

## بررسی اثرات سیلی مارین بر تشکیل تجمع آمیلوئید $\alpha$ -آمیلاز در شرایط *in vitro*

هدی جهانگیری<sup>۱\*</sup> (Ph.D)، شهربانو عریان<sup>۲</sup> (Ph.D)، پریچهره یغمایی<sup>۱</sup> (Ph.D)، آزاده ابراهیم حبیبی<sup>۳</sup> (Ph.D)، مریم نیکخواه<sup>۴</sup> (Ph.D)

۱- دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲- دانشکده علوم زیستی، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران

۳- دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴- دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

هدی جهانگیری: hoda.jahangirii@yahoo.com

### چکیده

هدف: تجمع پروتئین‌ها و تشکیل آمیلوئیدهای پروتئینی، عوامل اصلی بروز بیماری‌های شایع مانند دیابت، پارکینسون و آلزایمر هستند. ترکیبات فلاونوئیدی مشتق از گیاهان می‌توانند در مهار تشکیل این فرایند مؤثر باشند. از این‌رو هدف از این مطالعه بررسی اثر سیلی مارین در مهار تشکیل آمیلوئید آمیلاز است.

مواد و روش‌ها: برای القای تجمعات آمیلوئیدی و بررسی تمام شرایط قابل امکان، پنج حالت مختلف از متغیرهای چهارگانه شامل غلظت پروتئین، pH، دما و زمان انکوباسیون در نظر گرفته شد. غلظت‌های پروتئینی مورد استفاده شامل یک، دو و سه میلی گرم بر میلی لیتر بود. pHهای مورد استفاده نیز شامل ۲، ۷ و ۱۰ بود. بعد از انتخاب بهترین شرایط جهت تشکیل فیبریل آمیلوئیدی آمیلاز، آزمایشات بعدی جهت بررسی اثر سیلی مارین در ممانعت از تشکیل فیبریل انجام شد. به این منظور غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ میلی مولار انتخاب و انکوباسیون به مدت ۸ روز در ۳۷ درجه انجام شد. به منظور بررسی تشکیل فیبریل از سنجش فلورسانس ThT، طیف‌سنجی رنگ کنگورد و میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج اولیه نشان داد که از بین تیمارهای مختلف، بهترین شرایط برای تشکیل فیبریل غلظت ۳ mg/ml پروتئین بود که این شرایط برای ادامه تحقیقات انتخاب شد. با این حال، در نمونه‌های پروتئینی انکوبه شده با حضور سیلی مارین با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر، فیبریل‌های آمیلوئیدی وجود نداشت و ساختار پروتئینی بدون شکل مشاهده شد. نتایج به دست آمده از فلورسانس ThT، طیف‌سنجی رنگ کنگورد نیز اثر محافظتی سیلی مارین در ممانعت از تشکیل فیبریل‌های آمیلاز را تأیید نمود. نتیجه‌گیری: بر اساس این یافته‌ها می‌توان نتیجه‌گیری کرد که سیلی مارین به‌طور مؤثر تجمع آمورف آمیلاز ناشی از گرما و pH را سرکوب می‌کند. از این رو سیلی مارین ممکن است در ادامه تحقیقات درمانی یک داروی امیدوارکننده برای کنترل عوارض ناشی از آسیب‌های مرتبط با فیبریل‌های آمیلوئیدی باشد.

واژه‌های کلیدی: آمیلاز، فیبریل‌های آمیلوئیدی، سیلی مارین



## Studying the effects of silymarin on *in vitro* formation of $\alpha$ -amylase amyloid aggregate

Hoda Jahangiri<sup>1\*</sup>, Shahrbanoo Oryan<sup>2</sup>, Parichehreh Yaghmaei<sup>1</sup>, Azade Ebrahim Habibi<sup>3</sup>, Maryam Nikkhah<sup>4</sup>

1- Tehran Azad University of Science and Research, Tehran, Iran

2- Faculty of Biological Sciences, Department of Animal Physiology, Tehran Khwarazmi University, Tehran, Iran

3- University of Tehran, Tehran, Iran

4- Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Hoda Jahangiri: hoda.jahangiri@yahoo.com

**Introduction:** The accumulation of proteins and the formation of protein amyloids are the main causes of diabetes, Parkinson's, and Alzheimer's disease. Flavonoids derived from plants would be effective in inhibiting the formation of this process. Thus, the purpose of this study is to investigate whether silymarin inhibits the formation of amyloid amylase.

**Methods and Materials:** As a means of inducing amyloid accumulations and checking all possible conditions, five different modes of four variables were examined, including protein concentration, pH, temperature, and incubation time. There were three concentrations of protein used, one, two, and three mg/ml. A pH of 2, 7 and 10 was used. Having established the most favorable conditions for the formation of amylase amyloid fibrils, the next experiment examined the effects of silymarin on preventing their formation. This was accomplished by selecting concentrations of 0.1, 0.5, 1, 2 and 5 mM and incubating them at 37°C for eight days. In order to investigate fibril formation, ThT fluorescence assay, Congo red color spectroscopy and transmission electron microscopy (TEM) were used.

**Results:** The preliminary results showed that among the different treatments, the best condition for fibril formation was protein concentration of 3 mg/ml, which was chosen for further research. However, in protein samples incubated in the presence of the 5 mg/ml of silymarin, amyloid fibrils were absent and amorphous protein structure were observed. The results obtained from ThT fluorescence and Congo red color spectroscopy also confirmed the protective effect of silymarin in preventing the formation of amylase fibrils.

**Conclusions:** Based on these findings, it can be concluded that silymarin effectively suppresses the aggregation of amorphous amylase caused by heat and pH. Therefore, silymarin may be a promising drug for the control of complications caused by damage related to amyloid fibrils in the continuation of therapeutic research.

**Keywords:** amylase, amyloid fibrils, Silymarins

