



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
CAMPUS IRAPUATO-SALAMANCA
DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

**“Aprovechamiento de *Arthrospira platensis* para la
producción de péptidos bioactivos con propiedades
contra la diabetes”**

TESIS

Como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestro en Biociencias

Presenta

I. A. José Fernando Muñoz Roa

Directora de tesis

Dra. Ma. Fabiola León Galván

Co-director de tesis

Dr. Santiago Gutiérrez Vargas

SINODALES

Dra. Ma. Cristina del Rincón Castro

Dr. Jorge Eric Ruíz Nieto

Universidad de Guanajuato
Irapuato, Gto.
Julio, 2025
México



DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

"APROVECHAMIENTO DE *Arthrospira platensis* PARA LA PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS CON PROPIEDADES CONTRA LA DIABESIDAD"

TESIS

QUE PRESENTA

JOSÉ FERNANDO MUÑOZ ROA

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN BIOCIENCIAS

DIRECTOR DE TESIS

DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. SANTIAGO GUTIÉRREZ VARGAS

Irapuato, Gto., Junio de 2025.



"Universidad de Guanajuato: 80 años de ser la Universidad Pública del Estado".
"2025, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato"
"30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad"

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0329/2025.

Asunto: TEMA DE TRABAJO.

C.

DR. JUAN ANTONIO RAMÍREZ VÁZQUEZ,
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación del C. José Fernando Muñoz Roa, me permito comunicar a Usted que el tema señalado fue:

**“APROVECHAMIENTO DE *Arthrospira platensis* PARA
LA PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS CON
PROPIEDADES CONTRA LA DIABESIDAD”**

Y que dicho trabajo ha sido totalmente elaborado y cuenta con mi aprobación.

Asimismo, me permito proponer a:

**DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO
DR. JORGE ERIC RUIZ NIETO**

Para que junto conmigo integren el Jurado.

A T E N T A M E N T E
“LA VERDAD OS HARA LIBRES”
Irapuato, Gto., 2 de Junio de 2025.
DIRECTOR DE TESIS

DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN



"Universidad de Guanajuato: 80 años de ser la Universidad Pública del Estado".
"2025, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato"
"30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad"

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0330/2025.

Asunto: REVISIÓN DE TESIS.

Irapuato, Gto., 5 de Junio de 2025.

C.
DR. JUAN ANTONIO RAMÍREZ VÁZQUEZ
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,
P R E S E N T E.

Habiendo revisado la Tesis del Pasante C. José Fernando Muñoz
Roa, Titulada:

**"APROVECHAMIENTO DE *Arthrospira platensis* PARA
LA PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS CON
PROPIEDADES CONTRA LA DIABESIDAD"**

Damos nuestra aprobación para la impresión de la misma.

DIRECTOR


DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN

SINODAL


DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO

SINODAL


DR. JORGE ERIC RUIZ NIETO



C.

DR. JUAN ANTONIO RAMÍREZ VÁZQUEZ,
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación del C. **José Fernando Muñoz Roa**, nos permitimos comunicar a Usted que el trabajo de Tesis: "APROVECHAMIENTO DE *Arthrospira platensis* PARA LA PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS CON PROPIEDADES CONTRA LA DIABESIDAD", que fue desarrollado bajo la dirección de la Dra. Ma. Fabiola León Galván profesora de la División de Ciencias de la Vida y la Co-Dirección del Dr. Santiago Gutiérrez Vargas, ha sido terminado. El escrito fue revisado por la Dra. María Cristina del Rincón Castro y el Dr. Jorge Eric Ruiz Nieto y se autorizó la impresión y empastado del mismo.

Así mismo, nos permitimos proponer para la integración del Jurado a los Señores;

DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO	PRESIDENTE
DR. JORGE ERIC RUIZ NIETO	SECRETARIO
DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN	VOCAL

ATENTAMENTE
"LA VERDAD OS HARA LIBRES"
Irapuato, Gto., 9 de Junio de 2025.

DIRECTOR

DRA. MA. FABIOLA LEÓN GALVÁN

REVISOR

DRA. MARÍA CRISTINA DEL RINCÓN CASTRO

REVISOR

DR. JORGE ERIC RUIZ NIETO

Donde se realizó la tesis con el apoyo de SECIHTI y bajo la dirección de la Dra. Ma. Fabiola León Galván y la codirección del Dr. Santiago Gutiérrez Vargas en el Laboratorio de Proteómica y Expresión Génica.

RESUMEN

La diabetes tipo 2 es la segunda causa de muerte en México, y más del 40 % de los pacientes también presentan obesidad, esta condición donde convergen ambas enfermedades se denomina diabetes. Los tratamientos actuales para la diabetes y obesidad provocan efectos adversos como los crónicos y problemas cardiovasculares, entre los más comunes, creando una necesidad de nuevos fármacos. Los péptidos bioactivos se han propuesto como candidatos para ser utilizados como biofármacos, sin embargo, los ensayos *in vivo* son tardados y costosos, y en algunos casos, los resultados no son los esperados; en ese sentido, para optimizar el desarrollo de nuevos fármacos, se emplean herramientas como el docking molecular, que permite simular interacciones moleculares y reducen costos y tiempos de investigación. En este estudio, se usaron las 6 proteínas de mayor abundancia de *A. platensis* para la generación *in silico* de secuencias peptídicas mediante la hidrólisis enzimática usando 3 enzimas (pepsina, tripsina y quimotripsina) así como su interacción péptido-proteína usando docking molecular. Se encontró que dentro de las secuencias proteicas se tienen secuencias peptídicas encriptadas que muestran actividad biológica contra diabetes, hipertensión, obesidad, cáncer y estrés oxidativo. Los péptidos generados con pepsina pH < 2 son los que mostraron la mayor cantidad de actividades biológicas, destacando la inhibición de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4) involucrada en el bloqueo de la producción de la insulina, y por tanto en el desarrollo de diabetes, y de lipasa pancreática (LP) involucrada en metabolismo de lípidos. Estas secuencias peptídicas se probaron *in silico* para evaluar bioactividad en las enzimas DPP4 y LP, usando los fármacos sitagliptina y orlistato como control positivo, respectivamente. Un total de 10 secuencias peptídicas con actividad inhibitoria de la DPP4, mostraron energía de afinidad cercana a la sitagliptina (-7.5 kcal/mol) destacando WF, WQ, GITPAPF, SPSWY y WRD con energías de afinidad de entre -7.9 y -7.5 kcal/mol. Para el caso de la LP se obtuvieron 26 secuencias con energía menores al orlistato (-6.5 kcal/mol) con energías de afinidad de entre -9.9 y -6.5 kcal/mol, por lo que las 26 secuencias son excelentes candidatos para ser usados en la inhibición de esta enzima. A través del análisis de su mecanismo de acción, se encontró que todos los péptidos bioactivos se unen al sitio activo de cada enzima, inhibiendo su función en el cuerpo humano, ayudando en el tratamiento de la diabetes. Por lo anterior, *A. platensis* muestra ser una excelente fuente de péptidos bioactivos con capacidad de ser usados como tratamiento para la diabetes, esto generando las secuencias y mostrando su mecanismo de acción mediante el uso de herramientas computacionales capaces de simular la interacción que tienen estos compuestos.

Palabras clave: *A. platensis*, Docking molecular, *in silico*, hidrólisis, diabetes.

ABSTRACT

Type 2 diabetes is the second leading cause of death in Mexico, and more than 40% of patients also present with obesity. This condition, where both diseases converge, is known as diabetes. Current treatments for diabetes and obesity cause adverse effects, such as chronic cough and cardiovascular problems—among the most common—creating a need for new drugs. Bioactive peptides have been proposed as candidates to be used as biopharmaceuticals; however, *in vivo* testing is time-consuming and expensive, and in some cases, results are not as expected. In this sense, tools such as molecular docking are used to optimize the development of new drugs, as they allow the simulation of molecular interactions and reduce research costs and time. In this study, the six most abundant proteins of *A. platensis* were used to generate peptide sequences *in silico* through enzymatic hydrolysis using three enzymes (pepsin, trypsin, and chymotrypsin), as well as to analyze their peptide–protein interaction using molecular docking. It was found that within the protein sequences, there are encrypted peptide sequences that show biological activity against diabetes, hypertension, obesity, cancer, and oxidative stress. Peptides generated with pepsin at pH < 2 showed the greatest number of biological activities, particularly the inhibition of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP4)—an enzyme involved in blocking insulin production and thus contributing to the development of diabetes—and pancreatic lipase (PL), which is involved in lipid metabolism. These peptide sequences were tested *in silico* to evaluate bioactivity against the enzymes DPP4 and PL, using the drugs sitagliptin and orlistat as positive controls, respectively. A total of 10 peptide sequences with inhibitory activity against DPP4 showed binding affinity energies close to that of sitagliptin (-7.5 kcal/mol), with WF, WQ, GITPAPF, SPSWY, and WRD standing out, showing binding energies between -7.9 and -7.5 kcal/mol. For PL, 26 sequences showed lower binding energies than orlistat (-6.5 kcal/mol), with values ranging from -9.9 to -6.5 kcal/mol. Therefore, these 26 sequences are excellent candidates to be used in the inhibition of this enzyme. Through the analysis of their mechanism of action, it was found that all bioactive peptides bind to the active site of each enzyme, inhibiting their function in the human body and contributing to the treatment of diabetes. Thus, *A. platensis* proves to be an excellent source of bioactive peptides with potential to be used as a treatment for diabetes, by generating these sequences and demonstrating their mechanism of action using computational tools capable of simulating their interactions.

Key words: A. platensis, molecular docking, in silico, hydrolysis, diabetes.

Contenido	
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
I. Introducción	9
II. Antecedentes	11
2.1 Diabetes	11
2.1.1 Diabetes.....	11
2.1.2 Diabetes en México.....	11
2.1.2 Factores que propician la diabetes.....	12
2.1.4 Medicamentos para el tratamiento de la diabetes.....	13
2.1.5. Medicamentos para el tratamiento de la obesidad.....	14
2.2 Péptidos bioactivos	14
2.2.1 Péptidos bioactivos.....	14
2.2.2 Hidrólisis enzimática para la obtención de péptidos.....	15
2.2.3 Péptidos bioactivos para el tratamiento de enfermedades.....	15
2.3 Nuevas fuentes de proteína	16
2.3.1 Microalgas y cianobacterias como fuente de alimento.....	16
2.4 <i>Arthrospira platensis</i>	16
2.4.1 Origen y morfología.....	17
2.4.2 Condiciones de crecimiento.....	18
2.4.3 Características de la biomasa.....	18
2.5 Péptidos bioactivos reportados de la hidrólisis de la proteína de <i>A. platensis</i>	18

2.5.1 Péptidos bioactivos con actividad antioxidante.....	19
2.5.2 Péptidos bioactivos con actividad inhibitoria de DPP-IV	19
2.6 Análisis <i>in silico</i>	20
2.6.1 <i>In silico</i>	20
2.6.2 Principales ventajas del análisis <i>in silico</i>	21
2.6.3 Predicción <i>in silico</i> de péptidos con actividad biológica	21
2.6.4 Péptidos obtenidos mediante hidrólisis <i>in silico</i> y docking molecular.....	22
III. Justificación	23
IV. Hipótesis	24
V. Objetivo general	24
VI. Objetivos específicos	24
VI. Materiales y métodos	25
6.1 Cepa bacteriana y condiciones de cultivo	25
6.2 Cosecha de biomasa.....	26
6.3 Extracción de proteína por método TCA-acetona	26
6.4 Cuantificación de proteínas por método Bradford.....	26
6.5 Geles de poliacrilamida Tris-glicina-SDS (SDS-PAGE).....	27
6.5.1 Preparación del gel de poliacrilamida (Tris-Glicina-SDS)	27
6.5.2 Fijado, teñido y desteñido del gel de poliacrilamida.....	27
6.6 Secuencias de <i>Arthrospira platisis</i> en Protein Data Bank (PDB)	28
6.7 Hidrólisis <i>in silico</i>	28
6.8 Predicción de actividad biológica	28
6.8.1 Filtrado de péptidos por probabilidad de ser bioactivos	28

6.8.2 Docking molecular	29
VII. Resultados y discusión	31
7.1 Identificación de diferentes proteínas mayoritarias <i>A. platensis</i> SDS-PAGE	31
7.2 Hidrólisis de proteínas <i>in silico</i>	32
7.2.1 Secuencias de las proteínas	32
7.2.2 Péptidos con potencial actividad biológica de las proteínas de <i>A. platensis</i>	35
7.2.3 Péptidos pequeños (2-4 aa) con potencial actividad biológica de las proteínas de <i>A. platensis</i> usando enzimas.	38
7.2.4 Péptidos (>5 aa) con potencial actividad biológica de las proteínas de <i>A. platensis</i> usando enzimas.	42
7.3 Docking molecular	43
7.4 Docking molecular usando DPP4	44
7.4.1 Péptidos con mejor calificación para la inhibición de DPP4	44
7.4.2 Interacciones proteína-péptido para la inhibición de la DPP4	45
7.5 Docking molecular usando LP	48
7.5.1 Péptidos con mejor calificación para la inhibición de DPP4	48
7.5.2 Interacciones proteína-péptido para la inhibición de la LP	49
VIII. Conclusiones	54
Referencias	55

Índice de figuras.

Figura 1. Ubicación taxonómica del género <i>Arthrospira</i> (Lafarga et al., 2021).....	17
---	----

Figura 2. <i>Arthrospira platensis</i>	18
Figura 3. Gel de poliacrilamida con proteína extraída de <i>A. platensis</i> . A) TCA-Acetona B) Disuelta en NH ₄ Cl C) 1er extracción con PBS D) 2da extracción con PBS.....	31
Figura 4. Izquierda, gel elaborado en este trabajo. Centro, gel reportado por Aiello et al., 2019. Derecha, gel reportado por Manirafasha et al., 2017.	32
Figura 5. Primeras 15 actividades biológicas y el número de péptidos por cada proteína con esa actividad. 1) inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV 2) inhibidor de la ACE 3) antioxidante 4) inhibidor de la dipeptidil peptidasa III 5) estimulante 6) inhibidor de la tripeptidil peptidasa II 7) inhibidor de la renina 8) inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa II 9) hipouricemica 10) inhibidor de la alfa-glucosidasa 11) neuropéptido 12) regulador 13) inhibidor del citosol alanil aminopeptidasa 14) inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa 15) inhibidor de la tubulina-tirosina ligasa.	36
Figura 6. a) inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV b) inhibidor de la ACE c) antioxidante d) regulador e) inhibidor de la dipeptidil peptidasa III f) neuropéptido g) inhibidor de la tubulina-tirosina ligasa h) estimulante i) antiinflamatorio j) inhibidor de la tripeptidil peptidasa II.....	40
Figura 7. A) Validación de la enzima 2QOE y B) validación de la enzima 1LPB...	43
Figura 8. Sitios catalíticos de las enzimas A) DPP4 y B) LP.....	44
Figura 9. Interacciones en 2D de los diferentes péptidos con DPP4.	47
Figura 10. Interacciones en 2D de los diferentes péptidos con LP.....	52

I. Introducción

A nivel mundial la demanda de alimentos va en aumento debido a la creciente poblacional de más de 7 mil millones de habitantes, esto trae consigo la falta de alimento y nuevas enfermedades. Entre las primeras enfermedades se destaca las cardiopatías isquémicas provocando cerca del 13% de las muertes a nivel mundial. Varios factores de riesgo contribuyen al padecimiento de este tipo de cardiopatías, entre ellas el sexo, la edad, tabaquismo, diabetes mellitus y las dislipidemias. En la población mexicana la obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) son enfermedades con alta incidencia, y la coexistencia de ambas se denomina diabetesidad. Diabetesidad es un término usado recientemente debido a que el tratamiento de ambas enfermedades en conjunto resulta ser más efectivo que tratar cada enfermedad por separado ya que requieren medicamentos diferentes y los efectos en el paciente deben de ser considerados. Muchos de estos medicamentos para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, pero estos provocan efectos secundarios que pueden empeorar el estado de la obesidad y viceversa. Dentro de los medicamentos empleados en el tratamiento de la diabetes se encuentran los inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa IV como la sitagliptina, los cuales demostraron aumentar el ingreso a urgencias por insuficiencia cardiaca y un aumento sustancial del peso del paciente. Actualmente para el tratamiento de estas enfermedades se usan alternativas como los péptidos producto de la hidrólisis de proteínas. Estos péptidos tienen efecto sobre varias enfermedades inhibiendo o potenciando algunas de las enzimas importantes en el padecimiento de varias enfermedades como hipertensión, diabetes y obesidad. Péptidos de esta naturaleza permiten migrar a tratamientos alternativos para el tratamiento de estas enfermedades usando proteínas de fuentes no convencionales como algunas cianobacterias. *Arthrospira platensis* es una cianobacteria que puede crecer en condiciones fácilmente replicables como alto contenido de sales, pH alcalino, temperaturas tropicales y una leve agitación que puede ser por un sistema de aireación generando con estas condiciones la producción de biomasa.

Esta biomasa es considerada segura para el consumo humano sin presentar riesgos al consumidor e incluso es considerada un suplemento alimenticio por su alto contenido de los macronutrientes, destacando la proteína que en ocasiones representa incluso el 60% del peso total seco. De la proteína de *A. platensis* se ha reportado su capacidad para mostrar funciones biológicas para beneficio del ser humano. Además, por su contenido de aminoácidos es una buena materia prima para la generación de péptidos con propiedades bioactivas. De las propiedades bioactivas reportadas en esta cianobacteria se destaca su actividad antioxidante y reguladora, sumado a su capacidad de inhibir ciertas enzimas implicadas en padecimientos como varios tipos de cáncer, hipertensión arterial, diabetes y obesidad. Estas moléculas generadas a partir de la cianobacteria pueden ser usadas como biofármacos novedosos extraídos de nuevas fuentes de proteína. El diseño de nuevos fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades es una tarea que implica mucho tiempo y recursos económicos debido a la gran cantidad de estudios necesarios para asegurar que sean seguros y que son efectivos para el tratamiento de las enfermedades a las que van dirigidos. Algunos estudios sugieren que se necesitan más de 10 años para que un nuevo fármaco pueda ser comercializado. Recientemente, mediante el uso de diversas herramientas computacionales se ha logrado optimizar el tiempo y costo con que se generan este tipo de compuestos realizando pruebas a gran escala usando softwares especializados. Específicamente, softwares como AutoDock y ChimeraX permiten predecir la efectividad de uno o varios compuestos sobre una o varias proteínas diana. Estos softwares simulan como es que la molécula se comporta en presencia de los enlaces de la otra, girando sus enlaces y recorriendo la molécula hasta encontrar una posición donde la energía sea la mínima y, por lo tanto, la forma más estable del complejo ligando-proteína. En ese sentido, el enfoque en este tipo de estudios se basa en los resultados que se generan con estos softwares, lo que permite determinar si el compuesto puede funcionar como un fármaco para el

tratamiento de enfermedades específicas. Incluso se puede explicar el mecanismo de como estos nuevos compuestos actúan con las enzimas, mostrando uno a uno los aminoácidos implicados en la interacción y así conociendo la unión con el sitio de unión. Estos sitios de unión son específicos para cada enzima, por lo que la unión de estos compuestos a estos sitios significa la inhibición de su función biológica ayudando en el tratamiento de las enfermedades. Otro punto importante es que estas herramientas son de uso libre para la investigación de estas nuevas moléculas. Por lo anterior, en el presente trabajo, se centro en la identificación péptidos de *Arthrospira platensis* y la predicción de su actividad biológica anti-diabetes mediante docking molecular con el fin de contribuir al tratamiento de la diabetes.

II. Antecedentes

2.1 Diabetes

2.1.1 Diabetes

El término diabetes no es nuevo, en los 70's fue usado para describir una fuerte conexión que hay entre el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 y el exceso de peso (Sims et al., 1973). La prevalencia es tal que el 90% de las personas que padecen diabetes mellitus tipo 2 también padecen de obesidad. Cuando se tiene obesidad, el cuerpo comienza a perder la sensación de saciedad por la resistencia a la insulina cuando se tiene diabetes mellitus, esta resistencia a la insulina provoca un aumento de peso llevando a padecer obesidad. Sin embargo, se concluye que la obesidad es la principal causa de diabetes mellitus tipo 2 (Sharma et al., 2023). Desde 1990, el aumento exponencial de la diabetes a nivel mundial se debe a la que ya se considera pandemia global conocida como obesidad. Se prevé que en los próximos años aumente en un 50% debido a las diferentes enfermedades crónicas asociadas como hipertensión, enfermedades cardiovasculares, dislipidemias, entre otras.

2.1.2 Diabetes en México

En México el concepto de diabetes no es aún usado por el área de salud, más bien se diagnostican por separado como diabetes mellitus tipo 2 y como obesidad

(Isidro & Morquecho, 2020). Entre las principales causas de mortalidad dentro del territorio nacional se deben a las enfermedades no transmisibles como tumores malignos, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares asociadas en su mayoría a la transición de la alimentación del mexicano a alimentos y bebidas ultra procesadas que tienen un alto contenido de azúcar, sal y grasa (Barquera & Rivera, 2020). Siendo la diabetes mellitus tipo 2 la segunda causa de muerte a nivel nacional, y del total de los pacientes que ingresaron al hospital por esta enfermedad cerca del 30% ingresó con obesidad, esto según el sistema de vigilancia epidemiológica hospitalaria de diabetes mellitus tipo 2 en el primer semestre del 2024.

2.1.2 Factores que propician la diabetes

Siendo que existe esta asociación entre estas dos enfermedades y que ambas tienen diferentes factores que las provocan, se puede hablar de dos enfermedades diferentes sin perder el enfoque de un tratamiento conjunto.

2.1.2.1 Diabetes mellitus tipo 2

La resistencia a la insulina es el principal causante de la diabetes mellitus tipo 2 y sucede cuando la insulina no se encuentra en niveles suficientes en el organismo o no es bien utilizada por el mismo siendo que la insulina es la hormona encargada de regular la glucosa en la sangre. Factores como la obesidad, la baja actividad física, consumo de sustancias como alcohol y tabaco, además de malos hábitos de alimentación, propician el desarrollo de diabetes (Vázquez et al., 2019). Al ser enfermedades que son diferentes entre sí, el desarrollar una u otra al inicio se deben a factores distintos, sin embargo, la coexistencia de ambas sigue siendo la misma.

2.1.2.2 Obesidad

La obesidad se puede definir como la acumulación de anormal o excesiva de tejido adiposo conformado principalmente por triglicéridos, donde se almacena la energía que no se gasta. Cuando hay un desequilibrio entre la energía consumida y la que se usa, si es mayor la que se consume se da la obesidad. La obesidad se da por factores genéticos, sociales, conductuales, psicológicos y metabólicos La obesidad

se da por factores genéticos, sociales, conductuales, psicológicos y metabólicos (Kaufer-Horwitz & Pérez Hernández, 2021).

2.1.4 Medicamentos para el tratamiento de la diabetes

2.1.4.1 Metformina

Es uno de los principales medicamentos que pertenece al grupo de los biguanidas, usado para tratar la diabetes mellitus tipo 2 y su manera de actuar es inhibiendo la glucogénesis hepática promoviendo que la insulina sea mejor aprovechada en los órganos, además de bloquear ciertas rutas como la glucogénesis hepática y la de señalización mTOR, implicadas en la formación de glucosa y grasa en el organismo humano logrando suprimir el apetito y disminuyendo el peso del paciente (Michaelidou et al., 2023).

2.1.4.2 Insulina

Es una hormona producida por el páncreas y que ayuda al metabolismo de la glucosa para ser absorbida por el cuerpo. Su acción comienza cuando el cuerpo detecta un alto contenido de glucosa en la sangre, normalmente después de una comida, y esta hormona se segrega en la sangre y uniéndose al receptor de la insulina en las células, lo que desencadena en una cascada de reacciones bioquímicas en la célula haciendo que la glucosa entre dentro de la célula para ser aprovechada para energía. Sin embargo, el uso de esta hormona puede generar un aumento de peso en las personas a quienes se les administra (Petersen & Shulman, 2018).

2.1.4.3 Inhibidores la enzima dipeptidil peptidasa IV (DPPIV)

El tratamiento basado en el efecto incretina es debido a que dos principales hormonas incretinas: GLP-1 (*Glucagon Like Peptide Type 1*) y GIP (*Gastric Inhibitory Polypeptide*), son las responsables de aumentar la secreción de insulina cuando los niveles de glucosa ingeridos aumentan. La enzima DPPIV degrada estos dos compuestos, inhibiendo su función principal que es la de aumentar los niveles de insulina fin de modular los niveles de glucosa presente en la sangre, por lo que

inhibir esta enzima puede resultar en un tratamiento que ayude a mantener este efecto basado en incretinas (Saini et al., 2023).

2.1.5. Medicamentos para el tratamiento de la obesidad

2.1.5.1 Fentermina

Pertenece al grupo de las anfetaminas y es usado para reducir el peso de las personas con obesidad. Este medicamento actúa en los neurotransmisores cerebrales a fin de segregar hormonas como catecolaminas para disminuir el apetito. Sólo se receta por periodos cortos de tiempo y generalmente se receta a personas que tienen riesgos en su salud por problemas asociados a su peso. Este medicamento puede causar ansiedad, dolor de cabeza, arritmia e incluso elevar la presión sanguínea (Yang et al., 2022).

2.1.5.2 Orlistato

El orlistato es un medicamento que pertenece a una clase de medicamentos capaces de inhibir la lipasa pancreática bloqueando de manera irreversible la absorción de los triglicéridos que consumimos mediante la alimentación. Se usa para el control del peso debido a que reduce a ingesta calórica ayudando a las personas a disminuir el peso y ayudando a las personas con obesidad. Debido a que los triglicéridos no son absorbidos, estos siguen su camino por el tracto digestivo lo que genera efectos adversos de este medicamento como flatulencias, diarrea e incluso insuficiencia hepática (S. Liu et al., 2024).

2.2 Péptidos bioactivos

2.2.1 Péptidos bioactivos

Los péptidos bioactivos son cadenas cortas de aminoácidos que se pueden encontrar en los alimentos, la mayoría de estos péptidos tienen alrededor de 2 a 20 aminoácidos de largo. Estos péptidos pueden tener alguna actividad biológica cuando se han extraído de la proteína mediante una hidrólisis y, por esta actividad, pueden ser usados para la formulación de alimentos funcionales que ofrezcan beneficios al consumidor (Tabla 1). En la naturaleza, estos péptidos son digeridos naturalmente por las enzimas que tenemos en nuestro organismo, y artificialmente

se puede realizar la hidrólisis proteica mediante enzimas comerciales ya sean de plantas o de bacterias en condiciones óptimas (Lafarga et al., 2021).

Tabla 1. Péptidos con actividad biológica extraídos de diversos alimentos.

Fuente de proteína	Actividad biológica	Referencia
Proteína de sésamo	Inhibidor de la lipasa pancreática	(Wang et al., 2022)
<i>Porphyra dioica</i>	Antioxidante, antihipertensivo y antidiabéticos	(Cermeño et al., 2019)
Piel de pollo y de puerco	Inhibidor de la lipasa pancreática	(González-Noriega et al., 2022)
Algas verdes <i>Ulva</i> spp.	Antioxidante	(Z. Li et al., 2023)
<i>Spirulina platensis</i>	Antidiabético y anti obesidad	(Fan et al., 2018; Hu et al., 2019)

2.2.2 Hidrólisis enzimática para la obtención de péptidos

Los péptidos están encriptados dentro de la proteína, para ello se necesita una hidrólisis enzimática. La cual se lleva a cabo cuando una vez extraída la proteína de la fuente natural, se le agrega alguna enzima capaz de romper los enlaces peptídicos que se tienen en la proteína y así obtener péptidos, obteniendo cadenas cortas de aminoácidos. Ciertas enzimas parecen ser las que tienen mejores resultados al obtener péptidos (Lafarga et al., 2021).

2.2.3 Péptidos bioactivos para el tratamiento de enfermedades

De manera natural nuestro cuerpo contiene enzimas que ayudan a la digestión de las proteínas que ingerimos y, al mismo tiempo, genera péptidos que nuestro cuerpo puede aprovechar (Heydari et al., 2023). De manera puntual existen péptidos bioactivos de fuentes de alimentos que al hidrolizarlos generan péptidos con potencial contra la obesidad: inhibiendo la acción enzimática del receptor activado

por proliferador de peroxisoma gamma (PPAR- γ) obtenido del arroz (Ruiz-López et al., 2023); hipertensión obtenidos de la proteína de semillas de la planta peonía (S. Ye et al., 2022); antibacteriana, antifúngica, anticancerígeno, inmunomodulador, entre otras, obtenidos de la hidrólisis de las caseínas β , α 1 y α 2 del queso Tulum (Öztürk et al., 2022); por mencionar algunos.

2.3 Nuevas fuentes de proteína

A nivel mundial el consumo de productos ricos en proteína se incrementa conforme la población mundial aumenta. Productos como carne, huevos y lácteos necesitan grandes cantidades de recursos para producirlos, así como grandes extensiones de terreno y grandes cantidades de energía. Según la ONU, para este siglo 2100 la población puede llegar incluso a los 10,300 millones de habitantes (ONU y secretario general, 2024). Por lo que nuevas fuentes de alimento ricos en proteína surgen como opción.

2.3.1 Microalgas y cianobacterias como fuente de alimento

Microalgas y cianobacterias son organismos fotosintéticos que han tomado importancia en los últimos años por ser potencial fuente de proteínas y de compuestos bioactivos. Especies como *Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa* y *Arthrospira platensis* (cianobacteria) pueden tener hasta un 60, 44 y 63% de contenido de proteína en peso seco. Además de que para *A. platensis* la composición de aminoácidos cumple con el patrón de aminoácidos reportado por la FAO de ingesta necesaria para un adulto (Kumar et al., 2022). Es importante resaltar que la proteína de *A. platensis* contiene Ile, His, Leu, Lys, Met, Phe, Thr y Val que son aminoácidos esenciales, siendo deficiente sólo en Trp, y reportes muestran que tiene un PDCAAS del 84%. Esto indica que 47.88 de 57 g de la proteína es aprovechada por el organismo (Garrido-Cardenas et al., 2018).

2.4 *Arthrospira platensis*

2.4.1 Origen y morfología

Arthrospira platensis es un microorganismo bacteriano perteneciente al grupo de las cianobacterias oscilatorias, caracterizado por la formación de tricomas dispuestos en estructuras multicelulares con una morfología helicoidal a lo largo de toda su longitud (Guasto et al., 2018). Se encuentra dentro del reino *Bacteria* y pertenece a la familia de las Microcoleaceae hasta llegar el género *Arthrospira* como se muestra en la Figura 1 (Lafarga et al., 2021).

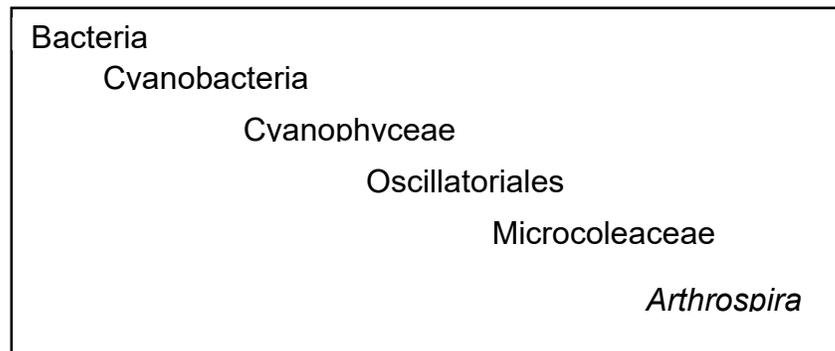


Figura 1. Ubicación taxonómica del género *Arthrospira* (Lafarga et al., 2021).

Arthrospira platensis es una especie de cianobacteria tradicionalmente conocida como "Espirulina", aunque taxonómicamente pertenece a un género distinto. A pesar de que *Spirulina* y *Arthrospira* son filogenéticamente lejanos, el uso del término "Espirulina" para referirse a *A. platensis* persiste por motivos históricos y comerciales. Se ha identificado que diversos lagos en África son el hábitat natural y posible origen de *A. platensis*, donde se encuentra en altas concentraciones debido a las condiciones alcalinas y ricas en nutrientes (Fig. 2) (Vonshak, 1997).

A. platensis es una cianobacteria filamentosa de color azul verdoso, fácilmente reconocible por la formación de tricomas cilíndricos multicelulares dispuestos en una hélice abierta hacia la izquierda. Esta estructura helicoidal es sensible a factores externos, como cambios de temperatura o alteraciones físicas y químicas del medio, lo que puede inducir una transición hacia formas casi rectas o completamente rectas, en un proceso que en muchos casos resulta casi irreversible (Guasto et al., 2018).

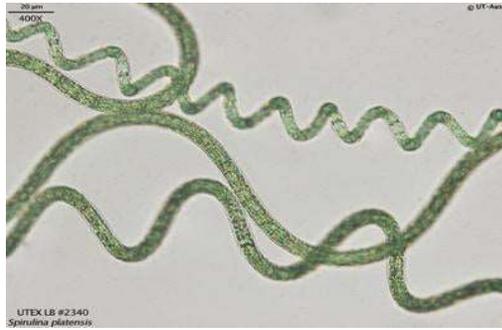


Figura 2. *Arthrospira platensis*

2.4.2 Condiciones de crecimiento

Si bien *A. platensis* necesita condiciones muy parecidas a las que tienen en su hábitat natural (pH 11, T~30°C y altas concentraciones de carbonatos y bicarbonatos), pueden variar según el uso que se le quiera dar a la misma *Arthrospira* (Hamidi et al., 2023). Además de esto, mayormente se utiliza medio de cultivo desarrollado por Zarrouk el cual simula las altas concentraciones de sales y el pH alcalino de donde normalmente crece *A. platensis* (Baker et al., 2021).

2.4.3 Características de la biomasa

A. platensis ha sido altamente conocida como una buena fuente de alimentación para las personas a lo largo de los años, esto por su alto contenido de nutrientes. De manera industrial, la producción de biomasa se lleva a cabo en fotorreactores abiertos a canales, y estos a su vez se encuentran dentro de un espacio cerrado con el fin de minimizar la contaminación por otros microorganismos. En promedio la biomasa de las diversas microalgas contiene 32.2% de proteína, 17.3% de lípidos, 15.0% de carbohidratos y 17.3% de cenizas. La biomasa de *A. platensis* puede llegar a contener hasta 57 g de proteína y 26.5 g de carbohidratos por cada 100 g de biomasa (Villaró, Acién, et al., 2023).

2.5 Péptidos bioactivos reportados de la hidrólisis de la proteína de *A. platensis*

La hidrólisis enzimática de las proteínas permite mejorar sus propiedades clínicas y nutricionales. Estos compuestos generados llamados péptidos son generados de diversas fuentes de alimentos y se ha demostrado que tiene actividades biológicas como antioxidante, antimicrobianas y anticáncer, por mencionar algunas. *A. platensis* es una fuente rica en proteína y algunos péptidos bioactivos ya han sido identificados producto de la hidrólisis de sus proteínas (Mohammadi et al., 2022).

2.5.1 Péptidos bioactivos con actividad antioxidante

Debido a que la obesidad se desarrolla en un ambiente inflamatorio y este ambiente se ve favorecido por la presencia de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, péptidos con actividad antioxidante ayudan para el tratamiento de la obesidad ayudando a atrapar dichos compuestos (Martínez Leo et al., 2016). En *A. platensis* se han encontrado secuencias peptídicas con actividad antioxidante como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Péptidos con actividad antioxidante extraídos de *A. platensis*.

Secuencia peptídica	Enzima usada	Referencia
EYFDALA	Pepsina	(Zeng et al., 2020)
INSSDVQGKY	Proteasa extracelular bacteriana	(J. Liu et al., 2022)
Pro-Asn-Asn	Proteasa K	(Yu et al., 2016)
CHLLLSM	Alcalasa	(Otero & Verdasco-Martín, 2023)

2.5.2 Péptidos bioactivos con actividad inhibitoria de DPP-IV

Dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV) es una enzima presente en la regulación de la glucosa, esta se ha reportado que su inhibición hace que el glucagón tipo 1 se mantenga en el cuerpo, estimulando la secreción de insulina y disminuyendo la secreción de glucosa por el hígado. En *A. platensis* se han reportado varios péptidos

con potencial de inhibición de esta enzima, ayudando en el tratamiento de la diabetes, tal como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Péptidos con actividad inhibitoria de DPP-IV extraídos de *A. platensis*.

Secuencia peptídica	Enzima usada	Referencia
GPNYASSER	Tripsina	(Thongcumsuk et al., 2023)
No mencionada	Pepsina	(J. Liu et al., 2022)
Total del hidrolizado	Tripsina	(Aiello et al., 2019)

Debido a la identificación de varios péptidos bioactivos en *A. platensis* abre la posibilidad de encontrar nuevas secuencias de péptidos que permitan ayudar el tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, la generación de nuevos compuestos para el tratamiento de diversas enfermedades es una tarea complicada que requiere de tiempo y recursos económicos para que pueda ser comercializado. Para ello, el análisis computacional permite la simulación de como interactúan estos nuevos compuestos con moléculas que están bien estudiadas presentes en las diversas enfermedades a fin de predecir como es que actuarían ahorrando tiempo y recursos (Rao & Srinivas, 2011).

2.6 Análisis *in silico*

2.6.1 *In silico*

Estudios *in silico* se refieren a los estudios realizados mediante herramientas computacionales (AutoDock Vina, GROMACS, BioPep-UVM, PeptideRanker, PyRx, AutoDockTools) con el fin de simular como es que una molécula con otra que, mayormente es una proteína, a fin de conocer su efecto sobre ella. Estos estudios permiten predecir como es que estas moléculas se absorben, se destruyen, se metabolizan e incluso como es que se excretan (Madden et al., 2020). Incluso existen herramientas con las que es posible conocer las posibles propiedades

biológicas de ciertos compuestos, y su toxicidad para descartar ciertos compuestos que no pueden llegar a ser medicamentos seguros (Tran et al., 2023).

2.6.2 Principales ventajas del análisis *in silico*

El uso de herramientas computacionales, para llevar a cabo análisis *in silico* son usados para optimizar el tiempo y recursos que son necesarios para el descubrimiento de nuevos fármacos. Un análisis realizado en recientes años estimó que el desarrollo de nuevos fármacos costaba alrededor de \$18,000 millones de dólares y en promedio 12 años. Estas cifras son debido a que la labor que hay detrás de un fármaco que sale al mercado es mucho. La principal razón son los diversos estudios que son necesarios para asegurar el buen funcionamiento del fármaco, que sea rentable y, sobre todo, que no cause daños o reacciones adversas en las personas que son administradas (Shaker et al., 2021).

Se debe tomar en cuenta que los análisis *in silico* no son un reemplazo de los análisis actuales, más bien es un complemento. Esto debido a que los diferentes modelos empleados necesitan de información experimental para los parámetros calibración y la validación de dichos modelos (Barh et al., 2013).

2.6.3 Predicción *in silico* de péptidos con actividad biológica

2.6.3.1 Hidrólisis de proteína *in silico*

Existen alimentos y algunos microorganismos usados para la generación de péptidos bioactivos que son la base de diversos alimentos funcionales. Cada fuente de proteína contiene no sólo 1 proteína, contiene muchas de tamaños y secuencias diferentes entre sí, por lo que la generación de péptidos de la hidrólisis de estas proteínas es una tarea tardada y muy costosa. BIOPEP-UVM es una base de datos que ofrece la opción de generar esta proteólisis mediante el análisis de la secuencia y la acción de enzimas con sus sitios de corte con el fin de simular la hidrólisis enzimática y así los compuestos que se generan (Iwaniak et al., 2024).

2.6.3.2 Docking molecular

Docking molecular es un término usado para el esquema computacional que permite la predicción de como interaccionan dos moléculas que en el mayor de los casos son: como molécula diana una proteína y como ligando, puede ser un medicamento, ácido nucleico o cualquier sustancia que se desee conocer la interacción con esa proteína (Mihășan, 2012).

2.6.4 Péptidos obtenidos mediante hidrólisis *in sillico* y docking molecular

La interacción entre estas moléculas proteína-ligando se usa principalmente para mostrar los aminoácidos implicados en esta misma. Dentro de las proteínas se encuentra el sitio en el que se une al sustrato para realizar una función específica. Este docking molecular incluso se ha usado en alimentos para probar ligandos como colorantes y proteínas como la ovoalbúmina y así mostrar su interacción mostrando incluso los enlaces que se forman siendo fuerzas de van der Waals (Vidal-Limon et al., 2022). Otros estudios relatan el uso de docking molecular para la generación de péptidos como LHPQ, QTPHQ, KPVPR, ELHQP capaces de inhibir la enzima convertidora de angiotensina y VPPR, LADR, LSPR y TVGPR como péptidos antiobesidad obtenidos de alpiste (Urbizo-Reyes et al., 2022). Péptidos capaces de interaccionar con el sitio activo de la DPP4 obtenidos a partir del suero de oveja (RLYLHENK y MQEHFTCCR) uniéndose al sitio activo mayormente por puentes de hidrógeno (X. Zhang et al., 2022). Y de *A. platensis* también existen reportes en los que péptidos (VTY y LGVP) son probados usando docking molecular para mostrar la interacción que tienen con la enzima convertidora de angiotensina, siendo capaces de inhibirla mediante la unión vía puentes de hidrógeno al sitio activo de esta enzima, inhibiendo su función biológica (N. Zhang et al., 2022).

III. Justificación

El crecimiento poblacional mundial demanda una mayor cantidad de alimentos; esto trae consigo malnutrición poblacional, que incluso se ha denominado la nueva pandemia mundial, la cual se ha asociado a otras enfermedades crónicas no transmisibles como las hipertrigliceridemias, hipertensión y diabetes. En México, diabetes mellitus tipo 2 y obesidad (en conjunto diabetes) son enfermedades muy presentes en la población, la diabetes ocupa el segundo lugar de defunciones y en 2024 más del 65% de las personas diagnosticadas con DMT2 padecen de sobrepeso u obesidad.

Para tratarlas existen medicamentos como sitagliptina y el orlistato, estos pueden provocar efectos secundarios, que van desde leves como mal estar estomacal y mareos hasta graves que pueden desencadenar en afección del páncreas; aunadas al costo de los tratamientos.

En el desarrollo de nuevos fármacos, los tiempos suelen ser largos (2-5 años en promedio), y requieren mucha inversión en sus desarrollo (del orden de millones de pesos). En ese sentido, se buscan nuevas alternativas y una de ellas uso de diversas herramientas computacionales como el docking y dinámica molecular computacional permiten predecir como actúan diversas moléculas, entre ellas los péptidos sobre moléculas diana, optimizando el uso de tiempo y recursos que se destinan.

Por lo anterior, se propone como modelo de estudio el uso de proteínas de fuentes sustentables y asequibles como la de *Arthrospira platensis*, que es una cianobacteria capaz de crecer con condiciones mínimas de cultivo, y que en estudios previos ha mostrado que posee péptidos bioactivos con funciones interesantes que pueden ser estudiados para evaluar su potencial como biofármacos.

IV. Hipótesis

La identificación *in silico* de péptidos de *Arthrospira platensis* y su análisis de interacción péptido-proteína mediante docking molecular, permiten predecir el potencial biológico y su uso potencial como bio-fármacos para el tratamiento de diabetes.

V. Objetivo general

Identificar péptidos de *Arthrospira platensis* y predecir su actividad biológica antidiabetes mediante docking molecular usando enzimas importantes en el tratamiento de la diabetes.

VI. Objetivos específicos

1. Identificar mediante SDS-PAGE la presencia de las diferentes proteínas mayoritarias *A. platensis*, y correlacionarlas con las reportadas en PDB.
2. Identificar las funciones biológicas los péptidos generados por hidrólisis *in silico* que generan las proteínas mayoritarias de *A. platensis*.
3. Predecir la efectividad de los péptidos con mayor potencial biológico anti diabetes usando la enzima DPP4 como enzima diana usando docking molecular.
4. Predecir la efectividad de los péptidos con mayor potencial biológico anti obesidad usando la enzima LP como enzima diana usando docking molecular.

VI. Materiales y métodos

6.1 Cepa bacteriana y condiciones de cultivo

La cepa de *A. platensis* fue proporcionada por el Dr. Oswan Mora, cepa que proveniente del lago de Texcoco, Ciudad de México. Dicha cepa de *A. platensis* fue cultivada en medio Zarrouk como se muestra en la tabla 4. Las soluciones A y B se prepararon por separado y se esterilizaron a 121°C por 15 min. La solución C se preparó por separado y se esterilizó por filtración usando un filtro de 0.22 µm, Por último, se mezclaron las soluciones según la tabla 4 (Baker et al., 2021).

Tabla 4. Reactivos para preparar medio de cultivo Zarrouk (g/L).

SOLUCIÓN	REACTIVO.	CANTIDAD (g/L)
A	NaHCO ₃	16.8
	K ₂ HPO ₄	0.5
B	NaNO ₃	2.5
	K ₂ SO ₄	1
	NaCl	1
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2
	CaCl ₂	0.04
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01
	EDTA	0.08
C	H ₃ BO ₃	2.86
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222
	CuSO ₄ ·4H ₂ O	0.079
	MoO ₃	0.15

Se mezclaron las soluciones A y B en relación 1:1, y se agregó 1 mL de la solución C por cada litro de mezcla.

La cepa de *Arthrospira platensis* se cultivó en un frasco con capacidad de 1 litro con una absorbancia a 560 nm inicial de ~0.1 con un litro de medio Zarrouk a una temperatura de 30°C ± 1, luz natural y agitación proporcionado por el aireado con una bomba de aire pequeña (Aqua-Jet 101, Lomas) por 15 días.

6.2 Cosecha de biomasa

El contenido del frasco se hizo pasar a través de una malla de 100 μm seguido de varios lavados con agua estéril para retirar el exceso de sales. Lo que quedó en la malla se almacenó en un recipiente estéril apto para congelar y liofilizar. Se congeló a -20°C para después ser liofilizada y posteriormente almacenada a -20°C para sus posteriores estudios.

6.3 Extracción de proteína por método TCA-acetona

Se pesaron 0.5 g de biomasa de *A. platensis* seca y se diluyeron en 10 mL de PBS pH 7.7, para después realizar una sonicación a baño frío en un sonicador VCX130 (Sonics & Materials Inc., Newtown, USA) durante 5 minutos en ciclos de 15 s encendido y 15 s apagado con un 70% de amplitud. Finalizada la sonicación se dejó reposar por 1 hora a temperatura ambiente y se centrifugó a $6000\times g$ durante 10 min y se recuperó el sobrenadante para almacenarlo a -20°C hasta su futuro uso.

6.4 Cuantificación de proteínas por método Bradford

Para preparar el reactivo de Bradford se mezclan 10 mg de Azul de Comassie G-250 con 10 ml de ácido fosfórico al 85% y 5 mL de etanol. Se filtra a través de un filtro de 0.22 μm y se almacena a 4°C en oscuridad. Además, se realiza la curva con una solución de albúmina de suero bovino (BSA), para ello se prepara una solución estándar de 0.5 mg/mL y se realiza como se muestra en la tabla 5, dejando reposar la mezcla con el reactivo de Bradford durante 1 hora para que el color sea estable.

Se usó en espectrofotómetro Cary 60 de Agilent en el cual se le colocaron los tubos con la solución de BSA y reactivo de Bradford y se calcula automáticamente la curva y la R^2 (Bradford, 1976).

Tabla 5. Soluciones necesarias para realizar la curva de calibración para el método Bradford.

Tubos	Reactivos			Resultados	
	Estándar (0.5 mg/mL) (μL)	Agua estéril (μL)	Reactivo de Bradford (mL)	A ₅₉₅ nm	Concentración de proteína (mg/mL)
Blanco	0	100			0
1	25	75			0.125
2	50	50	1		0.25
3	75	25			0.375
4	100	0			0.5
Muestras					
1	100	0	1		
2	100	0			

6.5 Geles de poliacrilamida Tris-glicina-SDS (SDS-PAGE)

6.5.1 Preparación del gel de poliacrilamida (Tris-Glicina-SDS)

Para el gel concentrador se utilizó a una concentración de 15% y un gel separador a una concentración de 4% partiendo de una solución con una relación acrilamida/bis 29:1, con un grosor de 1.0 mm. Para cargar el gel se mezclaron 10 μL de muestra con 10 μL de buffer de carga Laemmli 4x y se llevaron a ebullición por 10 min. Posteriormente se cargaron 20 μL de la muestra y corrió el gel a 100 V hasta que la muestra saliera del gel (Laemmli, 1970).

6.5.2 Fijado, teñido y desteñido del gel de poliacrilamida

Al termino la electroforesis, el gel se trasladó a una bandeja donde se le agregó suficiente solución de fijado (metanol 50% y ácido acético glacial 10%) durante 15-30 min. Se lavó con agua destilada y se sumergió durante 3 horas o toda la noche en la solución de teñido (azul de Coomassie R-250 0.25%, metanol 40%, ácido acético glacial 10%, agua MiliQ). Se volvió a enjuagar con agua destilada hasta no

observar colorante azul y se sumergió de solución de lavado (10% metanol, 10% ácido acético) para el destañido durante 10-15 min o hasta que se observaron bandas. Al final se analizó el gel en un Gel Doc™ EZ Imaging System with Image Lab™ Software (Bio-Rad Laboratories) usando la bandeja de luz blanca.

6.6 Secuencias de *Arthrospira platensis* en Protein Data Bank (PDB)

Las secuencias de proteínas han sido reportadas y además cuentan con cristalografía, se consultaron las secuencias de ficocianina-C (1GH0), aloficocianina (1ALL), fotoliasa (6KII), ferredoxina (4FXC), ATP sintasa (2WIE) y adenilil ciclasa (1WC0) de la base de datos Protein Data Bank (PDB) (Berman et al., 2000). Cada una de ellas han sido reportadas en el microorganismo *A. platensis* y para este trabajo fueron almacenadas como secuencias de proteínas de una sola letra.

6.7 Hidrólisis *in silico*

Las secuencias seleccionadas fueron sometidas a una hidrólisis enzimática *in silico* mediante el uso de la herramienta *BIOPEP-UVM*. Primero se realizó una búsqueda general de los diversos péptidos contenidos en la secuencia con potencial de tener actividad biológica. Seguido se llevó a cabo una búsqueda más específica utilizando 3 enzimas: quimotripsina A (EC.3.4.21.1), tripsina (EC.3.4.21.4), pepsina (pH 1.3) y pepsina (pH >2) (EC.3.4.23.1) (Minkiewicz et al., 2019). Con los resultados obtenidos usando enzimas se identificaron péptidos que no han sido reportados a fin de predecir su actividad biológica usando docking molecular.

6.8 Predicción de actividad biológica

6.8.1 Filtrado de péptidos por probabilidad de ser bioactivos

Usando una herramienta llamada PeptideRanker se realizó un cribado de péptidos con el propósito de obtener sólo secuencias con una calificación mayor a 0.7 de puntuación asignada por dicha aplicación (Mooney et al., 2012). Como segundo filtro

se consultaron las secuencias que resultaron del paso anterior en la base de datos PeptideAtlas verificando que no hayan sido reportadas anteriormente en *A. platensis*. Finalmente, en los siguientes pasos se trabajaron los péptidos que resultaron de estos filtros.

6.8.2 Docking molecular

6.8.2.1 Enzimas diana

Para llevar a cabo el docking molecular se utilizaron dos enzimas claves en el tratamiento de la diabetes: la dipeptidil peptidasa-IV (DPP4) que es una enzima cuya inhibición ayuda en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2; y la lipasa pancreática (LP), enzima que participa en la digestión de los triglicéridos y es blanco de varios fármacos para el tratamiento de la obesidad. Las estructuras 3D de la dipeptidil peptidasa-IV (2QOE) y la lipasa pancreática (1LPB) fueron obtenidas del PDB.

6.8.2.2 Ligando

Como control para la inactivación de las enzimas DPP4 y LP se usaron medicamentos disponibles comercialmente para el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente cuya estructura se encuentra disponible en la base de datos PubChem. Estos compuestos fueron: Sitagliptina (PubChem CID:4369359) y Orlistato (PubChem CID: 3034010). Los péptidos obtenidos fueron modelados usando el software Avogadro v1.2.0, además de aplicarles un campo de fuerza UFF para una minimización de energía hasta llegar a valores muy cercanos a 0, esto para los controles y los péptidos (Hanwell et al., 2012).

6.8.2.3. Preparación de moléculas e identificación de sitio activo

Para agilizar el docking molecular se utilizó PyRx (*Python Prescription* 0.8) ya que este prepara de manera automática al seleccionar si una molécula funcionará como macromolécula o como ligando, dicha preparación consiste en eliminar molecular de agua, agregar hidrógenos polares, asignar cargas y convertirlo a formato .pdbqt para que sea compatible con Autodock Vina v1.1.2 (Trott & Olson, 2010). Para optimizar el uso de recursos computacionales el diseño de la “caja” se llevó a cabo

tomando en cuenta los aminoácidos claves para la inactivación de las enzimas DPP4 (Ser630, Asp708, His740, Trp659, Val656, Val711, Tyr631, Tyr662 y Tyr666) y LP (Ser152, Asp176, His263, Phe77, His151 y Phe215). En el caso de la DPP4 es una enzima dimerica por lo que la caja debe de contener en ambos dímeros los residuos de aminoácidos antes mencionados (Ambhore et al., 2023; Wang et al., 2022). Las coordenadas para las enzimas fueron las siguientes: $x=16.5253$, $y=54.1773$, $z=37.667$ para DPP4; $x=7.4865$, $y=27.1236$, $z=49.9836$ para LP. Las dimensiones fueron: $x=45.8705$, $y=23.5609$, $z=18.7569$ para DPP4; $x=25.0$, $y=25.0$, $z=25.0$ para LP. Todos los parámetros no mencionados fueron tomados por defecto propuestos por el programa PyRx.

VII. Resultados y discusión

7.1 Identificación de diferentes proteínas mayoritarias *A. platensis* SDS-PAGE

Mediante SDS-PAGE, se obtuvieron bandas que coinciden con los pesos moleculares de las distintas proteínas usadas en este estudio, según el peso molecular reportado en PDB. En la figura 10, se puede observar las distintas bandas que se obtienen de las proteínas de *A. platensis*. Siendo sus pesos moleculares de las proteínas que necesitamos de: ficocianina 36 kDa, aloficocianina 35.5 kDa, ferredoxina 10.7 kDa, ATP sintasa 60.3 kDa, adenilil ciclasa 49.5 kDa y desoxirriborimidina fotoliasa 58.5 kDa.

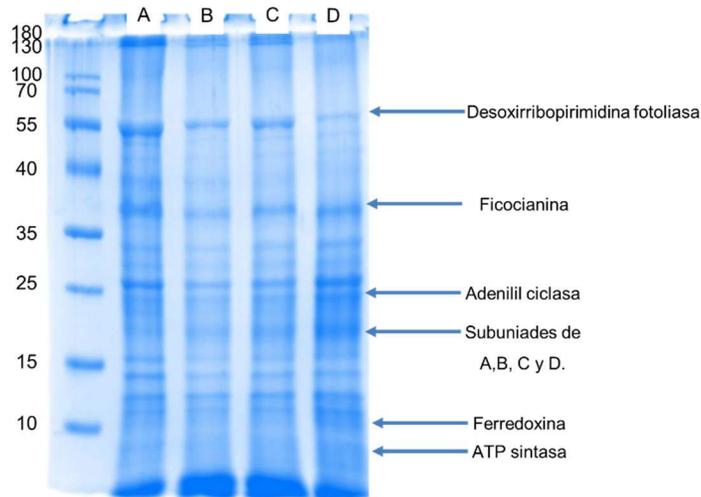


Figura 3. Gel de poliacrilamida con proteína extraída de *A. platensis*. A) TCA-Acetona B) Disuelta en NH_4Cl C) 1er extracción con PBS D) 2da extracción con PBS.

Además de que coinciden las bandas de las dos proteínas más abundantes (Ficocianina y aloficocianina) conforme los geles reportados (figura 11) por (Aiello et al., 2019) y por (Manirafasha et al., 2017).

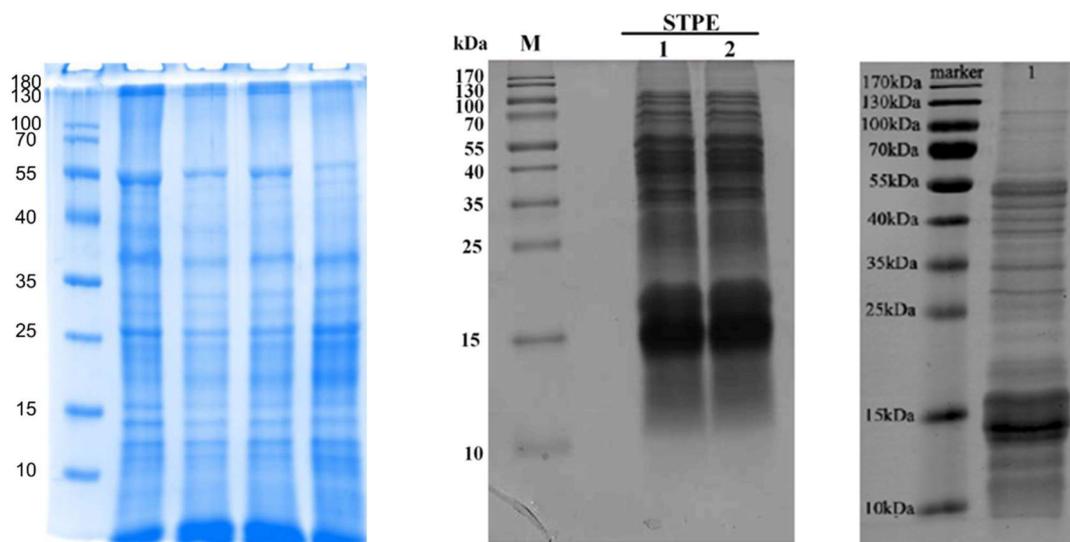


Figura 4. Izquierda, gel elaborado en este trabajo. Centro, gel reportado por Aiello *et al.*, 2019. Derecha, gel reportado por Manirafasha *et al.*, 2017.

Sin embargo, los geles de poliacrilamida no nos garantizan la presencia de estas proteínas, por lo que se necesitan más estudios para conocer la composición de la extracción realizada a la cepa utilizada en este estudio. No obstante, nos ayudan a verificar la integridad de la proteína, su pureza y estimar la cantidad de las proteínas.

7.2 Hidrólisis de proteínas *in silico*

7.2.1 Secuencias de las proteínas

Las proteínas usadas fueron 6 reportadas en PDB (*Protein Data Bank*) y se encuentran escritas como secuencia de aminoácidos en código de una sola letra tal como se muestra en la tabla 6, en esta tabla también se pueden encontrar otras características de las proteínas como su peso molecular, su punto isoeléctrico, el promedio general de hidropatía (GRAVY) el cual nos dice si una proteína es hidrofóbica (positivo) y si es hidrofílica (negativo), además de mostrar el aminoácido más predominante.

Tabla 6. 6 proteínas reportadas en PDB de *A. platensis*.

Proteína	Secuencia	Peso molecular (Da)	Punto Isoeléctrico	GRAVY	Aa más presente
Ficocianina-C (α)	MKTPLTEAVSVADSQGRFLSSTEI QVAFGRFRQAKAGLEAAKALTSKA DSLISGAAQAVYNKFPYTTQMGGP NYAADQRGKDKCARDIGYYLRMV TYCLIAGGTGPMDEYLIAGIDEINRT FELSPSWYIEALKYIKANHGLSGDA AVEANSYLDYAINALS	17585.87	5.83	-0.183	Ala (A) 14.8%
Ficocianina-C (β)	MFDAFTKVVSQADTRGEMLSTAQI DALSQMVAESNKRLDVVNRITSNA STIVSNAARSLFAEQPQLIAPGGNA YTSRRMAACLRDMEIILRYVTYAVF AGDASVLEDRCLNGLRETYLALGT PGSSVAVGVGKMKEAALAIVNDPA GITPGDCSALASEIAGYFDRAAAAV S	18059.54	4.96	0.17	Ala (A) 16.9%
Aloficocianina (α)	SIVTKSIVNADAEARYLSPGELDRIK SFVTSGERRVRIAETMTGARERIIK QAGDQLFGKRPDVVSPGGNAYGA DMTATCLRDLDYLLRITYGIVAGD VTPIEEIGVVGVMREMYKSLGTPIEAI AEGVRAMKSVATSLLSGADAAEA GSYFDYLIGAMS	17089.48	5.07	0.017	Ala (A) 11.9%
Aloficocianina (β)	MQDAITSVINSSDVQGYLDASAIQ KLKAYFATGELRVRAATTISANAAN IVKEAVAKSLLYSDVTRPGGNMYT TRRYAACIRDLDYYLRYATYAML GDPSILDERVLNGLKETYNSLGVPI GATVQAIQAMKEVTAGLVGGGAG KEMGIYFDYICSGLS	17243.7	7.67	0.047	Ala (A) 13.7%

	MAANPQKIILWYRNDLRLHDHEPL DLATSTQGQIIPLYCFDPRQFAKTS FGFPKTGGFRGKFLLESVADLRHN FQKIGSNLLVRIGEPERVIFDLVKQL NIDAVYYHKEVTAEEELAVETALEKA LTPLGVEVKSFWGATLYHLKELPF PIEKLPelfFTNFRKQVEQKSVIYPP YTPPNQLPQFPDIEPGEIPTLTELGI TPAPFDERSVLDFAAGGETAGLSRL				
Desoxirribopir	NDYFWRDCLKNYKQTRNGMLGS				
imidina	DYSSKFSPWLANGCLSPRWIYQQ	56849.69	6.53	-0.443	Leu (L) 10.0%
fotoliasa	VQDYQHQRVKNDSTYWLVFELLW RDYFRFICLKHGPKVfyKsGLQGV KIPWGENWEQWQIWCQGLTGFPL VDANMRELAATGFMSNRGRQNVA SFLTknLGINWQMGAewFESVLID YDVCSNwGNwnyTAGVgNDGRG FRYFNIAKQSQDYDPMGDYVKhW LPELASIPDGRVHSPWRLSNQEIQI RFGVRLGVDYPYPMVDLQESVEA NRRiYEKALRMT				
	ATYKVTLINeAGINeTIDCDDDTYI LDAEEAGLDLPYSCRAGACSTCA GTITSGTIDQSDQSFLDDDQIEAGY VLTCVAYPTSDCTIKTHQEEGLY	10502.38	3.64	-0.23	Thr (T) 12.2% Asp (N) 12.2%
	MESNLTTAASVIAAALAVGIGSIGP GLGQQQAAGQAVEGIARQPEAEG KIRGTLTLLSLAFMEALTYGLVVALV LLFANPFV	8180.6	4.65	0.894	Ala (A) 18.3%
	MGSSHHHHHSSGLVPRGSHMR PEPRLITILFSDIVGFTRMSNALQS QGVAELLNEYLgEMTRAVFENQG TVDKFVGDAIMALYGAPEEMSPSE QVRRAIATARQMLVALEKLNQGW QERGLVGRNEVPPVRFRCGIHQG	24162.68	5.9	-0.151	Val (V) 8.7

MAVVGLFGSQERSDFTAIGPSVNI
AARLQEATAPNSIMVSAMVAQYVP
DEEIIKREFLELKGIDEPVMTCVINP
NMLNQ

Dentro de las proteínas reportadas en PDB de *A. platensis* la que se encuentra en mayor concentración es la ficocianina (20g/100g de proteína total), la cual tiene como función captar la luz y así lograr llevar a cabo la fotosíntesis. Además de esto, contienen Metionina dentro de los aminoácidos presentes en las proteínas, el cual no está presente en varias microalgas (Lupatini et al., 2017). De manera particular, el aminoácido que se encuentra en mayor concentración es la Alanina (A) el cual es reconocido por la enzima pepsina, cortando después de este y liberando péptidos. De estos péptidos, algunos han sido reportados generados mediante la hidrólisis de proteína de *A. platensis* usando pepsina mostrando actividad antioxidante y antidiabética (Begum et al., 2024). Además, hay que destacar que si se quieren aislar diversas proteínas los puntos isoeléctricos se encuentran separados entre sí, sin embargo, hay estudios en los que se usa un punto isoeléctrico de 3.5 a 3.8 para la recuperación total de las proteínas (Sánchez-Zurano et al., 2020).

7.2.2 Péptidos con potencial actividad biológica de las proteínas de *A. platensis*.

BIOPEP-UVM, utiliza toda la secuencia de aminoácidos y compara con la base de datos para encontrar secuencias idénticas que hayan sido reportadas con cierta actividad biológica (Iwaniak et al., 2024). Dentro de las 6 proteínas de *A. platensis* se encuentran diversos péptidos con potencial actividad biológica y, como se observa en la figura 5, se generan mayor cantidad de péptidos con actividades como inhibidor de la dideptidil peptidasa-IV, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina y como antioxidante.

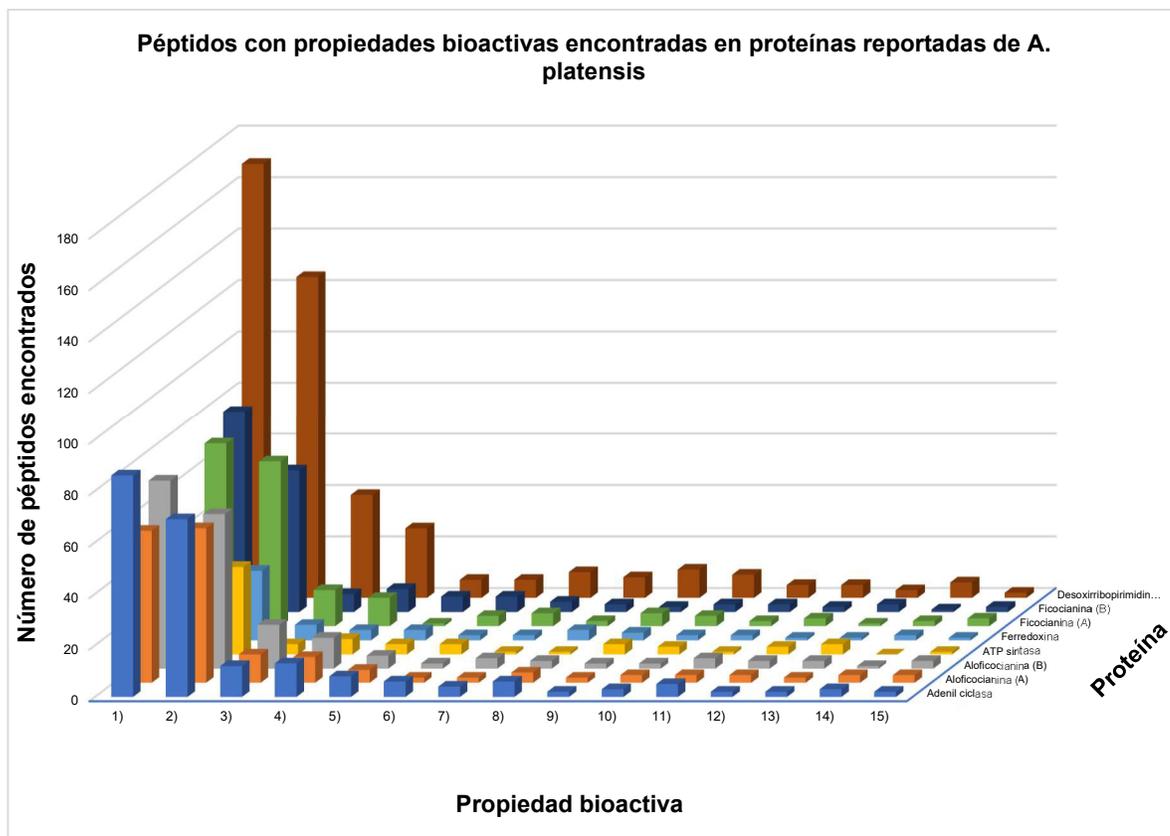


Figura 5. Primeras 15 actividades biológicas y el número de péptidos por cada proteína con esa actividad. 1) inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV 2) inhibidor de la ACE 3) antioxidante 4) inhibidor de la dipeptidil peptidasa III 5) estimulante 6) inhibidor de la tripeptidil peptidasa II 7) inhibidor de la renina 8) inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa II 9) hipouricemica 10) inhibidor de la alfa-glucosidasa 11) neuropéptido 12) regulador 13) inhibidor del citosol alanil aminopeptidasa 14) inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa 15) inhibidor de la tubulina-tirosina ligasa.

Estudios como el de Villaró *et al.*, 2023 y Liu *et al.*, 2022 reportan que mediante la hidrólisis enzimática de las diversas proteínas de *A. platensis* entre ellas ficocianina y aloficocianina, generan péptidos con propiedades biológicas destacando propiedades como la inhibición de la ACE-1 (enzima convertidora de angiotensina), inhibición de la DPP4, capacidad antioxidante, inhibidor de la renina e incluso inhibidor de la dipeptidil peptidasa III. Por lo anterior, usando herramientas como BIOPEP-UVM permite predecir que proteínas son candidatas por usar para la generación de péptidos con propiedades biológicas, y además conocer que

actividades pueden ejercer estos péptidos, tal como se muestra en la tabla 7 (J. Liu et al., 2022; Villaró, Jiménez-Márquez, et al., 2023).

Tabla 7. Predicción in silico de actividades biológicas de los péptidos extraídos de 4 proteínas *Arthrospira platensis*.

Proteína		Adenil ciclasa	Alofococianina (A)	Alofococianina (B)	ATP sintasa	Ferredoxina	Ficocianina (A)	Ficocianina (B)	Desoxirribopirimidina fotoliasa
Actividad biológica									
1)	Inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV	86	59	73	44	41	71	78	169
2)	Inhibidor de la ACE	69	60	60	34	27	64	55	125
3)	Antioxidante	12	11	17	4	6	14	7	40
4)	Inhibidor de la dipeptidil peptidasa III	13	10	12	6	4	11	9	27
5)	Estimulante	8	5	5	4	4	1	6	7
6)	Inhibidor de la dipeptidil peptidasa II	6	2	2	4	2	4	6	7
7)	Inhibidor de la renina	4	2	4	1	2	5	4	10
8)	Inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa II	6	4	3	1	4	2	3	8
9)	Hipouricemica	2	2	2	4	3	5	2	11
10)	Inhibidor de la alfa-glucosidasa	3	3	2	3	2	4	3	9

11)	Neuropéptido	5	3	4	1	2	2	3	5
12)	Regulación	2	3	3	3	1	3	2	5
13)	Inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa	2	2	3	4	1	1	3	3
14)	Inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa	3	3	1	0	2	2	1	6
15)	Inhibidor de la tubulina-tirosina ligasa	2	3	3	1	1	3	2	2

Se generaron alrededor de 1700 péptidos con una longitud de 2-4 aminoácidos y su información se encuentra en BIOPEP-UVM, así como la actividad biológica que ha sido reportada en el mismo sitio. Usando StirPep Anekthanakul *et al.*, 2019 hidrolizaron más de 6000 proteínas de *A. platensis* logrando obtener 30,744 péptidos distintos con las secuencias obtenidas en el presente estudio (Anekthanakul *et al.*, 2019).

7.2.3 Péptidos pequeños (2-4 aa) con potencial actividad biológica de las proteínas de *A. platensis* usando enzimas.

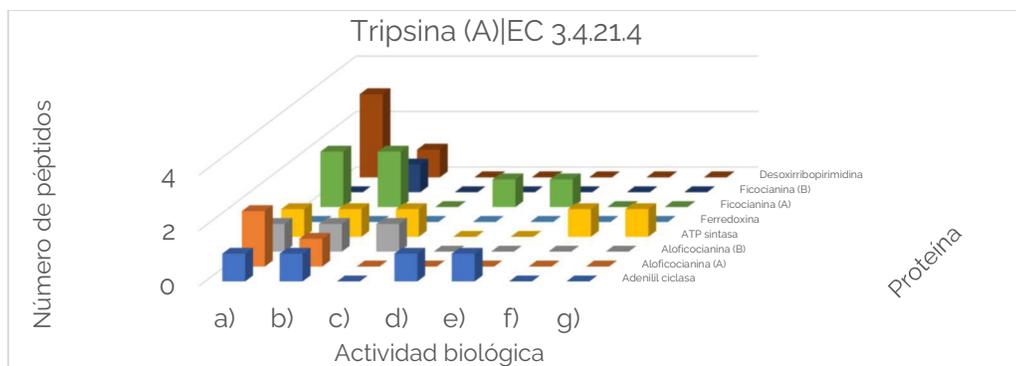
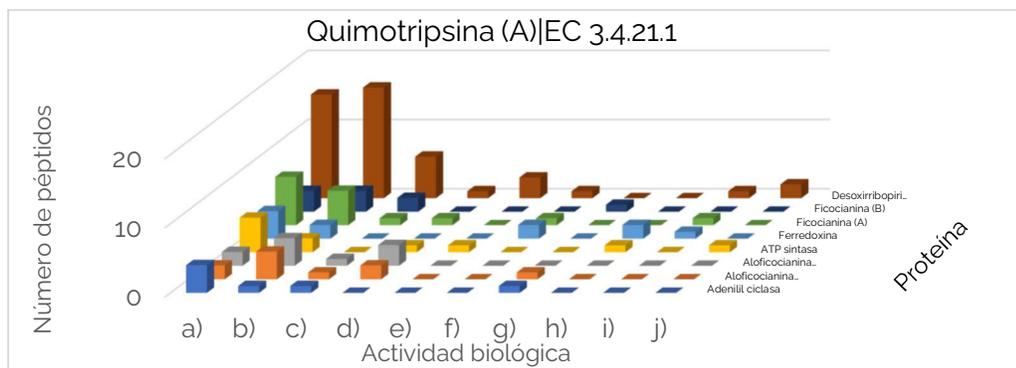
Las enzimas usadas según BIOPEP-UVM (tabla 8) además de que en esta tabla se especifica el sitio de reconocimiento y de corte de cada enzima, que es donde el sitio activo de cada enzima reconoce a los aminoácidos de la proteína hidrolizando el enlace peptídico agregando una molécula de agua, con esto se generan cortes en la proteína que generan cadenas de aminoácidos más cortos.

Tabla 8. Enzimas y su sitio de reconocimiento y corte.

EC	Nombre	Sitio de reconocimiento	Secuencia de corte
EC 3.4.21.1	Quimotripsina	Y, W, F, L, N, H, M	Y, W, F, L, N, H, M

EC 3.4.21.4	Tripsina	K, R	K, R
EC 3.4.23.1	Pepsina pH 1.3	F, L	F, L
EC 3.4.23.1	Pepsina pH >2	F, L, G, Y, A, E, Q, T, N, K, V, D, M, I	F, L, G, Y, A, E, Q, T, N, K, V, D, M, I

Y los péptidos que se generan siguen manteniendo que de las primeras actividades sólo que con un menor número de incidencias. Dentro de las enzimas usadas la pepsina y quimotripsina destacan por tener la mayor cantidad de sitios de corte y de reconocimiento. Además de que pepsina tiene Alanina (A) como sitio de corte y las proteínas usadas contienen un alto contenido de este aminoácido.



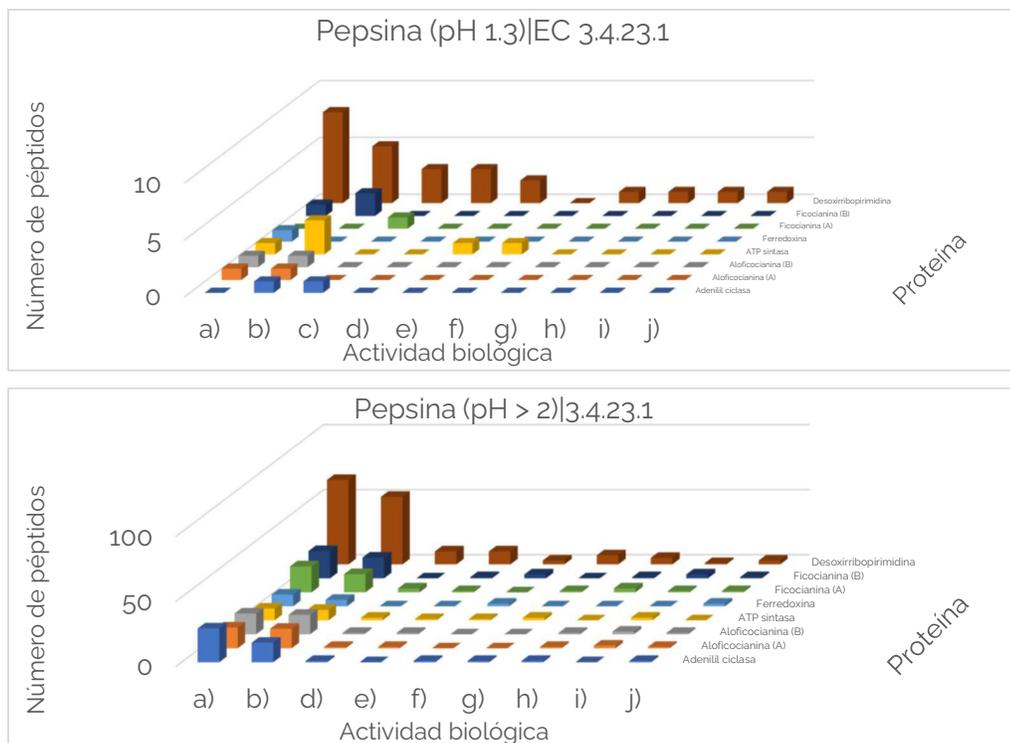


Figura 6. a) inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV b) inhibidor de la ACE c) antioxidante d) regulador e) inhibidor de la dipeptidil peptidasa III f) neuropéptido g) inhibidor de la tubulina-tirosina ligasa h) estimulante i) antiinflamatorio j) inhibidor de la tripeptidil peptidasa II.

En la figura 6 se muestran las diferentes gráficas que muestran con que ocurrencia aparecen péptidos de las distintas proteínas hidrolizadas con cada enzima y por cada actividad biológica. Hay que destacar que usando pepsina se obtienen mayor cantidad de péptidos (488 péptidos) y que tiene mayor probabilidad de contener péptidos que tengan buena actividad antiobesidad (198 péptidos) (Fan et al., 2018)

Y, a pesar de que en el análisis *in silico* no se obtiene un gran número de secuencias usando tripsina, se han reportado péptidos con actividad antidiabética principalmente identificados de la hidrólisis de las ficobiliproteínas de *A. platensis* y probadas en células Caco-2 (Y. Li et al., 2020)

Cabe mencionar que dipéptidos y tripéptidos tienen una mayor disponibilidad y son de mejor absorción dentro de las células debido a una menor diferencia de presión osmótica. En adición a esto, la actividad biológica depende de la composición de aminoácidos de cada péptido (Görgüç et al., 2020). Por esto, los resultados

obtenidos del análisis de los datos obtenidos mediante BIOPEP-UVM tienen una gran variedad de actividades biológicas siendo mayormente dipéptidos y tripéptidos.

Usando PeptideRanker para puntuar los péptidos en una escala de 0 a 1 por la probabilidad que tienen de ser bioactivos con base a los distintos aminoácidos de los que están conformados siendo más cercano a 1 los de mayor probabilidad de realizar una actividad biológica. De los péptidos generados mediante BIOPEP-UVM se obtuvieron los péptidos con una probabilidad mayor a 0.7 (tabla 9) para seguir con el docking molecular.

Tabla 9. Péptidos de 2-4 aa con probabilidad mayor de 0.7 de ser bioactivos.

#	Probabilidad	Secuencia	Peso molecular (Da)
1	0.998831	WF	351.4
2	0.996643	MF	314.4
3	0.994712	GF	240.26
4	0.99343	PF	280.32
5	0.992384	WG	261.28
6	0.987079	WL	317.38
7	0.985719	FR	339.39
8	0.974885	WY	367.4
9	0.973259	AF	254.28
10	0.951886	PM	264.34
11	0.948796	SF	270.28
12	0.939149	WN	318.33
13	0.909891	WQ	332.36
14	0.877086	PG	190.2
15	0.847822	RM	323.41
16	0.847061	WRD	493.51
17	0.815398	VF	282.34
18	0.811148	PL	246.3
19	0.808777	GL	206.24
20	0.738353	RG	249.27
21	0.736696	PY	296.32

En varios estudios presentan péptidos como AG, IL y WR con actividades destacables en la inhibición de la ACE y la DPP4 para el tratamiento de la hipertensión y la diabetes mellitus tipo 2, respectivamente sin embargo no mencionan como sucede esta inhibición (Villaró, Jiménez-Márquez, et al., 2023).

7.2.4 Péptidos (>5 aa) con potencial actividad biológica de las proteínas de *A. platensis* usando enzimas.

Después de obtener las secuencias mediante BIOPEP-UVM, se consultaron los péptidos en busca de algunas que ya hayan sido reportados con actividad biológica contra DPP4 y antioxidante. Los que no han sido reportadas fueron evaluados mediante PeptideRanker y se obtuvieron 26 péptidos con calificación de más de 0.7 en una escala de 0 a 1 (Tabla 10).

Tabla 10. Péptidos candidatos a tener actividad inhibitoria de DPP4 y antioxidante.

#	Probabilidad	Secuencia	Peso molecular (Da)
1	0.9288	FSPWLANGCLSPR	1448
2	0.9209	LNDYFWR	1013
3	0.8506	WRRDCL	848
4	0.8485	SPSWY	639
5	0.8108	GINWQMGAWEF	1339
6	0.8041	VHSPWRL	894
7	0.8016	GITPAPF	702
8	0.7894	KGIDEPVMTCVINPML	1874
9	0.7811	SPSWYIEAL	1065
10	0.7711	MESNLTTAASVIAAALAVGIGSIGPGLGQQQAAGQAVEGIAR	3880
11	0.6911	SDIVGF	637

Otros estudios generan hasta 73 péptidos candidatos a ser bioactivos, usando UniProt como base de datos para las proteínas y 4 enzimas para la hidrólisis. A pesar de ser el mismo microorganismo, los 73 péptidos reportados no son idénticos a los generados en este estudio (J. Liu et al., 2022).

7.3 Docking molecular

7.3.1 Obtención de enzimas diana

Para llevar a cabo el docking molecular para conocer la interacción de los 24 péptidos con las enzimas DPP4 y LP se consultaron en PDB las distintas estructuras de la DPP4 y la LP y se eligieron las de mejor calidad según su validación. Las enzimas elegidas fueron 2QOE (2.3 Å) y 1LPB (2.46 Å) y su validación (figura 7). Esta validación permite conocer la calidad de la cristalografía expuesta y nos da a conocer defectos que pueden tener, entre más orientado esté hacia el azul, será de buena calidad mientras que si se inclina más hacia la zona roja, la calidad disminuye.

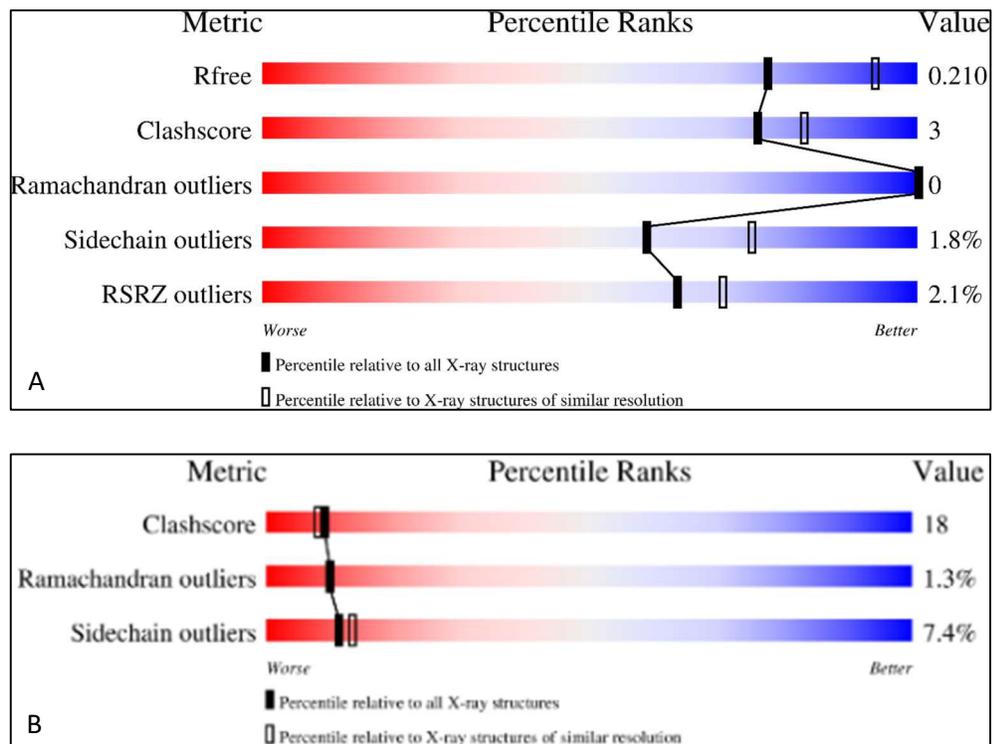


Figura 7. A) Validación de la enzima 2QOE y B) validación de la enzima 1LPB.

7.3.2 Sitio catalítico y espacio de búsqueda

Los aminoácidos implicados en el sitio catalítico de la enzima DPP4 son la triada catalítica Ser630, Asp708 e His740 (X. Zhang et al., 2022). Sin embargo, otros

autores muestran que el sitio hidrofóbico S1 con los residuos de aminoácidos: Ser630, Asp708, His740, Trp659, Val656, Val711, Tyr631, Tyr662 y Tyr666, son clave en la inhibición de la actividad enzimática de la DPP4 (Ambhore et al., 2023). Otros autores reportan sitios hidrofóbicos incluyendo otra serie de aminoácidos, sin embargo otros estudios sólo toman en cuenta los antes mencionados. Mientras que para LP los sitios reportados que participan en el sitio activo de la enzima son Ser152, Asp176, His263, Phe77, His151 y Phe215 (Wang et al., 2022)

Por lo tanto, se ubicaron como se muestra en la figura 8, los sitios de unión con el fin de disminuir la carga computacional para la predicción. En la figura 8, podemos observar en estructura de esferas los sitios de unión a las enzimas DPP4 y LP.

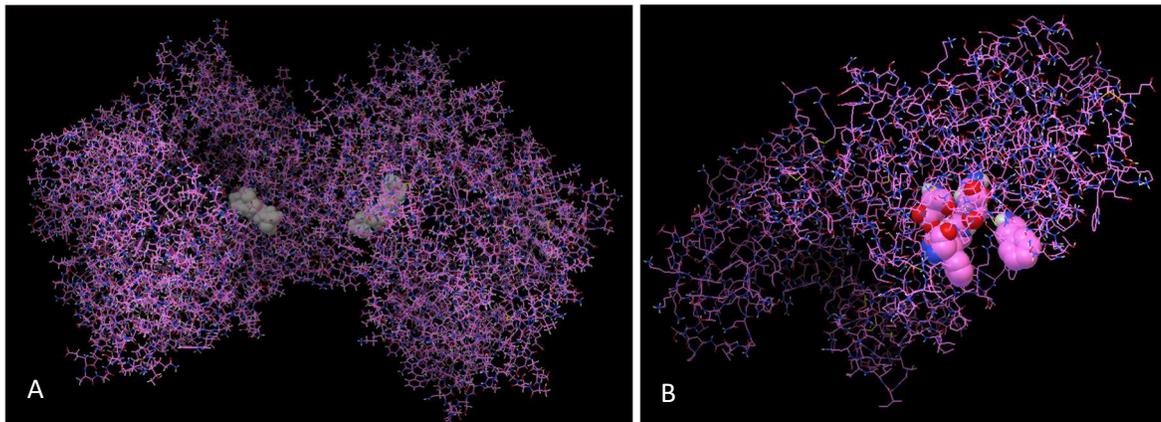


Figura 8. Sitios catalíticos de las enzimas A) DPP4 y B) LP.

7.4 Docking molecular usando DPP4

7.4.1 Péptidos con mejor calificación para la inhibición de DPP4

Se eligieron los péptidos que tuvieran una calificación mayor al control sitagliptina o hasta 0.3 inferior (tabla 11). Comparado con otros autores como Zhang *et al.*, 2022 que utilizan otra versión de la enzima DPP4 (2QOE) con una resolución menor que la usada en este estudio obtienen una energía de unión de -7.9 kcal/mol, por lo que se tomó como válido usar -7.5 kcal/mol como control de este estudio (X. Zhang et al., 2022).

Tabla 11. Péptidos con mejor energía de afinidad para DPP4.

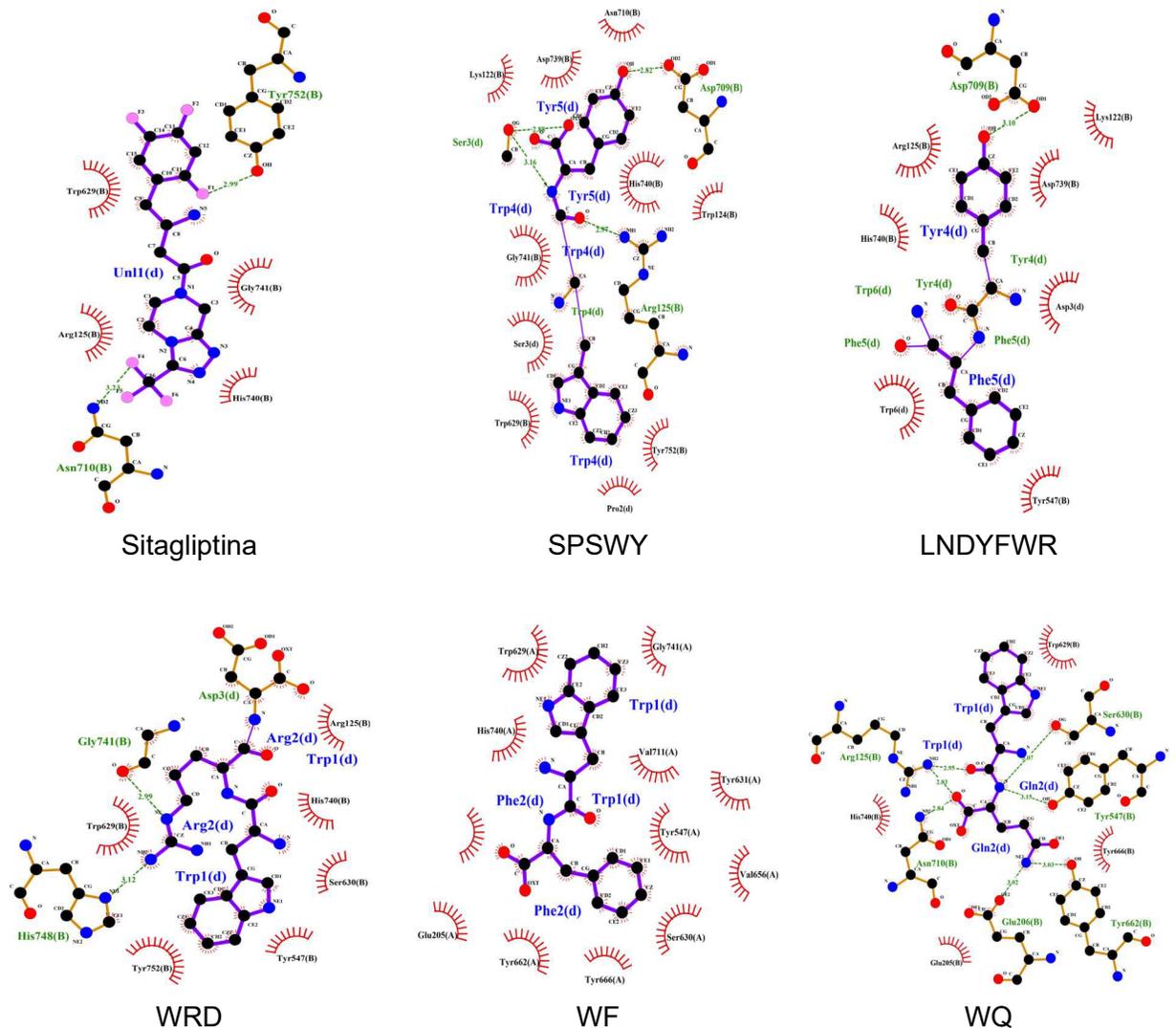
Receptor	Compuesto	Energía de afinidad (kcal/mol)	Masa (Da)	Punto isoelectrico
Dipeptidil peptidasa IV	Sitagliptina	-7.5		
	WF	-7.9	351.4	5.52
	WQ	-7.7	332.35	5.52
	GITPAFF	-7.7	701.82	5.52
	SPSWY	-7.6	640.68	5.24
	WRD	-7.5	475.5	5.84
	RG	-7.4	231.25	9.75
	WY	-7.3	367.4	5.52
	LNDYFWR	-7.3	1013.12	5.84
	SDIVGF	-7.3	636.69	3.8
FR	-7.2	321.37	9.75	

Dentro de las pruebas realizada mediante docking molecular en la inhibición de la enzima DPP4 se encontraron compuestos que superan la energía de afinidad generada por la sitagliptina, entre ellos se encuentran los péptidos WF, WQ, GITPAFF, SPSWY Y WRD siendo los mejores candidatos para inhibir la acción de la enzima DPP4.

7.4.2 Interacciones proteína-péptido para la inhibición de la DPP4.

En la figura 9, se muestran todas las interacciones que tienen los péptidos anteriormente listados con la enzima DPP4. Esto permite localizar los diferentes péptidos que están interaccionando con los sitios clave para la inhibición de la enzima DPP4 (Ser630, Asp708, His740, Trp659, Val656, Val711, Tyr631, Tyr662 y Tyr666). Como es el caso del péptido WF que tiene la mejor energía de afinidad. Este péptido se une mediante fuerzas hidrofóbicas a los aminoácidos Ser630, His740, Val711, Tyr631, Tyr662, Tyr666, los cuales pertenecen al sitio S1 de la enzima y comparado con la sitagliptina que sólo interacciona con His740 de forma hidrofóbica. Sitagliptina en comparación tiene la energía de afinidad parecida debido

a que, si bien no interacciona con muchos aminoácidos implicados en la inhibición de la enzima, si reacciona con otros residuos formando puentes de hidrógeno como con el Asn710. También hay que destacar que el péptido WQ reacciona con DPP4 formando 6 enlaces puente de hidrógeno entre ellos con la Ser630 y la Tyr662, además de algunas interacciones hidrofóbicas con otros residuos de aminoácidos como Tyr666 e His740, aminoácidos clave en la inhibición de la actividad de la DPP4.



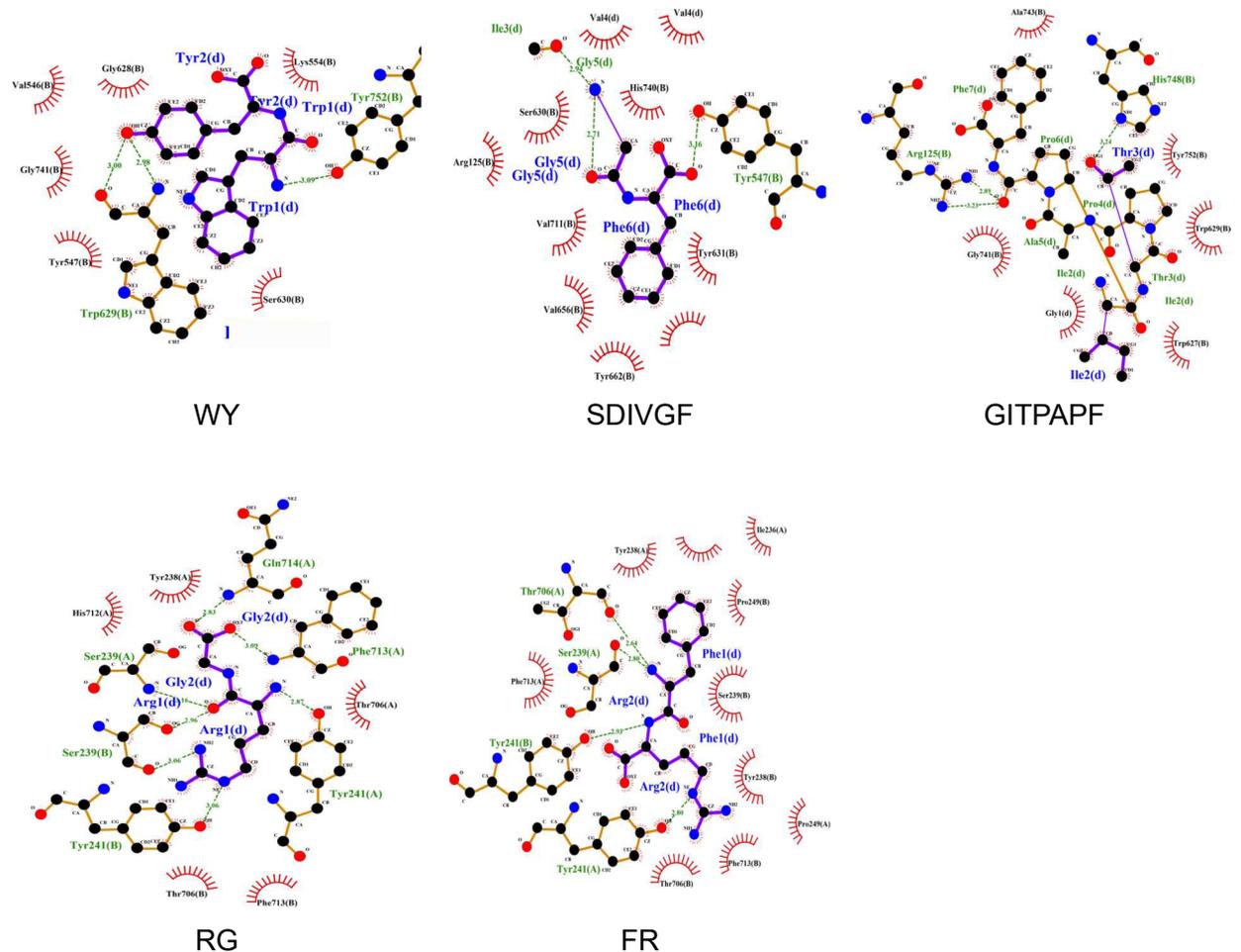


Figura 9. Interacciones en 2D de los diferentes péptidos con DPP4.

En relación con otras interacciones con algunos aminoácidos (Arg125, Phe357, Arg358, Tyr547, Pro550 and Asn710) que pertenecen a otro sitio de unión de la enzima, sin embargo, los antes mencionados en este trabajo son los clave para la inhibición de la enzima DPP4 (Ambhore et al., 2023). Otro estudio realizado por Zhang y colaboradores en 2022, en el que hidrolizaron la proteína extraída del suero de oveja usando tripsina encontraron 2 secuencias peptídicas: RLYLHENK y MQEHFTCCR con energías de afinidad de -11.29 y -10.79 kcal/mol, respectivamente. A pesar de la diferencia en la energía de afinidad los enlaces con las moléculas siguen manteniéndose en el estudio presente, sin embargo, la

cantidad de aminoácidos es mayor en el estudio realizado por Zhang teniendo una probabilidad mayor de que la secuencia se una a la proteína o que incluso tenga mayor flexibilidad para unirse a esta misma (X. Zhang et al., 2022). No obstante, un péptido de menor tamaño tiene mayores ventajas sobre un péptido más grande, un péptido muy corto (2-5 aa) es más fácil y económico de producir, una mayor estabilidad mecánica, mejor penetración de tejidos y es menos probable que exista reacción negativa por el sistema inmune (Apostolopoulos et al., 2021).

7.5 Docking molecular usando LP

7.5.1 Péptidos con mejor calificación para la inhibición de DPP4

Para el caso de la lipasa pancreática (tabla 12) el control fue el orlistato y se obtiene una energía de afinidad de -6.5 kcal/mol, comparado con algunos estudios llevados a cabo usando la misma enzima, obtienen energía de afinidad de -6.4 kcal/mol por lo que se da como válido usar el valor para la comparación con la energía de afinidad generada por los péptidos obtenidos mediante la hidrólisis enzimática *in silico* (Urbizo-Reyes et al., 2022).

Tabla 12. Péptidos con mejor energía de afinidad para la inhibición de LP.

Receptor	Compuesto	Energía de afinidad (kcal/mol)	Masa (Da)	Punto isoelectrico
Lipasa pancreática	Orlistato	-6.5		
	WF	-9.9	351.4	5.52
	WY	-9.8	367.4	5.52
	WN	-8.9	318.33	5.52
	SPSWY	-8.8	640.68	5.24
	WL	-8.7	317.38	5.52
	WQ	-8.5	332.35	5.52
	WRD	-8.4	475.5	5.84
	FR	-8.2	321.37	9.75
	WG	-8.2	261.28	5.52
	VHSPWRL	-8.0	894.04	9.73

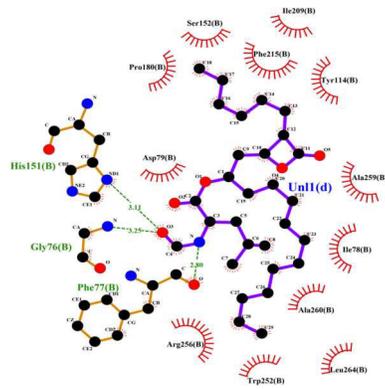
SDIVGF	-7.8	636.69	3.8
PY	-7.5	278.3	5.95
SPSWYIEAL	-7.5	1065.19	4.00
PF	-7.4	262.3	5.96
GITPAPF	-7.4	701.82	5.52
WRRDCL	-7.4	847.99	8.25
VF	-7.3	264.32	5.49
LNDYFWR	-7.3	1013.12	5.84
AF	-7.1	236.27	5.57
MF	-7.0	296.39	5.28
SF	-6.9	252.27	5.24

Entre los péptidos cabe destacar que se muestran los que estuvieron por encima del control y esto se ve reflejado más adelante en la diferencia que hay entre los distintos enlaces que forman los péptidos con los residuos implicados en la inhibición de la enzima. De los aminoácidos que prevalecen en estos péptidos se encuentra el triptófano (W) ya que dentro de los primeros 5 con mayor energía de afinidad contienen este aminoácido. Un estudio realizado por Esfandi *et al.*, 2022, muestra que algunos péptidos con residuos como His, Tyr y Trp muestran una actividad inhibitoria de la lipasa pancreática más favorable que con otros presentados en ese mismo estudio (Esfandi *et al.*, 2022).

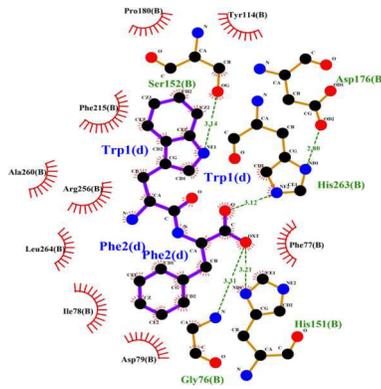
7.5.2 Interacciones proteína-péptido para la inhibición de la LP.

Para el caso de la Lipasa pancreática, los aminoácidos involucrados en el sitio activo son Ser152, Asp176, His263, Phe77, His151 y Phe215. El orlistato que es un medicamento usado para la inhibición de esta enzima, en este mostró interacción de tipo hidrofóbica con los residuos de aminoácidos Ser152 y Phe215, además de que interacciona formando enlaces puentes de hidrógeno con otros aminoácidos destacando la Phe77 e His151, estos 4 aminoácidos forman parte del sitio catalítico, cuando sucede esta interacción estos sitios se ocupan y no logra realizar la función de la lipasa pancreática, lo que ayuda a disminuir la hidrólisis de triglicéridos

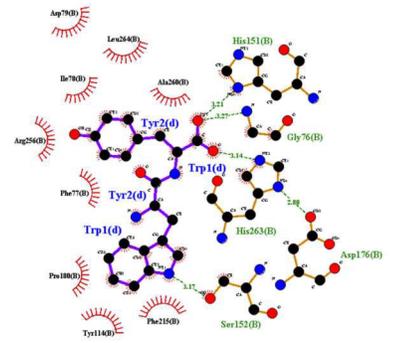
disminuyendo la concentración de ácidos grasos libres en el cuerpo (H. Ye et al., 2023).



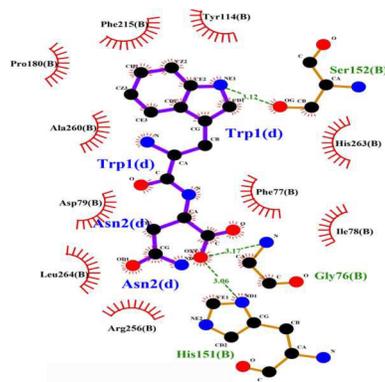
Orlistato



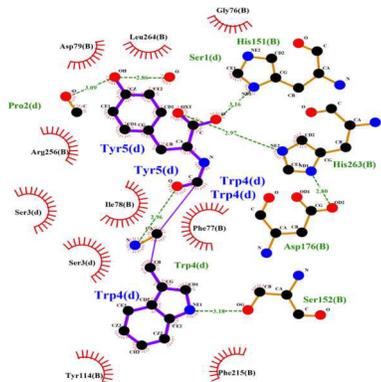
WF



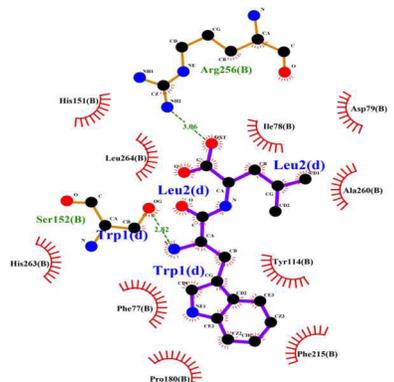
WY



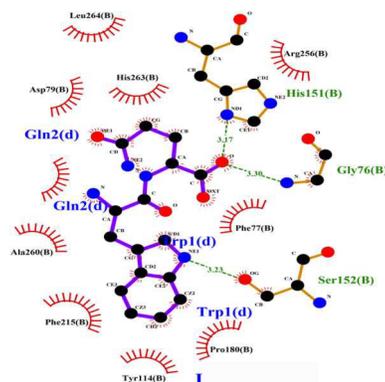
WN



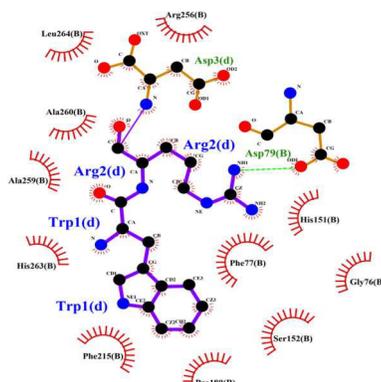
SPSWY



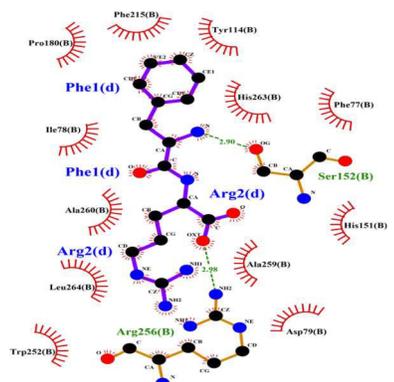
WL



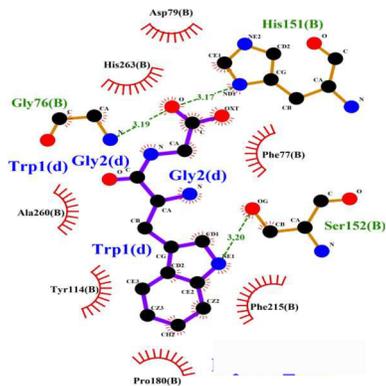
WQ



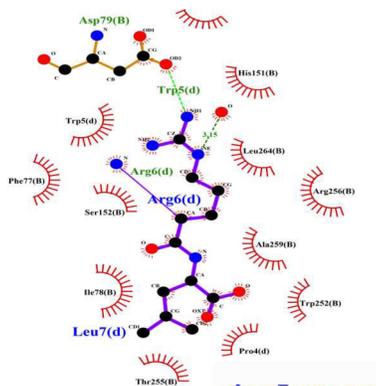
WRD



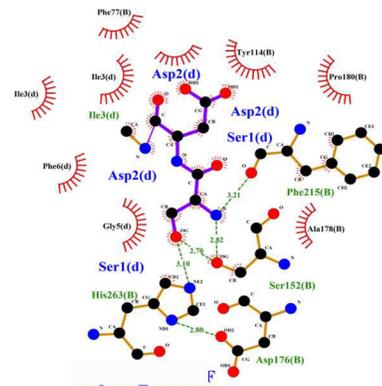
FR



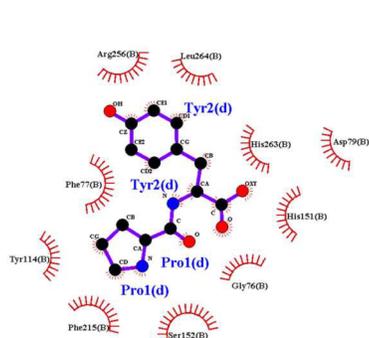
WG



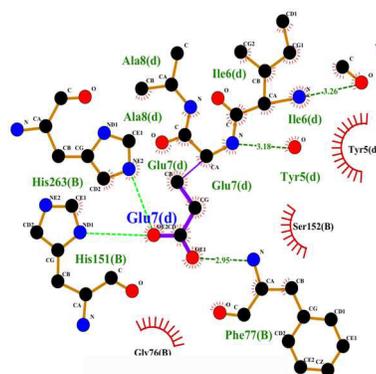
VHSPWRL



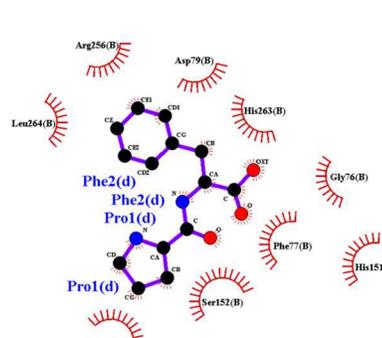
SDIVGF



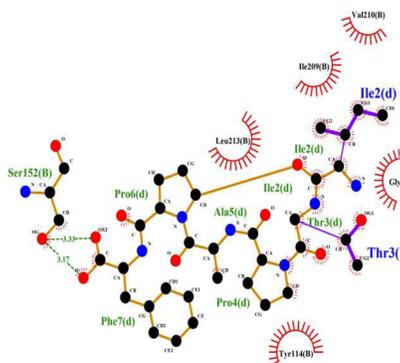
PY



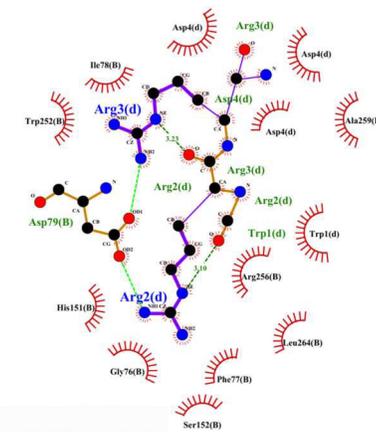
SPSWYIEAL



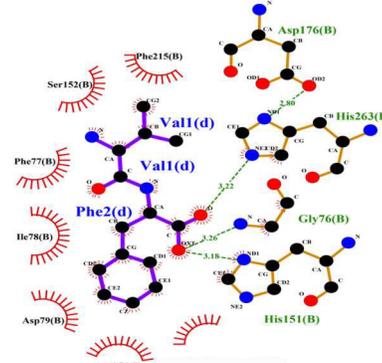
PF



GITPAPF



WRRDCL



VF

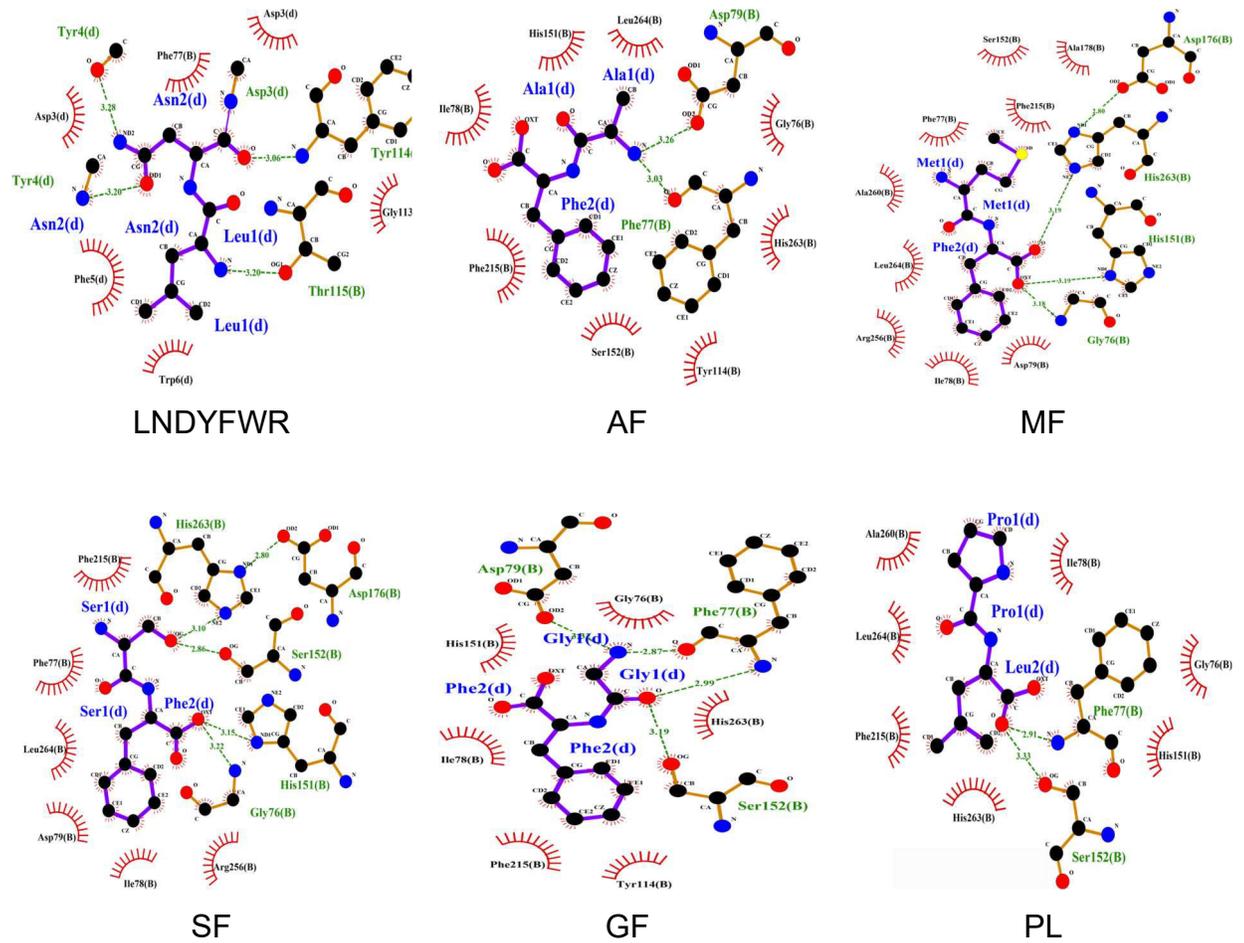


Figura 10. Interacciones en 2D de los diferentes péptidos con LP.

En la figura 10, además del orlistato se presentan los distintos péptidos y su interacción con la lipasa pancreática, así como su interacción con los distintos residuos de aminoácidos implicados en su sitio catalítico. Se destaca la interacción que tiene la enzima con péptidos WF, WY, WN, SPSWY, WL, WQ y WRD. En estos péptidos W (Trp) tiene interacciones con los aminoácidos de la enzima formando enlaces puente de hidrógeno con Ser152 e interacciones hidrofóbicas con Phe77 y Phe215, por lo que coadyuba a la energía de afinidad. Sin embargo, estos 7 péptidos interaccionan formando enlaces puentes de hidrógeno con un promedio de 2 a 4 aminoácidos que participan en el sitio catalítico de la enzima, además de diversas interacciones con otros aminoácidos de forma hidrofóbica aumentando la

energía de afinidad logrando superar al orlistato, lo que conlleva a una unión más fuerte a estos aminoácidos resultando en una interacción más estable. Por otro lado, NIF, EW, AGY, QWM y TF son 5 péptidos con energías de afinidad de entre -8.1 y -7.4 kcal/moles aislados de la proteína de sésamo. Estos péptidos interactúan directamente con los aminoácidos Phe77, His151, Ser152, Phe215 e His263, formando diversas interacciones tal como sucede con nuestros péptidos, pero con energía de afinidad menores a las reportadas en este estudio, siendo los péptidos obtenidos de *A. platensis* mejores en términos de energía de afinidad (Wang et al., 2022).

Todos estos péptidos fueron obtenidos de manera *in silico* por lo que se necesitan más estudios para conocer que proteínas se encuentran en la cepa de estudio disponible en el laboratorio para la generación de una biofábrica de estos péptidos, así como su presencia después de la hidrólisis enzimática con las enzimas usadas. Sin embargo, *A. platensis* es una buena fuente de proteína que puede ser usada como materia prima para la producción de moléculas bioactivas que pueden ser usadas como coadyuvantes para el tratamiento de enfermedades como la diabetes o incluso como tratamientos preventivos para evitar el desarrollo de este tipo de enfermedades no transmisibles.

VIII. Conclusiones

1. Las proteínas mayoritarias se encuentran en *A. platensis* además de que se encuentran reportadas en la base de datos PDB correspondiendo su peso molecular con el que se reporta en esta misma, permitiendo la descarga de sus secuencias.
2. De la hidrólisis *In silico* de las proteínas mayoritarias de *A. platensis* se generan péptidos con una gran variedad de actividades biológicas en BIOPEP-UVM, destacando la inhibición de la dipeptidil peptidasa IV. Sin embargo, el número de actividades es muy amplia abriendo la posibilidad de seguir estudiando las propiedades que estos péptidos puedan mostrar.
3. Se obtuvieron 10 secuencias que muestran buena actividad contra la DPP4, enzima importante en el tratamiento de la diabetes tipo 2, destacando el péptido WF que logra unirse a los aminoácidos importantes en el sitio activo mediante enlaces puente de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas que refuerzan esta unión inhibiendo la DPP4, esto es importante debido a que esta enzima inhibe rutas metabólicas que estimulan a la secreción de insulina.
4. Por otro lado, se obtuvieron 21 secuencias peptídicas capaces de unirse a la lipasa pancreática en el sitio activo inhibiendo su acción ayudando en el padecimiento de la obesidad, entre ellos destacando el péptido WF con la mayor energía de afinidad y uniéndose mediante 6 puentes de hidrógeno a la enzima. La lipasa pancreática participa en la hidrólisis de los triglicéridos y su inhibición disminuye la absorción de estos mismos en el cuerpo humano.

Referencias

- Aiello, G., Li, Y., Boschini, G., Bollati, C., Arnoldi, A., & Lammi, C. (2019). Chemical and biological characterization of spirulina protein hydrolysates: Focus on ACE and DPP-IV activities modulation. *Journal of Functional Foods*, 63. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103592>
- Ambhore, J. P., Laddha, P. R., Nandedkar, A., Ajmire, P. V., Chumbhale, D. S., Navghare, A. B., Kuchake, V. G., Chaudhari, P. J., & Adhao, V. S. (2023). Medicinal chemistry of non-peptidomimetic dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitors for treatment of Type-2 diabetes mellitus: Insights on recent development. In *Journal of Molecular Structure* (Vol. 1284). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135249>
- Anekthanakul, K., Senachak, J., Hongsthong, A., Charoonratana, T., & Ruengjitchatchawalya, M. (2019). Natural ACE inhibitory peptides discovery from Spirulina (*Arthrospira platensis*) strain C1. *Peptides*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170107>
- Apostolopoulos, V., Bojarska, J., Chai, T. T., Elnagdy, S., Kaczmarek, K., Matsoukas, J., New, R., Parang, K., Lopez, O. P., Parhiz, H., Perera, C. O., Pickholz, M., Remko, M., Saviano, M., Skwarczynski, M., Tang, Y., Wolf, W. M., Yoshiya, T., Zabrocki, J., ... Toth, I. (2021). A global review on short peptides: Frontiers and perspectives. *Molecules*, 26(2). <https://doi.org/10.3390/molecules26020430>
- Baker, M., Blackman, S., Cooper, E., Smartt, K., Walser, D., Boland, M., Kolar, P., Beck, A. E., & Chinn, M. S. (2021). Exploratory analysis of Spirulina platensis LB 2340 growth in varied concentrations of anaerobically digested pig effluent (ADPE). *Heliyon*, 7(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08065>
- Barh, D., Chaitankar, V., Yiannakopoulou, E. C., Salawu, E. O., Chowbina, S., Ghosh, P., & Azevedo, V. (2013). In Silico Models: From Simple Networks to Complex Diseases. In *Animal Biotechnology: Models in Discovery and*

Translation (pp. 385–404). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00021-3>

Barquera, S., & Rivera, J. A. (2020). Obesity in Mexico: rapid epidemiological transition and food industry interference in health policies. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 8(9), 746–747. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30269-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30269-2)

Begum, N., Qi, F., Yang, F., Khan, Q. U., Faizan, Fu, Q., Li, J., Wang, X., Wang, X., Wang, J., Li, R., Liu, D., & Zhang, W. (2024). Nutritional Composition and Functional Properties of *A. platensis*-Derived Peptides: A Green and Sustainable Protein-Rich Supplement. *Processes*, 12(11), 2608. <https://doi.org/10.3390/pr12112608>

Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. In *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY* (Vol. 72).

Cermeño, M., Stack, J., Tobin, P. R., O’Keeffe, M. B., Harnedy, P. A., Stengel, D. B., & Fitzgerald, R. J. (2019). Peptide identification from a: *Porphyra dioica* protein hydrolysate with antioxidant, angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase IV inhibitory activities. *Food and Function*, 10(6), 3421–3429. <https://doi.org/10.1039/c9fo00680j>

Esfandi, R., Seidu, I., Willmore, W., & Tsopmo, A. (2022). Antioxidant, pancreatic lipase, and α -amylase inhibitory properties of oat bran hydrolyzed proteins and peptides. *Journal of Food Biochemistry*, 46(4). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13762>

Fan, X., Cui, Y., Zhang, R., & Zhang, X. (2018). Purification and identification of anti-obesity peptides derived from *Spirulina platensis*. *Journal of Functional Foods*, 47, 350–360. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.066>

- Garrido-Cardenas, J. A., Manzano-Agugliaro, F., Acien-Fernandez, F. G., & Molina-Grima, E. (2018). Microalgae research worldwide. In *Algal Research* (Vol. 35, pp. 50–60). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.005>
- González-Noriega, J. A., Valenzuela-Melendres, M., Hernández–Mendoza, A., Astiazarán-García, H., Mazorra-Manzano, M. Á., & Peña-Ramos, E. A. (2022). Hydrolysates and peptide fractions from pork and chicken skin collagen as pancreatic lipase inhibitors. *Food Chemistry: X*, 13. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100247>
- Görgüç, A., Gençdağ, E., & Yılmaz, F. M. (2020). Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments—A review. *Food Research International*, 136, 109504.
- Guasto, A., Waliszewski, W., & Bolivar, C. (2018). *Arthrospira platensis*. Monografía. In *Methods*. <https://www.colegiobolivar.edu.co/Garden/Wp-Content/Uploads/2019/06/Alejandra-Guasto-Arthrospira-Platensis.Pdf>.
- Hamidi, M., Mohammadi, A., Mashhadi, H., & Mahmoudnia, F. (2023). Evaluation of effective environmental parameters on lipid, protein and beta-carotene production in *Spirulina platensis* microalga. *Results in Engineering*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101102>
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
- Heydari, S., Hosseini, S. E., Mortazavian, A. M., & Taheri, S. (2023). Extraction of bioactive peptides produced in probiotic yoghurt and determination of their biological activities. *International Dairy Journal*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105544>

- Hu, S., Fan, X., Qi, P., & Zhang, X. (2019). Identification of anti-diabetes peptides from *Spirulina platensis*. *Journal of Functional Foods*, 56, 333–341. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.024>
- Isidro, O., & Morquecho, J. (2020). *Análisis de concepto de Diabetes*. Universidad de las Américas Puebla.
- Iwaniak, A., Minkiewicz, P., & Darewicz, M. (2024). BIOPEP-UWM database — present and future. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 55). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101108>
- Kaufer-Horwitz, M., & Pérez Hernández, J. F. (2021). La obesidad: aspectos fisiopatológicos y clínicos. *INTER DISCIPLINA*, 10(26), 147. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485705e.2022.26.80973>
- Kumar, R., Hegde, A. S., Sharma, K., Parmar, P., & Srivatsan, V. (2022). Microalgae as a sustainable source of edible proteins and bioactive peptides – Current trends and future prospects. In *Food Research International* (Vol. 157). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111338>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lafarga, T., Sánchez-Zurano, A., Villaró, S., Morillas-España, A., & Acién, G. (2021). Industrial production of spirulina as a protein source for bioactive peptide generation. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 116, pp. 176–185). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.018>
- Li, Y., Aiello, G., Bollati, C., Bartolomei, M., Arnoldi, A., & Lammi, C. (2020). Phycobiliproteins from *Arthrospira platensis* (spirulina): A new source of peptides with dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity. *Nutrients*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/nu12030794>

- Li, Z., He, Y., He, H., Zhou, W., Li, M., Lu, A., Che, T., & Shen, S. (2023). Purification identification and function analysis of ACE inhibitory peptide from *Ulva prolifera* protein. *Food Chemistry*, 401. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134127>
- Liu, J., Bai, X., & Fu, P. (2022). In silico and in vitro assessment of bioactive peptides from *Arthrospira platensis* phycobiliproteins for DPP-IV inhibitory activity, ACE inhibitory activity, and antioxidant activity. *Journal of Applied Phycology*, 34(3), 1497–1511. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02732-z>
- Liu, S., Lin, X., Tao, M., Chen, Q., Sun, H., Han, Y., Yang, S., Gao, Y., Qu, S., & Chen, H. (2024). Efficacy and safety of orlistat in male patients with overweight/obesity and hyperuricemia: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lipids in Health and Disease*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12944-024-02047-7>
- Lupatini, A. L., Colla, L. M., Canan, C., & Colla, E. (2017). Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 97, Issue 3, pp. 724–732). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7987>
- Madden, J. C., Enoch, S. J., Paini, A., & Cronin, M. T. D. (2020). A Review of In Silico Tools as Alternatives to Animal Testing: Principles, Resources and Applications. In *ATLA Alternatives to Laboratory Animals* (Vol. 48, Issue 4, pp. 146–172). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/0261192920965977>
- Manirafasha, E., Murwanashyaka, T., Ndikubwimana, T., Yue, Q., Zeng, X., Lu, Y., & Jing, K. (2017). Ammonium chloride: a novel effective and inexpensive salt solution for phycocyanin extraction from *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 29(3), 1261–1270. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0989-y>
- Martínez Leo, E. E., Acevedo Fernández, J. J., & Segura Campos, M. R. (2016). Biopeptides with antioxidant and anti-inflammatory potential in the prevention

and treatment of diabetes disease. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 83, pp. 816–826). Elsevier Masson SAS.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.07.051>

Michaelidou, M., Pappachan, J. M., & Jeeyavudeen, M. S. (2023). Management of diabetes: Current concepts. *World Journal of Diabetes*, 14(4), 396–411.
<https://doi.org/10.4239/wjd.v14.i4.396>

Mihășan, M. (2012). What in silico molecular docking can do for the “bench-working biologists.” In *Journal of Biosciences* (Vol. 37, Issue 6, pp. 1089–1095). <https://doi.org/10.1007/s12038-012-9273-8>

Minkiewicz, P., Iwaniak, A., & Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23). <https://doi.org/10.3390/ijms20235978>

Mohammadi, M., Soltanzadeh, M., Ebrahimi, A. R., & Hamishehkar, H. (2022). Spirulina platensis protein hydrolysates: Techno-functional, nutritional and antioxidant properties. *Algal Research*, 65.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102739>

Mooney, C., Haslam, N. J., Pollastri, G., & Shields, D. C. (2012). Towards the Improved Discovery and Design of Functional Peptides: Common Features of Diverse Classes Permit Generalized Prediction of Bioactivity. *PLOS ONE*, 7(10), e45012-. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045012>

ONU y secretario general. (2024, July 11). *La población mundial llegará a un máximo de 10.300 millones en este siglo*. Naciones Unidas.
<https://news.un.org/es/story/2024/07/1531126#:~:text=La%20poblaci%C3%B3n%20mundial%20asciende%20actualmente%20a%208200%20millones,en%20su%20informe%20anual%20de%20perspectivas%20de%20poblaci%C3%B3n.>

- Otero, C., & Verdasco-Martín, C. M. (2023). Preparation and Characterization of a Multicomponent *Arthrospira platensis* Biomass Hydrolysate with Superior Anti-Hypertensive, Anti-Hyperlipidemic and Antioxidant Activities via Selective Proteolysis. *Marine Drugs*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/md21040255>
- Öztürk, H. İ., Oraç, A., & Akın, N. (2022). Characterization of bioactive peptides derived from goatskin Tulum cheese of the Ereğli region at different stages of ripening. *Food Research International*, 162. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112124>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>
- Rao, V., & Srinivas, K. (2011). *Modern drug discovery process: An in silico approach*. 2.
- Ruiz-López, F. de J., Espinosa-Rodríguez, B. A., Silva-Mares, D. A., González-Martínez, B. E., López-Cabanillas Lomelí, M., Méndez-López, L. F., & Vázquez-Rodríguez, J. A. (2023). In Silico Identification of Peptides with PPAR γ Antagonism in Protein Hydrolysate from Rice (*Oryza sativa*). *Pharmaceuticals*, 16(3). <https://doi.org/10.3390/ph16030440>
- Saini, K., Sharma, S., & Khan, Y. (2023). DPP-4 inhibitors for treating T2DM - hype or hope? an analysis based on the current literature. In *Frontiers in Molecular Biosciences* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1130625>
- Sánchez-Zurano, A., Morillas-España, A., González-López, C. V., & Lafarga, T. (2020). Optimisation of protein recovery from *arthrospira platensis* by ultrasound-assisted isoelectric solubilisation/precipitation. *Processes*, 8(12), 1–13. <https://doi.org/10.3390/pr8121586>

- Shaker, B., Ahmad, S., Lee, J., Jung, C., & Na, D. (2021). In silico methods and tools for drug discovery. *Computers in Biology and Medicine*, 137, 104851. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104851>
- Sharma, A. K., Sharma, A., Lal, S., Kumar, A., Yadav, N. K., Tabassum, F., Sayeed Akhtar, M., Tarique Imam, M., Saeed Almalki, Z., & Mukherjee, M. (2023). Dysbiosis versus diabetes: Pathological signaling and promising therapeutic strategies. In *Drug Discovery Today* (Vol. 28, Issue 5). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103558>
- Sims, E. A. H., Danforth, E., & Horton, E. S. (1973). Endocrine and metabolic effects of experimental obesity in man. *Recent Progress in Hormone Research*, 29, 457–496. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571129-6.50016-6>
- Thongcumsuk, B., Woraprayote, W., Janyaphisan, T., Cheunkar, S., & Oaew, S. (2023). Microencapsulation and Peptide identification of purified bioactive fraction from spirulina protein hydrolysates with dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory activity. *Food Bioscience*, 56. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103438>
- Tran, T. T. Van, Surya Wibowo, A., Tayara, H., & Chong, K. T. (2023). Artificial Intelligence in Drug Toxicity Prediction: Recent Advances, Challenges, and Future Perspectives. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(9), 2628–2643. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c00200>
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Urbizo-Reyes, U., Liceaga, A. M., Reddivari, L., Kim, K. H., & Anderson, J. M. (2022). Enzyme kinetics, molecular docking, and in silico characterization of canary seed (*Phalaris canariensis* L.) peptides with ACE and pancreatic lipase

inhibitory activity. *Journal of Functional Foods*, 88.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104892>

Vázquez, E., Calderón, Z., Arias, R., Ruvalcaba, J., Rivera, L., & Ramírez, E.

(2019). Sedentarismo, alimentación, obesidad, consumo de alcohol y tabaco como factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2. *Journal of Negative and No Positive Results*, 4, 10, 1011–1021.

<https://doi.org/10.19230/jonnpr.3068>

Vidal-Limon, A., Aguilar-Toalá, J. E., & Liceaga, A. M. (2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 70, Issue 4, pp. 934–943). American Chemical Society.

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06110>

Villaró, S., Ación, G., González-López, C. V., Clagnan, E., & Lafarga, T. (2023).

Production of *Arthrospira platensis* BEA 005B: Biomass characterisation and use as a colouring additive in macarons. *LWT*, 182.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114843>

Villaró, S., Jiménez-Márquez, S., Musari, E., Bermejo, R., & Lafarga, T. (2023).

Production of enzymatic hydrolysates with in vitro antioxidant, antihypertensive, and antidiabetic properties from proteins derived from *Arthrospira platensis*. *Food Research International*, 163.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112270>

Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*.

Wang, X., Ai, X., Zhu, Z., Zhang, M., Pan, F., Yang, Z., Wang, O., Zhao, L., &

Zhao, L. (2022). Pancreatic lipase inhibitory effects of peptides derived from sesame proteins: In silico and in vitro analyses. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222, 1531–1537.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.259>

- Yang, M., Liu, S., & Zhang, C. (2022). The Related Metabolic Diseases and Treatments of Obesity. In *Healthcare (Switzerland)* (Vol. 10, Issue 9). MDPI. <https://doi.org/10.3390/healthcare10091616>
- Ye, H., Xu, Y., Sun, Y., Liu, B., Chen, B., Liu, G., Cao, Y., & Miao, J. (2023). Purification, identification and hypolipidemic activities of three novel hypolipidemic peptides from tea protein. *Food Research International*, 165. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112450>
- Ye, S., Chen, Q., Li, D., Zhou, H., Chen, Y., Meng, C., & Hong, J. (2022). Isolation and identification of novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Pony Seed and evaluation of the inhibitory mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 95. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105151>
- Yu, J., Hu, Y., Xue, M., Dun, Y., Li, S., Peng, N., Liang, Y., & Zhao, S. (2016). Purification and identification of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of *Spirulina platensis*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(7), 1216–1223. <https://doi.org/10.4014/jmb.1601.01033>
- Zeng, Q. H., Wang, J. J., Zhang, Y. H., Song, Y. Q., Liang, J. L., & Zhang, X. W. (2020). Recovery and identification bioactive peptides from protein isolate of *Spirulina platensis* and their in vitro effectiveness against oxidative stress-induced erythrocyte hemolysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9), 3776–3782. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10408>
- Zhang, N., Li, F., Zhang, T., Li, C. Y., Zhu, L., & Yan, S. (2022). Isolation, identification, and molecular docking analysis of novel ACE inhibitory peptides from *Spirulina platensis*. *European Food Research and Technology*, 248(4), 1107–1115. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03949-x>
- Zhang, X., Wang, R., Cheng, C., Zhang, Y., Ma, Y., & Lu, W. (2022). Identification of two novel dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides from sheep whey protein and inhibition mechanism revealed by molecular docking. *Food Bioscience*, 48. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101733>