

## DOĞAL BİTKİ ANTİBİYOTİĞİ: RESVERATROL

### NATURAL PLANT ANTIBIOTICS: RESVERATROL

Rezan ALKAN\*

Kocaeli Üniversitesi, Köseköy Meslek Yüksekokulu, Fermentasyon Bölümü

Geliş Tarihi: 22.12.2006

**ÖZET:** Fitoaleksinler, bitkilerde mikrobiyal enfeksiyon, yaralanma ve ultraviyole ışınlarla tepki olarak sentezlenen düşük molekül ağırlığındaki ikincil metabolik maddelerdir. Resveratrol (*trans*-3, 4', 5-trihydroxystilbene), 72 adet bitki türünde bulunan 31 cins ve 12 familyada dağılım gösteren bir fitoaleksindir. Üzüm ve kırmızı şarap gibi üzüm ürünleri ile yer fıstığı, yer fıstığı yağı, şam fıstığı, siyah çikolata ve kakao likörü gibi diğer bitkisel ürünlerde doğal olarak bulunan antioksidandır. Resveratrol'un pıhtı önleyici, çeşitli fungus ile virüs gelişimini durdurucu ve kansere karşı engelleyici etkisi vardır. Resveratrol içeren ürünlerin birçoğu yurdumuzda yetiştirilmektedir. Bu nedenle, bu ürünlerden özütlenerek ilaç formuna getirilmesi, ülkemizdeki ilaç firmaları için yeni fırsatlar yaratabilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** *Trans*-resveratrol, fitoaleksin, ikincil metabolit maddeler, UV ışık

**ABSTRACT:** Phytoalexins are low molecular weight secondary metabolites made by plants as a defense response to microbial infections, wounding and UV radiation. Resveratrol (*trans*-3, 4', 5-trihydroxystilbene), is a phytoalexin found in at least 72 species of plants distributed among 31 genera and 12 families.

It is a naturally occurring antioxidant found in grapes, grape products such as red wine and some other botanical sources like peanuts and peanut butter, pistachio, dark chocolate and cocoa liquor. Resveratrol exhibits a wide range of biological effects, including anti-platelet, anti-cancer, anti-fungal and anti-viral properties.

Most of the agricultural products that contain resveratrol are produced in Turkey. Thus, it will be a new challenge for the pharmaceutical industry when it is extracted from these products and turned into drug form.

**Key Words:** *Trans*-resveratrol, phytoalexin, secondary metabolites, UV radiation

### GİRİŞ

Resveratrol ilk kez *Veratum grandiflorum* (Çöpleme bitkisi)'un reçinelerinde keşfedilmiştir (1). Daha sonra 1977 de *Vitis vinifera*'nın (Asma) yapraklarında fungal enfeksiyon veya UV ışınlarla tepki olarak sentezlenen bir bileşik olduğu bulunmuştur (2). Bitkilerde çeşitli dış etkenlere karşı savunma maddeleri olarak sentezlenen bu ikincil metabolit maddelere fitoaleksinler (Bitki koruyucuları) adı verilmiştir. 1982'de Japonya ve Çinde halk arasında geleneksel olarak kullanılan *Polygonum cuspidatum* (Kojo-Kon ya da İdatori çayı) adı da verilen bitkinin (Şekil 1) köklerinin kurutulması ile elde edilen ürünün fungal hastalıklar, çeşitli deri iltihapları, karaciğer ve kan damarları hastalıklarını tedavi edici ve resveratrol miktarının en yüksek olduğu belirtilmektedir. Bu bitkide 2960-3770 ppm resveratrol olduğu belirtilmektedir (4). Bu bitkinin Japon ve Çin halk tıpında laksatif, damar sertliği ve kalp ritim bozukluklarında kullanıldığı belirtilmektedir(5). Resveratrol şarap, üzüm suyu, yaban mersini suyunda 0.278 ppm (6,7), yer fıstığı ve ürünlerinde (0.03-0.147 ppm) (8), yer fıstığı yağında 0.27-0.75 ppm arasında değişim göstermektedir. Son zamanlarda şerbetçiotunda *trans* ve *cis* resveratrol tespit edilmiştir. Bu sonuçtan bu bileşiklerin birada da bulunabileceğini belirtilmiştir (9). Kurutulmuş yer fıstığı köklerinin de resveratrol yönünden zengin olduğu belirtilmiştir (10). Koyu renkli çikolatalarda ve kakao liköründe 0.4-0.5 ppm resveratrol bulunmuştur (11). Şam fıstıklarında 1.15 µg/gr olduğu belirtilmektedir (12).

\*E-posta: rezanalkan@kou.edu.tr



Şekil 1. *Polygonum cuspidatum*

Üzümlerde resveratrol miktarı asmanın yetiştirildiği toprak, hava gibi koşullara, *Botrytis cinerea* adı verilen küfle enfekte olmasına ve şarapçılıkta kullanılan yöntemlere bağlı olarak değişebilmektedir. Üzümlerde resveratrol sentezi stres, zedelenme, enfeksiyon ve UV ışınları gibi dış faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir (13). Resveratrol üzüm kabuklarında 5-7 ppm, çekirdeklerinde 1 ppm, etli kısımlarında 0.1 ppm'den azdır (14). Kırmızı şaraplarda üzümün kabukları ile birlikte cibre fermentasyonu yapıldığı için kabuklardan geçen resveratrol miktarı fazladır. Kırmızı şarap yapımı sırasında şarap mayası cibre fermentasyonu sırasında üzüm suyunda bulunan şekerleri fermente ederek oluşturduğu alkol üzümün kabuğundaki resveratrolü ekstrakte eder. Kırmızı şaraplarda ortalama resveratrol miktarı 1-11 ppm kadardır (15). Beyaz şaraplarda cibre fermentasyonu yapılmadığı için 0.1-2 ppm arasındadır. Pembe şaraplarda 0.05-1.19 ppm arasında ölçülmüştür (16,17)

### RESVERATROLÜN KİMYASAL YAPISI

Resveratrol *cis* ve *trans* izomer şekillerde bulunur. Ayrıca *cis* ve *trans* şeklinde glukosid olarak *trans* ve *cis*-piceid şeklinde glukoz molekülüne bağlanarak da oluşur (Şekil 2). Resveratrol yağ, DMSO (di metil sülfoksit) ve alkolde çözünen bileşiktir. Molekül ağırlığı 228 g/mol, erime sıcaklığı 253-255 °C dir. Kapalı formülü  $C_{14}H_{12}O_3$  dür. Şaraplarda *trans* resveratrol, *cis* resveratrole göre daha fazladır. Şarap ışık ve oksijen aldığı zaman *trans* izomerlerin *cis* izomerlere dönüştüğü belirlenmiştir (10). *Trans*-resveratrolün ve piceidlerinin üzüm suyu ekstratlarında stabilitesi gerek 2 yıl süre ile % 60 nem ve oda sıcaklığında ve gerekse %75 nem ve 40 °C de 4 sene süre ile hızlandırılmış stabilite testleri sonucunda elde edilen veriler resveratrolün stabilitesini koruduğu yönündedir (18).

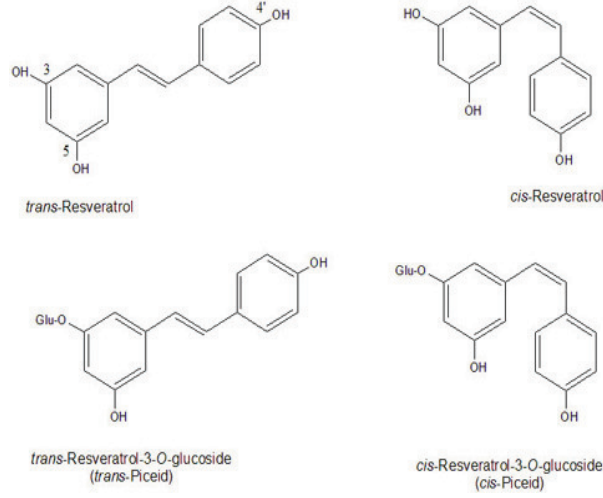
### RESVERATROL SENTEZİ

Resveratrol bitkilerde fenil alaninden birkaç basamakta sentezlenir. Fenil alaninden fenilalanin amonia liyaz enzimi ile deaminasyonla cinnamic asit oluşur. Bu bileşik cinnamate 4-hidroksilaz ile 4-coumaric asite dönüşür. 4-coumarat ile Co-A esteri oluşur. Bu ester CoA ligaz' dir. 4-coumaryl Co-A ile 3 malonyl Co -A stilben sentaz enzimi ile resveratrole dönüşür (20).

### EKSTRAKSİYON VE ANALİZİ

Doğal kaynaklardan resveratrolün ekstraksiyonu düşük miktarlarda olması nedeniyle zaman alıcıdır. Resveratrolün ekstraksiyonunun kısa bir sürede denatüre olmadan yapılması gerekir. Son senelerde HPLC GC ile birçok metod geliştirilmiştir. Genellikle HPLC de UV modunda C18 reverse faz kolonu kullanılarak ölçülmektedir. *Trans*- resveratrol 307 nm, *cis*- resveratrol ise 280 nm de ölçülmektedir.

Bitkilerden resveratrol ekstraksiyonunda genellikle etil veya metil alkol kullanılmaktadır. Yer fıstığı ve ürünlerinde genellikle alkol ekstraksiyonu sonrasında, elde edilen resveratrol ekstraktı  $Al_2O_3$ :Silikajel 60 R18 kolonundan geçirilip HPLC de ölçülmektedir (19). Çikolata ve kakao liköründe ise önce yağ alınıp, elde edilen ekstrakt etanolde çözüldükten sonra kurutulup alkolde çözülüp HPLC de ölçülmüştür (11).



### RESVERATROLÜN TİCARİ ÜRETİMİ

Resveratrol ticari olarak asmaya alüminyum klorür veya alüminyum sülfat ve UV ışık uygulaması ile üretilmektedir (13). Genellikle ticari olarak resveratrol içeren hapların eldesinde *Polygonum cuspidatum*'un kurutulmuş kökleri kullanılmıştır. Daha çok Çin, Hindistan ve Japonya'da resveratrol hapları çeşitli firmalar tarafından satılmaktadır.

### RESVERATROLÜN BİYOLOJİK ETKİLERİ

Sadece son birkaç yılda resveratrol üzerinde yayınlanmış 200 makale vardır. Bu makalelerin çoğunda resveratrolün antioksidan, kalp damar hastalıkları, kanserin ilerlemesi üzerinde önleyici etkileri incelenmiştir. Resveratrolün etkilerinin tıbbi yönden araştırılması Fransızların kolesterolü yüksek gıdalar almasına karşılık, kalp-damar hastalıkları yüzdesinin düşük olmasını kırmızı şarap tüketimine bağlanmıştır. Buna "Fransız paradoksu" adı verilmektedir. Bundan sonraki çalışmalar, kırmızı şarabın bileşiminde bulunan maddelerin incelenmesi yönünde olmuştur.

Mikroorganizmalara olan etkilerinin araştırılması konusunda yapılan çalışmalara *Botrytis cinerea* enfeksiyonlarını durdurması nedeniyle başlanmıştır. İnsanlarda deri enfeksiyonlarında etkili olan bakteri patojenleri üzerinde etkisi incelenmiş *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Pseudomonas aeruginosa* nın 171-342 µg/ml resveratrolle inhibe olduğu belirtilmiştir. *Trichophyton* gibi bazı fungus türlerinin de 25-50 µg/ml resveratrolle inhibe olduğu belirtilmiştir (21). Ayrıca klinik önemi olan *Neisseria gonorrhoeae* ve *Neisseria meningitidis* ile *Helicobacter pylori* gibi bakterilerin büyüme ve gelişimlerini engellediği de belirtilmektedir ve ayrıca *Herpes simplex* replikasyonunu da engellemektedir (22,23,24,25).

Çeşitli çalışmalar resveratrolün pıhtılaşmayı engellediğini ortaya çıkarmıştır. Kalsiyum konsantrasyonunun hücre içinde artması pıhtı birikiminde önemli rol oynar. Resveratrol Ca girişini engelleyerek pıhtı birikimini de engeller. Lipid peroksidasyonunu önler. Hücre membranlarını koruyarak canlı hücrelerde oksidatif streslerin etkilerini azaltır (26).

### SONUÇ

İlaç sanayi başta olmak üzere, kozmetik ve tarımsal savaş sektörlerinde kullanılan bazı kimyasal bileşikler bitkilerden elde edilmektedir. Geleneksel yöntemlerle hastalıkların tedavisinde bitkilerin kullanımı, ilaçların geliştirilmesine katkı sağlamıştır.

Resveratrol'de bu kimyasal bileşiklerden birisidir. Ülkemizin başlık alanlarının fazla ve zengin olması nedeni ile üzüm çeşitlerine yönelik resveratrol miktarları incelenebilir. Resveratrolü bol olan üzümde veya diğer ürünlerden ticari olarak ilaç yapılabilir. Ayrıca pekmez üretimi sırasında atık olarak ayrılan resveratrol miktarı yönünden zengin olan üzüm kabukları bu yönde değerlendirilebilir.

**KAYNAKLAR**

1. Takoako M. 1940. Of the phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum Loes.fil.*). J.Fac.Sci.Hokkaido Imp.Univ.Ser, 111( 3) 1-16.
2. Langcake P, Pryce RJ. 1977. A new class of phytoalexins from grapevines. *Experientia*, 33: 151-152.
3. Arichi H , Kimura Y , Okuda H , Baba K , Kozawa M, Arichi S. 1982. Effects of stilbene components of the roots of *Polygonum cuspidatum* Sieb et Zucc.on lipid metabolism. *Chem.Pharm.Bull*, 30: 1766-1770.
4. Vastano BC, Chen Y, Zhu N, Zhou Z, Rosen RT. 2000. Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. *Journal of Agric.and Food Chemistry*, 48: 253-256.
5. Soleas GJ , Angelini M , Grass L , Diamandis EP , Goldberg DM. 2001 . Absorption of trans resveratrol in rats. *Methods Enzymology*, 335: 145-154.
6. Yan W, Florentina C, Yanan Y, Robin R, Richard B, Von B .2002. An LC-MS Method for analyzing total resveratrol in Grape Juice, Cranberry Juice,and in wine. *J.Agric.Food.Chem*, 50: 431-435.
7. Victor SS , Richard JC. 1999. Trans-resveratrol content in commercial peanuts and peanut products. *J. Agric. Food.Chem*, 47: 1435-1439.
8. Maita IG , Sonia RP, Rosa M, Lamuela R. 2000. Resveratrol and piceid levels in natural and blended peanut butters. *J.Agric.Food.Chem*, 48: 6352-6354.
9. Callemien D, Counet C, Cawet Q, Collin S. 2003. Hop as a determinant nutrition key for health. In proceedings of the 29th European brewery convention congress pp.1375-1382. Germany:Fachverlag Hans Karl.
10. Chen RS, Wu PL, Robin YY. 2002. Peanut roots as a source of resveratrol . *J.Agric.Food.Chem*, 50: 1665-1667.
11. Christine C, Callemien D, Collin S. 2006. Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid. *Food Chemistry*, 98: 649-657.
12. Özlem T, Mustafa KÜ, Fadim Y. 2005. Determination of the phytoalexin resveratrol (3,5,4'-Trihydroxystilbene) in Peanuts and Pistachios by High performance liquid chromatographic diode array (HPLC-DAD) and Gas Chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *J.Agric.Food.Chem*, 53: 5003-5009.
13. Cantos E , Garcia VC, Pascual TS, Tomas B . 2000. Effects of postharvest UV radiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes . *J.Agric.Food.Chem*, 48: 4606-4612.
14. Douillet B, Jeandet P, Adrian M, Bessis R. 1999. Changes in the pytoalexin content of various vitis spp in response to ultraviolet C elicitation. *J.Agric.Food.Chem* ,47: 4456-4461.
15. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. 1997. Resveratrol a molecule whose time has come? And gone?. *Clinical Biochemistry*, 30: 91-113.
16. Romero P, Maite IG, Roza M, Lamuela RM. 1999. Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1533-1536.
17. Romero P, Lamuela RM, 1996. Levels of cis- and trans-resveratrol and their glucosides in white and rose *Vitis vinifera* wines from Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 2124-2128.
18. Prokop J, Abrman P, Seligson AL, Sovak M . 2006. Resveratrol and its glycon piceid are stable polyphenols. *Journal of Medicinal Food*, 9 (1) 11-14.
19. Sobolev VS, Cole RJ, Dörner JW, Yagen B. 1995. Isolation, purification and liquid chromatographic determination of stilbene phytoalexins in peanuts. *J. Assoc.off.Anal.Chem, Int* ,78:1177-1182.
20. Wu JM, Wang ZR, Hsieh TCH, Bruder JL, Zou JG, Huang YZ. 2001. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine. *Inter J Mol Med* , 8:3-17.
21. Marion Man YC. 2002. Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogen of the skin. *Biochemical Pharmacology*, 63:99-104.
22. Mahady GB, Pendland SL. 2000. Resveratrol inhibits the growth of *Helicobacter pylori* in vitro. *Am.J.Gastroenterol*, 95:1849.
23. Docherty JJ, Fu MM, Tsai M. 2001. Resveratrol selectively inhibits *Neisseria meningitidis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *J.Antimicrob Chemother* , 47:243-244.
24. Docherty JJ, Fu MMH, Stiffler BS , Limperos RJ , Pokabla CM , Delucia AL. 1999. Resveratrol inhibition of Herpes simplex virus replication. *Antiviral Res*, 43:135-45.
25. Filip V, Plockova M, midrkal J, pi-kova Z, Melzoch K, Schmidt. 2003. Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. *Food Chemistry*, 83:585-593.
26. Dobrydneva Y, Williams RL, Blackmore PF. 1999. Trans-resveratrol inhibits calcium influx in thrombin-stimulated human platelets. *Br. J. Pharmacol*, 128:149-157.