



# **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Unidad de Posgrado**

## **“Potencial neuroprotector de péptidos obtenidos mediante hidrólisis enzimática de las proteínas solubles aisladas de las semillas de *Lupinus mutabilis* (tarwi)”**

### **TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Biotecnología

### **AUTOR**

**Adrian Arturo INTIQUILLA QUISPE**

### **ASESORES**

**Karim Lizeth JIMÉNEZ ALIAGA**

**Acela Inés ARNAO SALAS**

Lima, Perú

2018

## RESUMEN

El cerebro es un órgano sensible al estrés oxidativo, por ende la búsqueda de nuevas moléculas antioxidantes constituye uno reto en el tratamiento preventivo de enfermedades neurodegenerativas. En los últimos años se vienen reportando péptidos bioactivos provenientes de hidrolizados de proteínas de leguminosas con buen perfil antioxidante que podrían tener potencial neuroprotector. *Lupinus mutabilis* (tarwi) es una leguminosa oriunda de los andes sudamericanos cuyas semillas contienen hasta 50% de proteínas, y podrían ser una fuente potencial de péptidos bioactivos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial neuroprotector de los péptidos obtenidos mediante hidrólisis enzimática de forma secuencial de la proteína soluble aislada de las semillas de tarwi. Las semillas fueron sometidas a un proceso de deslupinizado para la eliminación de alcaloides y a un proceso de deslipidizado con etanol previo a la obtención del concentrado proteico el cual incrementó su contenido proteico hasta 76.74% y que fueron hidrolizadas utilizando de forma secuencial las enzimas pepsina 0,7 FIP (Federación Internacional de Farmacia)- U/mg (HP), pancreatina 350 FIP- U/g (HPP) y Alcalasa 2,4 U/g proteína (HPPA), durante 30, 60 y 138 min, respectivamente. El HPPA presentó un buen grado de hidrólisis ( $46.12 \pm 2.77\%$ ), y se separó en tres fracciones peptídicas UF1, UF2 y UF3 de tamaños, > a 10 kDa, 3-10 kDa y < a 3 kDa, respectivamente. La UF3 presentó mayor actividad antioxidante con valores de  $5.34 \pm 0.45$  y  $7.62 \mu\text{mol ET} / \text{mg proteína}$  según los métodos ABTS y ORAC, respectivamente y una actividad quelante de  $\text{Fe}^{+2}$  de  $96.39 \pm 2.56\%$  con 5  $\mu\text{g}$  de proteína. Para evaluar el potencial neuroprotector de las fracciones se utilizó un modelo celular de peroxidación lipídica inducida con sulfato ferroso en tejido cerebral de ratón. La UF3 fue capaz de inhibir la peroxidación lipídica en  $40.52 \pm 1.13\%$  a una concentración de 0.0125 mg/mL ( $p < 0.05$ ). Por tanto, la fracción menor a 3 kDa obtenida se podría utilizar como ingrediente de alimentos funcionales con potencial en la prevención o tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

**Palabras clave:** *Lupinus mutabilis*, fracciones peptídicas, antioxidante, neuroprotector

## ABSTRACT

The brain is an organ sensitive to oxidative stress, therefore the search for antioxidant molecules is one of the pillars in the investigation of potential molecules for the prevention of neurodegenerative diseases. In recent years, bioactive peptides from legume protein hydrolysates with a good antioxidant profile that could have neuroprotective potential have been reported. *Lupinus mutabilis* (tarwi) is a legume native to the South American Andes whose seeds contain up to 50% of proteins, therefore they constitute a potential source of bioactive peptides. The objective of the present work was to evaluate the neuroprotective potential of the peptides obtained by sequential enzymatic hydrolysis of the soluble protein isolated from tarwi seeds. The seeds were subjected to a process of delipidation for the elimination of alkaloids and a delipidation process with ethanol prior to obtaining the protein concentrate which increased its protein content to 76.74% and which were hydrolysed using pepsin 0 enzymes sequentially, 7 FIP (International Federation of Pharmacy) - U / mg (HP), pancreatin 350 FIP-U / g (HPP) and Alcalase 2.4 U / g protein (HPPA), for 30, 60 and 138 min, respectively. HPPA showed a good degree of hydrolysis ( $46.12 \pm 2.77\%$ ), and separated into three UF1, UF2 and UF3 peptide fractions of sizes, > 10 kDa, 3-10 kDa and <3 kDa, respectively. UF3 showed higher antioxidant activity with values of  $5.34 \pm 0.45$  and  $7.62 \mu\text{mol ET} / \text{mg protein}$  according to the ABTS and ORAC methods, respectively and a Fe + 2 chelating activity of  $96.39 \pm 2.56\%$  with 5  $\mu\text{g}$  of protein. To evaluate the neuroprotective potential of the fractions, a cellular model of lipid peroxidation induced with ferrous sulfate in mouse brain tissue was used. UF3 was able to inhibit lipid peroxidation at  $40.52 \pm 1.13\%$  at a concentration of 0.0125 mg / mL ( $p < 0.05$ ). Therefore, the fraction lower than 3 kDa obtained could be used as an ingredient of functional foods with potential in the prevention or treatment of neurodegenerative diseases.

**Key words:** *Lupinus mutabilis*, peptide fractions, antioxidant, neuroprotector