconstricción ECA-dependiente, pero no de la vasoconstricción ECA-independiente producida por angiotensina II. Los heptapéptidos PACEI50L (RKWHFLW) y PACEI52L (RKWLFHW), y el hexapéptido parental PACEI32L (RKWHFW), mostraron efectos antihipertensivos *in vivo*, sin afectar a la presión arterial en ratas normotensas. Los péptidos sintetizados con D-aminoácidos mostraron mucho menos efecto inhibitor de la actividad ECA *in vitro*, no tuvieron efecto *ex vivo*, y mostraron efectos antihipertensivos *in vivo* tras administración intravenosa pero no oral. La toxicidad de estos péptidos no naturales para reducir la viabilidad celular *in vitro* se mostró a concentraciones milimolares, mucho más altas que las concentraciones micromolares con efecto inhibitor de la actividad ECA.

En conclusión, se ha demostrado el potencial antihipertensivo de un péptido derivado de la lactoferricina (LfcinB<sub>20-25</sub>), de un hidrolizado con pepsina de la lactoferrina enriquecido en péptidos de bajo peso molecular (LFH<3kDa), de péptidos contenidos en dicho hidrolizado procedentes de otras zonas de la lactoferrina diferentes de LfcinB (LIWKL, RPYL y LNNSRAP), y de hexa- y heptapéptidos obtenidos mediante diseño racional (PACEI32L, PACEI50L y PACEI52L). En la mayor parte de ellos, el efecto antihipertensivo se asocia a su efecto vasoactivo por su capacidad para inhibir la actividad ECA.