

هجدهمین همایش ملی و سومین همایش بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

فلاوونوئیدها به عنوان مهارکننده های فیبریلاسیون پروتئین های

آمیلوئیدوژنیک: شناسایی و ارزیابی کاندیدها

فرشته رمضانی خرسند*، بهاره دبیرمنش، خسرو خواجه*

۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، f.ramezanikhorsand@modares.ac.ir

۲- استاد مشاور، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، dabirmanesh@modares.ac.ir

۳- استاد راهنما، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، khajeh@modares.ac.ir

چکیده

در سال های اخیر، درمان های گیاهی به دلیل هزینه پایین و عوارض جانبی کمتر، توجه بیشتری را به خود جلب کرده اند. فلاونوئیدها، به عنوان یکی از این ترکیبات، توانایی کاهش تجمع پروتئین های آمیلوئیدوژنیک را دارند. هدف این مطالعه شناسایی فلاوونوئیدهایی با بیشترین میزان تأثیر در مهار فیبریلایسیون پروتئین های آمیلوئیدوژنیک مرتبط با بیماری های عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر است. در فاز اول، ۹۸ فلاوونوئید از پایگاه های داده مختلف انتخاب و بررسی شدند که در نهایت ۴۶ مورد از آن ها به عنوان کاندیدهای اولیه انتخاب شدند. این انتخاب بر اساس اثرگذاری فلاوونوئیدها بر مهار تجمع پروتئین های آمیلوئیدوژنیک در تحقیقات پیشین انجام شد. در مرحله بعد، با استفاده از وب سرورهای OSIRIS و Swiss ADME، سمیت، جهش زایی، شباهت دارویی و توانایی آن ها در عبور از سد خونی مغزی مورد بررسی قرار گرفت و برخی از آن ها به دلیل عدم تطابق با این معیارها از چرخه بررسی خارج شدند. داکینگ Vina نیز برای بررسی تعامل میان فلاوونوئیدها و پروتئین های آمیلوئیدوژنیک در نواحی اتصال محتمل شناسایی شده توسط وب سرورهای DoGSiteScorer و CASTp انجام شد و آمینواسیدهای درگیر در اتصال با استفاده از Ligplot و PLIP مشخص شدند. در نهایت، فلاوونوئیدهایی که کمترین انرژی اتصال را داشته و با آمینواسیدهای نقاط داغ آمیلوئیدی شناسایی شده توسط وب سرورهای Waltz و TANGO.FoldAmyloid تعامل داشتند، به عنوان کاندیدهای بررسی های آزمایشگاهی انتخاب شدند. در این مرحله، آلفاسینوکلئین تحت شرایط فیبریلایسیون در حضور و عدم حضور تیمارهای فلاوونوئیدی انکوبه شد. نتایج آزمون فلورسانس تیوفلاوین-T، میکروسکوپی نیروی اتمی و آزمون هضم آنزیمی پروتئیناز K نشان داد که برخی از فلاوونوئیدها می توانند به طور قابل توجهی تشکیل فیبریل های آلفاسینوکلئین را مهار کنند. طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه نیز کاهش محتوای β -sheet را نشان داد و اثر مهاری این فلاوونوئیدها را تأیید کرد. بررسی های کشت سلولی نیز نشان داد که این فلاوونوئیدها زنده ماندنی سلول های عصبی که در معرض فیبریل های آلفاسینوکلئین قرار داشتند، افزایش می دهند.

واژه های کلیدی: فلاوونوئید، آمیلوئید بتا، آلفا سینوکلئین، بیماری های نورودژنراتیو

18th National and 3rd International Conference of Iranian Biophysical chemistry
هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

مراجع

1. Chiti F, Dobson CM. Protein Misfolding, Amyloid Formation, and Human Disease: A Summary of Progress Over the Last Decade. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:27-68. doi:10.1146/annurev-biochem-061516-045115
2. Merrill D. Benson, Joel N. Buxbaum, David S. Eisenberg, Giampaolo Merlini, Maria J. M. Saraiva, Yoshiki Sekijima, Jean D. Sipe & Per Westermark (2018) Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee, *Amyloid*, 25:4, 215-219, DOI: 10.1080/13506129.2018.1549825
3. Giasson BI, Lee VM, Trojanowski JQ. Interactions of amyloidogenic proteins. *Neuromolecular Med.* 2003;4(1-2):49-58. doi:10.1385/NMM:4:1-2:49
4. Stefanis L. α -Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012 Feb;2(2):a009399. doi: 10.1101/cshperspect.a009399. PMID: 22355802; PMCID: PMC3281589
5. Parihar, Mordhwaj S. and Brewer, Gregory J. 'Amyloid- β as a Modulator of Synaptic Plasticity'. 1 Jan. 2010 : 741 – 763.
6. Ramsden M, Henderson Z, Pearson HA. Modulation of Ca²⁺ channel currents in primary cultures of rat cortical neurones by amyloid beta protein (1-40) is dependent on solubility status. *Brain Res.* 2002 Nov 29;956(2):254-61. doi: 10.1016/s0006-8993(02)03547-3. PMID: 12445693.
7. Flavonoid-liposomes formulations: Physico-chemical characteristics, biological activities and therapeutic applications, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, Volume 5, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100059>
8. Kaur R, Sood A, Lang DK, Bhatia S, Al-Harrasi A, Aleya L, Behl T. Potential of flavonoids as anti-Alzheimer's agents: bench to bedside. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2022 Apr;29(18):26063-26077. doi: 10.1007/s11356-021-18165-z. Epub 2022 Jan 24. PMID: 35067880.

18th National and 3rd International Conference of Iranian Biophysical chemistry
هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

Flavonoids as Inhibitors of Amyloidogenic Protein Fibrillation: Identification and Evaluation of Candidates

Fereshteh Ramezani Khorsand *, Bahareh Debirmanesh , Khosro Khajeh *

1. PhD Student, Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, f.ramezanikhorsand@modares.ac.ir
2. Advisor Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, dabirmanesh@modares.ac.ir
3. Supervisor Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, khajeh@modares.ac.ir

Abstract

In recent years, herbal treatments have garnered more attention due to their low cost and fewer side effects. Flavonoids, as one of these compounds, can reduce the aggregation of amyloidogenic proteins. This study aims to identify flavonoids with the greatest impact on inhibiting the fibrillation of amyloidogenic proteins associated with neurodegenerative diseases such as Parkinson's and Alzheimer's. In the first phase, 98 flavonoids were selected from various databases and examined, ultimately leading to the selection of 46 as preliminary candidates. This selection was based on the effectiveness of flavonoids in inhibiting the aggregation of amyloidogenic proteins that were approved in previous research. Subsequently, using the OSIRIS and Swiss ADME web servers, toxicity, mutagenicity, drug-likeness, and their ability to cross the blood-brain barrier was evaluated. Some candidates were excluded from further consideration due to non-compliance with these criteria. Docking studies using Vina-dock showed interactions between flavonoids and amyloidogenic proteins at potential binding sites identified by the DoGSiteScorer and CASTp web servers. The amino acids involved in binding were determined using Ligplot and PLIP. Ultimately, flavonoids that exhibited the lowest binding energy and interacted with amino acids at identified amyloid hot spots by FoldAmyloid, TANGO, and Waltz web servers were chosen for *in vitro* analysis. In this stage, alpha-synuclein was incubated under fibrillation conditions in the presence and absence of flavonoid treatments. Results from Thioflavin-T fluorescence assays, atomic force microscopy, and enzymatic digestion tests with proteinase K indicated that certain flavonoids could significantly inhibit the formation of alpha-synuclein fibrils. Fourier-transform infrared spectroscopy also demonstrated a reduction in β -sheet content, confirming the inhibitory effects of these flavonoids. Cell culture studies revealed that these flavonoids increase the survival of neuronal cell lines treated with alpha-synuclein fibrils.

Keywords: Flavonoid, beta-amyloid, alpha-synuclein, neurodegenerative diseases

18th National and 3rd International Conference of Iranian Biophysical chemistry
هجدهمین همایش ملی و سومین همایش
بین المللی بیوشیمی فیزیک ایران

25-26 Des, 2024, University of Hormozgan

۵-۶ دی ماه ۱۴۰۳، دانشگاه هرمزگان

References

9. Chiti F, Dobson CM. Protein Misfolding, Amyloid Formation, and Human Disease: A Summary of Progress Over the Last Decade. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:27-68. doi:10.1146/annurev-biochem-061516-045115
10. Merrill D. Benson, Joel N. Buxbaum, David S. Eisenberg, Giampaolo Merlini, Maria J. M. Saraiva, Yoshiki Sekijima, Jean D. Sipe & Per Westermark (2018) Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee, *Amyloid*, 25:4, 215-219, DOI: 10.1080/13506129.2018.1549825
11. Giasson BI, Lee VM, Trojanowski JQ. Interactions of amyloidogenic proteins. *Neuromolecular Med.* 2003;4(1-2):49-58. doi:10.1385/NMM:4:1-2:49
12. Stefanis L. α -Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012 Feb;2(2):a009399. doi: 10.1101/cshperspect.a009399. PMID: 22355802; PMCID: PMC3281589
13. Parihar, Mordhwaj S. and Brewer, Gregory J. 'Amyloid- β as a Modulator of Synaptic Plasticity'. 1 Jan. 2010 : 741 – 763.
14. Ramsden M, Henderson Z, Pearson HA. Modulation of Ca²⁺ channel currents in primary cultures of rat cortical neurones by amyloid beta protein (1-40) is dependent on solubility status. *Brain Res.* 2002 Nov 29;956(2):254-61. doi: 10.1016/s0006-8993(02)03547-3. PMID: 12445693.
15. Flavonoid-liposomes formulations: Physico-chemical characteristics, biological activities and therapeutic applications, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, Volume 5, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100059>
16. Kaur R, Sood A, Lang DK, Bhatia S, Al-Harrasi A, Aleya L, Behl T. Potential of flavonoids as anti-Alzheimer's agents: bench to bedside. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2022 Apr;29(18):26063-26077. doi: 10.1007/s11356-021-18165-z. Epub 2022 Jan 24. PMID: 35067880.