

Homalothecium philippeanum (Spruce) Schimp. (Bryophyta) Ekstresinin Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesine Etkisi*

Effect of *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp. (Bryophyta) Extract on Acetylcholinesterase Enzyme Activity

Ulaş Değirmenciⁱ, Tülay Ezerⁱⁱ

ⁱDr., Öğr. Üyesi, Harran Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AD., <https://orcid.org/0000-0001-5208-6430>

ⁱⁱProf. Dr., Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü

<https://orcid.org/0000-0002-6485-5505>

ÖZ

Amaç: Alzheimer hastalığı yaklaşık 50 milyon insanı etkileyen ve en sık görülen nörolojik bozukluktur. Kolinerjik hipoteze göre sinir iletiminden sorumlu asetilkolin konsantrasyonunun azalması hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Asetilkolini metabolize eden asetilkolinesteraz enziminin inhibisyonunun hastalık seyrinde düzelmeye yol açtığı bilinmektedir. Bu nedenle bu çalışma, ilk kez karakterizasyonunu yapılan kara yosunu türü *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp. ekstresinin asetilkolinesteraz enzim inhibisyon etkisini araştırmayı amaçlamaktadır.

Yöntem: *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp. ekstresi süperkritik akışkan (CO₂) ekstraksiyon yöntemiyle 180 bar basınç, 50 °C sıcaklıkta ve kosolvent olarak %5 (v/v) etanol kullanılarak Superex F-500 (Türkiye) cihazında elde edilmiş olup GK/KS analizi Shimadzu GCMS-QP 2020 sisteminde wax kolon kullanılarak yapılmıştır (RESTEK Rtx-Wax kolon, 30m x 0,25mm x 0,25 µm film kalınlığı). Ekstrenin düşük, orta ve yüksek dozlarının asetilkolinesteraz enzim inhibisyon etkisini belirlemek için Ellman ve ark. (1961) tarafından oluşturulan spektrofotometrik yöntem küçük modifikasyonlarla değiştirilerek uygulanmıştır.

Bulgular: *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp. ekstraktının düşük düzeyde anti-Alzheimer aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç: Elde edilen veriler ışığında *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp.'in düşük düzeyde anti-Alzheimer etki gösterdiği saptanmış olup söz konusu etkinin tam olarak anlaşılması ve ticari ürün haline dönüştürülebilmesi için daha ileri araştırmalarla etken madde tespiti ve izolasyonunun yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, Alzheimer hastalığı, Asetilkolinesteraz

ABSTRACT

Objective: Alzheimer's disease is the most common neurological disorder, affecting approximately 50 million people. According to the cholinergic hypothesis, the decrease in the concentration of acetylcholine, which is responsible for nerve conduction, is associated with the disease. It is known that inhibition of the acetylcholinesterase enzyme, which metabolizes acetylcholine, leads to improvement in the course of the disease. Therefore, the present study aims to investigate the acetylcholinesterase enzyme inhibition effect of the extract of *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp., a moss species characterised for the first time.

Methods: *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp. extract was obtained by supercritical fluid (CO₂) extraction method at 180 bar pressure, 50 °C temperature and using 5% (v/v) ethanol as cosolvent on the Superex F-500 (Turkey) device. GK/KS analysis was performed using a wax column on the Shimadzu GCMS-QP 2020 system (RESTEK Rtx-Wax column, 30m x 0.25mm x 0.25 µm film thickness). To determine the acetylcholinesterase enzyme inhibition effect of low, medium and high doses of the extract, the spectrophotometric method created by Ellman et al. (1961) was applied with minor modifications.

Results: It has been determined that *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp. extract shows low level anti-Alzheimer activity.

Conclusion: In the light of the data obtained, it was determined that *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp. showed a low level of anti-Alzheimer effect, and in order to fully understand the effect in question and to transform turn it into a commercial product, further research is required to identify and isolate the active ingredient.

Key words: Supercritical fluid extraction, Alzheimer's disease, Acetylcholinesterase

* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi 2024;14(3):587-593

DOI: 10.31020/mutfd.1479130

e-ISSN: 1309-8004

Geliş Tarihi – Received: 06 Mayıs 2024; Kabul Tarihi - Accepted: 02 Ağustos 2024

İletişim - Correspondence Author: Güngör Çabuk <ulas_degirmenci@yahoo.com >

Giriş

Senil demans olarak da tanımlanan Alzheimer Hastalığı (AH) nörolojik bir bozukluk olup dünya genelinde görülen demans türleri arasında en sık rastlanılanıdır.¹ AH zamanla kötüleşen belirtilerle ilerleyen bir hastalıktır. Hastalığın, semptomlarının ortaya çıkmasından 20 yıl ya da daha uzun süre önce başladığı düşünülmektedir.² Beyinde hücre dışı senil plakların ve hücre içi nörofibriller yumakların birikimine bilişsel işlev ve hafıza bozuklukları eşlik etmektedir. Amiloid öncü proteininin (APP) proteolitik yıkımıyla üretilen amiloid beta peptidin (A β) hücre dışında birikmesiyle senil plaklar oluşur.³ AH'nın patogenezi amiloid beta hipotezi, kolinerjik hipotez, tau birikimi hipotezi ve oksidatif stres ve tau birikimi hipotezi gibi çeşitli hipotezlerle açıklanmaya çalışılmaktadır.⁴ Bunlardan en çok kabul gören kolinerjik hipotez, iki nöron hücrelerinin sinaptik kavşağında bulunan kolinerjik sistemdeki bozukluğun hafıza ve beyin bilişsel işlevinde gerilemeye yol açtığını ileri sürmektedir.⁵ Kolin asetil transferaz (ChAT) ve asetilkolinesteraz (AChE), sinir iletiminden başlıca sorumlu olan enzimlerdir. ChAT, asetil CoA ve kolinden sentezlenen nörotransmitter asetilkolini (ACh) katalize eder. ACh, sinaptik yarıktaki bulunan ve sinir sinyallerini ileten ACh reseptörlerine bağlanır. AChE, ACh'in asetik asit ve koline hidrolizini gerçekleştirerek sinir iletimini sonlandırır. ACh'in sentezi ve hidrolizi bir geri bildirim mekanizmasına dayanır.⁶ AH'nın patogenezi ACh ve ChAT konsantrasyonunun azalması, hafıza ve bilişsel işlevlerde bozulmayla sonuçlanır. Bu nedenle, kognitif fonksiyonun onarılabilmesi amacıyla ChAT aktivitesi ACh yıkımını kontrol etmek için düzenlenmektedir. Bir glutamat reseptörü olan NMDA reseptörü, sinaptik sinyalizasyon ve plastisite için oldukça önemlidir. Sinaptik NMDA, sinaptik plastisiteyi tetikleyerek nöro korumayı etkinleştirir. Ekstra sinaptik NMDA aktivasyonu ise mitokondriyal membran potansiyelinin azalmasına ve nöron ölümüne neden olur. Bu nedenle ekstra sinaptik NMDA'yı bloke edebilen bir NMDA antagonisti ideal bir tedavi stratejisi olarak değerlendirilebilir.⁷ N-metil D-aspartat (NMDA) antagonistleri olarak pazarlanan ilaçlar ve kolinesteraz inhibitörleri semptomatik rahatlama sağlamakla beraber AH gelişimini durduramamaktadırlar.⁸ En sık kullanılan dört ilaç, donepezil, rivastigmin, galantamin ve memantindir. Donepezil, rivastigmin ve galantamin birçok farmakolojik ve farmakokinetik potansiyele sahip asetilkolinesteraz inhibitörleridir.⁹

Çalışmalar, doğal ürünlerin tıbbi kimyadaki potansiyel bileşiklerin sentezi ve daha ileri ilaç keşifleri için önemli bir bileşen olarak hizmet etme yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Ancak günümüzde nörodejeneratif hastalığın etkili tedavisini sağlayacak hiçbir ilaç mevcut değildir.¹⁰ Farklı bitkisel ürünlerden yapılan bitkisel ilaçlar, mitokondriyal aktiviteyi, apoptozu ve nöroproteksiyon sürecinde yer alan süreçleri modüle eden önemli antioksidan ve antiinflamatuvar nitelikler sergiler.¹¹ Şifalı bitkiler farmakolojik olarak aktif birçok bileşiğin rezervuarı olması sebebiyle antik çağlardan beri hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır.¹² Fitokimyasallardan elde edilen doğal biyoaktif bileşikler, antiinflamatuvar, antiamiloidojenik, antioksidan ve otofajiyi hedefleme özelliklerine sahiptirler ve AH hasarının ilerlemesini yavaşlatabilirler. Araştırma sonuçları kaempferol, skopoletin, sinamik asit, trans sinamaldehit, kateşin, epikateşin, asyatik asit, kafeoil kirik asit, bilobalidler gibi çeşitli bileşenleri barındıran Hint bitkisel ilaçlarının bilişsel iyileşmede ve kurkumin, kriptamisin A, medioresinol, erinasin A&S içeren ilaçların ise A β plak birikimini azalttığını göstermiştir. Sinamaldehit ve epikateşin tau inhibitörleri olarak, safranal ve krosetin ise asetilkolinesteraz inhibitörleri olarak, withanolid A'nın aksonal ve dendritik atrofiyi baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca skopoletin, sigmasterol, bitulinik asit, klorojenik asit ve β -karotenin nöroproteksiyonda dikkate değer etkileri olduğu ortaya konulmuştur. Bu sonuçlar, AChE inhibisyonu, sinyal yolağının adaptasyonu, oksidatif stres inhibisyonu gibi subselüler, selüler ve moleküler mekanizmaların gerekliliğine işaret etmektedir.¹³

Kara bitkilerinin ataları olan briyofitler (kara yosunları), yeryüzünde kutuplardan ekvatora kadar suyun veya nemin bulunduğu hemen hemen her yerde yayılış göstermektedirler. Bryobiotina alt alemi içerisinde

Anthocerotophyta (boynuzlu ciğerotları), Marchantiophyta (ciğerotları) ve Bryophyta (yapraklı kara yosunları) olmak üzere üç bölümde sınıflandırılmaktadırlar.^{14,15} Yaklaşık 450 milyon yıl önce Ordovisiyen döneminde ortaya çıkmış olan yeryüzünün ilk briyofitleri¹⁶ günümüzde de hala varlıklarını sürdürebilmiştir. Bu bitkiler ilkel yapılarına rağmen karasal yaşama uyum sağlamak için birçok adaptif özellik kazanmıştır. Bu adaptif özelliklerin en önemlilerinden biri gerek biyotik ve gerekse abiyotik çevresel strese karşı özellikle de briyofitlerde çok çeşitlilik gösteren terpenoidler, fenolik bileşikler ve alkaloidler gibi sekonder metabolitlerin biyosentezidir. Sekonder metabolit zengini bu bitkiler sentezledikleri bu bileşikler sayesinde rekabete, mikrobiyal saldırıya ve böcek ya da hayvan saldırılarına karşı kendilerini savunabilmektedirler. Briyofitler için bu bileşikler UV koruması, kuraklığa tolerans ve donmaya karşı hayatta kalma açısından da önem taşımaktadır.¹⁷

Briyofitler dünyanın farklı kültürlerinde özellikle de Çin, Hindistan ve Amerika'nın bazı bölgelerinde çeşitli hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılmıştır.^{14,18} Dünya çapında yaklaşık 1000 briyofit türü çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmakta olup etno-farmakolojik öneme sahiptir.^{19,20} Briyofitlerin fitokimyasal içerikleri üzerine yapılan çalışmalar, karbonhidratlar, lipid, protein, steroidler, polifenoller, terpenoidler, organik asitler, şeker alkoller, yağ asitleri, alifatik bileşikler, asetojeninler, fenilkinonlar ve önemli biyoaktiviteler gösteren aromatik ve fenolik maddeler gibi çok çeşitli biyolojik olarak aktif bileşikler sergilediğini ortaya koymuştur.^{21,18} Bir ciğerotu türü olan *Marsupella alpina* (Gottsche ex Husn.) Bernet'nin etanol ekstresinden elde edilen Marsupellin A ve B'nin AChE'yi inhibe ettiği saptanmıştır.²² Yine bir ciğerotu türü olan *Scapania undulata* (L.) Dumort.'dan elde edilen Scapaundulin C'nin hafif AchE inhibitör aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.²³ Bir başka çalışmada ciğerotu *Marchantia polymorpha* L.'nin gametofit ve sporofitlerinin flavonoid bakımından zengin özütlerinin AChE aktivitesini inhibe ettiği kanıtlanmıştır.²⁴

Bu çalışmada da bir yapraklı kara yosunu türü olan *Homalothecium philippeanum* (Spruce) Schimp.'un ilk kez karakterizasyonunu yapılarak asetilkolinesteraz enzim inhibisyon etkisi araştırılacaktır.

Materyal Metod

Bitki materyali

Bitki materyali Adana-Aladağ, Başpınar Meydan Yaylası, 1345 m, 37°29'0.9" K, 35°21'53"D, Ağustos 2022'de kaya üzerinden Prof. Dr. Tülay Ezer tarafından toplanmış olup toplanan briyofit örnekleri yine Prof. Dr. Tülay Ezer tarafından ilgili literatürler kullanılarak teşhis edilmiştir.^{25,26}

Ekstraksiyon

Bitkinin toprak üstü kısımları oda sıcaklığında kurutularak toz haline getirildi. Süperkritik akışkan (CO₂) ekstraksiyon yöntemiyle 180 bar basınç, 50 °C sıcaklıkta ve kosolvent olarak %5 (v/v) etanol kullanılarak Superex F-500 (Türkiye) cihazında ekstre elde edildi. GK/KS analizi için bir miktar ekstre ayrılarak analiz gününe kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Kalan ekstrenin tamamı liyofilize edilerek enzim aktivite çalışması yapılanaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklandı.

GK/KS analizi

GK/KS analizi Schimadzu GCMS-QP 2020 sisteminde wax kolon kullanılarak yapıldı (RESTEK Rtx-Wax kolon, 30m x 0,25mm x 0,25 µm film kalınlığı). Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı (3mL/dk). GK fırın sıcaklığı 40 °C'de 1 dk tutularak dakikada 10 °C artışla 150 °C'ye çıkarıldı ve 2 dk tutulduktan sonra dakikada 3 °C artışla 240°C'ye çıkarıldı ve 16 dk tutuldu. Split oranı 100:1 olarak ve enjektör sıcaklığı 250 °C'ye ayarlandı. Kütle spektrumları 70 eV'de kaydedildi ve kütle aralığı 35-1000 m/z arasındaydı. Tarama kütüphanesi olarak WileyNist W9N11 kullanıldı.

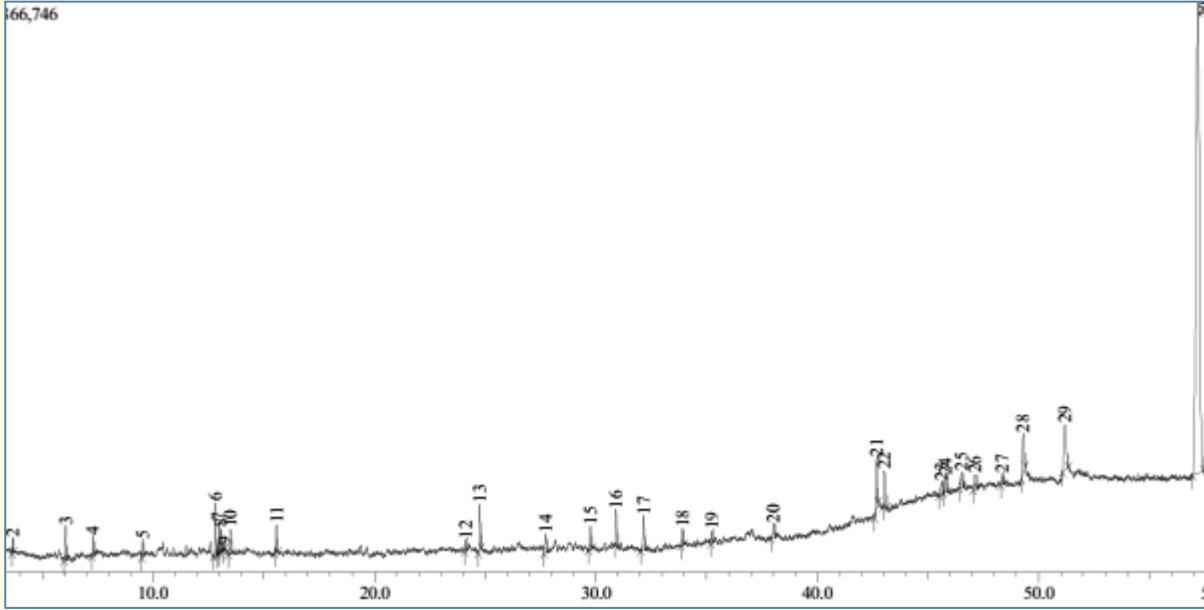
AChE Enzim Aktivite Çalışması

Homalothecium philippeanum ekstresinin düşük, orta ve yüksek dozlarının AChE enzim inhibisyon etkisini belirlemek için Ellman ve ark. tarafından oluşturulan spektrofotometrik yöntem küçük modifikasyonlarla değiştirilerek uygulandı.^{27,28} Ellman ve ark. tarafından 1961 yılında bulunan metod AChE'nin asetilkolini asetat ve tiyokoline hidroliz etmesi, tiyokolinin ise 5,5'-ditiyo-bis(2-nitro-benzoik) asidi (DTNB) 405 nm dalga boyunda absorbands veren nitrobenzoata dönüştürmesi prensibine dayanmaktadır. Aktivite çalışması için AChE (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany) enzimi ve reaksiyon substratı olarak asetiltiyokolin iyodür (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany) kullanıldı. Kolinesteraz aktivitesinin ölçümü için: 50 µg/mL örnek çözeltisi, 20 µL AChE enzim çözeltisi, 150 µl 100 mM sodyum fosfat tamponu (pH 8,0) (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany) ve 50 µg/mL DTNB (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany) 25 °C'de 15 dakika süreyle inkübe edildi. Çözücü olarak metanol (Merck, Darmstadt, Germany), standart olarak galantamin (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany) kullanıldı. Daha sonra reaksiyonu başlatmak için 50 µg/mL asetiltiyokolin iyodür ilave edilerek Shimadzu UV-1280 cihazında 412 nm absorbands ölçümleri yapıldı.

Sonuçlar

Homalothecium philippeanum (Spruce) Schimp. ekstresi GK/KS analiz sonucu

Homalothecium philippeanum süperkritik karbondioksit (etanol %5 v/v) ekstresinin GK/KS grafiği aşağıda verilmiştir (**Şekil 1**).



Şekil 1. GK/KS grafiği

Homalothecium philippeanum'un süperkritik CO₂ (etanol %5 v/v) ekstresi 30 bileşen ortaya çıkardı. Bunlar sırasıyla; (-)alfa-pinen (%0,34), D-limonen (%0,83), alfa-terpinolen (%0,56), asetik asit (%0,70), 1,8-paraoctadien-4-ol (%1,59), alfa-terpineol (%0,88), endo-borneol (%0,67), heptadekan (%0,16), 2-sikloheksen-1-on,3-metil-6(1-metildietil) (%1,01), benzenemetanol,4-(1-metiletil) (%0,99), cembrene (%0,42), heksadekanoik asit metil ester (%2,05), 1H-Nafto[2,1-b]piran, 3-etenildodekahidro-3,4a,7,7,10a-pentametil (%1,07), cis-11-tetradesen-1-ol (%1,29), 9-oktadesenoik asit(z)-metil ester (%1,78), 9,12-oktadekadienoik asit(z,z),metil ester (%1,82), 9,12,15-oktadekatrienoik asit, metil ester, (Z,Z,Z)- (%0,80), 9-oktadesen-1-ol, (E)- (%0,52), heksatrikontan (%0,86), n-heksadekanoik asit (%2,85), tetrakozan (%1,76), oct-5-en-2-ol,8-(1,4,4a,5,6,7,8,8a-oktahidro-2,5,5,8a-tetrametilnaft-1-il)- (%0,88), N-bütül- benzensülfonamid (%1,22), 7-

heksadekenoik asit, metil ester, (Z)- (%0,96), skualen (%1,04), 3-undesil-fenol (%0,55), oleik asit (%2,62), 9,12-oktadekadienoik asit (Z,Z)- (%4,35), 3-pentadesil-fenol (%59,52).

Anti-Alzheimer aktivite

Homalothecium philippeanum ekstresinin farklı konsantrasyonlarının AChE enzimi üzerindeki inhibisyon etkisi modifiye Ellman metodu ile araştırıldı. Metoda göre asetilkolinesteraz, asetiltiyokolini tiyokolin ve asetata hidroliz eder. Tiyokolin ise 5,5'-ditiyo-bis(2-nitro-benzoik) asidi (DTNB) 405 nm dalga boyunda absorbands veren nitrobenzoata dönüştürür. 5-Tiyo-2-nitro-benzoik asit sarı renklidir ve 412 nm'de maksimum absorbands verir. Standart için Donepezil hidroklorür kullanıldı. Asetilkolinesteraz aktivitesi kontrole göre % inhibisyon olarak aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$\% \text{inhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$$

Homalothecium philippeanum ekstresinin farklı konsantrasyonlarının yüzde inhibisyon değerleri aşağıda verilmiştir (**Tablo 1**).

Tablo 1. *Homalothecium philippeanum* ekstresinin %AChE inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (µg/mL)	% AChE inhibisyonu	% Donepezil hidroklorür inhibisyonu
5	%08,82±1,03	%98,78±0,31
10	%10,01±0,78	%99,07±0,84
15	%13,14±0,84	%98,12±0,17
25	%14,63±1,14	%98,38±0,51
50	%15,01±0,32	%97,98±0,24

Çalışma sonuçlarımıza göre donepezil hidroklorürün %100'e yakın inhibisyon etkisi gösterdiği bulundu. *Homalothecium philippeanum* ekstresinin düşük düzeyde antiAlzheimer etki gösterdiği tespit edildi.

Tartışma

Asetikolin (ACh), parasempatik sinir sisteminin esansiyel nörotransmitteridir. Sinir impulslarını komşu nöronlar aracılığıyla taşır ve hafıza, kas kasılması, kan damarlarının genişlemesi ve kalp atış hızının düzenlenmesinde rol oynar.²⁹ ACh kolin ve asetik asitten oluşan bir esterdir. Spesifik presinaptik Ca⁺² kanallarındaki kalsiyum akışı ACh'nin nöromüsküler bağlantı bölgelerinde salınmasına neden olur.³⁰ Bir motor nöronun aksiyon potansiyeli sinir boyunca hızlı bir şekilde hareket ederek nöromüsküler kavşağa ulaşır ve ACh'nin bitişik nöronlar arasındaki boşluğa salınmasını sağlayan elektrokimyasal bir etki başlatır. Daha sonra ACh spesifik reseptörlerine bağlanarak impuls aktarımını sağlayan tepkiyi başlatır. Kolinergik sinapta impuls iletiminin sonlandırılması ACh'nin hidrolizi ile sağlanır.³¹ Asetikolin konsantrasyonunda azalma bilişsel işlevde ve hafızada bozulmaya neden olmaktadır. Bir glutamat reseptör olan NMDA reseptörü sinaptik sinyalizasyon ve plastisite için oldukça önemlidir. Sinaptik NMDA, sinaptik plastisiteyi tetikleyerek nöro korumayı etkinleştirir. Ekstra sinaptik NMDA aktivasyonu, mitokondriyal membran potansiyelinin azalması ve nöron ölümüyle sonuçlanır. Bu nedenle ekstra sinaptik NMDA'yı bloke edebilen bir NMDA antagonisti ideal bir tedavi stratejisi olarak değerlendirilebilir.³² N-metil D-aspartat (NMDA) antagonistleri olarak pazarlanan ilaçlar ve kolinesteraz inhibitörleri semptomatik rahatlama sağlasa da AD gelişimini durduramamaktadırlar.³³ En sık kullanılan dört ilaç, donepezil, rivastigmin, galantamin ve memantindir. Donepezil, rivastigmin ve galantamin, büyük farmakolojik ve farmakokinetik potansiyele sahip asetilkolinesteraz inhibitörleridir.³⁴ Günümüzde nörodejeneratif hastalığın etkili tedavisini sağlayacak hiçbir ilaç mevcut değildir.¹⁰ Farklı bitkisel ürünlerden yapılan bitkisel ilaçlar, mitokondriyal aktiviteyi, apoptozu ve nöroproteksiyon sürecinde yer alan süreçleri modüle eden önemli antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler gösterir.^{35,36} Antik çağlardan beri şifalı bitkiler birçok hastalığın tedavisinde çok çeşitli farmakolojik olarak aktif bileşiğin kaynağı olmaları sebebiyle tedavi edici olarak kullanılmıştır.³⁷ Dünya genelinde yaklaşık 3,3 milyar insan hala geleneksel tıbbın temeli olan şifalı bitkileri düzenli olarak kullanmaktadır.³⁸ *Withania*

somnifora'dan izole edilen Withanolide A'nın nevrini rejenerasyon etmiş ve nöronlardaki pre ve post sinapsları yeniden yapılandırmıştır. Ayrıca hipokampus/serebral kortekste A β (25–35) tarafından indüklenen aksonal ve dendritik atrofiyi, sinaps öncesi ve sonrası kaybı önlediği ve farelerde A β -peptid tarafından indüklenen hafıza bozukluğunu iyileştirdiği gösterilmiştir.³⁹ Ghadrdoost ve ark. *Crocus sativus* L ekstresinin orta düzeyde (%30) AChE enzim inhibisyonu gösterdiğini bulmuşlardır.⁴⁰ Vidal ve ark. *Curcuma longa* L.'de bulunan kurkuminin yaşlı hayvanların hafızasında iyileşmeye ve hipokampus ve prefrontal kortekste dentrit yoğunluğunda artışa sebep olduğunu göstermişlerdir.⁴¹ *Bacopa monnieri* ekstresi serbest radikal temizlik sürecini destekleyerek prefrontal korteks, hipokampus ve striatum hücrelerini sitotoksikite ve DNA hasarına karşı korumaktadır. Donepezil, rivastigmin ve galantamine benzer şekilde *Bacopa monnieri* ekstraktının uygulanmasının kolinerjik nöronları koruduğu ve antikolinesteraz aktivitesini azalttığı görülmüştür.⁴² Mahaman ve ark. (2018), *Moringa oleifera*'nın homosistininin neden olduğu AD patolojisi üzerindeki önleyici etkisini araştırmıştır. *Moringa oleifera*, tau hiperfosforilasyonu, davranış bozukluğu ve amiloid β birikimi dahil olmak üzere tüm bozuklukları iyileştirmiştir.⁴³ Yaptığımız çalışmada bir kara yosunu türü olan *Homalothecium philippeanum* ekstresinin benzer şekilde asetilkolinesteraz inhibisyonu yoluyla anti-Alzheimer etki gösterdiği saptanmıştır.

Bu çalışmada *Homalothecium philippeanum*'un süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstresinin ilk kez karakterizasyonu yapılarak anti-Alzheimer etkisi araştırılmıştır. Elde ettiğimiz veriler ışığında ortaya konulan *Homalothecium philippeanum*'un anti-Alzheimer etkisinin tam olarak anlaşılması ve ticari ürün haline dönüştürülebilmesi için daha ileri araştırmalarla etken madde tespiti ve izolasyonunun yapılması gerekmektedir.

Bilgi

Çıkar çatışması bildirilmemiştir. Herhangi bir fondan ya da finans kaynağından destek alınmamıştır.

Araştırmacı Katkı Oranı Beyanı

Ulaş Değirmenci: Fikir, tasarım, denetleme, veri toplama, analiz ve yorum, kaynak taraması, makale yazımı, eleştirel inceleme, kaynak sağlama.

Tülay Ezer: Fikir, veri toplama, kaynak taraması, makale yazımı, eleştirel inceleme.

Kaynaklar

1. Emwas AH, et al. Living with the enemy: From protein-misfolding pathologies we know, to those we want to know. *Ageing Res Rev* 2021;70:101391–101408.
2. Barthelemy NR, et al. A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer's disease. *Nat Med* 2020;26:398–407.
3. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature* 2004;430(7000):631–639.
4. Shah H, et al. The β -Secretase enzyme BACE1: a biochemical enigma for Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2020;19:184–194.
5. Wang R, Reddy PH. Role of Glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* 2017;57:1041–1048.
6. Terry AV, Buccafusco JJ. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:821–827.
7. Rajasekhar K, Govindaraju T. Current progress, challenges and future prospects of diagnostic and therapeutic interventions in AD. *RSC Adv* 2018;8:23780–23804.
8. Ding MR, et al. Signal pathways in the treatment of Alzheimer's disease with traditional Chinese medicine. *Biomed Pharmacother* 2022;152:113208.
9. Noetzli M, Eap CB. Pharmacodynamic, pharmacokinetic and pharmacogenetic aspects of drugs used in the treatment of Alzheimer's disease. *Clin Pharmacokinet* 2013;52: 225–241.
10. Wang S, et al. Role of natural compounds and target enzymes in the treatment of Alzheimer's disease. *Molecules* 2022;27:4175.
11. da Rosa MM, et al. The promising role of natural products in Alzheimer's disease. *Brain Disord* 2022;7:100049–100062.
12. Dhahri M, et al. Extraction, characterization, and anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide from *Bursatellaleachii viscera*. *ACS Omega* 2020;5:14786–14795.

13. Thakral S, et al. Alzheimer's disease: Molecular aspects and treatment opportunities using herbal drugs. *Ageing research reviews* 2023;88:101960.
14. Glime JM. Medical uses: medical conditions. Chapt. 2-1. In: Glime, J. M. *Bryophyte Ecology* 5. 2017. Uses. Ebook accessed (give date) at <<https://digitalcommons.mtu.edu>>.
15. Goffinet B, Shaw AJ. *Bryophyte Biology*, Second Edition, Cambridge, UK: Cambridge University Press, The Edinburgh Building. 2009.
16. Delwiche CF, Cooper ED. The Evolutionary Origin of a Terrestrial Flora. *Current Biology*. 2015;25:899–910.
17. Xie CF, Lou HX. Secondary Metabolites in Bryophytes: An Ecological Aspect. *Chemistry & Biodiversity*. 2009;6:303-312.
18. Chandra S, et al. Bryophytes: Hoard of remedies, an ethnomedicinal review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017;7(1):94-98.
19. Asakawa Y. Chemosystematics of the Hepaticae. *Phytochemistry*. 2004;65(6):623-669.
20. Motti R, Palma AD, de Falco B. Bryophytes Used in Folk Medicine: An Ethnobotanical Overview. *Horticulturae* 2023;9:137.
21. Asakawa Y. Pharmacologically active substances from oriental bryophytes and inedible mushrooms and fijiian kava. In: *World Conference on Medicinal and Aromatic Plants Book of Abstracts (Vol. 86)*. 2001.
22. Zhang J, et al. Marsupellins A–F, ent-longipinane-type sesquiterpenoids from the Chinese liverwort *Marsupella alpina* with acetylcholinesterase inhibitory activity. *J. Nat. Prod.* 2014;77(4):1031-1036.
23. Ya-Qi KANG, et al. Scapaundulin C, a novel labdane diterpenoid isolated from Chinese liverwort *Scapania undulata*, inhibits acetylcholinesterase activity. *Chin J. Nat. Med.* 2015;13(12):933-936.
24. Wang X, et al. Flavonoids, antioxidant potential, and acetylcholinesterase inhibition activity of the extracts from the gametophyte and archegoniophore of *Marchantia polymorpha* L. *Molecules* 2016;21(3):360.
25. Smith AJE. *The moss flora of Britain and Ireland*, Cambridge (GB): Cambridge University Press. 2004.
26. Cortini Pedrotti C. *Flora dei muschi d'Italia, Bryopsida (II parte)*. Roma: Antonia Delfino Editore. ISBN: 88-7287-370-3, Antonio Delfino Editore Medicina-Scienze. 2006. pp. 817-1235.
27. Ellman GL, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 1961;7:88-95.
28. Ceylan B, Dayan S, Duğan E. Investigation of anti-Alzheimer and anti-Diabetic activity of callus culture of *Bellevalia edirnensis* Özhatay & Mathew: An endemic plant from Turkey. *Kırklareli Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi* 2023;9(2):281-288.
29. Digala L, Murala S, Bollu PC. Acetylcholine. In P. C. Bollu (Ed.), *Neurochemistry in clinical practice*. 2022 (pp.211–237). Springer International Publishing.
30. Baux G, Fossier P. La libération d'acétylcholine et sa régulation. *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique* 1992;100(4):A3–A15.
31. Barnard EA. Neuromuscular transmission—Enzymatic destruction of acetylcholine. In J. I. Hubbard (Ed.), *The peripheral nervous system*. 1974 (pp. 201–224). Springer US.
32. Rajasekhar K, Govindaraju T. Current progress, challenges and future prospects of diagnostic and therapeutic interventions in AD. *RSC Adv* 2018;8:23780–23804.
33. Ding MR, et al. Signal pathways in the treatment of Alzheimer's disease with traditional Chinese medicine. *Biomed Pharmacother* 2022;152:113208.
34. Noetzli M, Eap CB. Pharmacodynamic, pharmacokinetic and pharmacogenetic aspects of drugs used in the treatment of Alzheimer's disease. *Clin Pharmacokinet* 2013;52:225–241.
35. Badshah SL, et al. Isolation, characterization, and medicinal potential of polysaccharides of *Morchella esculenta*. *Molecules* 2021;26:1459.
36. da Rosa MM, et al. The promising role of natural products in Alzheimer's disease. *Brain Disord* 2022;7:100049–100062.
37. Dhahri M, et al. Extraction, characterization, and anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide from *Bursatellaleachii viscera*. *Acs Omega* 2020;5:14786–14795.
38. Jeyasri R, et al. *Bacopa monnieri* and their bioactive compounds inferred multi-target treatment strategy for neurological diseases: a cheminformatics and system pharmacology approach. *Biomolecules* 2020;10:536.
39. Kuboyama T, Tohda C, Komatsu K. Neuritic regeneration and synaptic reconstruction induced by withanolide A. *Br J Pharm* 2005;144:961–971.
40. Ghadrdoost B, et al. Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. *Eur J Pharm* 2011;667:222–229.
41. Vidal B, et al. Curcuma treatment prevents cognitive deficit and alteration of neuronal morphology in the limbic system of aging rats. *Synapse* 2017;71:e21952.
42. Chaudhari KS, et al. Neurocognitive effect of nootropic drug Brahmi (*Bacopa monnieri*) in Alzheimer's disease. *Ann Neurosci* 2017;24:111–122.
43. Mahaman YAR, et al. *Moringa oleifera* alleviates homocysteine-induced Alzheimer's disease-like pathology and cognitive impairments. *J Alzheimer's Dis* 2018;63:1141–1159.