

© 2023 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).
TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 26: 1-13, 2023.
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.598>

Actividad biológica de las proteínas de leguminosas del género *Vigna*: Una breve revisión

Pedro Mancera-Castro, Leopoldo González-Cruz
y Aurea Bernardino-Nicanor*

Departamento de Ingeniería Bioquímica, Tecnológico Nacional de México/IT
Celaya, Antonio García Cubas Pte. # 600, Celaya 38010, Guanajuato, México.
E-mail: *aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx

RESUMEN

Las especies del género *Vigna*, que pertenecen al grupo de las leguminosas, presentan un alto contenido de proteínas, entre las que destacan, por su importancia, las albúminas y las globulinas, cuya función principal es la de reserva, pero también algunas de ellas se ocupan de la defensa contra los hongos, los insectos y los microorganismos, como es en el caso de las lectinas, inhibidores de las proteasas, las α -amilasas, las defensinas, las proteínas de transferencia de lípidos (nsLTPs), tioninas y ciclótidos, entre otras. Actualmente, todas estas proteínas, así como los péptidos que se obtienen de su hidrólisis, se consideran relevantes debido a la actividad biológica que han demostrado al tener un efecto: anticancerígeno, antihipertensivo, antidiabético, antioxidante, antimicrobiano, antifúngico, antiviral e insecticida. Es por ello, que también las especies de *Vigna* son recursos valiosos para el desarrollo de alimentos funcionales, productos farmacéuticos y agrícolas.

Palabras clave: actividad biológica, péptidos bioactivos, proteínas de reserva, *Vigna*.

Biological activity of proteins from legumes of the *Vigna*'s genus: A brief review

ABSTRACT

Plant species of the genus *Vigna* belong to the group of legumes, they have a high protein content, including albumins and globulins, being the main function as storage proteins; however, they perform defense functions against fungi, insects, and microorganisms, such as the case of lectins, protease inhibitors, α -amylase inhibitors, defensins, lipid transfer proteins (nsLTPs), thionins, cyclotides, among others. Currently, all these proteins, as well as the peptides obtained from their hydrolysis, are considered relevant due to the biological activity they have demonstrated, including anticancer, antihypertensive, antidiabetic, antioxidant, antimicrobial, antifungal, antiviral, and insecticidal properties. These diverse biological activities underscore the potential of *Vigna* species as valuable resources for developing functional foods and pharmaceutical and agricultural products.

Keywords: biological activity, bioactive peptides, proteins, *Vigna*.

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas han sido utilizadas en la nutrición humana desde hace miles de años; son consideradas la segunda fuente alimentaria más importante después de los cereales, ya que presentan un alto valor nutricional al proveer en su consumo carbohidratos (~60%), lípidos (~5%) y un alto contenido de proteínas (20-45%) (Maphosa & Jideani, 2017). Además, se ha demostrado que las leguminosas son una importante fuente de moléculas bioactivas, como las proteínas, los péptidos, la fibra dietaria (soluble e insoluble), los glucósidos y los compuestos fenólicos, entre otros (Muzquiz *et al.*, 2012; Sparvoli, Bollini & Cominelli, 2015); los cuales no solo representan un principal sistema de defensa contra los depredadores, sino también son componentes de reserva para la germinación, y algunos de ellos son sintetizados en condiciones de estrés ambiental para asegurar la supervivencia de la planta (Muzquiz *et al.*, 2012). Por otra parte, para los humanos, las leguminosas son importantes por su valor nutricional y sus efectos benéficos a la salud, por lo que se han estudiado sus propiedades para prevenir y controlar las enfermedades crónico-degenerativas (Muzquiz *et al.*, 2012; Sparvoli *et al.*, 2015).

De manera particular, las proteínas de las leguminosas han mostrado tener actividad biológica, por lo que actualmente, se les considera agentes terapéuticos, farmacológicos y nutracéuticos (Jiang, Obiro, Li, Zhang & Mu, 2010), tal es el caso, de las

lectinas, inhibidores de las proteasas y las α -amilasas, las globulinas, las albúminas y los péptidos bioactivos; también a las proteínas que por sus características fisicoquímicas y estructurales particulares no se les ha podido clasificar en un grupo específico (Sánchez-Chino, Jiménez-Martínez, Dávila-Ortiz, Álvarez-González & Madrigal-Bujaidar, 2015; Arise *et al.*, 2019).

Entre las leguminosas de mayor importancia económica, nutricional y farmacológica se encuentran las que pertenecen al género *Vigna*, que incluye alrededor de 100 especies que se clasifican en siete subgéneros (Boukar, Bhattacharjee, Fatokun, Kumar & Gueye, 2013). Sin embargo, solo diez especies de tres subgéneros han sido domesticadas (Tomooka *et al.*, 2011; Pandiyan *et al.*, 2012; Harouna, Venkataramana, Ndakidemi & Matem, 2018). El resto de las especies se encuentran en forma silvestre (Harouna *et al.*, 2018). Por ejemplo, las siguientes especies fueron domesticadas: dos del subgénero *Vigna* en África: *cowpea* (*V. unguiculata*) y *Bambara groundnut* (*V. subterranea*); seis especies del subgénero *Ceratotropis* en países Asiáticos: *mung bean* (*V. radiata*), *black gram* (*V. mungo*), *moth bean* (*V. aconitifolia*), *rice bean* (*V. umbellata*), *azuki bean* (*V. angularis*) y *creole bean* (*V. glabrescens*) y una especie del subgénero *Plectotropis* en países Euroasiáticos: *tuber cowpea* (*V. vexillata*) (Tomooka *et al.*, 2011). Entre las especies del género *Vigna* y sus variedades se observan cambios genotípicos y fenotípicos como se muestra en la Figura 1, en la que se

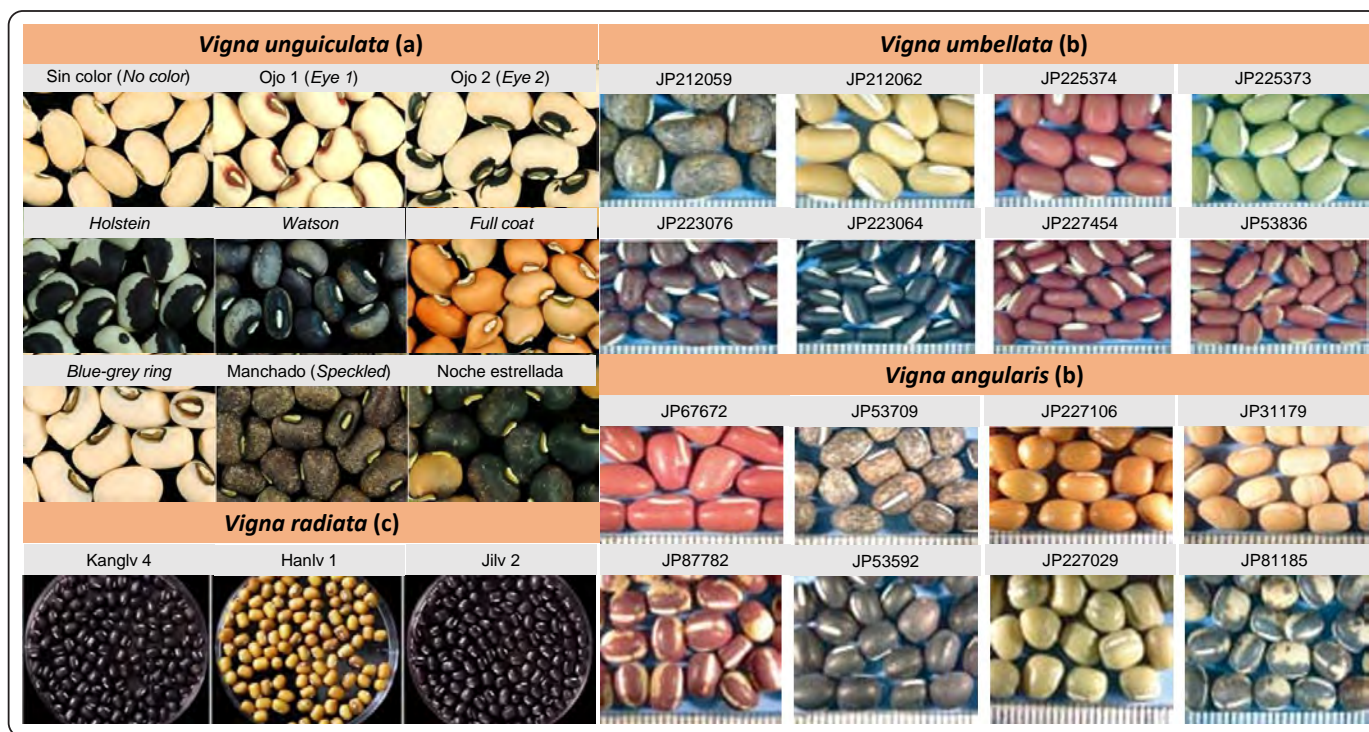


Figura 1. Variabilidad genética y fenotípica de las semillas de algunas especies del género *Vigna* cultivadas alrededor del mundo (Modificado y compilado de (a) Herniter *et al.* (2019), (b) Tomooka (2009) y (c) Wang *et al.* (2021)).

destaca la variabilidad y amplitud del género (Harouna *et al.*, 2018; Tomooka *et al.*, 2011).

Debido a la importancia que representan las proteínas del género *Vigna* en el ámbito nutricional, farmacológico y nutraceutico, esta revisión tiene como objetivo integrar los diferentes estudios que se han realizado hasta el momento, dirigidos a caracterizar la actividad biológica de distintas proteínas provenientes de las especies del género *Vigna*.

ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA DE LAS PROTEÍNAS DE *VIGNA*

Según la información publicada en la base de datos *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN, 2020), el cáncer presentó 19,292,789 nuevos casos alrededor del mundo en el año 2020, siendo el cáncer de mama el de mayor prevalencia (11.72%), seguido por el de pulmón (11.44%), el colorrectal (10.01%), el de próstata (7.33%), el de estómago (5.65%), el de hígado (4.69%), el cervicouterino (3.13%) y otros órganos (34.31%). Si bien es cierto que el cáncer es una enfermedad multifactorial, las principales causas que se han vinculado a su desarrollo son los factores ambientales y las mutaciones genéticas que pueden ser provocadas por herencia o por errores en la replicación del DNA (Tomasetti, Li & Vogelstein, 2017). Además, existen otros factores de riesgo como son la obesidad, el consumo de tabaco y de alcohol, la inactividad física, y la exposición a toxinas ambientales o alimentarias (Zitvogel, Pietrocola & Kroemer, 2017).

Debido a la prevalencia de esta enfermedad a nivel mundial, se han realizado diversas investigaciones para utilizar a las proteínas y a los péptidos bioactivos de las leguminosas como, potenciales, moléculas terapéuticas por su capacidad de inducir la muerte específica de las células cancerosas mediante diferentes mecanismos como la apoptosis, la necrosis, la afectación del equilibrio tubulina-microtúbulos e inhibiendo la angiogénesis (González-Montoya, Cano-Sampedro & Mora-Escobedo, 2017).

Los aislados proteínicos y las proteínas bioactivas como las lectinas, los inhibidores de las proteasas y las α -amilasas, de las especies del género *Vigna* han sido investigadas por su efecto anticancerígeno. Por ejemplo: Chen, Wang, Liu & Chen (2016) demostraron el potencial antiproliferativo de los aislados proteínicos de *V. angularis* y de *V. mungo*, en la línea celular SKOV3 (cáncer de ovario), logrando obtener el IC_{50} con 720.4 y IC_{50} de 505.1 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, así como con la línea celular SMMC-7721 (células del carcinoma hepatocelular), cuyo IC_{50} se logró alcanzar con 391 y 323.6 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, efecto que fue asociado con la presencia de las lectinas de 36 kDa. Es de considerar que, el uso de aislados proteínicos obtenidos de 5 variedades de *V. unguiculata* afectaron la proliferación de las líneas celulares MCF-7 (cáncer de mama) y A549 (cáncer de pulmón humano) induciendo la activación de la apoptosis y la necrosis (Thumbrain, Dwarka, Gerrano & Mellem, 2020).

Gupta, Srivastava & Bhagyawant (2018), determinaron el efecto antiproliferativo de una fracción de vicilina (una proteína de reserva) de *V. radiata* sobre las líneas celulares de cáncer de mama: MCF-7 (IC_{50} 0.32 mg/mL) y MDA-MB-231 (IC_{50} 0.26 mg/mL). Mientras que, Moharib (2018) purificó a la enzima L-asparaginasa que se produce en las semillas de *V. unguiculata* y evaluó su actividad antiproliferativa en cuatro líneas celulares: HCT-116 (línea celular de carcinoma de colon humano) (IC_{50} ~8.1 $\mu\text{g/mL}$), HEPG2 (carcinoma hepatocelular humano) (IC_{50} ~5.2 $\mu\text{g/mL}$), HELA (línea celular de cáncer cervicouterino) (IC_{50} ~9.7 $\mu\text{g/mL}$) y MCF-7 (cáncer de mama) (IC_{50} ~15.0 $\mu\text{g/mL}$). Estos resultados se asociaron al arresto del ciclo celular que induce a la apoptosis, y es atribuido a la falta de nutrientes, principalmente del aminoácido L-asparagina, involucrado en la replicación de las células tumorales.

De acuerdo con estos y otros estudios, el efecto fisiológico de los aislados proteínicos de las distintas especies de *Vigna* contra las líneas celulares cancerígenas, se debe solo a algunos fragmentos de aminoácidos que se encuentran encriptados en la proteína nativa, pero que son liberados por efecto de la hidrólisis enzimática, física, química, o microbiana, durante su extracción. Estos fragmentos se denominan péptidos bioactivos (González-Montoya *et al.*, 2017).

PÉPTIDOS BIOACTIVOS CON PROPIEDAD ANTIHIPERTENSIVA

La hipertensión arterial es una enfermedad multifactorial que involucra cambios metabólicos y hormonales en las personas que la padecen (Friso, Carvajal, Pizzolo, Fardella & Olivieri, 2017). El diagnóstico médico de la hipertensión arterial no es sencillo debido a que frecuentemente no presenta síntomas, más allá de la elevada presión arterial ($\geq 140/90$ mm de Hg) del paciente (Zahedmehr, 2018). Los tratamientos para la hipertensión arterial, generalmente se basan en la modificación del estilo de vida, además del seguimiento con un tratamiento farmacológico (Unger *et al.*, 2020; Gopar-Nieto, Ezquerra-Osorio, Chávez-Gómez, Manzur-Sandoval & Raymundo-Martínez, 2021). Dentro de los fármacos más usados para la hipertensión arterial se encuentran; los bloqueadores de los canales de calcio, los diuréticos tiazídicos, los beta-bloqueadores, los alfa-bloqueadores, los antagonistas de aldosterona, los vasodilatadores e inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Gopar-Nieto *et al.*, 2021); que actúan sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona para regular la presión sanguínea (Consolim-Colombo & Bortolotto, 2018). Sin embargo, algunos pacientes pueden presentar efectos adversos con la ingesta de estos fármacos, cuando los usan como tratamiento a largo plazo, siendo los más comunes; el mareo, el dolor de cabeza, la fatiga y la tos (Joshi, Dahake & Suthar, 2010). Por ello, el reto actual es encontrar biomoléculas con actividad antihipertensiva con pocos o nulos efectos adversos en los pacientes, siendo las proteínas de fuentes vegetales el mejor recurso para ello. Sin embargo, hasta ahora, los principales estudios se han centrado en los

hidrolizados y péptidos bioactivos de las proteínas (Tabla I), que presentan un mecanismo de acción *in vitro* similar a los fármacos tradicionales, por su capacidad de controlar la acción de las enzimas que participan en el proceso de regulación de la presión sanguínea como la renina y la enzima convertidora de angiotensina (ECA) (Aluko, 2015).

Dentro de los diferentes estudios que se han llevado a cabo con las proteínas y los péptidos del género *Vigna*, se ha determinado la secuencia de los aminoácidos de algunos péptidos por medio de la espectrometría de masas, e investigado su posible bioactividad en la inhibición de la ECA mediante análisis *in silico*. En este contexto, Mune Mune, Minka & Henle (2018) identificaron seis péptidos de las proteínas de *V. subterranea*, obtenidos por medio de la hidrólisis proteínica con termolisina descubriendo que presentaban actividad inhibitoria sobre la ECA (IC₅₀): Ala-Arg (95.5 µM), Val-Lys (13.0 µM), Val-Tyr (7.1 µM), Ile-Pro- (130.0 µM), Phe-Gly (3700.0 µM) y Phe-Tyr (25.0 µM). Por otra parte, Sonklin, Alashi, Laohakunjit, Kerdchoechuen & Aluko (2020) identificaron cuatro péptidos, más con masa molecular entre 497 Da y 960 Da, obtenidos de la hidrólisis de la proteína de *V. radiata* con bromelina, e igual que en el caso anterior inhibieron la actividad de la ECA (IC₅₀): Leu-Pro-Arg-Leu (1912.0 µM), Leu-Arg-Leu-Glu-Ser-

Phe (5.39 µM), Pro-Gly-Ser-Gly-Cys-Ala-Gly-Thr-Asp-Leu (57.86 µM) y His-Leu-Asn-Val-Val-His-Glu-Asn (50.88 µM).

Estos descubrimientos son un aliciente en la investigación para el desarrollo de un tratamiento, contra la hipertensión arterial, como una alternativa más segura y efectiva en comparación con los fármacos que hasta ahora se han utilizado en este padecimiento. Por lo que es necesario enfocar los estudios al desarrollo, análisis y aplicación de extractos, aislados proteínicos y péptidos, en las pruebas clínicas, cuyos resultados validen su aplicación.

PÉPTIDOS BIOACTIVOS CON CAPACIDAD ANTIDIABÉTICA

En la actualidad, los medicamentos más utilizados en el control del índice glicémico y el tratamiento de la DM2 (diabetes mellitus tipo 2), son los inhibidores de las enzimas asociadas al metabolismo de la glucosa, que incluyen la α-amilasa, la α-glucosidasa y la dipeptidil-peptidasa-IV (DPP-IV). Sin embargo, estos fármacos presentan efectos secundarios como la hipoglicemia y problemas gastrointestinales, por mencionar algunos; por esto, el reto actual es encontrar moléculas bioactivas de fuentes vegetales que sean coadyuvantes en los padecimientos antes mencionados y evitar el consumo de los medicamentos que se usan actualmente (Xu, Li, Dai & Peng, 2018).

Tabla I. Efecto inhibitorio de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) de hidrolizados de proteínas y péptidos bioactivos de especies del género *Vigna*.

Especie	Fuente de proteína	Enzima empleada para la hidrólisis	Fracción	ECA (IC ₅₀ mg/mL)	Control positivo (IC ₅₀ mg/mL)	Referencias
<i>V. radiata</i>	Vicilina	-	Vicilina pura	0.66	Captopril 0.0000326	Gupta <i>et al.</i> , 2018
		Alcalasa®	Hidrolizado	0.32		
		Tripsina	Hidrolizado	0.54		
	Harina desengrasada	Bromelina	Hidrolizado	0.69	NU	Sonklin <i>et al.</i> , 2020
			Péptidos (1-5 kDa)	0.64		
			Péptidos (<1 kDa)	0.50		
<i>V. unguiculata</i>	Concentrado proteínico	Pepsina-pancreatina	Péptidos (<1 kDa)	0.402	Enalapril 7.46	Cú-Cañetas, Ancona, Tintoré, Peraza & Guerrero, 2015
			Flavourzima®	Péptidos (<1 kDa)		
			Péptidos (>1 kDa)	1.222		
<i>V. subterranea</i>	Aislado proteínico	Alcalasa®	Hidrolizado	0.0518	NU	Mune <i>et al.</i> , 2018
		Tripsina	Hidrolizado	0.5364		
		Termolisina	Hidrolizado	0.0965		
<i>V. angularis</i>	Albúminas	Digestión gastrointestinal	Hidrolizado	6.23	NU	Durak, Baraniak, Jakubczyk & Swieca, 2013
	Globulinas		Hidrolizado	1.03		
	Prolaminas		Hidrolizado	0.17		
	Glutelinas		Hidrolizado	3.19		

NU: no utilizado.

Con este propósito, Mune Mune *et al.* (2018) evaluaron la inhibición de la actividad de la enzima DPP-IV tras su exposición a los hidrolizados de semillas de *V. subterranea* con Alcalasa®, termolisina y tripsina, mostrando valores de IC₅₀ (mg/mL) de 44.25, 44.19 y >2.5, respectivamente. En este estudio, los autores identificaron once péptidos con actividad inhibitoria sobre DPP-IV en hidrolizados con termolisina: Leu-Asn, Ile-Asn, Val-Lys, Val-Gln, Val-Asp, Leu-Thr, Leu-Asn, Ile-Asn, Val-Glu, Val-Tyr e Ile-Pro.

De manera similar, Castañeda-Pérez *et al.* (2019) evaluaron la actividad antidiabética *in vitro* de distintos hidrolizados proteínicos de *Vigna unguiculata* producidos por la digestión de Alcalasa®-Flavourzima® [AF] y pepsina-pancreatina [PP], así como de sus respectivas fracciones de péptidos (FP). Los resultados indicaron que los siguientes compuestos presentaron actividad inhibitoria sobre alguna de las enzimas involucradas en el metabolismo de la glucosa: los péptidos producidos por el sistema secuencial AF presentaron actividad alta, sobre la α -amilasa con la FP >10 kDa (IC₅₀ 31.58 mg/mL), mientras que la FP >10 kDa (IC₅₀ 0.633 mg/mL) y al hidrolizado (IC₅₀ 1.81 mg/mL) mostraron inhibición sobre la α -glucosidasa y este último también influyó en la enzima DPP-IV (IC₅₀ 2.06 mg/mL). En el caso del sistema PP, el FP-3 kDa (IC₅₀ 65.79 mg/mL) y el FP >10 kDa (IC₅₀ 40.17 mg/mL) actuaron sobre la α -amilasa, y la FP <1 kDa (IC₅₀ 189.04 mg/mL) lo hizo sobre la α -glucosidasa. Es importante mencionar que las fracciones con actividad inhibitoria sobre las enzimas relacionadas con el metabolismo de la glucosa no presentaron citotoxicidad *in vitro* sobre las células Vero¹.

PÉPTIDOS DE *VIGNA* CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los organismos aeróbicos están equipados con una variedad de moléculas antioxidantes que funcionan como contrapeso a los efectos negativos de los compuestos oxidantes. Estos antioxidantes se clasifican en enzimáticos (por incluir a las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, etc.) y no enzimáticos (retinol, tocoferoles, ácido ascórbico, carotenoides, y glutatión, entre otros) (Birben, Sahiner, Sackesen, Erzurum & Kalayci, 2012).

Apak, Özyürek, Güçlü & Çapanoğlu (2016) definieron el término antioxidante como “sustancias naturales o sintéticas que tienen un potencial de reducción claramente positivo, ya que pueden prevenir o retrasar el daño celular oxidativo, causado por oxidantes fisiológicos, tales como ROS (especies

reactivas de oxígeno, RNS (especies reactivas de nitrógeno) y radicales libres (por ejemplo, moléculas inestables o iones con electrones desapareados)”.

Actualmente, se han desarrollado diferentes métodos para determinar el potencial antioxidante de las muestras de origen biológico, entre los que destacan; el uso del radical 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazilo (DPPH), poder antioxidante reductor del hierro (FRAP), 2,2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS) y el potencial antioxidante total para atrapar radicales (TRAP), entre otros, (Tabla II).

Se ha demostrado que las proteínas de las semillas del género *Vigna* tienen la propiedad de disminuir la actividad de los radicales libres, por ejemplo, Chen *et al.* (2016) obtuvieron aislados proteínicos por medio de la precipitación isoeléctrica de los extractos de las semillas de *V. angularis* y *V. mungo*, que neutralizaron al radical DPPH alcanzando el IC₅₀ con 0.61 y 1.47 mg/mL respectivamente, así mismo sucedió con el método FRAP al lograr el IC₅₀ con concentraciones de 0.68 y 0.61 mg/mL respectivamente. De forma similar, Thumbra *et al.* (2020) reportaron la actividad antioxidante del aislado proteínico de 5 variedades de *V. unguiculata*, y un IC₅₀ contra los radicales DPPH (1.64-4.35 mg/mL), ABTS (0.46-3.08 mg/mL), TRAP (0.75-8.82 mg/mL) y FRAP (1.13-5.89 mg/mL).

Por otra parte, Gupta *et al.* (2018) aislaron y purificaron una fracción de la globulina de las semillas de *V. radiata*. La globulina fue identificada como vicilina, y consiste en cuatro subunidades con una masa molecular de 66.2, 45.0, 35.0 y 25.0 kDa. La actividad antioxidante de la proteína se analizó *in vitro* con seis métodos independientes: DPPH (IC₅₀ 2.2 μ g/mL), ABTS (IC₅₀ 1.95 μ g/mL), FRAP (444.52 mmol Fe²⁺/mg), ensayo del poder reductor (~0.25%), actividad quelante de metales (32.31%) y actividad de eliminación del peróxido de hidrógeno (~15%). Asimismo, Mancera-Castro *et al.* (2021) evidenciaron el potencial antioxidante de un aislado proteínico y una fracción de lectina de las semillas de *V. unguiculata* con los métodos ABTS (~60 y ~250 μ mol trolox/g, respectivamente) y FRAP (~8 μ mol trolox/g solo para el aislado).

Respecto a la actividad antioxidante de los hidrolizados y los péptidos bioactivos Mune Mune *et al.* (2018) determinaron que los primeros al ser obtenidos con las enzimas Alcalasa®, termolisina y tripsina a partir de las proteínas de *V. subterranea* presentan actividad sobre el DPPH (0.781, 1.323 y 5.522 μ g trolox/mg, respectivamente), así como con la quelación del Fe²⁺ (0.498, 0.702 y 1.016 mg trolox/mg, respectivamente). También identificaron al péptido Val-Tyr con posible actividad antioxidante del hidrolizado obtenido con termolisina.

Por otra parte, Kusumah, Real Hernandez & Gonzalez de Mejia (2020) evaluaron el efecto de las enzimas termolisina, pepsina, pepsina-pancreatina y el tiempo de hidrólisis (intervalo de 0

1 Las células Vero pertenecen a un linaje celular utilizado en cultivos celulares y fueron aisladas a partir de las células epiteliales del riñón de un mono verde africano (*Chlorocebus* sp.). No son cancerígenas, y a menudo se utilizan como control en experimentos para comparar el comportamiento de otros tipos de células, en los campos de la investigación en microbiología, biología molecular y celular (Ammerman, Beier-Sexton & Azad, 2008).

Tabla II. Principales métodos para evaluar la actividad antioxidante de las muestras vegetales.

Método	Fundamento	Ventajas	Desventajas	Referencias
DPPH	<p>Reacción antioxidante con el radical 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazilo.</p> <p>El producto final de la reacción se detecta colorimétricamente a 515 nm.</p> <p>Oxidado → Reducido Morado → Amarillo</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Es uno de los métodos más ampliamente usados, ya que el radical DPPH[•] es estable y comercialmente disponible. • Es uno de los principales métodos que se utilizan para detectar y medir la actividad antioxidante de los alimentos. 	<ul style="list-style-type: none"> • El radical es insoluble en agua, pero soluble en disolventes orgánicos como el etanol, metanol y sus mezclas acuosas (no excediendo el 60 % v/v de agua). • En alimentos y sistemas biológicos no existen radicales similares al radical DPPH[•]. 	<p>Staško, Brezová, Biskupič & Mišík, 2007; Rodríguez-Roque, Soliva-Fortuny & Martín-Belloso, 2017</p>
ABTS	<p>Reacción antioxidante con el radical catión 2,2'-Azinobis-3-etil- benzo-tiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS^{•+}).</p> <p>El producto final de la reacción se detecta colorimétricamente a 734 nm.</p> <p>Oxidado → Reducido Verde → Incoloro</p>	<ul style="list-style-type: none"> • El radical es soluble en agua y disolventes orgánicos, permitiendo la capacidad de evaluar la actividad antioxidante de los compuestos hidrofílicos y lipofílicos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se ha cuestionado su uso debido a su falta de relevancia biológica, ya que el radical ABTS^{•+} es sintético y no se encuentra de manera natural en los alimentos ni en los sistemas biológicos • Se requiere mucho tiempo para generar el catión radical ABTS^{•+} mediante una reacción química (hasta 16 horas) o altas temperaturas (hasta 60 °C). 	<p>Rodríguez-Roque <i>et al.</i>, 2017; Munteanu & Apetrei, 2021</p>
DMPD	<p>Reacción antioxidante con el radical catión N,N-Dimethyl-p-Phenylenediamine (DMPD^{•+}).</p> <p>El producto final de la reacción se detecta colorimétricamente a 506 nm.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Este método es simple, rápido (menos de 10 minutos), más productivo y menos costoso en comparación con otros ensayos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Este ensayo solo determina la capacidad antioxidante de los componentes hidrofílicos, ya que el radical (DMPD^{•+}) solo es soluble en agua. 	<p>Rodríguez-Roque <i>et al.</i>, 2017</p>
FRAP	<p>Este método se basa en el poder de los antioxidantes para reducir el complejo férrico 2,4,6-tripiridil-s-triazina [Fe³⁺-(TPTZ)₂]³⁺ al complejo ferroso [Fe²⁺-(TPTZ)₂]²⁺ en medio ácido.</p> <p>El producto coloreado de la reacción se detecta colorimétricamente a 593 nm.</p> <p>Oxidado → Reducido Incoloro → Azul</p>	<ul style="list-style-type: none"> • El mecanismo del ensayo FRAP es por transferencia de electrones y puede ser muy útil para evaluar diferentes mecanismos de actividad antioxidante que presentan los alimentos. 	<ul style="list-style-type: none"> • El tiempo de reacción es de 4-6 min, sin embargo, algunos compuestos antioxidantes reaccionan más lentamente, lo que posiblemente subestima la actividad antioxidante. 	<p>Rodríguez-Roque <i>et al.</i>, 2017; Gulcin, 2020</p>

Tabla II. Principales métodos para evaluar la actividad antioxidante de las muestras vegetales (continuación).

Método	Fundamento	Ventajas	Desventajas	Referencias
CUPRAC	<p>Este ensayo es la variación del método FRAP, que utiliza Cu en lugar de Fe. Este método se basa en el poder de los antioxidantes para reducir el Cu²⁺ al Cu⁺. El producto de la reacción se detecta colorimétricamente a 450 nm.</p> <p>Oxidado → Reducido Azul → Amarillo</p>	<ul style="list-style-type: none"> Los resultados se pueden extrapolar con más eficacia a sistemas <i>in vivo</i>, ya que el ensayo se lleva a cabo a un pH fisiológico (pH 7.0) y es capaz de medir antioxidantes de tipo tiol (por ejemplo, el glutatión). El método CUPRAC es más selectivo que el método FRAP, ya que muestra menos interferencia con los componentes de los alimentos (por ejemplo, el azúcar y el ácido cítrico). 	<ul style="list-style-type: none"> La selección de un tiempo de reacción apropiado es difícil cuando se analizan mezclas complejas de antioxidantes, ya que requieren un tiempo mayor, entre 30 y 60 minutos. 	Rodríguez-Roque <i>et al.</i> , 2017
ORAC	<p>Reacción antioxidante con radicales peroxilo (ROO[•]), inducidos por el generador de radicales libres 2,2-azobis-2-amidino-propane (AAPH). El producto final de la reacción se detecta por la pérdida de la fluorescencia de fluoresceína, a una longitud de onda de excitación de 485 nm y longitud de onda de emisión de 520 nm.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Se puede adaptar para medir el potencial antioxidante de las muestras hidrofílicas e hidrofóbicas alterando la fuente de los radicales y el solvente. La medición de la capacidad antioxidante por fluorescencia evita interferencias con pigmentos presentes en los alimentos (por ejemplo, los carotenoides y las antocianinas). 	<ul style="list-style-type: none"> Cambios significativos de la temperatura pueden disminuir la reproducción del método. Este método requiere el uso de fluorómetros para detectar los cambios en la fluorescencia. 	Rodríguez-Roque <i>et al.</i> , 2017; Gulcin, 2020
TRAP	<p>Este método monitorea la capacidad de los compuestos antioxidantes para interferir con la reacción entre ROO[•] generado por AAPH y una sonda fluorescente. El producto final de la reacción se detecta por la pérdida de la fluorescencia.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Se puede utilizar para evaluar la capacidad antioxidante de las muestras biológicas y las alimenticias. 	<ul style="list-style-type: none"> Es un método relativamente complejo y lleva mucho tiempo realizarlo, lo que requiere un alto grado de conocimientos y experiencia. 	Badarinath <i>et al.</i> , 2010; Gulcin, 2020

a 240 min) sobre la actividad antioxidante de los hidrolizados de la albúmina de *V. radiata*, y encontraron que todos estos presentan potencial actividad antioxidante con los tres métodos: radical ABTS (449.7-685.0 μM equivalentes de ácido ascórbico), actividad quelante de hierro (434.3-5337.7 μM equivalente de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)) y capacidad de

absorbancia de los radicales de oxígeno (ORAC) (96-127 μM equivalente de trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)). La hidrólisis generada por la combinación de las enzimas pepsina-pancreatina dio lugar a la presencia de siete péptidos con potencial antioxidante: Met-Asp, Gln-Ser-Ala, Glu-Trp, Leu-Gly-Trp, Lys-Lys, Ser-Val-Pro y Asp-

Val-Ala-Phe. Respecto a la hidrólisis de la enzima termolisina generó cuatro péptidos con el potencial antioxidante: Lys-Lys, Asp-Met, Ser-Tyr y Trp.

En conjunto, aunque estos trabajos de investigación destacan el interés en las proteínas y péptidos derivados de *Vigna* como recursos potenciales en la búsqueda de antioxidantes naturales, se requieren más análisis para entender su eficacia, y sus mecanismos de acción, además de una garantía de seguridad en la práctica.

PÉPTIDOS DE *VIGNA* CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL CONTRA EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH-I)

En la actualidad, el VIH-I, ha infectado a más de 40 millones de personas alrededor del mundo; este retrovirus ataca y destruye progresivamente las células linfocitarias CD4+ del sistema inmunitario, causando su debilitamiento, lo que provoca el desarrollo de otras enfermedades de origen fúngico y bacteriano, pérdida de peso, y sangrados, entre otras afecciones. Actualmente, la terapia antirretroviral es la primera línea de tratamiento para detener la replicación del VIH-I, sin embargo, el reto es la disminución de los efectos adversos, que se han asociado al consumo de fármacos en el tratamiento de la enfermedad, como dolor de cabeza, intolerancia gastrointestinal, náuseas, acidosis láctica, pancreatitis e incluso complicaciones severas que pueden provocar la muerte (El Safadi, Vivet-Boudou & Marquet, 2007). Es por ello, que se han realizado estudios *in vitro* con algunas proteínas bioactivas del género *Vigna* para determinar su capacidad de inhibir a las enzimas esenciales en el ciclo de vida del VIH-I (la transcriptasa reversa, la proteasa y la integrasa).

En este contexto, existen proteínas como las lectinas, las defensinas e inhibidores de la proteasa que presentan actividad biológica contra el VIH-I (Ng, Wong & Fang, 2011). Por ejemplo; una lectina estable a la digestión por tripsina de las semillas de *Vigna sesquipedalis*, que al ser purificada por Wong & Ng, 2003, inhibió a la enzima transcriptasa inversa del VIH-RT con un IC₅₀ de 73 µM. Por otra parte, se purificaron tres fracciones más de inhibidores de proteasa (BGTI1, BGTI2 y BGTI3) que correspondieron a los inhibidores de tripsina/quimotripsina. La fracción BGTI1 no disminuyó la actividad de VIH-RT, sin embargo, las fracciones BGTI2 y BGTI3 sí lo hicieron con un IC₅₀ 20 mM e IC₅₀ 15 mM, respectivamente (Cheung, Wong & Ng, 2009).

Existen algunas proteínas que por su estructura o por su bioactividad, son similares a las proteínas de importancia biomédica, lo que ha motivado su estudio y determinar su potencial antiviral. Por ejemplo, Tian *et al.* (2013) evaluaron la actividad inhibitoria de una proteína de las semillas de *V. unguiculata* homólogas a las proteínas inhibitoras de la poligalacturonasa contra el VIH-RT. Los resultados de este estudio fueron prometedores (IC₅₀ de 12.9 µM). En lo que

concierno a Ye & Ng (2001) purificaron una proteína similar a la ciclofilina, a la que llamaron “unguilina” aislada de las semillas de *V. unguiculata*, que disminuyó el 84.8% de la actividad de la VIH-RT. En 2002, los mismos autores purificaron una proteína similar a la quitinasa, la “delandina”, extraída de *V. umbellata*, que incrementó la inhibición de la VIH-RT de 13.4 a 44.5% al aumentar la concentración de la proteína de 1.8 a 180 µM (Ye & Ng, 2002a). En otro estudio (Ye & Ng, 2002b) purificaron una proteína de 8 kDa llamada “angulina” proveniente de *V. angularis* con principal actividad antifúngica, sin embargo, con 70 µM la VIH-RT se inhibió en un 27.5%.

Estos hallazgos son un aliciente y sugieren que las proteínas y los péptidos de *Vigna* son posibles candidatos para el desarrollo de las terapias antivirales contra el VIH-I. Sin embargo, es importante destacar que la investigación en esta área está en sus primeras etapas, y son necesarios más estudios para comprender completamente los mecanismos de acción y la eficacia de estas proteínas como agentes antivirales.

PÉPTIDOS DE *VIGNA* CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA E INSECTICIDA

En la agricultura se han reportado pérdidas de cultivos de hasta un 45% antes o después de la cosecha, debido al ataque de una amplia variedad de organismos, incluyendo insectos, nemátodos, virus, bacterias y hongos. En respuesta, las plantas producen distintas biomoléculas, como las proteínas o los péptidos, que participan como primera línea de defensa contra estos agentes.

Al respecto, se han identificado distintas proteínas y péptidos con actividad antimicrobiana en las leguminosas del género *Vigna* (Kim *et al.*, 2009; Pina-Pérez & Ferrús Pérez, 2018) que pueden ser clasificados dependiendo de su estructura y masa molecular en: esnakinas, defensinas, inhibidores de proteasa, lectinas, proteínas de transferencia de lípidos (nsLTPs), proteínas tipo heveína, tioninas, endoproteinasas, peroxidasas, proteínas tipo ribonucleasa, quitinasas y ciclótidos, entre otras proteínas que no han sido aún clasificadas en alguna familia (Kim *et al.*, 2009; Tang, Prodhon, Biswas, Le & Sekaran, 2018).

Abdel-Shafi *et al.* (2019) evidenciaron el potencial antimicrobiano de las globulinas 7S y 11S de *V. unguiculata* contra *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella thypi* al usar concentraciones de 10-1,000 µg/mL. Para *Escherichia coli* la globulina 11S fue la única fracción que provocó la disminución del crecimiento de la bacteria. Asimismo, Franco *et al.* (2006) observaron el decrecimiento de *E. coli*, *S. aureus* y *Pseudomonas syringae* usando una γ -thionina de *V. unguiculata*. Se ha observado que algunas proteínas purificadas del género *Vigna* solo minimizan la acción de las bacterias gram-positivas, por ejemplo, Wang, Wu, Ng, Ye &

Rao (2004) mencionan una actividad de esta naturaleza contra *S. aureus* (bacteria gram-positiva) pero no para *Salmonella typhimurium* (bacteria gram-negativa) usando una proteína de transferencia de lípidos no específica (nsLTP) (9 kDa). Diferente a Wang *et al.* (2006) que determinaron la misma actividad mencionada para *S. aureus*, pero no para bacterias gram-negativas del género *Salmonella* con un inhibidor de proteasa denominado mungoína (10 kDa).

Es importante mencionar que, el ataque por hongos conduce a una reducción cualitativa y cuantitativa en la producción de semillas y en la germinación (Abd-allah *et al.*, 2018), además en las semillas infectadas se pueden generar micotoxinas, biomoléculas peligrosas para la salud humana y animal (Abd-allah *et al.*, 2018; Wong *et al.*, 2019). Sin embargo, las semillas de las leguminosas contienen proteínas que sirven como un sistema de defensa contra organismos fúngicos (Ng, 2004). En las especies del género *Vigna* se han identificado y aislado algunas proteínas con esta actividad, como son las defensinas y otras proteínas antifúngicas que no han sido clasificadas dentro de alguna familia, sin embargo, presentan similitud en secuencia con otras proteínas como las quitinasas, etc. (Schmidt, Arendt & Thery, 2019; Ye, Wang & Ng, 2000).

Una de las defensinas que han sido aisladas a partir de las semillas de *V. unguiculata* es la Cp-tionina II, que mostró mayor potencial para minimizar el crecimiento de *Fusarium culmorum* comparado con las cepas de *Aspergillus niger* y *Penicillium expansum*. La actividad antifúngica de Cp-tionina II se atribuyó a su capacidad para inducir la permeabilidad de la membrana fúngica y favorecer la sobreproducción de ROS (especies reactivas de oxígeno) mitocondrial, causando estrés oxidativo (Schmidt *et al.*, 2019).

Algunas proteínas no se han podido clasificar en alguna familia en específico por su variabilidad biológica y funcional, sin embargo, estructuralmente son homólogas en su cadena N-terminal con alguna familia. Por ejemplo, se aisló una proteína con actividad de quitinasa a partir de las semillas de *V. mungo*, e inhibió el crecimiento de *Fusarium solani*, y controló parcialmente el de las cepas de *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfii*, *Mycosphaerella arachidicola* y *Botrytis cinerea*. Se argumenta que su capacidad antifúngica se debe principalmente al efecto devastador que ejerce sobre la pared fúngica, ya que provoca la liberación de los oligosacáridos de quitina causando la fuga del citoplasma y por ende la muerte celular (Ye & Ng, 2005). Ye, Wang & Ng (2000) purificaron dos proteínas antifúngicas denominadas alfa (α) y beta (β). Ambas inhibieron el crecimiento de *M. arachidicola*, *Coprinus comatus*, *Rhizoctonia solani*, *Physalospora piricola*, *F. oxysporum* y *Pleurotus ostreatus*. Mediante el análisis de la secuencia de los aminoácidos de su cadena N-terminal, (α) mostró un parecido con las proteínas del tipo quitinasa y (β) exhibió una secuencia hasta ahora desconocida.

En cuanto al daño causado por los insectos, el principal método de control es el uso de productos químicos (o insecticidas), tóxicos para el medio ambiente, los animales y los seres humanos, por esto, se han propuesto distintas alternativas, incluyendo el uso de bioinsecticidas. Al respecto, las proteínas de las leguminosas consideradas potenciales como bioinsecticidas son las lectinas, proteínas inactivadoras de los ribosomas, e inhibidores de la proteasa y la α -amilasa, las arcelinas, proteínas tipo canatoxinas y las ureasas (Carlini & Grossi-de-Sá, 2002).

Son varios los reportes que evidencian la actividad insecticida de las semillas y proteínas bioactivas de las especies del género *Vigna*. Por ejemplo, Kaur, Gill & Kaur (2020) identificaron 10 genotipos de *V. umbellata* que presentan la capacidad de frenar el crecimiento de *Callosobruchus maculatus* en diferentes etapas larvianas, al atribuir esta propiedad a la inhibición de las proteasas presentes en el tracto digestivo de los insectos, lo que provoca una menor biodisponibilidad de ciertos aminoácidos necesarios para las diferentes etapas del desarrollo larvario. Katoch, Sharma, Singh & Thakur (2015) purificaron un inhibidor de tripsina (24 kDa) a partir de *V. umbellata*, con actividad insecticida contra *Spodoptera litura*. La reacción es por la inhibición de las proteasas digestivas del insecto al interferir en importantes procesos bioquímicos y fisiológicos, como la digestión e hidrólisis de las proteínas, frenando, así, la biodisponibilidad y absorción de los aminoácidos en las cinco etapas larvianas evaluadas en ese estudio. También se conoce la capacidad insecticida de la defensina aislada de *Vigna unguiculata*, con actividad contra *C. maculatus* y *Zabrotes subfasciatus* mediante la inhibición de la α -amilasa intestinal (dos Santo *et al.*, 2010).

Lo hasta aquí expuesto representa una alternativa para la agricultura, al reducir no sólo las pérdidas que se tienen causadas por las bacterias, los hongos y los insectos, sino también la dependencia a los productos químicos dañinos para el medio ambiente y la salud humana. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales para comprender completamente los mecanismos de acción de estas proteínas y su aplicación en el control de las plagas y los patógenos en los cultivos.

CONCLUSIONES

Las leguminosas del género *Vigna* son poco conocidas y consumidas por la población mundial. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que son fuentes promisorias de diferentes compuestos bioactivos para la investigación biomédica y la industria alimentaria. Si bien estos hallazgos son importantes, gran parte de las investigaciones se han realizado *in vitro*, por lo que son necesarios estudios adicionales para comprender completamente los posibles efectos y el uso seguro de estas proteínas en el área médica y la industria alimentaria. Sin embargo, estos descubrimientos también son perspectivas para explorar y aprovechar las fuentes naturales

de los compuestos bioactivos con el fin de mejorar la salud para el bienestar humano.

AGRADECIMIENTOS

Pedro Mancera-Castro agradece al “Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías -CONAHCYT” por la beca doctoral (CVU 958449).

REFERENCIAS

- Abd-allah, H. H., Mahdy, A. M. M., Gad, M. F., Hassan, E. O., Embaby, S. M. & Yaseen, A. (2018). Legume seed deterioration caused by some mould fungi affecting seed quality. *Middle East Journal of Applied Sciences*, **8**(2), 325-336.
- Abdel-Shafi, S., Al-Mohammadi, A. R., Osman, A., Enan, G., Abdel-Hameid, S. & Sitohy, M. (2019). Characterization and antibacterial activity of 7S and 11S globulins isolated from cowpea seed protein. *Molecules*, **24**(6), 1-15. DOI: 10.3390/molecules24061082
- Aluko, R. E. (2015). Antihypertensive peptides from food proteins. *Annual Review of Food Science and Technology*, **6**, 235-262. DOI: 10.1146/annurev-food-022814-015520
- Ammerman, N. C., Beier-Sexton, M. & Azad, A. F. (2008). Growth and maintenance of Vero cell lines. *Current Protocols in Microbiology*, **11**(1), A.44.1-A.4E.7. DOI: 10.1002/9780471729259.mca04es11
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K. & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. I. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **64**(5), 997-1027. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b04739
- Arise, R. O., Acho, M. A., Yekeen, A. A., Omokanye, I. A., Sunday-Nwaso, E. O., Akiode, O. S. & Malomo, S. O. (2019). Kinetics of angiotensin-I converting enzyme inhibition and antioxidative properties of *Azadirachta indica* seed protein hydrolysates. *Heliyon*, **5**(5), e01747. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01747
- Badarinath, A. V., Rao, K. M., Chetty, C. M. S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S. & Gnanaprakash, K. (2010). A review on *In-vitro* antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*, **2**(2), 1276-1285.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, **5**, 9-19. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182439613
- Boukar, O., Bhattacharjee, R., Fatokun, C., Kumar, P. L. & Gueye, B. (2013). Cowpea. En M. Singh, I. S. Bisht & H. Upadhyaya (Eds.), *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement* (pp. 137-156). New York: Elsevier Inc., USA.
- Carlini, C. R. & Grossi-de-Sá, M. F. (2002). Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities

- as bioinsecticidas. *Toxicon*, **40**(11), 1515-1539. DOI: 10.1016/S0041-0101(02)00240-4
- Castañeda-Pérez, E., Jiménez-Morales, K., Quintal-Novelo, C., Moo-Puc, R., Chel-Guerrero, L. & Betancur-Ancona, D. (2019). Enzymatic protein hydrolysates and ultrafiltered peptide fractions from Cowpea *Vigna unguiculata* L bean with *in vitro* antidiabetic potential. *Journal of the Iranian Chemical Society*, **16**(8), 1773-1781. DOI: 10.1007/s13738-019-01651-0
- Chen, Z., Wang, J., Liu, W. & Chen, H. (2016). Physicochemical characterization, antioxidant and anticancer activities of proteins from four legume species. *Journal of Food Science and Technology*, **54**(4), 964-972. DOI: 10.1007/s13197-016-2390-x
- Cheung, A., Wong, J. & Ng, T. (2009). Trypsin-Chymotrypsin inhibitors from *Vigna mungo* seeds. *Protein & Peptide Letters*, **16**(3), 277-284. DOI: 10.2174/092986609787601714
- Consolim-Colombo, F. M. & Bortolotto, L. A. (2018). Endothelium and arterial hypertension. En P. L. Da Luz, P. Libby, A. C. P. Chagas & F. R. M. Laurindo (Eds.), *Endothelium and Cardiovascular Diseases: Vascular Biology and Clinical Syndromes* (pp. 429-437). Elsevier Inc.
- Cú-Cañetas, T., Ancona, D. B., Tintoré, S. G., Peraza, M. S. & Guerrero, L. C. (2015). Estudios de inhibición *in vitro* de la enzima convertidora de angiotensina-I, efectos hipotensor y antihipertensivo de fracciones peptídicas de *V. unguiculata*. *Nutrición Hospitalaria*, **32**(5), 2117-2125. DOI: 10.3305/nh.2015.32.5.9624
- dos Santos, I. S., Carvalho, A. O., de Souza-Filho, G. A., dos Nascimento, V. V., Machado, O. L. T. & Gomes, V. M. (2010). Purification of a defensin isolated from *Vigna unguiculata* seeds, its functional expression in *Escherichia coli*, and assessment of its insect α -amylase inhibitory activity. *Protein Expression and Purification*, **71**(1), 8-15. DOI: 10.1016/j.pep.2009.11.008
- Durak, A., Baraniak, B., Jakubczyk, A. & Swieca, M. (2013). Biologically active peptides obtained by enzymatic hydrolysis of Adzuki bean seeds. *Food Chemistry*, **141**, 2177-2183. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.05.012
- El Safadi, Y., Vivet-Boudou, V. & Marquet, R. (2007). HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **75**, 723-737. DOI: 10.1007/s00253-007-0919-7
- Franco, O. L., Murad, A. M., Leite, J. R., Mendes, P. A. M., Prates, M. V. & Bloch, C. (2006). Identification of a cowpea γ -thionin with bactericidal activity. *FEBS Journal*, **273**(15), 3489-3497. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2006.05349.x
- Friso, S., Carvajal, C. A., Pizzolo, F., Fardella, C. E. & Olivieri, O. (2017). Epigenetics and Arterial Hypertension: Evidences and Perspectives. En J. Laurence & M. Van Beusekom (Eds.), *Translating Epigenetics to the Clinic* (pp. 159-184). Elsevier Inc.
- GLOBOCAN, Global Cancer Observatory (2020). *Estimated*

- number of new cases in 2020, worldwide, both sexes, all ages in Cancer today. Recuperado de <https://www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data>
- González-Montoya, M., Cano-Sampedro, E. & Mora-Escobedo, R. (2017). Bioactive peptides from legumes as anticancer therapeutic agents. *International Journal of Cancer and Clinical Research*, **4(081)**, 1-10. DOI: 10.23937/2378-3419/1410081
- Gopar-Nieto, R., Ezquerro-Osorio, A., Chávez-Gómez, N. L., Manzur-Sandoval, D. & Raymundo-Martínez, G. I. (2021). ¿Cómo tratar la hipertensión arterial sistémica? Estrategias de tratamiento actuales. *Archivos de Cardiología de México*, **91(4)**, 493-499. DOI: 10.24875/acm.200003011
- Gulcin, I. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, **94**, 651-715. DOI: 10.1007/s00204-020-02689-3
- Gupta, N., Srivastava, N. & Bhagyawant, S. S. (2018). Vicilin-A major storage protein of mungbean exhibits antioxidative potential, antiproliferative effects and ACE inhibitory activity. *PLoS ONE*, **13(2)**, 1-17. DOI: 10.1371/journal.pone.0191265
- Harouna, D. V., Venkataramana, P. B., Ndakidemi, P. A. & Matem, A. O. (2018). Under-exploited wild *Vigna* species potentials in human and animal nutrition: A review. *Global Food Security*, **18**, 1-11. DOI: 10.1016/j.gfs.2018.06.002
- Herniter, I. A., Lo, R., Muñoz-Amatriaín, M., Lo, S., Guo, Y.-N., Huynh, B.-L., Lucas, M., Jia, Z., Roberts, P. A., Lonardi, S. & Close, T. J. (2019). Seed coat pattern QTL and development in Cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Frontiers in Plant Science*, **10**, 1-12. DOI: 10.3389/fpls.2019.01346
- Jiang, B., Obiro, W. C., Li, Y., Zhang, T. & Mu, W. (2010). Bioactivity of Proteins and Peptides from Peas (*Pisum sativum*, *Vigna unguiculata* and *Cicer arietinum* L.). En Y. Mine, E. Li-Chan & B. Jiang (Eds.), *Bioactive Proteins and Peptides as Functional Foods and Nutraceuticals* (pp. 273-287). John Wiley & Sons Ltd.
- Joshi, V. D., Dahake, A. P. & Suthar, A. P. (2010). Adverse effects associated with the use of antihypertensive drugs: An overview. *International Journal of PharmTech Research*, **2(1)**, 10-13.
- Katoch, R., Sharma, K., Singh, S. K. & Thakur, N. (2015). Evaluation and characterization of trypsin inhibitor from rice bean with inhibitory activity against gut proteases of *Spodoptera litura*. *Zeitschrift Fur Naturforschung – Section C Journal of Biosciences*, **70(11-12)**, 287-295. DOI: 10.1515/znc-2015-5029
- Kaur, H., Gill, R. S. & Kaur, S. (2020). Rice bean (*Vigna umbellata* Thunb. Ohwi and Ohashi) protection against *Callosobruchus maculatus* F. by the presence of protein profile. *Journal of Stored Products Research*, **86**, 101574. DOI: 10.1016/j.jspr.2020.101574
- Kim, J. Y., Park, S. C., Hwang, I., Cheong, H., Nah, J. W., Hahm, K. S. & Park, Y. (2009). Protease inhibitors from plants with antimicrobial activity. *International Journal of Molecular Sciences*, **10(6)**, 2860-2872. DOI: 10.3390/ijms10062860
- Kusumah, J., Real Hernández, L. M. & González de Mejía, E. (2020). Antioxidant potential of mung bean (*Vigna radiata*) albumin peptides produced by enzymatic hydrolysis analyzed by biochemical and *in silico* methods. *Foods*, **9(9)**, 1241. DOI: 10.3390/foods9091241
- Mancera-Castro, P., González-Cruz, L., Valadez-Vega, C., Hernández-López, D., Ramírez-Medina, H., Juárez-Goiz, M. & Bernardino-Nicanor, A. (2021). Purificación y caracterización biológica parcial de una Lectina de Frijol Vaquita. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **6**, 29-34. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume6/6/1/5.pdf>
- Maphosa, Y. & Jideani, V. A. (2017). The role of legumes in Human Nutrition. En M. Hueda-Chávarri (Ed.), *Functional Food. Improve Health through Adequate Food* (pp. 103-121). London: IntechOpen, England.
- Moharib, S. A. (2018). Anticancer activity of L-asparaginase produced from *Vigna unguiculata*. *World Scientific Research*, **5(1)**, 1-12. DOI: 10.20448/journal.510.2018.51.1.12
- Mune Mune, M. A., Minka, S. R. & Henle, T. (2018). Investigation on antioxidant, angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase IV inhibitory activity of Bambara bean protein hydrolysates. *Food Chemistry*, **250**, 162-169. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.001
- Munteanu, I. G. & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 3380. DOI: 10.3390/ijms22073380
- Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E. & Pedrosa, M. M. (2012). Bioactive compounds in legumes: Pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochemistry Reviews*, **11(2-3)**, 227-244. DOI: 10.1007/s11101-012-9233-9
- Ng, T. B. (2004). Antifungal proteins and peptides of leguminous and non-leguminous origins. *Peptides*, **25(7)**, 1215-1222. DOI: 10.1016/j.peptides.2004.03.012
- Ng, T. B., Wong, J. H. & Fang, E. F. (2011). Defensins and other biocidal proteins from bean seeds with medicinal activities. *Current Medicinal Chemistry*, **18**, 5644-5654. DOI: 10.2174/092986711798347306
- Pandiyan, M., Senthil, N., Anitha, M., Raveendran, M., Sudha, M., Latha, M., Nagarajan, P., Toomoka, N. & Balasubramanian, P. (2012). Diversity analysis of *Vigna* sp. through morphological markers. *Wudpecker Journal of Agricultural Research*, **1**, 335-340.
- Pina-Pérez, M. C. & Ferrús Pérez, M. A. (2018). Antimicrobial potential of legume extracts against foodborne pathogens: A review. *Trends in Food Science and Technology*, **72**, 114-124. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.12.007
- Rodríguez-Roque, M. J., Soliva-Fortuny, R. & Martín-Belloso, O. (2017). Methods for determining the

- antioxidant capacity of food constituents. En E. M. Yahia (Ed.), *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health* (2nd edition, pp. 803-816). John Wiley & Sons, Inc.
- Sánchez-Chino, X., Jiménez-Martínez, C., Dávila-Ortiz, G., Álvarez-González, I. & Madrigal-Bujaidar, E. (2015). Nutrient and nonnutrient components of legumes, and its chemopreventive activity. A review. *Nutrition and Cancer*, **67**(3), 401-410. DOI: 10.1080/01635581.2015.1004729
- Schmidt, M., Arendt, E. K. & Thery, T. L. C. (2019). Isolation and characterization of the antifungal activity of the cowpea defensin Cp-thionin II. *Food Microbiology*, **82**, 504-514. DOI: 10.1016/j.fm.2019.03.021
- Sonklin, C., Alashi, M. A., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O. & Aluko, L.E. (2020). Identification of antihypertensive peptides from mung bean protein hydrolysate and their effects in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Functional Foods*, **64**, 103635. DOI: 10.1016/j.jff.2019.103635
- Sparvoli, F., Bollini, R. & Cominelli, E. (2015). Nutritional Value. En A. M. De Ron (Ed.), *Grain Legumes* (pp. 291-325). New York: Springer, USA.
- Staško, A., Brezová, V., Biskupič, S. & Mišik, V. (2007). The potential pitfalls of using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl to characterize antioxidants in mixed water solvents. *Free Radical Research*, **41**, 379-390. DOI: 10.1080/10715760600930014
- Tang, S. S., Prodhon, Z. H., Biswas, S. K., Le, C. F. & Sekaran, S. D. (2018). Antimicrobial peptides from different plant sources: Isolation, characterization, and purification. *Phytochemistry*, **154**, 94-105. DOI: 10.1016/j.phytochem.2018.07.002
- Thumbrain, D., Dwarka, D., Gerrano, A. S. & Mellem, J. J. (2020). Antioxidant and apoptotic potential of protein isolates derived from *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *International Journal of Food Science and Technology*, **55**(7), 2813-2823. DOI: 10.1111/ijfs.14535
- Tian, G. T., Zhu, M. J., Wu, Y. Y., Liu, Q., Wang, H. X. & Ng, T. B. (2013). Purification and characterization of a protein with antifungal, antiproliferative, and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from small brown-eyed cowpea seeds. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **64**(4), 393-398. DOI: 10.1002/bab.1102
- Tomasetti, C., Li, L. & Vogelstein, B. (2017). Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science*, **355**(6331), 1330-1334. DOI: 10.1126/science.aaf9011
- Tomooka, N. (2009). The origins of rice bean (*Vigna umbellata*) and azuki bean (*Vigna angularis*): The evolution of two lesser-known Asian beans. En T. Akimichi (Ed.), *An illustrated eco-history of the Mekong River Basin* (pp. 33-35). White Lotus Co. Ltd.
- Tomooka, N., Kaga, A., Isemura, T., Vaughan, D., Srinives, P., Somta, P., Thadavong, S., Bounphanousay, C., Kanyavong, K., Inthapanya, P., Pandiyan, M., Senthil, N., Ramamoorthi, N., Jaiwal, P. K., Jing, T., Umezawa, K. & Yokoyama, T. (2011). *Vigna* Genetic Resources. En N. Tomooka & D. Vaughan, *The 14th NIAS International Workshop on Genetic Resources – Genetic Resources and Comparative Genomics of Legumes (Glycine and Vigna)* (pp. 11-21). Tsukuba: National Institute of Agrobiological Science.
- Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., Khan, N. A., Poulter, N. R., Prabhakaran, D., Ramirez, A., Schlaich, M., Stergiou, G. S., Tomaszewski, M., Wainford, R. D., Williams, B. & Schutte, A. E. (2020). 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension*, **75**, 1334-1357. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026
- Wang, F., Huang, L., Yuan, X., Zhang, X., Guo, L., Xue, C. & Chen, X. (2021). Nutritional, phytochemical and antioxidant properties of 24 mung bean (*Vigna radiata* L.) genotypes. *Food Production, Processing and Nutrition*, **3**(28), 1-12. DOI: 10.1186/s43014-021-00073-x
- Wang, S., Lin, J., Ye, M., Ng, T. B., Rao, P. & Ye, X. (2006). Isolation and characterization of a novel mung bean protease inhibitor with antipathogenic and anti-proliferative activities. *Peptides*, **27**(12), 3129-3136. DOI: 10.1016/j.peptides.2006.07.013
- Wang, S. Y., Wu, J. H., Ng, T. B., Ye, X. Y. & Rao, P. F. (2004). A non-specific lipid transfer protein with antifungal and antibacterial activities from the mung bean. *Peptides*, **25**(8), 1235-1242. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.12.077
- Wong, J. H. & Ng, T. B. (2003). Purification of a trypsin-stable lectin with antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **301**(2), 545-550. DOI: 10.1016/S0006-291X(02)03080-2
- Wong, J. H., Ng, T. B., Wang, H., Cheung, R. C. F., Ng, C. C. W., Ye, X., Yang, J., Liu, F., Ling, C., Chan, K., Ye, X. & Chan, W. Y. (2019). Antifungal proteins with antiproliferative activity on cancer cells and HIV-1 enzyme inhibitory activity from medicinal plants and medicinal fungi. *Current Protein & Peptide Science*, **20**(3), 265-276. DOI: 10.2174/1389203719666180613085704
- Xu, L., Li, Y., Dai, Y. & Peng, J. (2018). Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology and mechanisms. *Pharmacological Research*, **130**, 451-465. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.01.015
- Ye, X. & Ng, T. B. (2005). A chitinase with antifungal activity from the mung bean. *Protein Expression and Purification*, **40**(2), 230-236. DOI: 10.1016/j.pep.2004.06.032
- Ye, X. Y. & Ng, T. B. (2001). Isolation of unguilin, a cyclophilin-like protein with antimutagenic, antiviral, and antifungal activities, from black-eyed pea. *Journal of Protein Chemistry*, **20**(5), 353-359. DOI: 10.1023/A:1012272518778
- Ye, X. Y. & Ng, T. B. (2002a). Delandin, a chitinase-like protein with antifungal, HIV-1 reverse transcriptase inhibitory

- and mitogenic activities from the rice bean *Delandia umbellata*. *Protein Expression and Purification*, **24(3)**, 524-529. DOI: 10.1006/prev.2001.1596
- Ye, X. Y. & Ng, T. B. (2002b). Purification of angularina, a novel antifungal peptide from Adzuki beans. *Journal of Peptide Science*, **8(3)**, 101-106. DOI: 10.1002/psc.372
- Ye, X. Y., Wang, H. X. & Ng, T. B. (2000). Structurally dissimilar proteins with antiviral and antifungal potency from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Life Sciences*, **67(26)**, 3199-3207. DOI: 10.1016/s0024-3205(00)00905-x
- Zahedmehr, A. (2018). Hypertension. En M. Maleki, A. Alizadehasl & M. Haghjoo (Eds.), *Practical Cardiology* (pp. 291-302). Elsevier Inc.
- Zitvogel, L., Pietrocola, F. & Kroemer, G. (2017). Nutrition, inflammation and cancer. *Nature Immunology*, **18(8)**, 843-850. DOI: 10.1038/ni.3754