**Péptidos antitrombóticos de amaranto, un análisis *in silico* de inhibidores de trombina.**

Nardo AE (1,2), Sabbione AC (1,3), Añón MC (1,3), Scilingo AA (1,2).

(1) Laboratorio de Investigación, Desarrollo e Innovación en Proteínas Alimentarias (LIDiPA), Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-CONICET-CIC-UNLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

(2) Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

(3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CCT- La Plata), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

aascilingo@gmail.com

El síndrome metabólico (SM)es una combinación de dislipidemia aterogénica, resistencia a la insulina, hipertensión y adiposidad central. Las alteraciones hemostáticas que implican el equilibrio de la coagulación, la fibrinólisis y la función plaquetaria desempeñan un papel relevante, tanto en la progresión del daño de la pared arterial como en los eventos vasculares agudos. Dado que el SM tiene el potencial de influir en la incidencia y la gravedad de las enfermedades cardiovasculares, la caracterización de péptidos bioactivos como nuevas dianas derivadas de los alimentos ofrece una estrategia prometedora para la mitigación de este riesgo. El amaranto es un cultivo alimentario que presenta ventajas agronómicas, alto valor nutricional y péptidos antihipertensivos, antitrombóticos y antiinflamatorios, caracterizados en estudios *in vitro, in vivo* y *ex vivo.* Se identificó una fracción con alta actividad antitrombótica (FA, IC50=0,07±0,01 mg proteína soluble/ml) obtenida a partir de aislado proteico de amaranto sometido a digestión gastrointestinal simulada. La FA se secuenció mediante espectrometría de masas, encontrándose varios péptidos entre los que se seleccionaron algunos potencialmente bioactivos con buenas características para inhibir la enzima trombina, un factor de la coagulación crítico implicado en las vías intrínseca y extrínseca que además ejerce gran influencia en la activación y agregación plaquetarias, de acuerdo a lo propuesto en un estudio previo. Las técnicas de acoplamiento molecular o *docking,* se emplean frecuentemente en la detección de péptidos bioactivos derivados de los alimentos. Los programas de acoplamiento pueden detectar posibles candidatos de forma rápida y económica, prediciendo la conformación de unión de los ligandos de moléculas pequeñas al sitio de unión apropiado. Para estudiar las posibles interacciones entre la trombina y los péptidos de amaranto se utilizaron diferentes programas de *docking* de libre acceso y se detectaron los posibles sitios de unión. Como control positivo se emplearon secuencias de inhibidores de trombina ya reportados. Los protocolos utilizados (AutoDock, CABS-Dock, FlexPepDock) mostraron que varios péptidos preseleccionados eran excelentes candidatos para ejercer la bioactividad. Sin embargo, cuando los péptidos seleccionados se sintetizaron para evaluar su actividad antitrombótica *in vitro*, ninguno de ellos inhibió a la trombina. Teniendo en cuenta que los métodos de *docking* más populares representan la energía potencial mediante grilla y que la conformación de la proteína representada por la grilla de *docking* es fija, se gana velocidad pero se sacrifica precisión, ya que la flexibilidad de la proteína se limita o elimina significativamente. Surge entonces la necesidad de usar métodos complementarios que consideren la flexibilidad, las estructuras múltiples, la presencia de otros sitios de unión además del sitio activo y la existencia de cavidades y túneles en la diana molecular para mejorar el rendimiento del *docking*. Este trabajo pone de manifiesto que la predicción de la bioactividad a través de estudios *in silico* no siempre correlaciona con la bioactividad y muestra la necesidad de desarrollar una herramienta de *docking* de acceso libre y fácil de usar que considere la flexibilidad total de los ligandos para identificar con mayor precisión las secuencias peptídicas activas.

Palabras clave: Péptidos bioactivos, Amaranto, Trombina, Docking.