

**Ciencia y Tecnología  
Alimentaria**

Ciencia y Tecnología Alimentaria

ISSN: 1135-8122

somenta@gmail.com

Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología  
de Alimentos  
México

Torruco-Uco, J. G.; Domínguez-Magaña, M. A.; Dávila-Ortiz, G.; Martínez-Ayala, A.; Chel-Guerrero, L.  
A.; Betancur-Ancona, D. A.

**PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS, UNA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO DE ORIGEN  
NATURAL: UNA REVISIÓN**

Ciencia y Tecnología Alimentaria, vol. 6, núm. 2, 2008, pp. 158-168  
Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos  
Reynosa, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=72411971010>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica  
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

## **PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS, UNA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO DE ORIGEN NATURAL: UNA REVISIÓN**

### **ANTIHYPERTENSIVE PEPTIDES, AN ALTERNATIVE FOR TREATMENT OF NATURAL ORIGIN: A REVIEW**

Torruco-Uco, J. G.<sup>2</sup>; Domínguez-Magaña, M. A.<sup>2</sup>; Dávila-Ortíz, G.<sup>2</sup>; Martínez-Ayala, A.<sup>3</sup>;  
Chel-Guerrero, L. A.<sup>1</sup>; Betancur-Ancona, D. A.<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. Av. Juárez No. 421 Cd. Industrial, C.P. 97288, Apdo. Postal 1226-A Mérida, Yucatán, México. <sup>2</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional, México. <sup>3</sup>Centro de Desarrollo de Producto Bióticos. Instituto Politécnico Nacional, México.

Recibido/Received 25-02-2008; aceptado/accepted 09-07-2008

\*Autor para la correspondencia/Corresponding author. E-mail: bancona@uady.mx

#### **Abstract**

Cardiovascular diseases are the main cause of death in the world and Mexico is not exception, since a great number of people suffer of hypertension and the use of synthetic drug for the control of this disease can cause in the organism diverse secondary reactions, such as: cough, taste perturbation, rash in the skin, among others. An alternative for the prevention and/or treatment of high blood pressure is the use of bioactive compounds obtained from natural sources (animal or vegetable) such as the antihypertensive peptides, since these can reduce the arterial pressure in the organism, through of the angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition which is the responsible in to alter the blood pressure in the organism. Due to the above-mentioned, already exist in the European market, in Japan and USA products diverse that contain tripeptides such as Valine-Proline-Proline (VPP) and Isoleucine-Proline-Proline (IPP) and these they have the capacity in reducing the arterial pressure in human. The aim of this review is to diffuse more the use of antihypertensive peptides as an alternative in the treatment of the arterial pressure.

#### **Resumen**

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial y México no es la excepción, ya que existe un gran número de personas que padecen de hipertensión arterial y el uso de medicamentos sintéticos para el control de dicha enfermedad pueden causar diversos efectos secundarios en el organismo, tales como: tos, perturbación en el sabor, salpullido en la piel, entre otros. Por lo que, una alternativa para la prevención y/o tratamiento de la hipertensión arterial es el uso de componentes bioactivos obtenidos de fuentes naturales (animal o vegetal) tales como los péptidos antihipertensivos, ya que estos pueden reducir la presión arterial en el organismo, mediante la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) la cual es la responsable que se altere la presión sanguínea en el organismo. Debido a lo anterior, ya existen en el mercado Europeo, en Japón y EUA diversos productos que contienen tripéptidos tales como Valina-Prolina-Prolina (VPP) y Ileucina-Prolina-Prolina (IPP) y estos tienen la capacidad en reducir la presión arterial en humanos. Por lo que, el objetivo de esta revisión es difundir el uso de los péptidos antihipertensivos como una alternativa en el tratamiento de la presión arterial.

Keywords: Protein, antihypertensive peptides, arterial hypertension, functional food

Palabras clave: Proteína, péptidos antihipertensivos, hipertensión arterial, alimento funcional

#### **INTRODUCCIÓN**

Los problemas de salud a nivel mundial han incrementado ya que casi 17 millones de personas mueren anualmente y las causas que producen esta mortalidad se atribuye a diversos factores relacionados con enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial, índice de colesterol elevado, diabetes, el estilo de vida (obesidad,

falta de actividad física, mala nutrición, tabaquismo), una mala educación y la pobreza (WHO, 2002). En México, las cifras también están aumentando con respecto a éste tipo de enfermedades, principalmente en el caso de la hipertensión arterial, ya que la prevalencia de esta enfermedad para el año 2000 fue del 30,05 %, es decir, más de 16 millones de mexicanos entre los 20 y 60 años padecen esta enfermedad, siendo los estados del norte de

la República Mexicana, los que alcanzaron cifras mayores con un 30 % de incidencia. La Encuesta Nacional de Salud en el 2000 en México, mostró de manera notable que el 61 % de los hipertensos de este país desconocían ser portadores del mal, situación que es de extrema importancia ya que, en general, el paciente acude al médico cuando ya han transcurrido varios años desde su inicio y probablemente ya existe en su mayoría daños a órganos vitales como el corazón, cerebro, retina y riñón (Velázquez *et al.*, 2003).

La hipertensión arterial es un padecimiento multifactorial que puede dañar órganos vitales tales como los mencionados anteriormente, por lo que está considerada como un problema importante de salud pública. Sin embargo, esta enfermedad ha sido tratada con diversos medicamentos sintéticos que inhiben a la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), mecanismo responsable de la alteración de la presión normal de la sangre, cuando esta circula a través de las venas y arterias del cuerpo humano. Entre los medicamentos más comunes en el mercado se encuentran los inhibidores de la ECA, los  $\beta$ -bloqueadores, los diuréticos y los bloqueadores de los receptores de angiotensina-II, los cuales han sido eficaces y bien tolerados en el tratamiento de la hipertensión. Sin embargo, una de las desventajas de estos medicamentos de origen sintético, es que son caros y además pueden producir ciertas alteraciones secundarias a corto y largo plazo en su uso como la tos, perturbación en el sabor y salpullidos en la piel (Atkinson y Robertson, 1979).

Actualmente la ciencia de los alimentos está promoviendo un nuevo concepto de nutrición que incluye a aquellos alimentos que presentan una potencialidad en el mejoramiento de la salud y disminuyen los riesgos de enfermedades en el cuerpo humano (Korhonen, 2002), por lo que, muchas industrias alimentarias han incluido en sus productos destinados para consumo humano ciertos nutrientes y componentes bioactivos extraídos de fuentes animales y vegetales, capaces de ofrecer garantías de salud a los consumidores. Entre los beneficios que ofrecen estos productos se encuentran aquellos que están enriquecidos con péptidos bioactivos que tienen la capacidad de disminuir la presión arterial en el ser humano, por lo que, ya existen en el mercado diversos productos como el Evolus<sup>TM</sup> siendo éste el primero en ser comercializado en Finlandia en el año 2000, el LH<sup>TM</sup> en Islandia, el Vita de Kaiku<sup>TM</sup> en España, el Emmi-Evolus<sup>TM</sup> en Portugal que básicamente son leches fermentadas por diferentes especies de lactobacilos que actúan sobre la caseína, el principal componente de la leche (Jauhiainen *et al.*, 2002) y el Calpis<sup>TM</sup> el cual es elaborado en Japón y se obtiene igual por fermentación mediante el uso de cepas de *Lactobacillus helveticus* y *Saccharomyces cerevisiae* (Hata *et al.*, 1996). En todos los casos anteriores la acción antihipertensiva se ha debido a la presencia de los tripéptidos formados por VPP e IPP los cuales, purificados o como componentes de

los productos hidrolizados, han demostrado su efectividad para bajar la presión arterial en humanos después de entre 2 a 7 semanas de consumir el producto (Rasmussen, 2005). Con base a lo anterior, actualmente diversos investigadores se han dado a la tarea de aislar y purificar péptidos con actividad antihipertensiva de diferentes fuentes vegetales y animales, siendo la fuente vegetal la que está cobrando mayor importancia debido a que son materias primas que pueden obtenerse más fácilmente, tienen bajo costo y porque pueden presentar diversas actividades fisiológicas sobre el organismo humano, entre la cual destaca el efecto antihipertensivo. Debido a lo anterior, el objetivo de esta revisión es dar a conocer el amplio panorama de los péptidos antihipertensivos y su posible uso en la prevención y tratamiento de la hipertensión arterial en el ser humano.

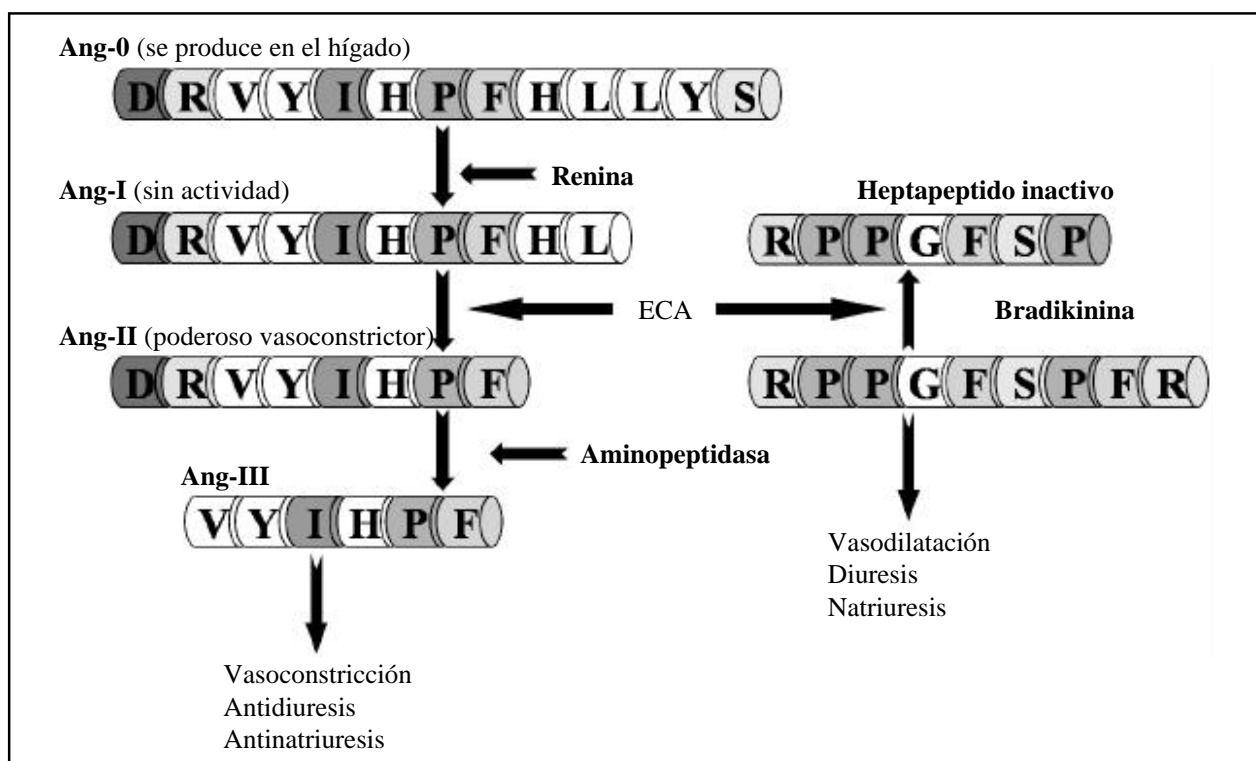
### Generalidades de la hipertensión arterial

La hipertensión arterial es elevación patológica de la presión que ejerce la sangre bombeada por el corazón sobre los vasos sanguíneos (Hong *et al.*, 2003) y está asociada con daño en las arterias y en diversos parénquimas (conglomerados de células de igual diámetro formando meatos entre sí y que pueden elaborar y almacenar sustancias). Entre estos, son especialmente susceptibles el corazón, riñón, cerebro y retina, cuyo daño es proporcional tanto a la magnitud como a la duración de la hipertensión (Loscalzo *et al.*, 1996). Los niveles normales de presión arterial de una persona sana debe de ser de 120/80 mmHg (presión sistólica/diastólica). Sin embargo, una presión arterial alta se considera cuando los niveles sobrepasan de 130/85 mmHg de presión y es cuando se le debe prestar atención a la misma para ser atendida y poder controlarla antes que incrementalmente y pueda dañar órganos importantes. A niveles mayores de 180/110 mmHg (denominada de grado 3 ó extremo) se pueden presentar en el individuo apoplejías (embolias) causando parálisis e inclusive la muerte (Rosas *et al.*, 2005).

### Papel del sistema renina-angiotensina sobre la presión arterial

El sistema renina-angiotensina (SRA) es uno de los sistemas de regulación central de la presión arterial sanguínea y la patogénesis de la hipertensión está estrechamente asociada con desórdenes del SRA (Matsui *et al.*, 2003). Este sistema estimula la activación simpática de secreción de renina por las células yuxtaglomerulares (Brown y Vaughan, 1998), siendo el riñón, la principal fuente de renina activa en la circulación, aunque también se han encontrado en diversos tejidos de animales y humanos, tales como el cerebro, glándula adrenal, glándula submandibular, ovarios, testículos, próstata, cerebro, entre otros (Pan y Gross, 2005).

El angiotensinógeno (Ao) es una glicoproteína que se produce en el hígado y es el sustrato inicial del sistema renina-angiotensina-aldosterona. La renina es la enzima



**Figura 1.** Modelo del sistema renina-angiotensina (SRA) (De la Serna, 2006).

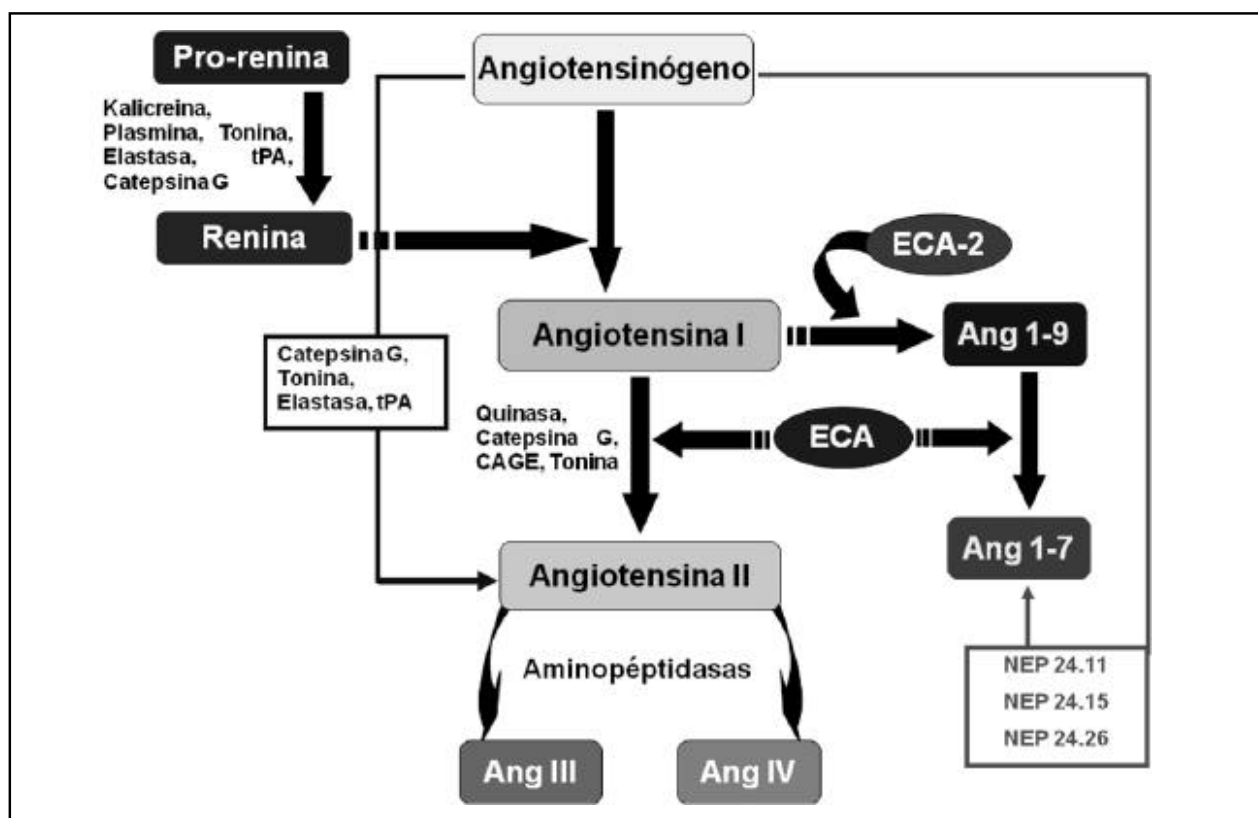
**Figure 1.** Model of the renin-angiotensin system (RAS) (De la Serna, 2006).

que reacciona con el Ao circulante, dando lugar a un decapeptido, la angiotensina-I (Ang-I) (Scow *et al.*, 2003). La ECA o kininasa II es una dipeptidil carboxipeptidasa I, (kininasa II, EC 3,4,15,1) zinc metalopeptidasa, la cual es sintetizada en el pulmón. La ECA rompe el dipéptido del C-Terminal de la Ang-I convirtiéndola en angiotensina-II (Ang-II) el cual es el componente activo principal del sistema renina-angiotensina-aldosterona e inhibe al péptido vasodilatador bradikinina y también causa la expansión de volumen a través de la retención de sodio (vía aldosterona y vasoconstricción renal) y retención de fluidos (vía hormona antidiurética) (Figura 1). La Ang-II es un potente vasoconstrictor, ya que actúa directamente sobre las células del músculo liso vascular y sobre el sistema nervioso simpático, tanto periféricamente como centralmente para incrementar el tono vascular. Las acciones de la Ang-II están mediadas por los receptores  $AT_1$  los cuales activan efectos perjudiciales (provoca vasoconstricción) y los receptores  $AT_2$  causan efectos benéficos (provocan la vasodilatación) en el organismo (Scow *et al.*, 2003). Por otro lado, también se ha identificado una variante de la ECA, la cual es conocida como ECA-2, y tiene la capacidad de convertir a la Ang-I en Ang 1-9 (nonapéptido), que no tiene acción vascular, pero puede ser convertido por la ECA en Ang 1-7 que es un vasodilatador. La ECA-2 no hidroliza a la bradikinina; mientras que la Ang 1-7 puede bloquear la vasoconstricción

inducida por la Ang-II en arterias del humano. Es importante destacar que existen diversos mecanismos alternativos para la transformación de la Ang-I en Ang-II que no requieren la presencia de la ECA, a través de otras enzimas como la quinasa, la catepsina G y la CAGE por sus siglas en inglés (Chymostatin-sensitive Ang II Generating Enzyme). La Ang-I también puede ser convertida en el hexapéptido Ang 1-7 por ciertas endopeptidasas tisulares tales como la endopeptidasa neutral NEP 24.11, NEP 24.15 y NEP 24.26 (Figura 2) (De la Serna, 2006).

### Tratamiento de la hipertensión arterial

La importancia clínica del bloqueo del sistema renina-angiotensina-aldosterona se ha vuelto cada vez más clara durante los últimos 20 años. Muchos médicos utilizan los inhibidores de la ECA o los bloqueadores de los receptores de angiotensina (BRA) como terapia de primera línea para la hipertensión, por lo que, existe una tendencia en la combinación de estos dos agentes valiosos, ya que la combinación de dos o más antihipertensivos actúan en el control de la presión arterial y otras veces minimizan los efectos secundarios que cada uno de ellos puedan ocasionar por separado. Por ello es importante reconocer las principales interacciones farmacológicas, tanto benéficas como perjudiciales de los fármacos antihipertensivos (Codario, 2005).



**Figura 2.** Mecanismos de formación de angiotensina-II (Ang-II) en el sistema renina-angiotensina (De la Serna, 2006).

**Figure 2.** Mechanisms of formation of angiotensin-II (Ang-II) in the renin-angiotensin system (De la Serna, 2006).

El primer fármaco que demostró actividad de inhibición de la ECA fue el Captopril el cual fue sintetizado por Ondetti *et al.*, (1977); este fármaco demostró ser activo por vía oral, impidiendo así la conversión de la Ang-I en Ang-II. Cabe mencionar que los medicamentos utilizados para inhibir la ECA, tal como el Captopril pueden ocasionar efectos secundarios, como los mencionados anteriormente (Atkinson y Robertson, 1979). Además de la prevención de la hipertensión y apoplejías, los inhibidores de la ECA han sido estudiados para el tratamiento de la deficiencia cardíaca crónica e infarto al miocardio (Pitt, 1997). Asimismo han sido propuestos para el tratamiento del cáncer (Lever *et al.*, 1999). Después de una década de utilización del Captopril, han aparecido una multitud de fármacos con capacidad de inhibición de la ECA, que difieren de éste por la ausencia de un grupo sulfhídrido en la formulación química y una vida media más prolongada, lo que permite utilizarlos en una sola dosis diaria (Vázquez *et al.*, 1998).

Baltar *et al.*, (2004) mencionan que todos los fármacos usados para el tratamiento de la hipertensión arterial en el embarazo atraviesan la placenta, por lo que pueden afectar al feto indirectamente disminuyendo el flujo útero-placentario o directamente a través de la circulación

umbilical. Por otro lado, Cooper *et al.* (2006) alertaron que el uso de inhibidores de la ECA como: Benazapril (Lotensin), Captopril (Capoten), Enalapril/Enalaprilat (Vasotec oral e inyectable), Fosinopril (Monopril), Lisinopril (Zestril y Prinivil), Moexipril (Univasc), Perindopril (Aceon), Quinapril (Accupril), Ramipril (Altace) y Trandolapril (Mavik) (datos soportados por la FDA 221-02-3003) durante el primer trimestre de embarazo, puede estar asociado con el incremento de riesgo de malformaciones congénitas del recién nacido. Debido a lo anterior, surge el interés por identificar a los alimentos como fuentes naturales de inhibidores de la ECA (péptidos antihipertensivos).

#### Las proteínas de la dieta: fuentes de biopéptidos

Las proteínas son componentes fundamentales de los alimentos, tanto nutricional como funcionalmente. Desde el primer punto de vista, son una fuente de aminoácidos, los cuales son esenciales para el crecimiento y mantenimiento del cuerpo. Desde el punto de vista funcional, estas afectan las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de los alimentos, así como también, muchas proteínas de la dieta pueden ejercer efectos fisiológicos benéficos en el cuerpo humano, ya que poseen propiedades

biológicas que hacen a estos componentes ingredientes potenciales por su bioactividad o como alimentos promotores de la salud. De igual forma estas proteínas pueden afectar la funcionalidad tecnológica de los productos finales proyectados, por lo que es un factor esencial para aplicar o desarrollar tecnologías para conservar o regular el aumento de componentes bioactivos en sistemas alimenticios (Korhonen *et al.*, 1998). En las últimas décadas, diversas investigaciones han mostrado que los péptidos bioactivos pueden ser derivados de las proteínas de la dieta y estos pueden estar presentes como entidades independientes o codificadas en la proteína original y que durante la digestión gastrointestinal o procesamiento de los alimentos, estos péptidos son liberados de la proteína precursora (Vioque *et al.*, 2006).

Los péptidos bioactivos son pequeñas cadenas peptídicas compuestas por 2 a 15 residuos de aminoácidos (Vioque *et al.*, 2000). Sin embargo, Kitts y Weiler (2003) mencionan que los péptidos bioactivos obtenidos de los alimentos pueden presentar entre 2 y 9 residuos de aminoácidos. Aunque puede haber excepciones ya que existen péptidos con mas de 20 residuos de aminoácidos, tal como la lunasina, péptido extraído de la soya con actividad anticancerígena probada en ratas el cuál presenta 43 residuos de aminoácidos y un peso molecular de 5400 Da (Jeong *et al.*, 2002).

Los péptidos bioactivos han sido aislados de diferentes fuentes, tanto animales como vegetales; entre las primeras se pueden mencionar a la caseína, el queso a base de suero de la leche (requesón), de leche fermentada, del músculo de pollo y pescado entre otras y de origen vegetal se han aislado del gluten de trigo, soya, girasol, espinaca, frijol mungo, etc. (Das Neves *et al.*, 2006; Megías *et al.*, 2004) los cuales han presentado diversas actividades biológicas como antihipertensivos, opioides, antioxidantes, anticolesterolémicos, antimicrobianos, anticariogénicos, antitrombóticos, anticancerígenos e inmunomoduladores, por lo que el estudio de más fuentes vegetales para extraer estos péptidos con diferentes actividades biológicas, principalmente aquellos con actividad antihipertensiva, esta siendo un atractivo en el sector industrial (alimentos y farmacéutica) ya que podrían ser incluidos en diversos sistemas alimenticios y/o medicamentos para lograr su efecto en el organismo del consumidor final.

### Péptidos antihipertensivos

Los péptidos antihipertensivos son los péptidos bioactivos más estudiados de los alimentos, ya que éstos muestran actividad por la inhibición de la ECA, la cual está relacionada con la regulación de la presión arterial por la modulación del sistema renina-angiotensina (Wang y González de Mejía, 2005). Ferreira (1965) fue el primero en aislar del veneno de la cobra brasileña (*Bothrops jararaca*) pequeños péptidos que exhibían una fuerte actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), siendo denominados como factores

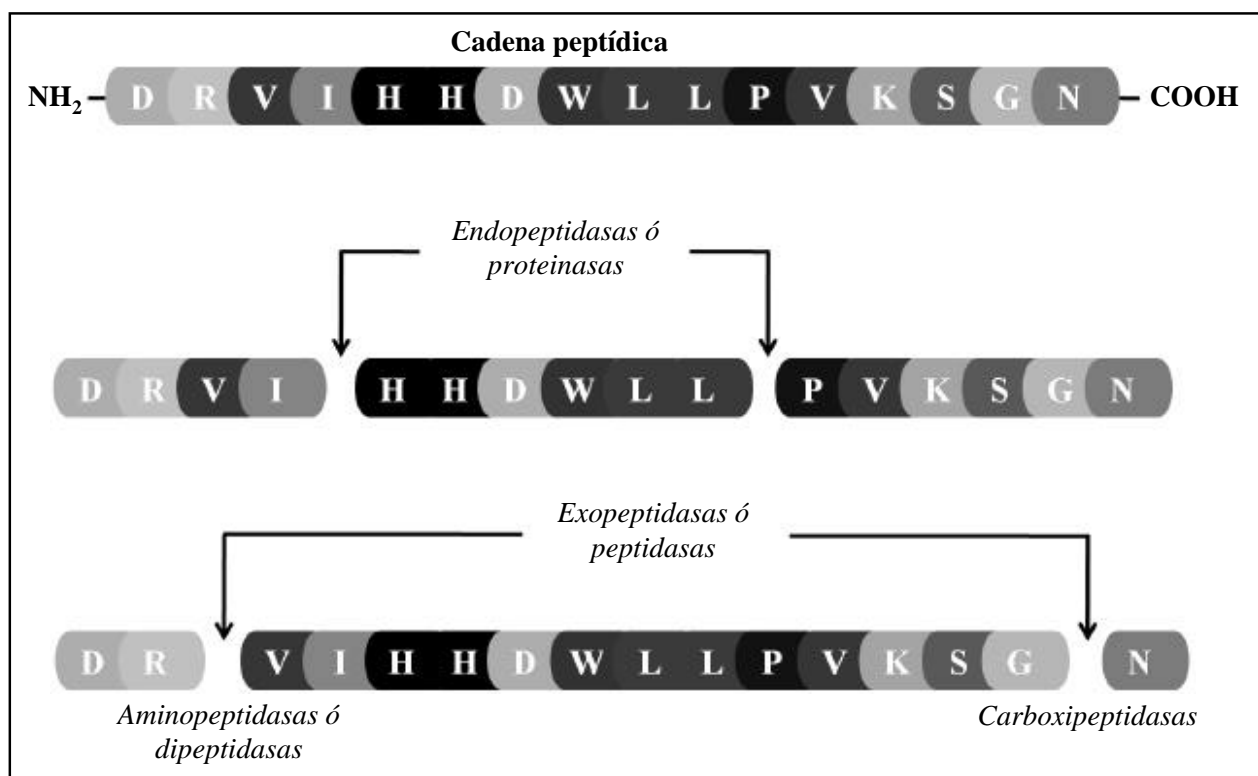
potenciadores de bradikina. Cheung y Cushman (1973) estudiaron la inhibición de la ECA de esos péptidos, concluyendo que la inhibición es de tipo competitivo y que los inhibidores se ligan a la enzima de la misma manera que ésta se liga al sustrato. De igual forma enfatizaron la importancia de los tres últimos residuos de aminoácidos en el grupo C-terminal tanto para los sustratos como para los inhibidores. Con respecto a los inhibidores observaron que todos presentaron un residuo de Prolina (P) en la penúltima posición de la molécula del grupo C-terminal. Sin embargo, esto no es una regla general para establecer que los péptidos antihipertensivos deben su actividad a la presencia de éste aminoácido (P), ya que se han aislado e identificado la secuencia de aminoácidos de diferentes péptidos que provocan la inhibición de la ECA (Tabla 1), y han demostrado que la presencia de residuos de aminoácidos hidrofóbicos (aromáticos y ramificados) en su grupo C-terminal (HL, FR y AP) también determina el efecto sobre la inhibición de la ECA (Cheung *et al.*, 1980).

Péptidos con actividad inhibitoria de la ECA han sido aislados de diferentes fuentes, así por ejemplo Pozo-Bayón *et al.*, (2007) aislaron fracciones peptídicas de bajo peso molecular con actividad inhibitoria de la ECA en vinos blanco y rojo, y estos presentaron principalmente residuos de aminoácidos B «Asx» (puede ser ácido aspártico o asparagina), Z «Glx» (puede ser ácido glutámico o glutamina) y V «Val».

Yang *et al.* (2003) aislaron cuatro nuevos péptidos de espinaca con actividad antihipertensiva probados en ratas hipertensas espontáneamente, encontrando nuevas secuencias de aminoácidos que presentaron efecto inhibitorio sobre la ECA, con secuencias MRWRD (Met-Arg-Trp-Arg-Asp), MRW (Met-Arg-Trp), LRIPVA (Leu-Arg-Ile-Pro-Val-Ala) y IAYKPAG (Ile-Ala-Tyr-Lys-Pro-Ala-Gly). Los péptidos con mayor actividad fueron el MRW disminuyendo la presión arterial a las 2 h después de la administración, seguida por el péptido MRWRD con 4 h después de la dosis.

### Obtención de péptidos mediante hidrólisis enzimática

Los hidrolizados enzimáticos han sido utilizados para muchos propósitos, tales como mejorar y/o modificar las propiedades funcionales de productos alimenticios, en la formulación de productos farmacéuticos y de aplicación clínica específica, así como para reducir la alergenicidad de la proteína y en la obtención de péptidos bioactivos (Tardioli *et al.*, 2003). Durante la hidrólisis de las proteínas, la elección de la enzima y las condiciones del proceso influyen en la composición de péptidos en el hidrolizado y por lo tanto en sus propiedades funcionales (Van der Ven *et al.*, 2002). Atendiendo a su grado de hidrólisis (GH), los productos proteínicos pueden ser clasificados en hidrolizados parciales (GH <10 %) y extensivos (GH >10 %), cada uno de ellos presenta propiedades específicas que afectan a su utilización (Vioque *et al.*, 2006). Para lograr lo anterior un gran número de enzimas exógenas

**Figura 3.** Clasificación de las enzimas según su actividad catalítica.**Figure 3.** Enzymes classification according to catalytic activity.**Tabla 1.** Principales péptidos con actividad antihipertensiva obtenidos de diferentes fuentes.**Table 1.** Peptides with antihypertensive activity obtained from different sources.

Secuencia del péptido	Fuente	Proteasas empleadas	Clasificación fisiológica	Referencias
YAEERYPIL	Huevo	Pepsina	I-ECA	Miguel <i>et al.</i> , (2006)
LIY	Plasma humano	Tripsina	I-ECA	Nakagomi <i>et al.</i> , (2000)
MIFPGAGGP	Pescado aleta amarilla	$\alpha$ -Quimotripsina	I-ECA	Jung <i>et al.</i> , (2006)
VY	Músculo de sardina	Proteasa alcalina	I-ECA	Matsui <i>et al.</i> , (2002)
FVNPQAGS	Girasol	Pepsina-Pancreatina	I-ECA	Megías <i>et al.</i> , (2004)
VPP y IPP	Leche agria	<i>L. helveticus</i> y <i>S. cerevisiae</i>	I-ECA	Nakamura <i>et al.</i> , (1995)
IPL y WL	Tofuyo alimento de soya fermentado	Pepsina, quimotripsina y tripsina	I-ECA	Kuba <i>et al.</i> , (2003)
LRPVAA	Lactoferrina de bovino	Pepsina, quimotripsina y tripsina	I-ECA	Lee <i>et al.</i> , (2006)
LSP	$\alpha$ -Zeína	Termolisina	I-ECA	Das Neves <i>et al.</i> , (2006)

han sido empleadas satisfactoriamente en la producción de hidrolizados proteínicos de diferentes fuentes, por lo que un factor importante a considerar es la naturaleza de la actividad enzimática, es decir, su actividad específica (Vioque *et al.*, 2001). En este sentido, las proteasas pueden dividirse en dos grandes grupos según su actividad catalítica: endopeptidasas o proteinasas (Figura 3), si hidrolizan enlaces internos de las cadenas peptídicas y exopeptidasas o peptidasas si hidrolizan aminoácidos y dipéptidos de los extremos de las cadenas polipeptídicas (Guadix *et al.*, 2000). Estas últimas pueden dividirse a su

vez en aminopeptidasas si actúan por el extremo N-terminal o carboxipeptidasas si lo hacen por el extremo C-terminal (Vioque *et al.*, 2001).

Ejemplo del uso de diversas enzimas para obtener una variedad de péptidos bioactivos con actividad inhibitoria de la ECA han sido los aislados proteínicos obtenidos de diferentes fuentes, así por ejemplo: Kamath *et al.* (2007) aislaron cuatro fracciones peptídicas con actividad inhibitoria de la ECA de la  $\alpha$ -kafirina (prolamina) principal proteína del sorgo (*Sorghum bicolor*) mediante la hidrólisis enzimática con quimotripsina, la cual, es una

enzima que rompe enlaces internos del extremo COOH del aminoácido principalmente cuando hay presencia de Phe (F), Trp (W), Tyr (Y) y Leu (L) y ocasionalmente cuando hay Met (M) y Asn (N). Je *et al.*, (2004) aislaron de Alaska Pollock (*Theragra chalcogramma*) un péptido con actividad inhibitoria de la ECA mediante el uso de pepsina [enzima que hidroliza internamente del extremo NH<sub>2</sub> del aminoácido cuando hay presencia de Leu (L), Asp (D), Glu (E), Phe (F), Tyr (Y) y Trp (W)], el cual, presentó la secuencia de aminoácidos FGASTRGA y un valor de IC<sub>50</sub> = 14,7 µM (IC<sub>50</sub> se define como la concentración de péptidos en 1 mg de proteína/ml requerido para inhibir el 50% la actividad de la ECA). Mizuno *et al.* (2004) utilizaron una proteasa de origen fúngico (*Aspergillus oryzae*) para obtener péptidos cortos con actividad antihipertensiva ricos en prolina a partir de hidrolizados de la caseína de la leche.

Sin embargo, la hidrólisis enzimática de proteínas frecuentemente conduce a la producción de un intenso sabor amargo, debido a la presencia de péptidos fuertemente hidrofóbicos, mientras que la reducción del número de aminoácidos aromáticos en los hidrolizados proteínicos mejora su sabor, el cual es un factor importante para el uso satisfactorio de una dieta especial (Tardioli *et al.*, 2003). Para lograr lo anterior se hace uso de enzimas de forma secuencial que generan altos grados de hidrólisis y reducen el contenido de aminoácidos hidrofóbicos, ejemplo de ello es que Pedroche *et al.* (2002) emplearon enzimas comerciales Alcalase™ 2,4 L (endoproteasa) y Flavourzyme™ 1000 MG (endo y exoproteasa) y obtuvieron hidrolizados proteínicos con un grado de hidrólisis (GH) de 65 %, esto es debido a que la Alcalase™ incrementa el número de sitios de N-terminales lo cual facilita la hidrólisis por la Flavourzyme™ que presenta ambas actividades.

### Estudios *in vitro* e *in vivo* de los péptidos antihipertensivos

Diversos estudios realizados tanto *in vitro* como *in vivo* para comprender el mecanismo de acción de los péptidos que inhiben la ECA, se resumen en dos puntos importantes: 1) tiene importancia fisiológica, porque en la administración oral, estos péptidos bioactivos tienen que llegar al torrente sanguíneo en una forma activa para ejercer su efecto antihipertensivo, ya que la digestión gastrointestinal y el transporte son las principales barreras de la biodisponibilidad de los péptidos y 2) la digestión por proteasas gastrointestinales puede ser usado como un proceso de producción de péptidos inhibitorios de la ECA, con la ventaja de que los péptidos que se forman son resistentes a la digestión fisiológica después de su ingestión (Vermeirssen *et al.*, 2003). Saiga *et al.* (2006) evaluaron el mecanismo de acción de péptidos que inhiben la ECA obtenidos del músculo de pechuga de pollo, ya que mediante un estudio previo obtuvieron la secuencia de un péptido denominado P4 (G-F-Hyp-G-T-Hyp-G-L-Hyp-G-

F) del cual, se sintetizaron seis secuencias de péptidos mediante el uso de un sintetizador simultáneo de péptidos-múltiples (modelo PSSM-8; Shimadzu, Kyoto, Japón). Los péptidos sintetizados que mostraron actividad de inhibición de la ECA *in vitro* fueron los que tenían en el C-terminal residuos de Hyp-G-F con un IC<sub>50</sub> = 433 µM, y en el N-terminal residuos de F-Hyp-G con un IC<sub>50</sub> = 171 µM. Aunque la presencia de seis residuos (Hyp- G-L-Hyp-G-F) en el C-terminal presentaron una fuerte actividad inhibitoria con un IC<sub>50</sub> = 10 µM y cuando el residuo de F del C-terminal del péptido original (P4) fue eliminado el valor de actividad inhibitoria cambió a un IC<sub>50</sub> = 25000 µM indicando que la F en el C-terminal del péptido es muy importante para la inhibición de la ECA.

Hata *et al.* (1996) evaluaron un placebo controlado de un producto fermentado japonés (Calpis™) con cepas de *Lactobacillus helveticus* y *Saccharomyces cerevisiae* sobre la presión sanguínea de 30 pacientes mayores de edad con hipertensión arterial y encontraron que a la octava semana de ingerir esta bebida fermentada la presión sanguínea sistólica disminuyó en 14,1 ± 3,1 mm/Hg y la presión sanguínea diastólica disminuyó en 6,9 mm/Hg. De manera similar, Seppo *et al.*, (2003) realizaron el primer estudio de una bebida de leche fermentada (Valio™) con cepas de *Lactobacillus helveticus* (LBK-16H) y evaluaron un placebo control, utilizándose para ello 39 pacientes hipertensos de forma aleatoria, logrando disminuir la presión sanguínea sistólica en 6,7 ± 3,0 mm/Hg y la presión sanguínea diastólica disminuyó en 3,6 ± 1,9 mm/Hg. En ambos experimentos se encontraron dos tripéptidos Val-Pro-Pro (VPP) e Ile-Pro-Pro (IPP) con actividad antihipertensiva, mismos que en estudios previos habían disminuido la presión arterial en ratas espontáneamente hipertensas (Nakamura *et al.*, 1995).

El mecanismo de acción de los péptidos antihipertensivos es de forma similar a la de los fármacos, ya que los tres últimos residuos de aminoácidos adyacentes a la región C-terminal de los péptidos que presentan actividad antihipertensiva se enlazan fuertemente al sitio activo de la ECA y se ha observado que éstos tienen una mayor especificidad de inhibición hacia aquellos péptidos que contengan residuos de aminoácidos hidrofóbicos (aromáticos o ramificados) en las tres últimas posiciones de la región C-terminal. Cabe mencionar que los residuos de aminoácidos como la K y R en las posiciones mencionadas anteriormente pero con carga positiva en el grupo ε amino también pueden contribuir en la inhibición de la ECA (Fitzgerald y Meisel, 2000).

Sin embargo, se ha postulado que este mecanismo de acción puede darse mediante interacciones de un enlace aniónico en sitios distintos a la región catalítica del sitio activo produciéndose un tipo de inhibición alostérica. Fitzgerald y Meisel (2000) mencionan que debido a que la ECA posee dos sitios catalíticos, puede existir diferencia en la afinidad por el sustrato, por lo que los péptidos bioactivos solamente pueden inhibir uno de los dos sitios

catalíticos, aunque todavía faltan elementos suficientes para reforzar esta afirmación.

### **Biodisponibilidad de los péptidos bioactivos**

Las proteínas y péptidos de la dieta están sujetos a cambios drásticos en su estructura durante los procesos de ingestión, digestión y absorción. La proteína ingerida es primero hidrolizada por varias proteinasas en el tracto gastrointestinal para producir oligopéptidos, algunos de los cuales puede ser biológicamente activos, mientras que algunas proteínas resisten a las proteinasas permaneciendo intactas en el tracto. Algunos de los oligopéptidos que son producidos después de ser hidrolizados por peptidasas a di y tri-péptidos que son digeridos por peptidasas que se encuentran en el borde en cepillo de la superficie de las células epiteliales para producir aminoácidos, mientras que otros permanecen sin ser hidrolizados hasta aminoácidos (Shimizu, 2004). Los di y tri-péptidos pueden ser absorbidos en forma intacta, atravesando la membrana intestinal, con ayuda de un sistema de transportadores peptídicos específicos, ejemplo de ello es el transportador peptídico PepT1, el cual emplea un gradiente electroquímico transmembranal de protones como fuerza de transporte y con amplia especificidad (Yang *et al.*, 1999).

También cabe mencionar que las proteínas y los péptidos pueden ser transportados pasivamente a través de la vía paracelular. La vía paracelular es una ruta de transporte no-degradativa manteniendo intactas las proteínas y los péptidos (Shimizu, 2004). El uso de un cultivo de células de monocapa Caco-2 del intestino humano sobre un filtro semipermeable demostró que la parte de la secuencia VPP adicionada por el lado apical de las células en monocapas pueden ser transportadas paracelularmente por el lado basal en una forma intacta, aunque una cantidad significativa de VPP fue transportada por células del intestino por la vía del transporte de péptidos, PepT1 y por aminoácidos hidrolizados por peptidasas intracelulares. Por lo que, en este estudio sugiere la importancia de la difusión pasiva paracelular como el principal mecanismo de transporte de pequeños péptidos bioactivos (Satake *et al.*, 2002)

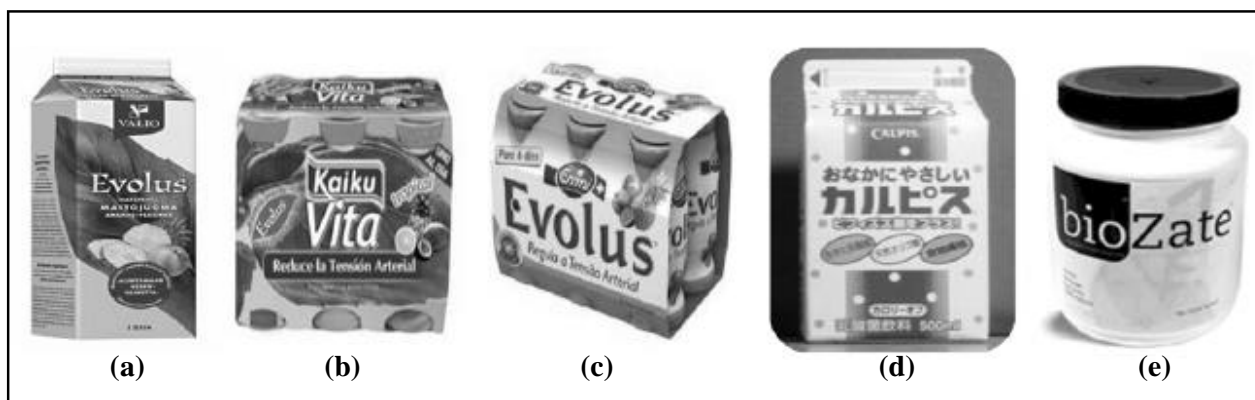
### **Perspectivas de uso de los péptidos antihipertensivos en la industria de los alimentos**

La dieta y/o sus componentes pueden contribuir a mejorar el estado de bienestar, a reducir los riesgos relacionados con ciertas enfermedades y regular el mejoramiento en la calidad de vida. Debido a lo anterior, los avances recientes en la ciencia de los alimentos y la nutrición han sostenido el concepto de que la dieta juega un papel significativo en la modulación de varias funciones en el cuerpo. Estos nuevos conceptos han conducido a la introducción de una nueva categoría de los alimentos comestibles que promuevan la salud, es decir, los alimentos

funcionales (Diplock *et al.*, 1999). La actividad de un alimento funcional esta basada en los componentes bioactivos, los cuales pueden estar contenidos naturalmente en el producto, pero usualmente requieren de formulaciones con tecnologías apropiadas con el objeto de optimizar las propiedades benéficas deseadas. Para este fin, a menudo es necesario el desarrollo y aplicación de nuevas tecnologías para lograr con ello un mínimo procesamiento (Korhonen, 2002).

La aplicación de tecnologías en el procesamiento debe enfocarse en dos aspectos importantes: (1) mantener al máximo la bioactividad durante el procesamiento y almacenamiento de los productos formulados y (2) la liberación de los componentes bioactivos deseados en los sitios requeridos del cuerpo (Bellisle *et al.*, 1998). Por lo anterior, es recomendable resaltar que también se deben tener en cuenta los procesos de manufactura aplicados a los productos que se están desarrollando ya que existen evidencias que el procesamiento de algunos productos pueden inactivar los componentes bioactivos que en el se encuentran; por ejemplo un tratamiento ácido destruye la glutamina y asparragina, mientras que un tratamiento alcalino destruye la cisteína, serina y treonina y produce lisinoalanina y D-aminoácidos (Amantharaman y Finot, 1993). Otros tratamientos químicos tales como la acilación, glicosilación, fosforilación, aquilación reductiva, succinilación o lipofilización pueden mejorar la funcionalidad de las proteínas pero ello puede implicar también efectos negativos debido a los posibles residuos químicos y modificación de aminoácidos, por lo que los tratamientos químicos de las proteínas destinados para consumo humano de la dieta deben ser desarrollados con precaución en la industria de los alimentos (Korhonen *et al.*, 1998).

Cabe mencionar que actualmente diversas empresas están incluyendo en sus productos componentes bioactivos, entre éstas se encuentra la compañía Valio LTD International (Finlandia), en la que se desarrolló un producto a fines del año 2000 llamado Evolus™ mientras que Vita Corporación Alimentaria (en España) desarrolló otro producto denominado Vita de Kaiku, ambos son leches fermentadas y el Evolus es una combinación de *Lactobacillus helveticus* y minerales. Esta cepa bacteriana tiene la capacidad de hidrolizar la proteína láctea (caseína) y formar con ellos péptidos bioactivos los cuales tienen la secuencia aminoacídica de IPP y VPP tripéptidos que actúan en la inhibición de la ECA. Además de que los componentes de ambos productos presentan un efecto benéfico sobre la presión sanguínea debido a su bajo contenido de sodio, presentan propiedades nutrimentales generadas por la adición benéfica de calcio, potasio y magnesio (Jauhainen *et al.*, 2002). En la Figura 4 se pueden observar los diversos productos que existen a la venta en el mercado Europeo (a, b y c), en Japón (d) y en los EUA (e), los cuales presentan actividad antihipertensiva en el organismo.



**Figura 4.** Productos que presentan actividad antihipertensiva.

**Figure 4.** Products with antihypertensive activity.

## CONCLUSIONES

Los péptidos antihipertensivos son una alternativa para la prevención y/o tratamiento de enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial; las cifras de muertes tanto a nivel mundial como nacional se han incrementado por ésta enfermedad. Aunque el tratamiento de este padecimiento se ha llevado a cabo con medicamentos sintéticos como el Captopril, Enalapril, entre otros, estos fármacos pueden presentar ciertas reacciones secundarias: tos, pérdida del sentido del gusto e inclusive provocar malformaciones congénitas, por lo que, actualmente diversos científicos e investigadores están prestando mayor atención a los componentes bioactivos de fuentes naturales (animales y vegetales) que tengan un efecto antihipertensivo sobre el organismo humano. Por lo anterior, diversas industrias (Valio LTD International, Kaiku Corporación Alimentaria, entre otras) han incluido en sus productos tripéptidos que presentan secuencia de aminoácidos de IPP y VPP los cuales pueden inhibir a la enzima convertidora de angiotensina (ECA) la cual es la responsable que se altere la presión sanguínea en el organismo. Sin embargo, hace falta buscar más materiales de origen natural, localmente situadas, ricas en proteínas para extraer péptidos con actividad antihipertensiva y estos mismos puedan incluirse en sistemas alimenticios para ofrecerlos al público consumidor que padecen de hipertensión arterial.

## AGRADECIMIENTOS

Esta revisión está enmarcada dentro del proyecto 25796 "Purificación y caracterización de péptidos con bioactividad antihipertensiva, antioxidante y antimicrobiana aislados de frijoles lima (*Phaseolus lunatus*) y caupí (*Vigna unguiculata*)", financiado por el CONACYT-México, y del proyecto "Purificación de péptidos con bioactividad antihipertensiva y antioxidante

obtenidos de frijol endurecido (*Phaseolus vulgaris*)" financiado por la industria Mexicana Coca-Cola como parte de la Cátedra 2007 para Jóvenes-Investigadores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Anantharaman, K.; Finot, P. A. 1993. Nutritional Aspects of Food Proteins in Relation to Technology. *Food Review International* **9**, 629-655.
- Atkinson, A. B.; Robertson, J. I. S. 1979. Captopril in the Treatment of Clinical Hypertension and Cardiac Failure. *Lancet* **2**, 836-839.
- Baltar, M. J.; Marín, I. R.; Álvarez, G. J. 2004. Toxicidad Fetal de los Fármacos Antihipertensivos. *Hipertensión* **21**(9), 455-465.
- Bellisle, F.; Diplock, A. K.; Hornstra, G.; Koletzko, B.; Roberfroid, M.; Salminen, S.; Saris, W. H. M. 1998. Functional Food Science in Europe. *British Journal of Nutrition* **80**, S1-S193.
- Brown, J. N.; Vaughan, E. D. 1998. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation* **97**, 1411-1420.
- Cheung, H. S.; Cushman, D. W. 1973. Inhibition of Homogeneous Angiotensin-Converting Enzyme of Rabbit Lung by Synthetic Venom Peptides of *Bothrops jararaca*. *Biochim Biophys Acta* **293**, 451-463.
- Cheung, H-S.; Wang, F-L.; Ondetti, A. M.; Sabo, F. Emily.; Cushman, W. David. 1980. Binding of Peptide Substrates and Inhibitors of Angiotensin-Converting Enzyme. Importance of the COOH-Terminal Dipeptide Sequence. *The Journal of Biological Chemistry* **255**(2), 401-407.
- Codario, A. R. 2005. ¿Qué es Mejor, Usar un Inhibidor de la ECA, un BRA o Ambos? Lo que nos Dicen los Estudios Clínicos. *Atención Médica* **18**(6), 52-66.
- Das Neves, M. R. A.; Campos, T.; Márquez, L. U. M. 2006. Modulação da Pressão Arterial por Hidrolisados Protéicos. *Brazilian Journal of Food Technology* **III** JIPCA, 81-86.
- De la Serna, F. 2006. Curso: Insuficiencia Cardíaca Crónica: Capítulo 4: Sistema Renina-Angiotensina. pp 42-63.
- Diplock, A. T.; Agget, P. J.; Ashwell, M.; Bornet, F. Fern, E. B.; Roberfroid, M. B. 1999. Scientific Concepts of

- Functional Foods in Europe: Consensus Document. *British Journal of Nutrition* **81**(suppl.) S1-S27.
- Ferreira, S. H. 1965. A Bradykinin-Potentiating Factor (BPF) Present in the Venom of *Bothrops jararaca*. *Br. J. Pharmacology* **24**, 163-169.
- Fitzgerald, R. J.; Meisel, H. 2000. Milk Protein-Derived Peptide Inhibitors of Angiotensin-I Converting Enzyme. *British Journal of Nutrition* **84**, S33-S37.
- Guadix, A.; Guadix, E. M.; Páez-Dueñas, M. P.; González-Tello, P.; Camacho, F. 2000. Procesos Tecnológicos y Métodos de Control en la Hidrólisis de Proteínas. *Ars Pharmaceutica* **41**(1), 79-89.
- Hata, Y.; Yamamoto, M.; Ohni, M.; Nakajima, K.; Nakamura, Y.; Tokano, T. 1996. A Placebo-Controlled Study of the Effect of a Sour Milk on Blood Pressure in Hypertensive Subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* **64**, 767-771.
- Hong, E.; Bravo, G.; Villalobos-Molina, R. (2003). Hipertensión Arterial. *Avance y Perspectiva*, **22**, 243-249.
- Jauhainen, T.; Korpela, R.; Mäyrä-Mäkinen, A. 2002. VALIO: Information About the Evolus® Fermented Milk. Printed by Lars Eriksen. Finland, pp 1-15.
- Je, J. Y.; Park, P. J.; Kwon, J. Y.; Kim, A. K. 2004. A Novel Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitory Peptide from Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) Frame Protein Hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 7842-7845.
- Jeong, J. H.; Lam, Y.; De Lumen, O. B. 2002. Barley Lunasin Suppresses Ras-induced Colony Formation and Inhibits Core Histone Acetylation in Mammalian Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 5903-5908.
- Jung, W.-K.; Mendis, E.; Je, J.-Y.; Park, P.-J.; Son, W. B.; Kim, C. H.; Choi, K. Y.; Kim, S.-K. 2006. Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptide from Yellowfin Sole (*Limanda aspera*) Frame Protein and Its Antihypertensive Effect in spontaneously Hypertensive Rats. *Food Chemistry* **94**, 26-32.
- Kamath, V.; Niketh, S.; Chandrashekar, A.; Rajini, S. P. 2007. Chymotryptic Hydrolysates of a-Kafrin, the Storage Protein of Sorghum (*Sorghum bicolor*) Exhibited Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity. *Food Chemistry* **100**, 306-311.
- Kitts, D. D.; Weiler, K. 2003. Bioactive Proteins and Peptides from Food Sources. Applications of Bioprocesses Used in Isolation and Recovery. *Current Pharmaceutical Desing* **9**(16), 1309-1323.
- Korhonen, H.; Pihlanto-Iepälä, A.; Rantamäki, P.; Tupasela, T. 1998. Impact of Processing on Bioactive Proteins and Peptides. *Trends in Food Science and Technology* **9**, 307-319.
- Korhonen, H. 2002. Technology Options for New Nutritional Concepts. *International Journal of Dairy Technology* **55**(2), 79-88.
- Kuba, M.; Kumi, T.; Tawata, S.; Takeda, Y.; Yasuda, M. 2003. Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptides Isolate from Tofuyo Fermented Soybean Food. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **67**(6), 1278-1283.
- Lee, N.-Y.; Cheng, J.-T.; Enomoto, T.; Nakamura, I. 2006. The antihypertensive activity of angiotensin-converting enzyme inhibitory peptide containing in bovine lactoferrin. *Chinese Journal of Physiology* **49**(2), 67-73.
- Lever, A. F.; Hole, D. J.; Gillis, C. R.; McInnes, G. T.; Meredith, P. A.; Murray, L. S.; Reid, J. L. 1999. Is Cancer Related to Hypertension or to Its Treatment?. *Clinical and Experimental Hypertension* **21**(5-6), 937-946.
- Loscalzo, J.; Creager, M. A.; Dzau, V. 1996. Vascular Medicine, a textbook of vascular biology and diseases. 2nd. Edition, Little, Brown and Company, Boston, New York, Toronto & London.
- Matsui, T.; Tamaya, K.; Seki, E.; Osajima, K.; Matsumoto, K.; Kawasaki, T. 2002. Val-Tyr as a Natural Antihypertensive Dipeptide can be Absorbed into the Human Circulatory Blood System. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **29**, 204-208.
- Matsui, T.; Hayashi, A.; Tamaya, K.; Matsumoto, K.; Kawasaki, T.; Murakami, K., and Kimoto, K.-I. 2003. Depression Effect Induced by Dipeptide, Val-Tyr, in Hypertensive Transgenic Mice is due, in Part, to the Suppression of Human circulating Renin-Angiotensin System. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **30**, 262-265.
- Megías, C.; Yust, M. M.; Pedroche, J.; Lquari, H.; Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; Millán, F.; Vioque, J. 2004. Purification of an ACE Inhibitory Peptide after Hydrolysis of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Protein Isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 1928-1932.
- Miguel, M.; Aleixandre, A. M.; Ramos, M.; López-Fandiño, R. 2006. Effect of Simulated Gastrointestinal Digestion on the Antihypertensive Properties of ACE-Inhibitory Peptides Derived from Ovalbumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 726-731.
- Mizuno, S.; Nishimura, S.; Matsuura, K.; Gotou, T.; Yamamoto, N. 2004. Release of Short and Proline-Rich Antihypertensive Peptides from Casein Hydrolysate with an *Aspergillus oryzae* Protease. *Journal of Dairy Science* **87**, 3183-3188.
- Nakagomi, K.; Yamada, R.; Ebisu, H.; Sadakane, Y.; Akizawa, T.; Tanimura, T. 2000. Isolation of Casein-2, a Novel Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptide Derived from a Tryptic Hydrolysate of Human Plasma. *Federation of European Biochemical Societies Letters (FEBS Letters)* **467**, 235-238.
- Nakamura, Y.; Yamamoto, N.; Sakai, K.; Okubo, A.; Yamazaki, S.; Takano, T. 1995. Purification and Characterization of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitors from Sour Milk. *Journal of Dairy Science* **78**(4), 777-783.
- Ondetti, M. A.; Rubin, B.; Cushman, D. W. 1977. Design of Specific Inhibitors of Angiotensin I-Converting Enzyme: New Class of Orally Active Antihypertensive Agents. *Science* **196**, 441-444.
- Pan, L.; Gross, W. K. 2005. Transcriptional Regulation of Renin: An Update. *Hypertension*, **45**, 3-8.
- Pedroche, J.; Yust, M. M.; Girón-Calle, J.; Alaiz, M. Millán, F.; Vioque, J. 2002. Utilisation of Chickpea Protein Isolates for Production of Peptides with Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE)-Inhibitory Activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **82**, 960-965.
- Pitt, B. 1997. ACE Inhibitors in Heart Failure: Prospects and Limitations. *Cardiovascular Drugs and Therapy* **11**, 285-290.

- Pozo-Bayón, M. A.; Alcaíde, M. J.; Polo, M. C.; Pueyo, E. 2007. Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Compounds in White and Red Wines. *Food Chemistry* **100**, 43-47.
- Rasmussen, M. 2005. Clinical studies with Evolus®. In Special symposium: Foods & Functionals: Research, results, partnership and progress. pp 1-36.
- Rosas, P. M.; Lara, E. A.; Pastelín, H. G.; Velázquez, M. O.; Martínez, R. J.; Méndez, O. A.; Lorenzo, N. J. A.; Lomelí, E. C.; González, H. A.; Herrera, A. J.; Tapia, C. R.; Attie, F. 2005. Re-Encuesta Nacional de Hipertensión Arterial (RENAHTA): Consolidación Mexicana de los Factores de Riesgo Cardiovascular. Cohorte Nacional de Seguimiento. *Archivos de Cardiología de México* **75**(1), 96-111.
- Saiga, A.; Okumura, T.; Makihara, T.; Katsuda, A-I.; Morimatsu, F.; Nishimura, T. 2006. Action Mechanism of an Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptide Derived from Chicken Breast Muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 942-945.
- Satake, M.; Enjoh, M.; Nakamura, Y.; Takano, T.; Kawamura, Y.; Arai, S.; Shimizu, M. 2002. Transepithelial Transport of the Bioactive Tripeptide, Val-Pro-Pro, in Human Intestinal Caco-2 Cell Monolayers. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **66**, 378-384.
- Scow, T. D.; Smith, G. E.; Shaughnessy, F. A. 2003. Combination Therapy with ACE Inhibitors and Angiotensin-Receptor Blockers in Heart Failure. *Clinical Pharmacology*, **68**(9), 1795-1798.
- Seppo, L.; Jauhiainen, T.; Poussa, T.; Korpela, R. 2003. A Fermented Milk High in Bioactive Peptides Has a Blood Pressure-Lowering Effect in Hypertensive Subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* **77**, 326-330.
- Shimizu, M. 2004. Food-Derived Peptides and Intestinal Functions. *BioFactors* **21**, 43-47.
- Tardioli, W. P.; Fernández-Lafuente, R.; Guisán, M. J.; Giordano, C. R. L. 2003. Design of New Immobilized-Stabilized Carboxypeptidase A Derivative for Production of Aromatic Free Hydrolysates of Proteins. *Biotechnology Progress* **19**(2), 565-574.
- Van der Ven, C.; Gruppen, H.; De Bont, A. B. D.; Voragen J. G. A. 2002. Correlations between Biochemical Characteristics and Foam-Forming and -Stabilizing Ability of Whey and Casein Hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 2938-2946.
- Vázquez, V. A.; Cruz, A. N. M.; Vázquez, C. A.; Millán, P. A. 1998. Inhibidores de la Enzima de Conversión de la Angiotensina en el Tratamiento de la Hipertensión Arterial. *Revista Cubana de Farmacología* **32**(3), 204-210.
- Velázquez, M. O.; Rosas, P. M.; Lara, E. A.; Pastelín, H. G. (ENSA-2000); Attie, F.; Tapia, R. C. 2003. Prevalencia e Interrelación de las Enfermedades Crónicas no Transmisibles y Factores de Riesgo Cardiovascular en México. *Archivos de Cardiología de México* **73**, 62-77.
- Vermeirssen, V.; Van, C. J.; Devos, L.; Verstraete, W. 2003. Release of Angiotensin I Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Activity During in Vitro Gastrointestinal Digestion: from Batch Experiment to Semicontinuous Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 5680-5687.
- Vioque, J.; Sánchez-Vioque, R.; Clemente, A.; Pedroche, J.; Yust, M. M.; Millán, F. 2000. Péptidos Bioactivos en Proteínas de Reserva. *Grasas y Aceites* **51**(5), 361-365.
- Vioque, J.; Clemente, A.; Pedroche, J.; Yust, M. M.; Millán, F. 2001. Obtención y Aplicaciones de Hidrolizados Proteícos. *Grasas y Aceites* **52**(2), 132-136.
- Vioque, J.; Pedroche, J.; Yust, M. M.; Lqari, H.; Megías, C.; Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; Millán, F. 2006. Peptídeos Bioativos em Proteínas Vegetais de Reserva. *Brazilian Journal of Food Technology* **III JIPCA**, 99-102.
- Wang, W.; Gonzalez de Mejía, E. 2005. A new Frontier in Soy Bioactive Peptides that May Prevent Age-Related Chronic Diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **4**, 63-78.
- WHO, 2002. World Health Organization. The World Health Report 2002: Reducing Risks, Promoting Healthy Life. Ginebra. pp 13-15.
- Yang, C. Y.; Dantzig, A. H.; Pidgeon, C. 1999. Intestinal Peptide Transport Systems and Oral Drug Availability. *Pharmaceutical Research* **16**, 1331-1343.
- Yang, Y.; Marczak, D. E.; Yokoo, M.; Usui, H.; Yoshikawa, M. 2003. Isolation and Antihypertensive Effect of Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptides from Spinach Rubisco. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 4897-4902.