



Gül ekstresinin kolinesteraz inhibisyon potansiyelinin belirlenmesi

Esra Şentürk^{a,*}, Murat Şentürk^b

^aAğrı İbrahim Çeçen University, School of Health Services, 04100, Agri, Turkey.

^bAğrı İbrahim Çeçen University, Pharmacy Faculty, 04100, Agri, Turkey.

*Corresponding author/Sorumlu yazar: esracavusoglu87@gmail.com

Geliş/Received 01/10/2018

Kabul/Accepted 13/10/2018

ÖZET

Yağ gülü veya Isparta gülü olarak bilinen *Rosa damascena Mill.*, dünya genelinde kokulu güller arasında kültürü yapılan ve ekonomik açıdan önemli olan gül türlerinden bir tanesidir. Isparta gülünden elde edilen uçucu yağ özellikle kozmetik, parfümeri, ilaç ve gıda sanayisinde kullanılmaktadır. Isparta gülü geleneksel olarak göğüs ve karın ağrılarının tedavisinde, kalbin güçlendirilmesi, kabızlık, sindirim sorunları ve sinirsel hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Alzheimer hastalığının (AD) patogenezi henüz netleşmemesine rağmen, kabul gören teorilerden biri "kolinerjik hipotez" olmuştur. Alzheimer hastalarının beyinlerinde asetilkolin (ACh) ve bütirikolin (BCh) olarak adlandırılan nöromediyatör düzeylerinde eksiklik görülmüştür. Sırasıyla ACh ve BCh'yi hidroliz eden temel enzimler olan asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesterazın (BChE) inhibisyonu AD'ye karşı önemli bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Bu nedenle, AD patogenezinde yer alan anahtar enzimler olan AChE ve BChE aktivitelerini önleme faaliyetlerini taramak için bir araştırma başlattık. Bu amaçla, gül suyunun bu enzimler üzerindeki inhibisyon etkilerini inceledik. IC₅₀ değerleri AChE için 0.6227 µg ml⁻¹ BChE için 0.1956 µg ml⁻¹ olarak belirlendi.

Anahtar Sözcükler:
Rosa damascena,
Alzheimer
Asetilkolinesteraz
Butirikolinesteraz
İnhibisyon

Determination of cholinesterase inhibition potential of rose extract

ABSTRACT

Rosa Damascena Mill., also known as oil rose or rose of Isparta, is one of the most important roses among the fragrant roses in the world. The essential oil obtained from Isparta rose is used especially in cosmetics, perfumery, pharmaceutical and food industries. Isparta rose is traditionally used in the treatment of chest and abdominal pain, strengthening of the heart, constipation, digestive problems and is used in the treatment of neural diseases. Although pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) has not been clarified as yet, one of the most accepted theories has been "cholinergic hypothesis". A deficiency in levels of the neuromediators called acetylcholine (ACh) and butyrylcholine (BCh) has been observed in the brains of AD patients. Inhibition of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE), the main enzymes which hydrolyze ACh and BCh, respectively, has happen a major treatment option towards AD. So, we initiated a study to screen their AChE and BChE inhibitory activities, which are the key enzymes taking place in pathogenesis of AD. For this purpose, we investigated the effects of rose water on these enzymes. IC₅₀ values were determined as 0.6227 µg ml⁻¹ for AChE and 0.1956 µg/ml for BChE.

Keywords:
Rosa damascena
Alzheimer
Acetylcholinesterase
Butyrylcholinesterase
Inhibition

© OMU ANAJAS 2018

1. Giriş

Aromatik ve tıbbi bitkiler arasında çok önemli bir konuma sahip olan güller aynı zamanda yüksek bir ekonomik öneme de sahiptir. Türkiye'de *Rosa damascena* (Isparta Gülü) 1888 yılından günümüze kadar endüstriyel ölçekli üretilmektedir (Özçelik ve ark., 2011; Özçelik ve ark., 2013). Günümüzde *Rosa damascena Mill.* bitkilerinden yararlanılarak gül suyu, gül yağı, gül losyonu, gül kremi, gül lokumu, gül reçeli,

gül şurubu, gül sabunu başta olmak üzere 100'den fazla çeşit ticari ürün elde edilmektedir (Baydar, 2005; Özçelik ve ark., 2011).

Gülden elde edilen ürünlerin (özellikle yağının) psikolojik rahatsızlıklardan kaynaklanan üzüntü, ağrı ve stresin giderilmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Osmanlılar gülü bir miktar fermente ederek (ekşiterek) ve su buharı distilasyonunu (imbikten geçirerek) kullanarak yağını elde etmişlerdir. Elde ettikleri bu yağa "sega yağı" adını vermişler. Bu yağı dahilen ve haricen

birçok hastalığın (bademcik iltihabı, faranjit, boğaz ve solunum yolu hastalıkları) tedavisinde kullandığı bilinmektedir. Ayrıca gül kokusunun nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların tedavisi edilmesi için aromaterapi yolu ile kullanıldığı bilinmektedir (Özçelik ve ark., 2011).



Alzheimer hastalığı (AD) halk arasında bunama olarak da adlandırılan demansın bir türüdür. Zaman içinde kademe kademe giderek kötüleşir ve aşağıdaki gibi belirtilere neden olabilir: Hafıza kaybı, öğrenme ve dil becerileri (Lambert ve ark., 2009; Seshadri ve ark., 2010). İlerleme ve kesin AD nedenleri halen bilinmemektedir ancak ortaya atılan en yaygın hipotezler, etken faktörler, kolinerjik, amiloid, tau ve metal hipotezleridir (Singh ve ark., 2013). AD için standart tıbbi tedavi aşağıdakileri içerir: Kolinesteraz inhibitörleri (ChEI'ler) ve kısmi N-metil-D-aspartat (NMDA) antagonistleri (Massoud ve Léger, 2011). Kolinerjik hipotez, AD patogenezi için özetleyen en eski ve en popüler hipotezdir. Kolinerjik hipoteze göre, AD için geçerli olan farmakoterapi, kolinesteraz enzimlerinin (ChEs) inhibisyonu yoluyla asetilkolin (ACh) seviyesinin artırılmasıdır (Singh ve ark., 2013). Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE), merkezi sinirde sisteminde (CNS) lokalize olmuşlardır, nörotransmitter olan ACh'i hidroliz edebilirler. Çalışmalar AD'nin AChE'nin hızlı kaybıyla tanımlandığını göstermiştir. Hastalığın erken safhasındaki aktivitenin yanı sıra hastalık ilerledikçe AChE oranı artmaktadır (Darvesh ve ark., 2003; Massoud ve Léger, 2011). BChE'nin rolünden dolayı asetilkolinin hidrolizi, her iki kolinesterazın inhibitörü, beyinde ACh düzeylerinde artışa neden olarak, Alzheimer hastalığında daha başarılı bir klinik etkinliği sağlar (Basiri ve ark., 2013).

Bu çalışmanın amacı, gül suyunun AChE ve BChE enzimleri için inhibisyon potansiyelinin belirlenmesidir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

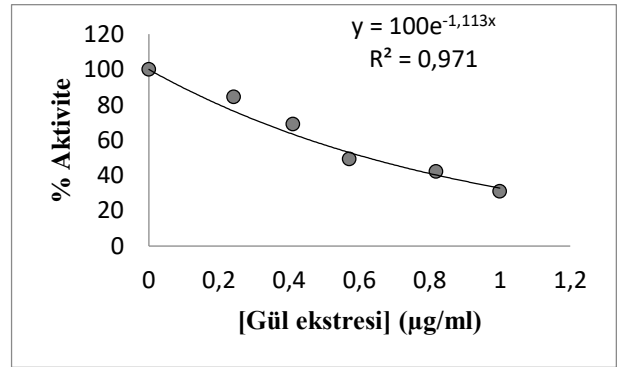
Bu çalışmada kullanılan kimyasal reaktifler ve çözücüler Sigma Aldrich (Münih, Almanya). Gül suyu ise SEBAT Gül yağı ve Uçucu yağlar San. Ve Tic. Ltd. Şti. Keçiözümlü-İsparta'dan temin edildi.

2.2. AChE ve BChE için inhibisyon çalışmaları

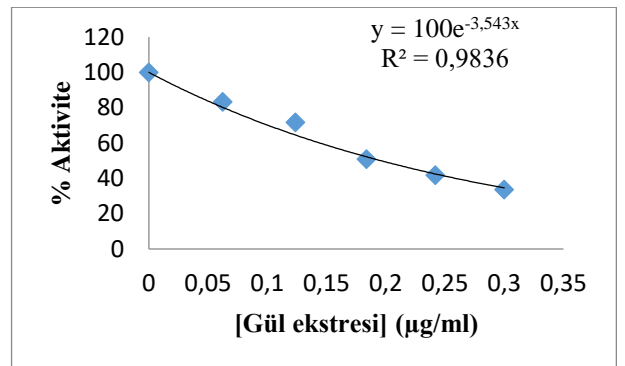
AChE, BChE, 5,5-ditiyobis- (2-nitrobenzoik asit) DTNB, asetiltiokolin iyodid (ATCI) ve butiriltiokolin iyodat (BTCl) Sigma Aldrich'den satın alındı. Gül suyunun AChE ve BChE'ye karşı inhibitör aktiviteleri Ellman'ın kolorimetrik yönteminde bazı değişiklikler yapılarak kullanıldı. Test için kullanılan gül suyu saf su kullanılarak seyreltildi ve daha sonra 50 mM Tris tamponu (pH 8.0) ile nihai konsantrasyona ayarlandı. Küvet içeriği 50 mM Tris tamponu pH: 8.0), 3mM DTNB (Ellman's Reaktif), 0.2 U ml⁻¹ enzim (AChE/BChE) ve bir 15 mM substrat (ATCI/BTCl). Reaksiyonun absorbansı karışım daha sonra her 5 dakika 412 nm'de üç kez ölçülmüştür (Ellman ve ark., 1961). Bileşiklerin IC₅₀ değerleri, yüzde inhibisyona karşı inhibitör konsantrasyonu olarak hesaplandı.

2.3. In vitro AChE ve BChE enzimlerinin gül suyuna karşı inhibitör aktiviteleri

Gül suyunun AChE ve BChE'ye karşı inhibitör aktiviteleri kolorimetrik teste göre ölçüldü (Ellman ve ark., 1961). Neostigmin referans bir AChE inhibitörü bir bileşiktir. Gül suyu ve neostigmin için IC₅₀ değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Neostigminle kıyaslandığı zaman gül suyunun AChE ve BChE enzimleri üzerinde etkili bir inhibisyon gösterdiği tespit edildi. Bu enzimler için elde edilen IC₅₀ grafikleri Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir. IC₅₀ değerleri AChE için 0,6227 µg ml⁻¹ BChE için 0,1956 µg/ml olarak belirlendi.



Şekil 1. Gül suyu ile AChE IC₅₀ grafiği.



Şekil 2. Gül suyu ile BChE IC₅₀ grafiği.

3. Bulgu ve Tartışma

Beyinde gözlenen en önemli değişim, bir nörotransmitter olan asetilkolinin korteks seviyelerindeki azalmadır. Bu nedenle, AChE'nin inhibisyonu beyindeki asetilkolin seviyesini yenileyebilir (Howes ve Houghton, 2003). Alzheimer hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu enzim inhibitörü olarak tasarlanmıştır galantamin gibi (Mukherjee ve ark., 2007). Gül yağının içeriğinde bulunan sitronellol (% 31-44), geraniol (% 9-14), nerol (% 5-11) gibi oksijenli monoterpenler ile nonadekan (% 8-15), nonadeken (% 2-5) gibi hidrokarbonlar ana bileşiklerdir (Baser ve ark., 2012).

Gülsuyunun karakteristik bileşiği, feniletıl alkoldür. Eski kaynaklarda, gülün kalp ve beyin üzerindeki olumlu etkilerinden bahsedilir. Yapılan farmakolojik ve klinik çalışmalarda, bu etkileri doğrulayacak sonuçlara ulaşılmıştır. Isparta gülü çiçeklerinin sulu alkollü ekstresinin, izole kobay kalbinde kalp atışımı ve kontraktilesini, muhtemelen betaadrenajik reseptörler üzerindeki uyarıcı etkisiyle hızlandırdığı gözlenmiştir (Baser ve ark., 2012).

Gül çiçeklerinin tomurcuklarında bulunan siyanidin-3-O-glikozit adlı flavonoitin, anjiotensin-I-çevirici (ACE) enzim aktivitesini ciddi şekilde bastırdığı ve bu şekilde kalpdamar fonksiyonlarının iyileştirilmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Zira, ACE, güçlü bir damar daraltıcı (vazokonstriktör) olan anjiotensin II üretimini sağlayan anahtar enzimdir. Gül çiçeklerinin kloroformlu ekstresinin, alzheimer hastalığına neden olan amiloid beta (A β) adlı peptidin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Kloroformlu ekstredeki etkin bileşiğin, kısa adı VLFA olan çok uzun zincirli, 37 karbonlu, çoklu doymamış yağ asidi olduğu anlaşılmıştır. Gülyağı ve gül kokusunun karakteristik bileşiği olan feniletıl alkolün, asetilkolin esteraz (AChE) ve butirilkolin esteraz (BChE) enzimlerini inhibe ettiği; yani hafıza kaybının önlenmesinde, yardımcı olabileceği belirlenmiştir (Senol ve ark., 2013).

Esfandiary ve ark. *Rosa damascena*'nın amyloid- β 'nin neden olduğu davranışsal açıkları tersine çevirebileceği ve Alzheimer hastalığında bilişsel işlev bozukluğunun önlenmesi ve tedavisi için yeni bir potansiyel seçenek sunabileceği sonucuna varmışlardır (Esfandiary ve ark., 2015). Homayoun ve ark. *Rosa damascena*'nın hidro-alkolik ekstraktının antikonvülsan ve nöro-koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Homayoun ve ark., 2015). *Rosa damascena*, geleneksel tıpta önemli bir yere sahiptir. Modern tıbbın terapötik uygulamaları ile ekonomik olarak değerli bir bitkidir. *R. damascena*'nın antimikrobiyal, antioksidan, analjezik, antiinflamatuar, anti-diyabetik ve anti-depresan özellikleri doğrulanmıştır (Mahboubi, 2015).

AChE ve BChE'ye karşı test edilen gül suyunun önleyici potansiyeli Ellman metoduna göre denenmiştir (Ellman ve ark., 1961). Grafikleri kullanarak hesaplanan bileşiklerin IC₅₀ değerleri Şekil 1 ve 2'de verilen grafikler yardımı ile hesaplanmış ve Tablo 1'de

gösterilmiştir.

Tablo 1. Gül suyu ve klinik olarak kullanılan inhibitör (Neostigmin) için AChE ve BChE inhibisyon verileri

Inhibitör	AChE IC ₅₀ ($\mu\text{g ml}^{-1}$) ^a	BChE IC ₅₀ ($\mu\text{g ml}^{-1}$) ^a
Gül suyu	0,6227 \pm 0,012	0,1956 \pm 0,007
Neostigmin	0,4398 \pm 0,010	0,3403 \pm 0,010

^aAChE ve BChE'nin %50 inhibitör konsantrasyonu (üç deneyin \pm SD ortalaması)

4. Sonuç

Sonuç olarak, bu çalışmada gül suyunun AChE ve BChE enzimlerinin etkilediği belirlenmiştir. Bulgularımız, örneğin olası geri dönüşümlü AChE ve BChE inhibitörlerin bir başka sınıfını göstermektedir galantamin, rivastigmin, takkim vs. Aslında, araştırılan bu bileşikler burada düşük mikromolar aralıkta etkin AChE inhibitör aktivitesi bu türevlerin cesaret verici AChEI ajanlar olabileceğini göstermektedir.

Bu maddeler Alzheimer hastalığının tedavisinde faydalı olabilecek yeni AChE ve BChE inhibitörlerini belirlemek için kullanılabilir.

Kaynaklar

- Baydar, H., 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri (Bilim ve Teknolojisi), Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, No: 51.
- Baser, K.H.C. Altintas, A., Kurkcuoglu, M., 2012. "Turkish Rose: A review of the history, ethnobotany and modern uses of rose petals, rose oil, rose water and other rose products", HerbalGram 96: 40-53.
- Basiri, A., Murugaiyaha, V., Osman, H., et al. 2013. An expedient, ionic liquid mediated multi-component synthesis of novel piperidone grafted cholinesterase enzymes inhibitors and their molecular modeling study. Eur. J. Med. Chem., 67: 221-229.
- Darvesh, S., Hopkins, D.A., Geula, C., 2003. Neurobiology of butyrylcholinesterase. Nat. Rev. Neurosci. 4, 131-138.
- Ellman, G.L., Courtney, D., Andies, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol., 7: 88-95.
- Esfandiary, E., Karimipour, M., Mardani, M., Ghanadian, M., Alaei, H.A., Mohammadnejad, D., Esmaeili, A., 2015. Neuroprotective effects of Rosa damascena extract on learning and memory in a rat model of amyloid- β -induced Alzheimer's disease Neuroprotective effects of Rosa damascena extract on learning and memory in a rat model of amyloid- β -induced Alzheimer's disease. Adv. Biomed. Res. 4: 131-140.
- Homayoun, V., Seghatoleslam, M., Pourzaki, M., Shafieian, R., Hosseini, M., Ebrahimzadeh, B.A., 2015. Anticonvulsant and neuroprotective effects of Rosa damascena hydro-alcoholic extract on rat hippocampus. Avicenna. J. Phytomed, 5 (3): 260-270.

- Howes, M.J., Houghton, P.J., 2003. Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 75(3):513-27.
- Lambert, J., Heath, S., Even, G., et al. 2009. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat. Genet.*, 41: 1094-1099.
- Mahboubi, M., 2015. Rosa damascena as holy ancient herb with novel applications. *J. Tradit. Complement. Med.* 6(1), 10-16.
- Massoud, F., Le'ger, G., 2011. Pharmacological treatment of Alzheimer disease. *Can. J. Psychiatry.* 56, 579-588.
- Mukherjee, P.K. Kumar, V. Mal, M., Houghton, P.J., 2007. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 14 (4): 289-300.
- Özçelik, H., Muca, B., Özavcı, A.G.M., 2011. Isparta Yağ gülü (Rosa x damascena Mill.) Yağı ve Çiçeklerinin Strese Bağlı Nörolojik ve Psikiyatrik Hastalıklara Etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2): 99-105.
- Özçelik, H., Yildirim, B., Muca, B., 2013. Rosa damascena Mill.' nın Türkiye' de Varyasyonu. *Suleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Science*, 17(2): 52-60.
- Senol, F.S., Orhan, I.E., Kurkcuoglu, M., Khan, M.T.H., Altintas, A., Sener, B., Baser, K.H.C., 2013. A mechanistic investigation on anticholinesterase and antioxidant effects of rose (Rosa damascena Mill.). *Food Research International*, 53; 502-509.
- Seshadri, S., Fitzpatrick, A.L., Ikram, M.A., et al. 2010. Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *J. Am. Med. Assoc.*, 303, 1832-1840.
- Singh, M., Kaur, M., Kukreja, H., Chugh, R., Silakari, O., Singh, D., 2013. Acetylcholinesterase inhibitors as Alzheimer therapy: from nerve toxins to neuroprotection. *Eur. J. Med. Chem.*, 70, 165-188.