

RESUM

En esta Tesi Doctoral s'ha estudiat en models experimentals el potencial antihipertensiu de dos tipus de pèptids bioactius: d'una banda, pèptids derivats de diferents zones de la seqüència de la lactoferrina bovina (LF), inclòs el seu domini antimicrobià lactoferricina (LfcinB), i d'altra banda heptapèptids obtinguts mitjançant disseny racional a partir d'hexapèptids parentals. S'han realitzat tres tipus d'assajos: assajos *in vitro* per determinar els efectes inhibitoris dels pèptids sobre l'activitat de l'enzim conversor de la angiotensina I (ECA), utilitzant diferents substrats artificials i naturals; assajos funcionals *ex vivo*, usant segments arterials aïllats de conill, per analitzar els efectes inhibitoris dels pèptids sobre la vasoconstricció ECA-depenent produïda pel substrat natural angiotensina I (Ang I); i assajos *in vivo* mitjançant l'administració dels pèptids a rates espontàniament hipertenses (SHR) per estudiar els efectes antihipertensius. En alguns casos, també s'han realitzat assajos *in vitro* per determinar el potencial efecte tòxic dels pèptids no naturals en cultius cel·lulars i de digestió gastrointestinal simulada per analitzar la biodisponibilitat dels pèptids.

Es van obtenir pèptids derivats de LfcinB mitjançant diferents elongacions tant de l'extrem C-terminal com del N-terminal del pèptid representatiu LfcinB₂₀₋₂₅ (RRWQWR). Estos pèptids van mostrar diferents potències d'inhibició de l'activitat ECA *in vitro* i, excepte un, van inhibir la vasoconstricció ECA-depenent *ex vivo*. No es va trobar una clara correlació entre els resultats *in vitro* i *ex vivo*. Solament LfcinB₂₀₋₂₅ i un fragment derivat (WQ) produït mitjançant digestió gastrointestinal simulada van mostrar efectes antihipertensius *in vivo*. No obstant això, el fragment no va mostrar efecte inhibitor de la vasoconstricció ECA-depenent en contrast amb LfcinB₂₀₋₂₅. D'altra banda, es va preparar un hidrolitzat de lactoferrina bovina amb pepsina i es va ultrafiltrar per enriquir-ho en pèptids amb pes molecular per baix de 3 KDa (LFH<3 KDa). Este hidrolitzat va

mostrar efectes antihipertensius mantinguts fins 24 h després de l'administració oral. LFH<3KDa es va fraccionar mitjançant HPLC semi-preparativa, es van identificar 38 pèptids mitjançant espectrometria de masses en les fraccions inhibidores de la ECA i es van sintetitzar els 11 pèptids més abundants. Tres d'estos pèptids (LIWKL, RPYL i LNNSRAP) van mostrar diferents graus d'inhibició de l'activitat ECA *in vitro* i efectes antihipertensius *in vivo*, encara que solament dos d'ells, LIWKL i RPYL, van mostrar efectes inhibidors de la vasoconstricció ECA-depenent *ex vivo*. Finalment, sis heptapèptids obtinguts mitjançant disseny racional van mostrar diferents graus d'inhibició de l'activitat ECA *in vitro* i de la vasoconstricció ECA-depenent *ex vivo*, però no de la vasoconstricció ECA-independent produïda per angiotensina II. Els heptapèptids PACEI50L (RKWHFLW) i PACEI52L (RKWLFHW), així com l'hexapèptid parental PACEI32L (RKWHFW), van mostrar efectes antihipertensius *in vivo*, sense afectar a la pressió arterial en rates normotenses. Els pèptids sintetitzats amb D-aminoàcids van mostrar molt menys efecte inhibidor sobre l'activitat ECA *in vitro*, no van tenir efecte *ex vivo*, i van mostrar efectes antihipertensius *in vivo* després de l'administració intravenosa però no oral. La toxicitat d'estos pèptids no naturals per reduir la viabilitat cel.lular *in vitro* es va mostrar a concentracions milimolars, molt més altes que les concentracions micromolars amb efecte inhbitor de l'activitat ECA.

En conclusió, s'ha demostrat el potencial antihipertensiu d'un pèptid derivat del domini antimicrobià lactoferrina (LfcinB₂₀₋₂₅), d'un hidrolitzat amb pepsina de la lactoferrina enriquit en pèptids de baix pes molecular (LFH<3KDa), de pèptids continguts en dit hidrolitzat procedents d'altres zones de la lactoferrina diferents de LfcinB (LIWKL, RPYL i LNNSRAP), i de hexa- i heptapèptids obtinguts mitjançant disseny racional (PACEI32L, PACEI50L i PACEI52L). En la major part d'ells, l'efecte antihipertensiu s'associa al seu efecte vasoactiu per la seua capacitat per inhibir l'activitat ECA.