

# PowerPoint prezentacija diplomskog rada

---

**Pravdić, Mirna**

## **Supplement / Prilog**

*Publication year / Godina izdavanja:* **2017**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:431339>

*Rights / Prava:* [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-05-08**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



# **Kemijski sastav i biološka aktivnost meda manuke**

**Diplomski rad**

**Mirna Pravdić**

Mentor: prof. dr. sc. Igor Jerković

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet Split

Studij farmacije

# UVOD

- Pčele skupljaju i proizvode vrijedne ljekovite tvari u strogo organiziranom timskom radu
- Apiterapija – tradicionalna i komplementarna medicina
- Pčelinji proizvodi





# Med

- droga zoološkog podrijetla
- od nektara cvjetova medonosnih biljaka ili medne rose
- pčele skupljaju, dodaju vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja
- *mel depuratum*



# Manuka med

- tamni, monoflorni med
- dobiven iz manuka biljke, *Leptospermum scoparium*
- konzistencija – tekuća do vrlo viskozna



# CILJ ISTRAŽIVANJA

- sustavni pregled dostupne literature i znanstvenih radova o kemijskom sastavu i biološkoj aktivnosti meda manuke
- klasične i suvremene metode određivanja kemijskog sastava
- metode određivanja antioksidacijske i antimikrobne aktivnosti
- terapijska primjena
- mehanizmi

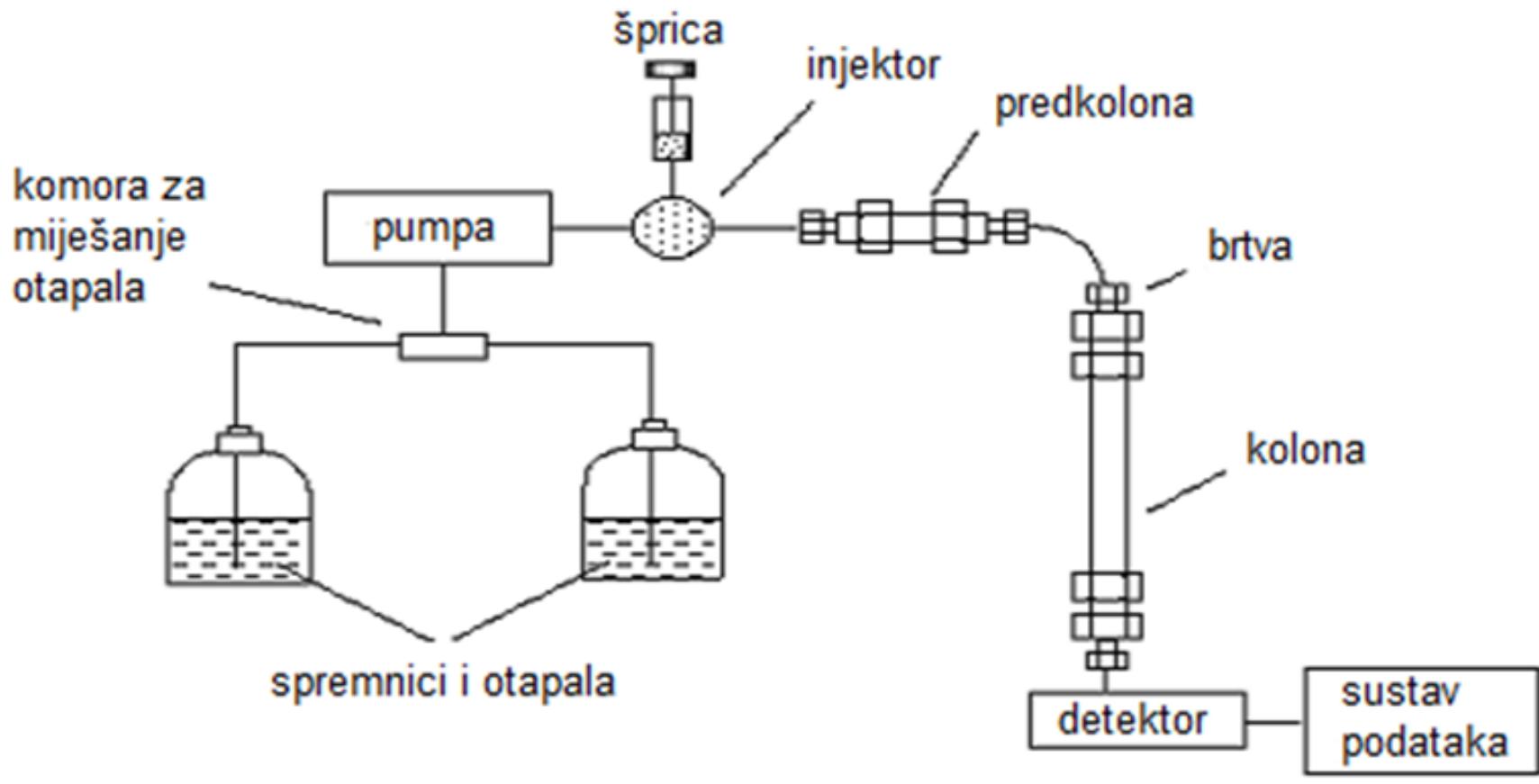
# MATERIJALI I METODE

## Metode određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda

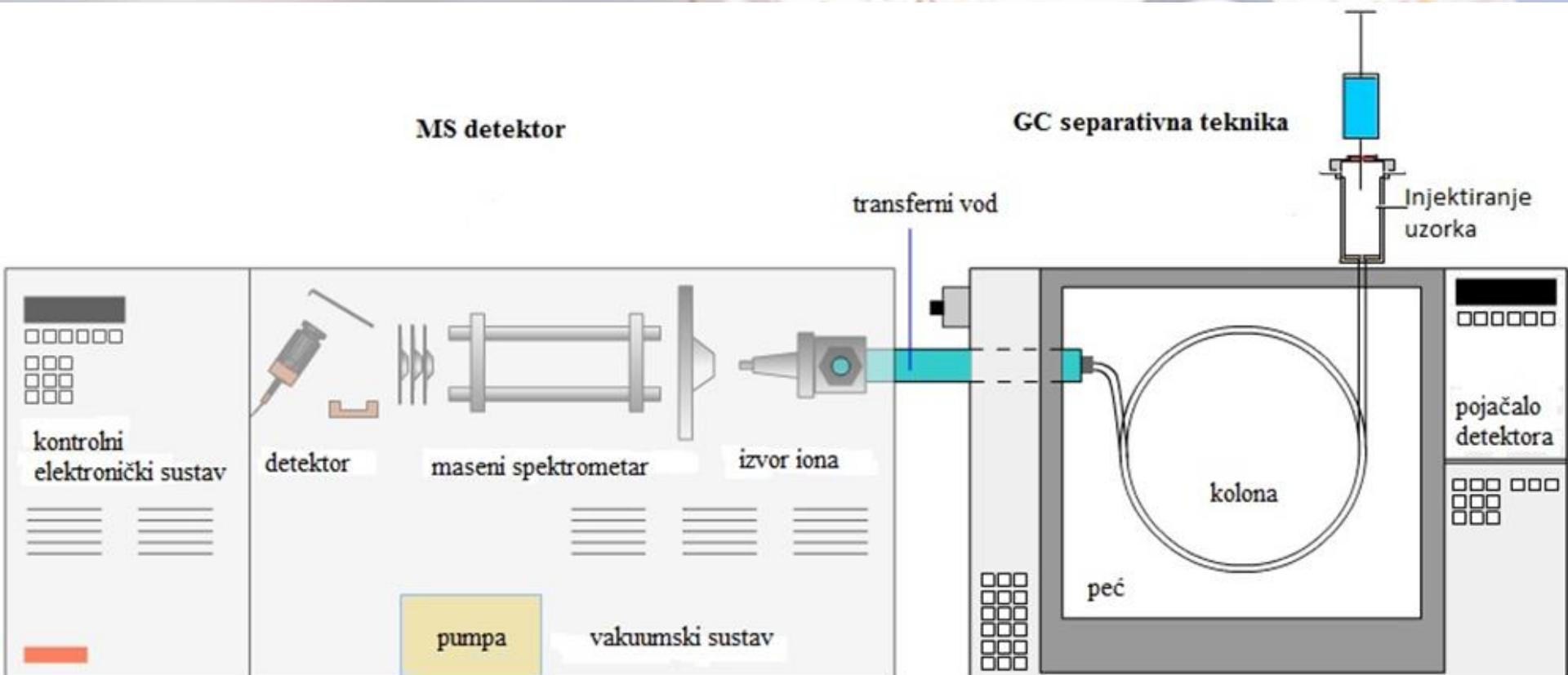
### Klasične metode

1. Melisopalinologija
2. Fizikalno-kemijska analiza – električna vodljivost, optička aktivnost, kristalizacija, viskoznost, higroskopnost, specifična masa, sastav šećera
3. Organoleptička svojstva
  - boja: svijetlo jantarna
  - okus: mineralan, blago ljut, osebujan, manje sladak
  - miris: po vlažnoj zemlji, aromatičnom vriesku

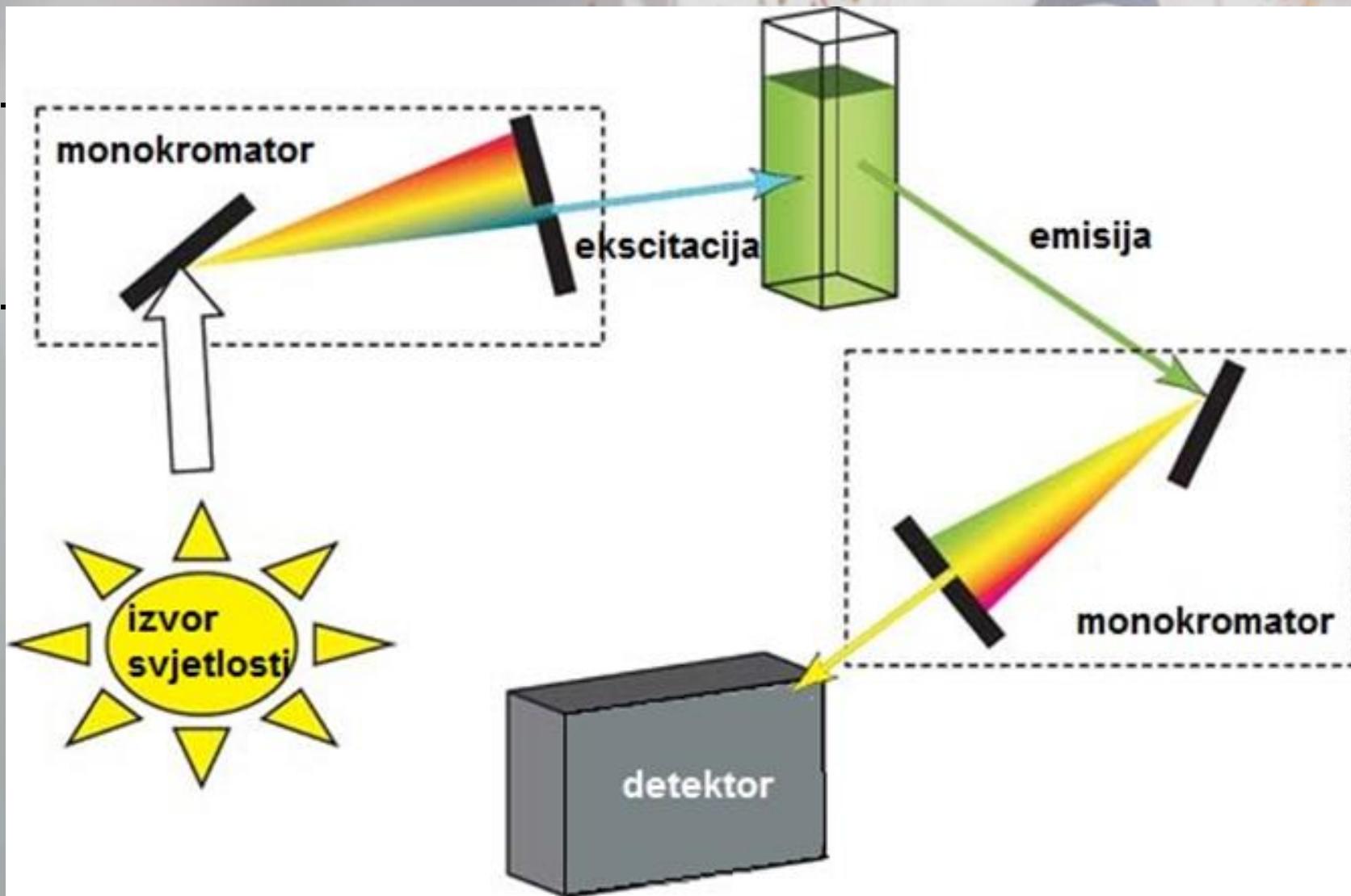
# Suvremene metode



# • GC-MS

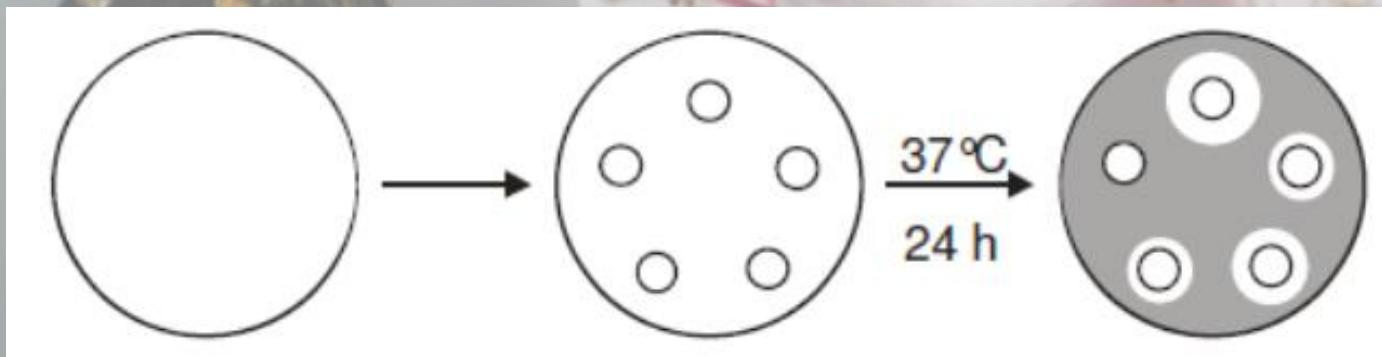


## • Fluorescencijska spektrometrija

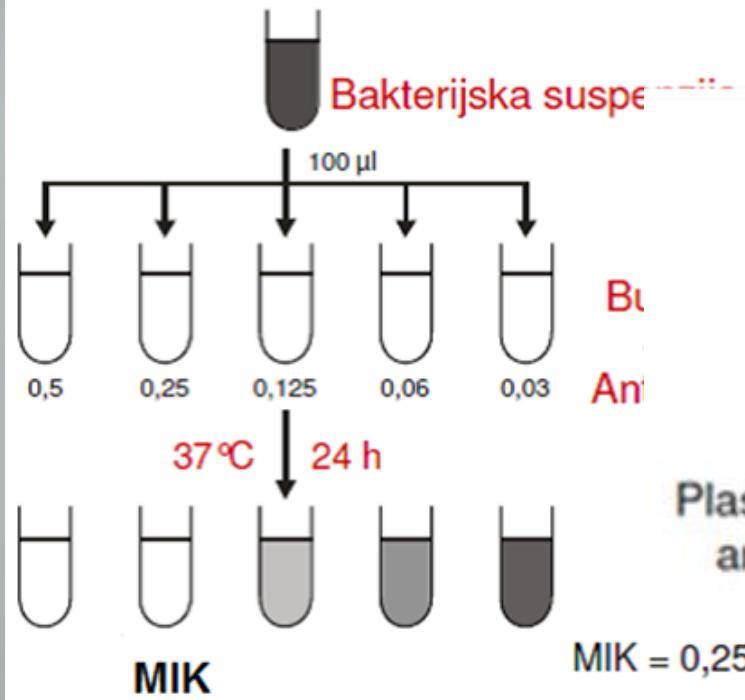


# Metode određivanja antimikrobnog djelovanja meda

- MIK – najmanja koncentracija tvari koja inhibira rast mikroorganizama *in vitro*
- Antibiogram
- Difuzijska metoda



## • Metoda dilucije

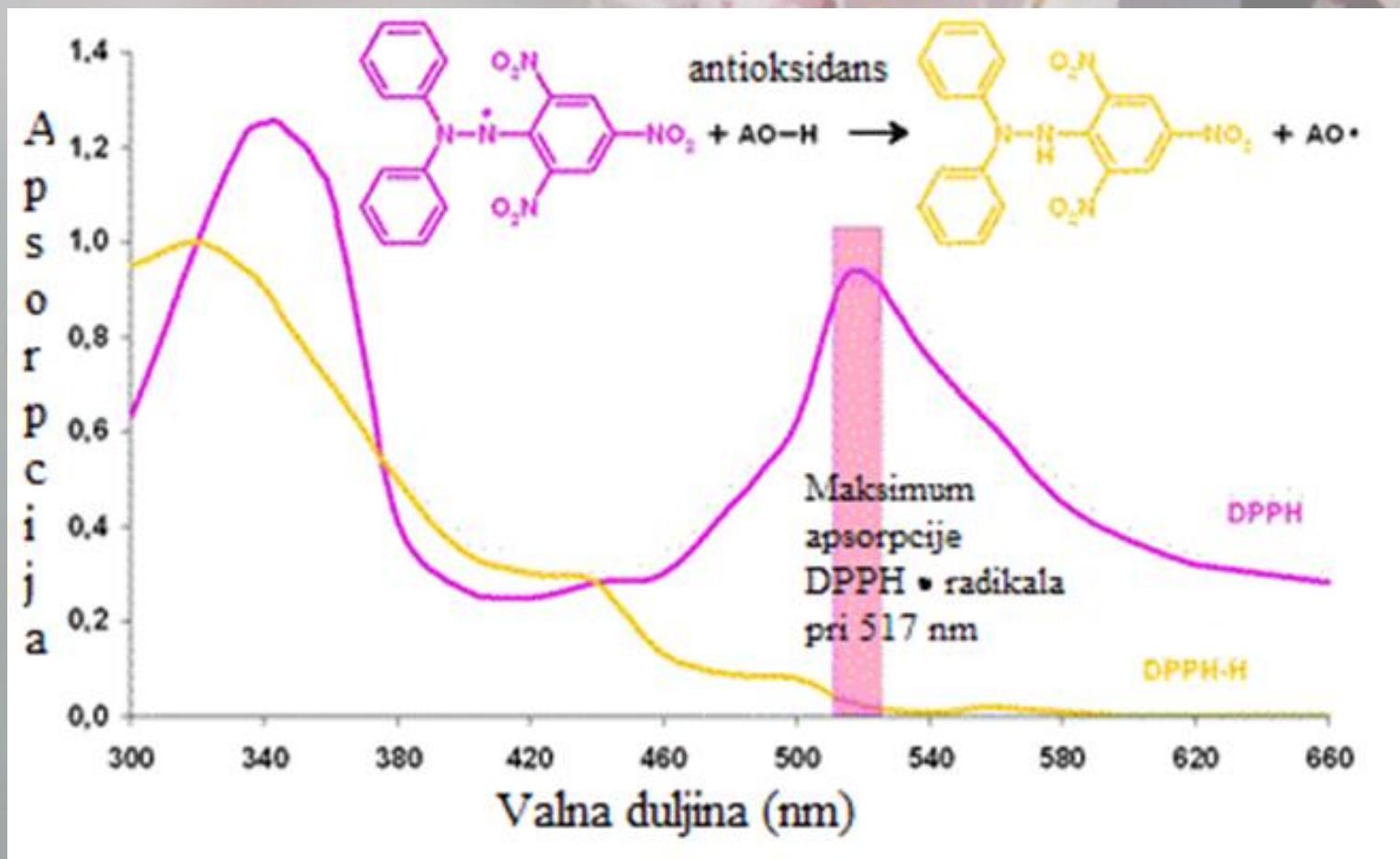


## • E-test

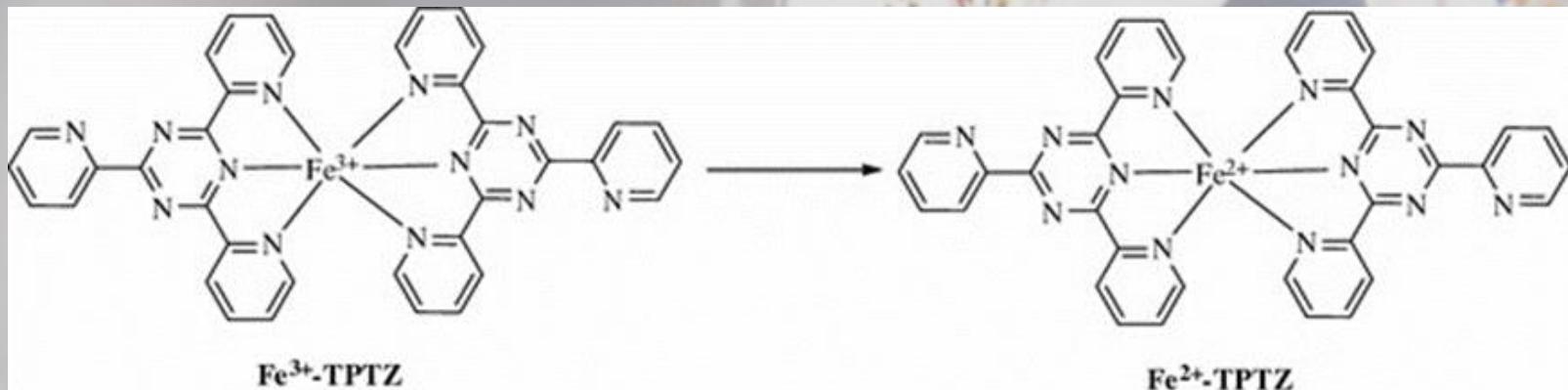


# Metode određivanja antioksidacijskih svojstava meda

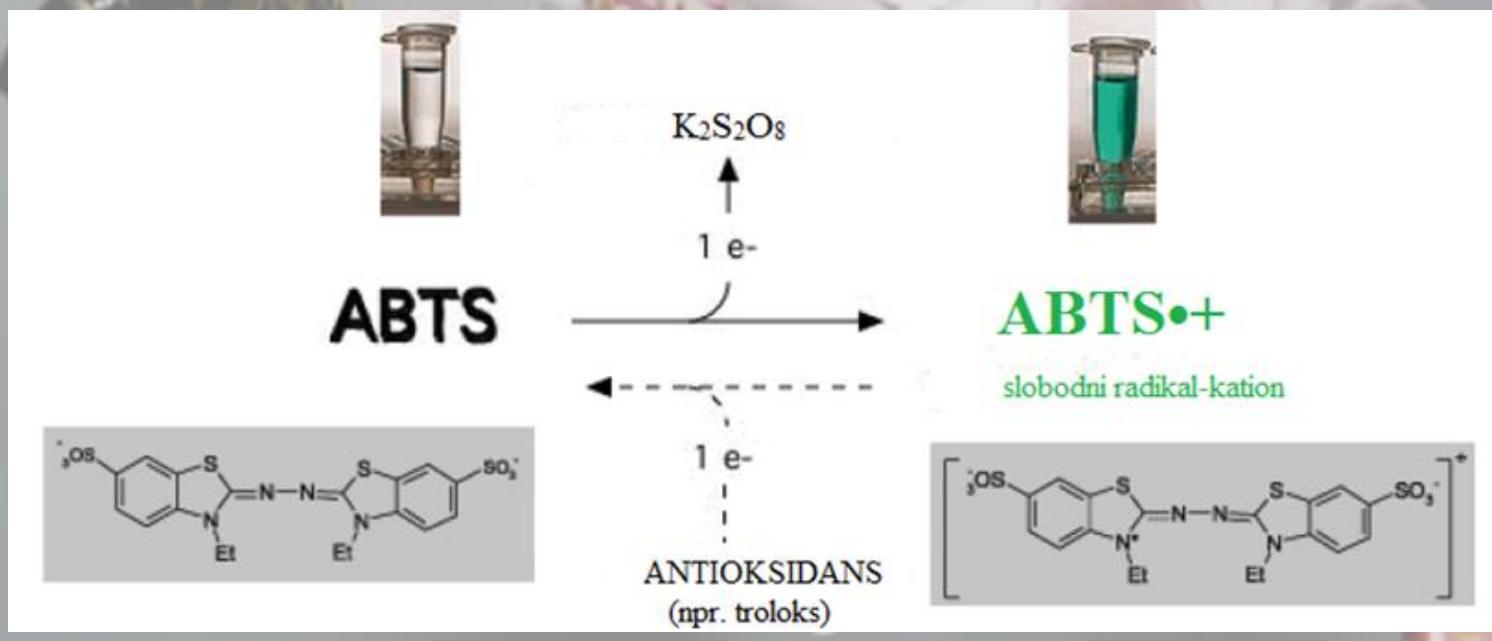
- DPPH - metoda



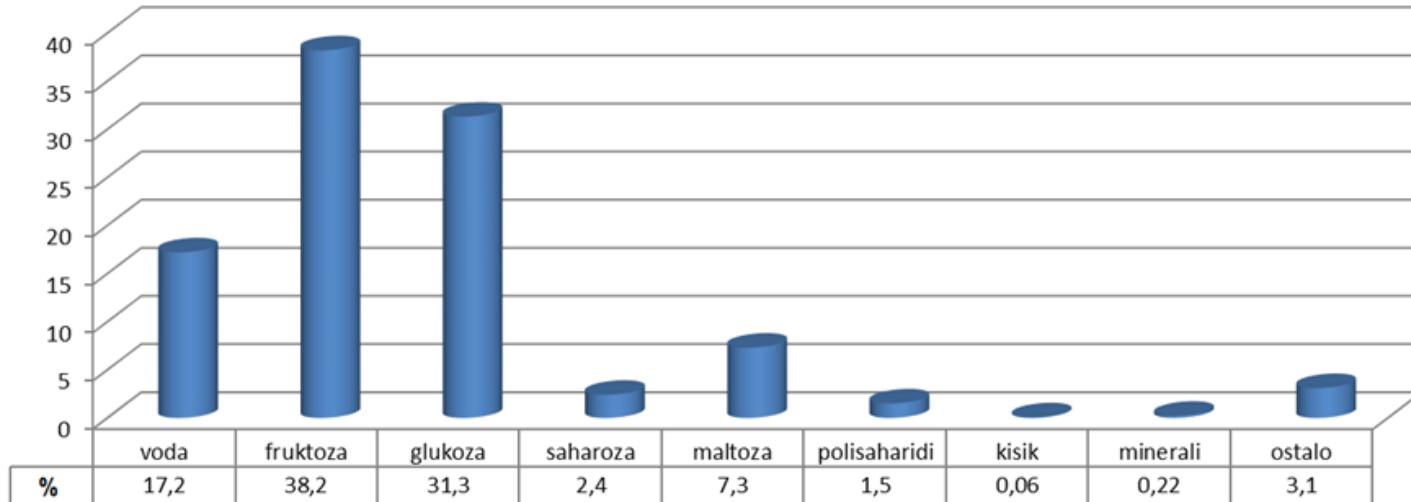
## • FRAP metoda



## • ABTS metoda



# REZULTATI



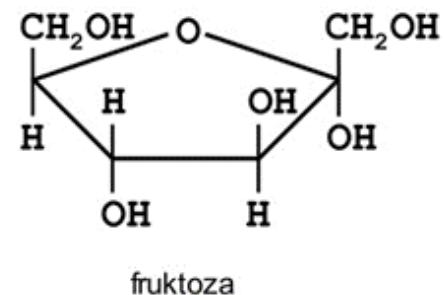
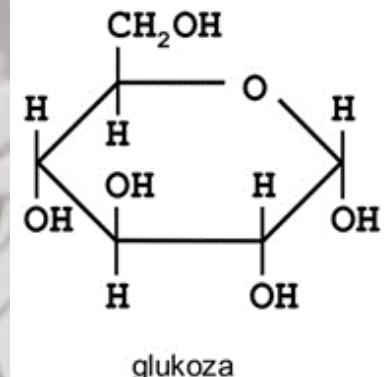
- Voda – 17,8 % u manuka medu

- Ugljikohidrati

40 % fruktoze

36 % glukoze

u manuka medu

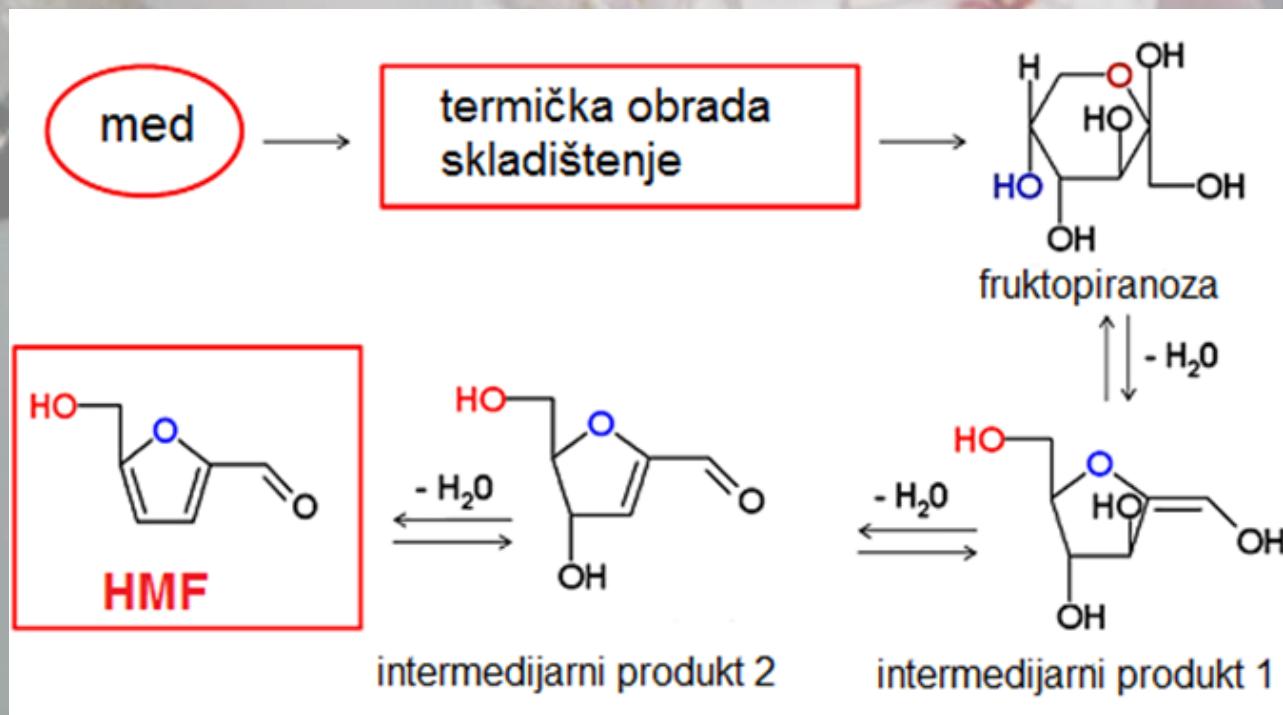


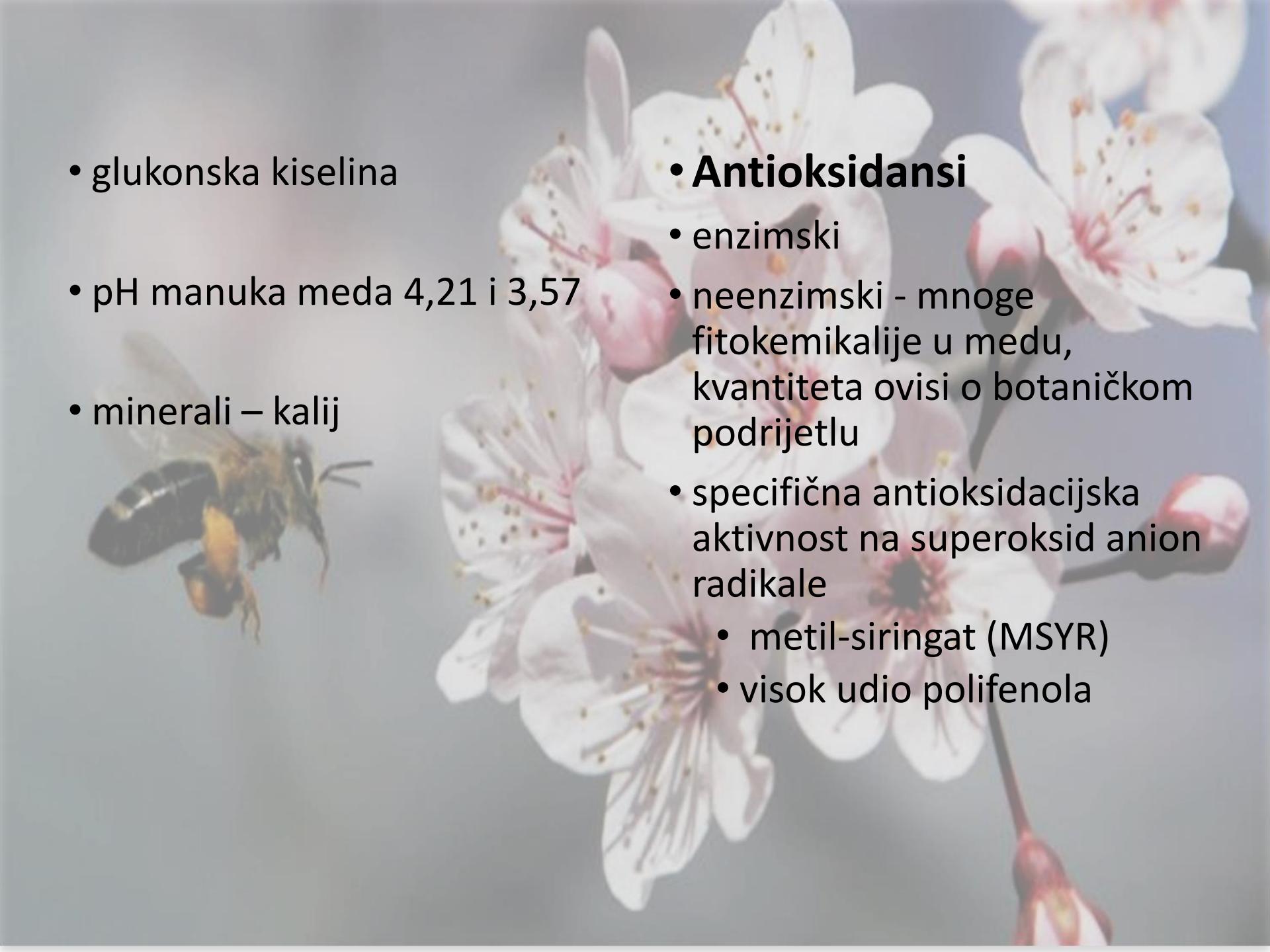
- glukoza – voda, melecitoza, > glukoze, < fruktoze  
→ vjerojatnost kristalizacije meda
- **Aminokiseline** – prolin – 71 % u manuka medu
- **Proteini** - 58 do 786 mg/100g meda

Enzim	Podrijetlo	Temperaturni optimum (°C)	Učinak u medu
dijastaza	pčela	40 - 55	-razgradnja škroba na maltozu -za određivanje pregrijanog meda
invertaza	pčela	35 - 40	-pretvorba saharoze u glukozu i fruktozu -za dokazivanje pregrijanog meda
β-glukozidaza	pčela		-razgradnja složenih ugljikohidrata
glukoza oksidaza	pčela	40	-nastajanje glukonske kiseline i vodikovog peroksida
katalaza	biljka		-razgradnja vodikovog peroksida na vodu i kisik
kisela fosfataza	biljka i pčela	37	-metabolizam šećera

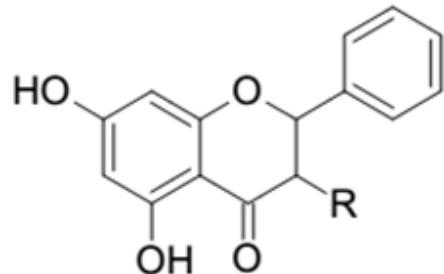
## • 5-Hidroksimetilfurfural (HMF)

- od 1 do 75 mg/kg
- > 40 mg/kg → lošija kvaliteta meda
- svježi med uglavnom ne sadrži HMF
- od 3 do 43 mg/kg HMF-a u manuka medu → viša frakcija HMF

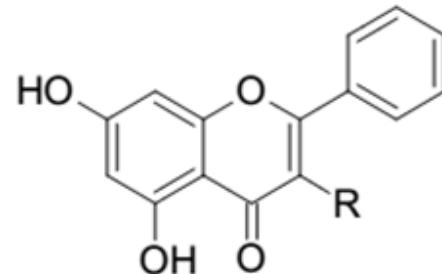


- 
- glukonska kiselina
  - pH manuka meda 4,21 i 3,57
  - minerali – kalij
  - **Antioksidansi**
    - enzimski
    - neenzimski - mnoge fitokemikalije u medu, kvantiteta ovisi o botaničkom podrijetlu
    - specifična antioksidacijska aktivnost na superoksid anion radikale
      - metil-siringat (MSYR)
      - visok udio polifenola

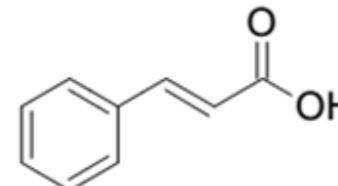
# Polifenoli



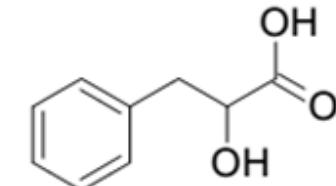
R = H pinocembrin  
R = OH pinobanksin



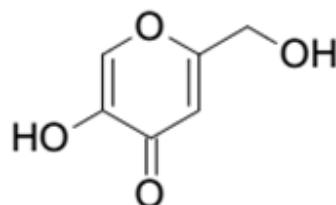
R = H krizin  
R = OH galangin



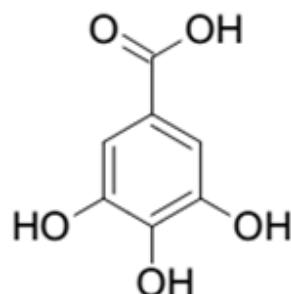
cimetna kiselina



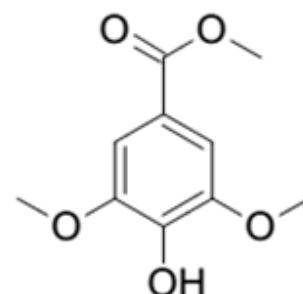
fenilmlijeca kiselina



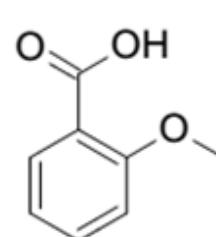
kojična kiselina



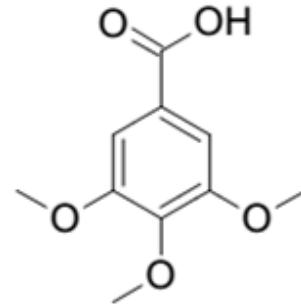
galna kiselina



metil-siringat



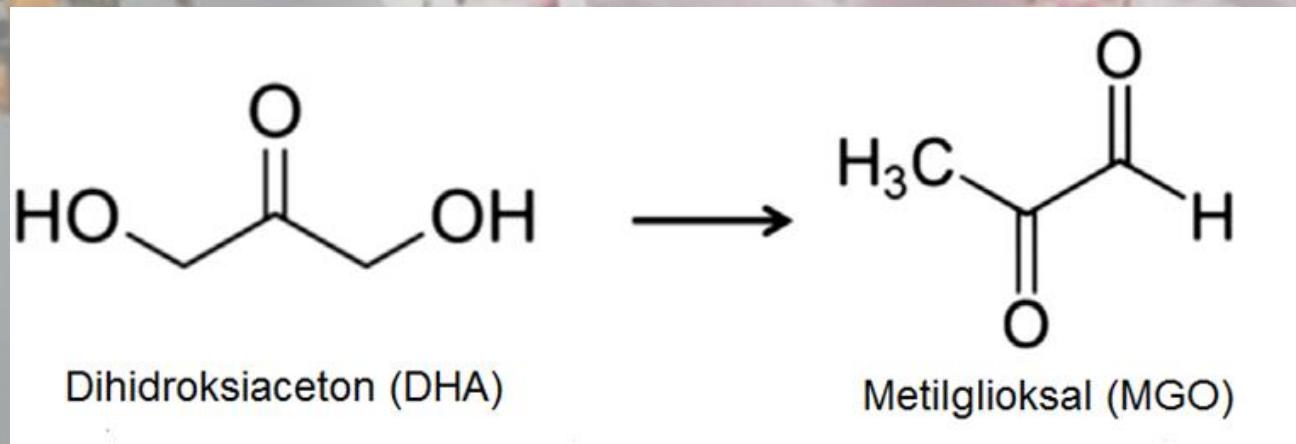
2-metoksibenzojeva  
kiselina



3,4,5-trimetoksibenzojeva  
kiselina

# 1,2-Dikarbonilni spojevi

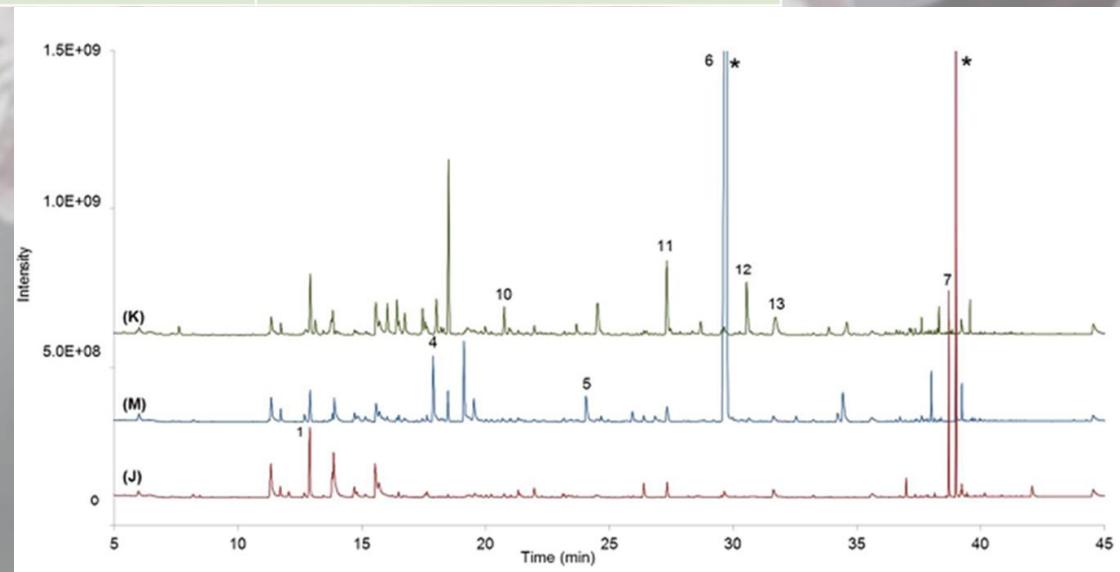
- glioksal (GO), 3-deoksiglukozon (3-DG), metilglioksal (MGO)
- neperoksidna antibakterijska aktivnost
- MGO od 38 do 828 mg/kg u manuka medu



# Cvjetni markeri meda manuke

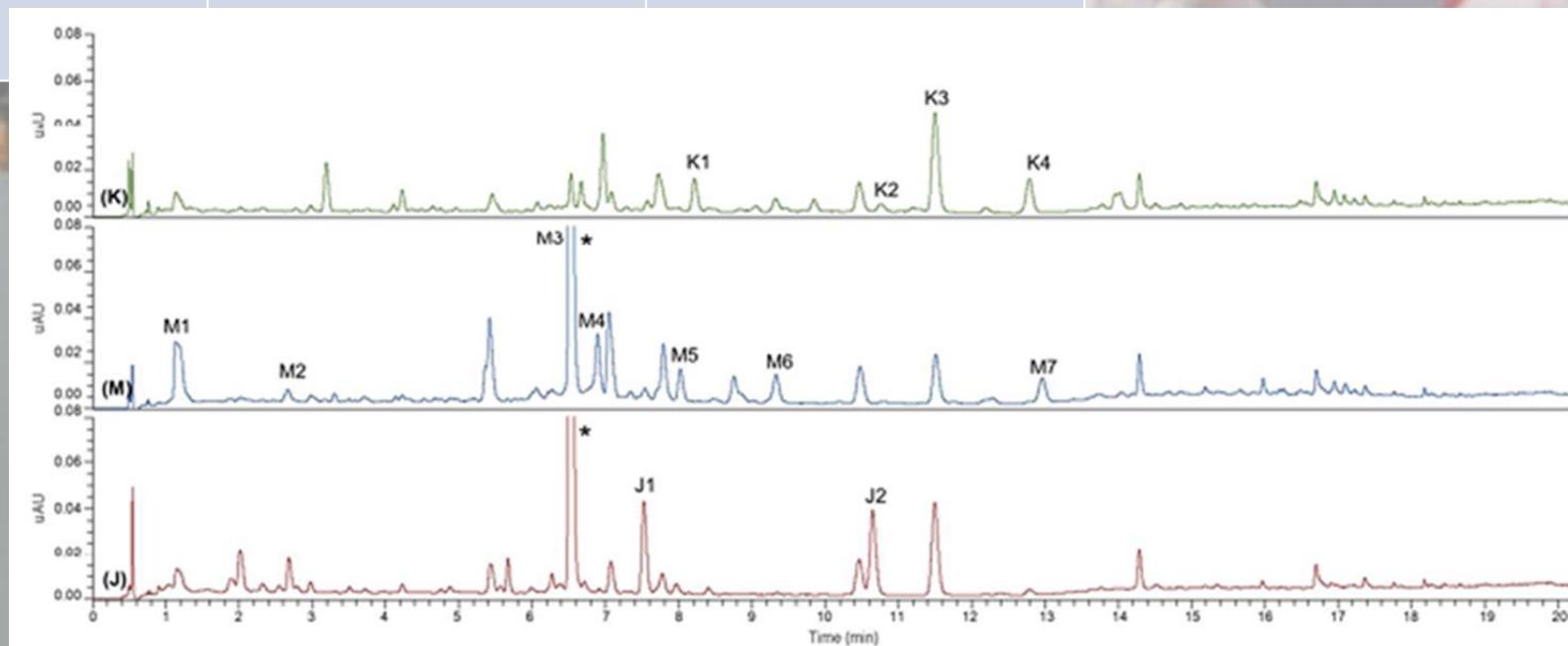
- Hlapljivi spojevi

Manuka med ( <i>Leptospermum scoparium</i> )	Kanuka med ( <i>Kunzea ericoides</i> )	„Jellybush“ med ( <i>Leptospermum polygalifolium</i> )
2-metilbenzofuran (4) 2'-hidroksiacetofenon (5) 2'-metoksiacetofenon (6)	2,6,6-trimetilcikloheks-2-en-1,4-dion (10) fenetilni alkohol (11) p-anisaldehid (12) neidentificirani spoj (13)	cis-linalool oksid (1) 3,4,5-trimetilfenol (7)

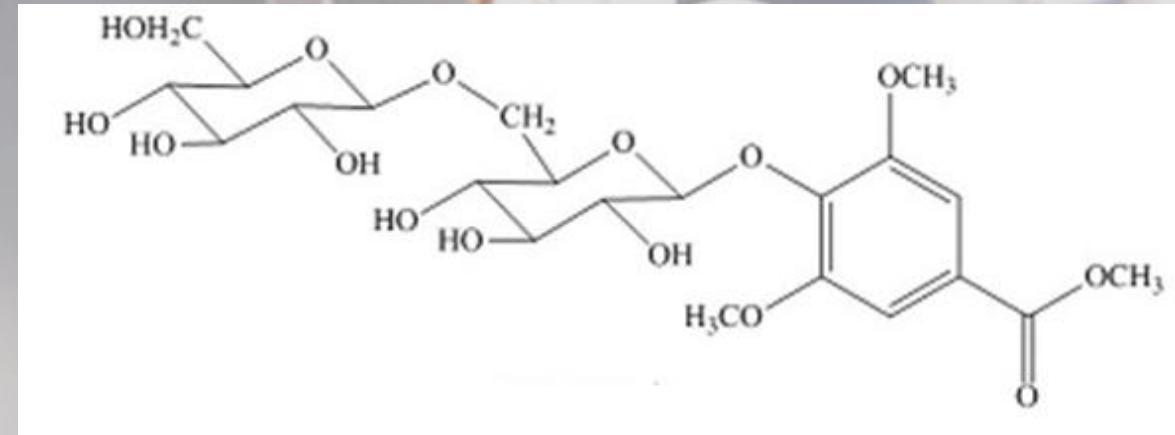


# • Nehlapljivi spojevi

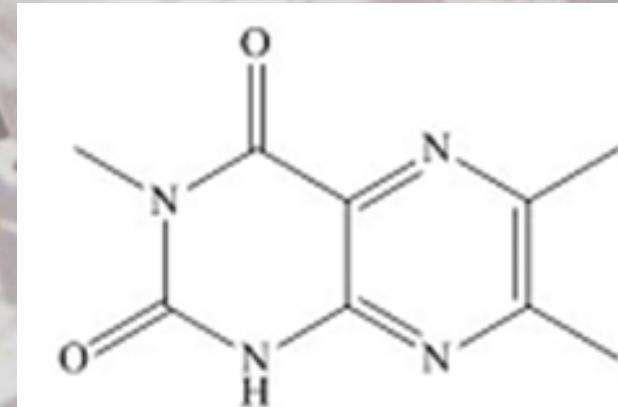
Manuka med	Kanuka med	„Jellybush“ med
leptosperin (M3)	4-metoksifenilmiječna kiselina (K1)	2-metoksibenzojeva kiselina (J1)
lepteridin*	metil-siringat (K3)	J2**
acetil-2-hidroksi-4-(2-metoksifenil)-4-oksobutanoat (M5)	p-anizinska kiselina (K2)	
3-hidroksi-1-(2-metoksifenil)-penta-1,4-dion (M6)	lumikrom (K4)	
kojična kiselina (M1)		
5-metil-3-furankarboksilna kiselina (M2)		
M4 i M7**		



Leptosperin



Lepteridin



# Biološka aktivnost meda manuke

- **Antioksidacijska aktivnost**
- kapacitet meda za vezanje i uklanjanje slobodnih radikala
- inhibiranje nastanka slobodnih radikala
- flavonoidi i fenolne kiseline – manuka med sadrži u višim konc.
- manuka med – „zlatni standard” kod određivanja antioksidacijskog potencijala drugih vrsta meda
- u pozitivnoj korelациji sa sadržajem vode i bojom meda
- botaničko podrijetlo i eksterni faktori

# Antimikrobnna aktivnost

- različiti putevi „napada” na bakterije

Gram pozitivne bakterije	Gram negativne bakterije
<i>Streptococcus pyogenes</i> koagulaza negativni stafilocoki meticilin-rezistentni <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhi</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> koagulaza-negativni <i>Staphylococcus aureus</i> (CONS)	<i>Shigella flexneri</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i>
hemolitički steptokoki	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
<i>Streptococcus sobrinus</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Actinomyces viscosus</i>	<i>Helicobacter pylori</i> <i>Campylobacter</i> spp. <i>Porphyromonas gingivalis</i>

Proizvod	Metilglioksal (MGO), mg/kg	UMF (NPA ekvivalent koncentracije otopine fenola)
MGO 100+ Manuka	100	10+
MGO 250+ Manuka	250	15+
MGO 400+ Manuka	400	20+
MGO 550+ Manuka	550	25+

- **MGO – dominantni bioaktivni spoj**
- konc. od 100 mg/kg
- **neidentificirani antimikrobni spojevi**
- „**Manuka Honey with Cyclopower**”
- veća stabilnost i učinkovitost oralne primjene

# Tretiranje rana manuka medom

- medicinski ispravan med
- eradikacija rezistentnih bakterija
- Anti-biofilm aktivnost (MGO i dr. čimbenici)
- sinergistička kombinacija s antibioticima

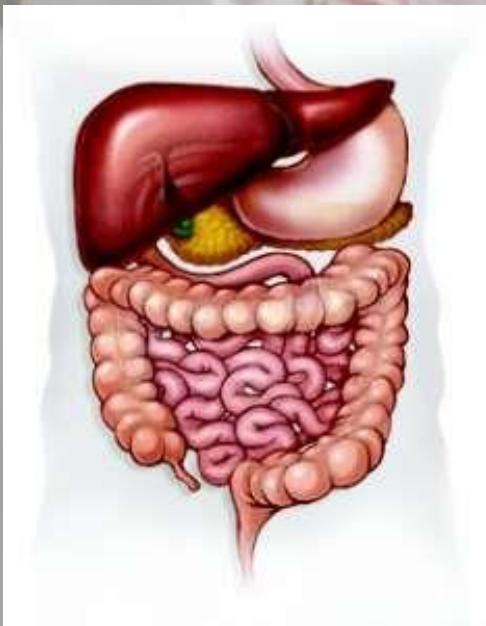


- 
- **Citotoksična aktivnost**
  - antiproliferativni učinak na melanomu, kolorektalnom karcinomu i karcinomu dojke
  - ublažavanje nuspojava onkoloških tretmana
  - Imunostimulacijska aktivnost
    - stimulacija limfocita T i B
    - aktivacija neutrofila
    - oslobođanje citokina
    - aktivacija imunološkog odgovora
    - osiguranje zaliha glukoze makrofazima → proizvodnja energije unutar oštećenih tkiva

- Antiinflamatorna aktivnost
- upala – dio normalnog odgovora na infekciju ili ozljedu, ali prejaka ili kroz duži vremenski period – prevencija zacjeljivanja i uzrok dalnjeg oštećenja
- rane i opeklne, GIT, KV sustav

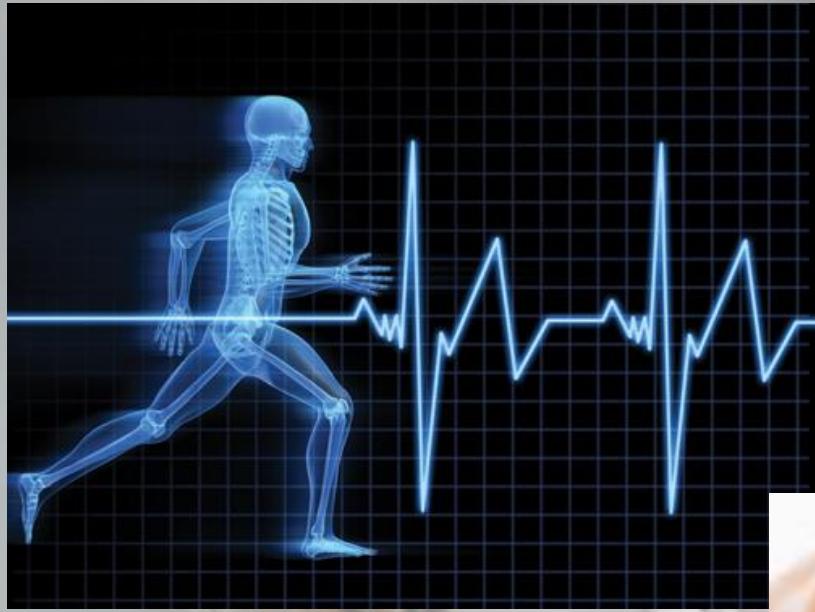


- **Gastroenterologija**
- dijareja
- antibakterijski
- ORS
- peptički ulkus
- gastritis
- poboljšanje probave
- enzimi
- probiotici
- prebiotici



- **Antivirusna aktivnost**
  - *Rubella i Herpes virus*
  - anti-HIV-1
  - influenza
  - prehlada
  - VZV
- **Antifungalna**
  - dermatofiti
  - *Candida albicans*
- **Antiparazitska**
  - gliste, trakavice, oblići
  - kiseli pH



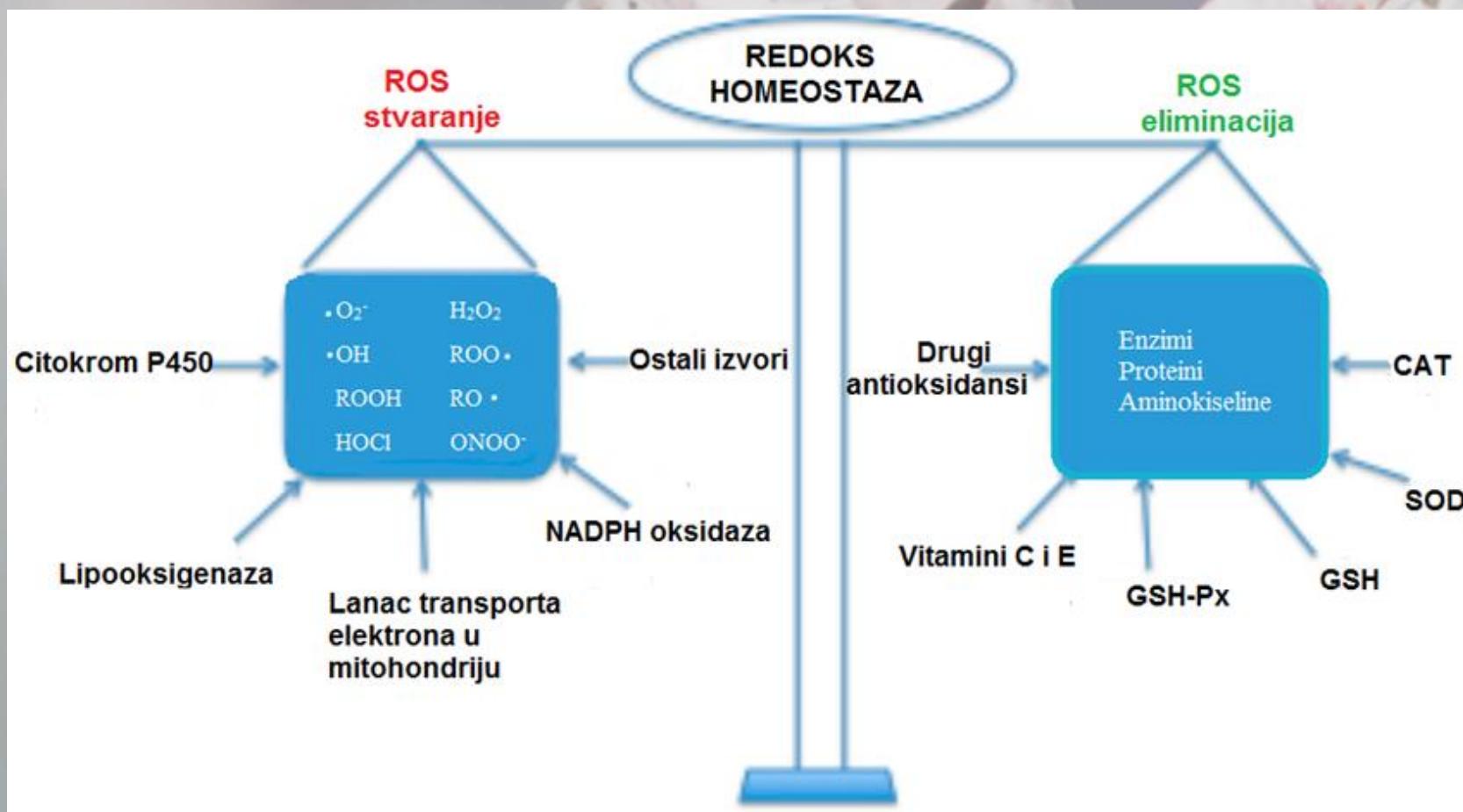


# RASPRAVA

- **Botaničko i zemljopisno podrijetlo meda manuke**

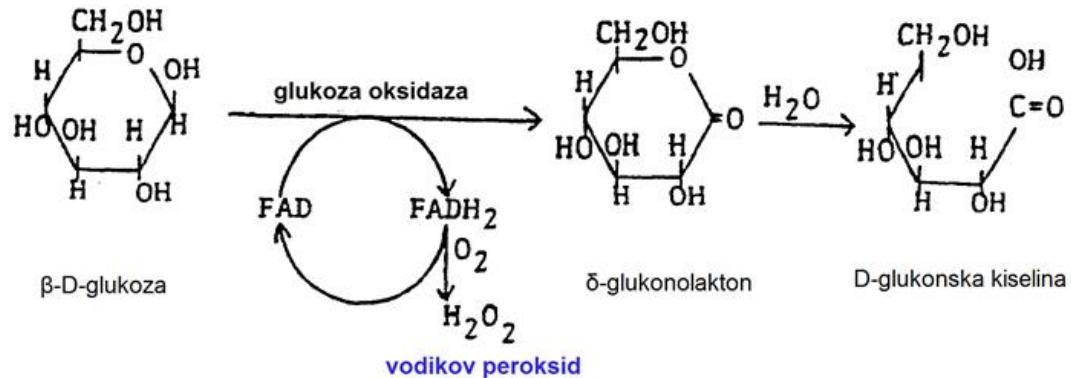
1. Melisopalinologija
2. Reologija - newtonski fluid – kanuka med
  - ne-newtonski fluid – manuka med
3. Cvjetni markeri - hlapljivi spojevi
  - nehlapljivi spojevi

# Mehanizam antioksidacijske aktivnosti



# Mehanizam antimikrobne aktivnosti

- 



- Na temelju kemijskog sastava meda manuke
  - defenzin-1
  - vodikov peroksid
  - MGO
  - druge fitokemikalije, fenoli

<b>Glukoza oksidaza (peroksidna aktivnost)</b>	<b>Neperoksidna aktivnost (NPA)</b>
Osjetljiva na toplinu i svjetlost	Stabilna – ne gubi se tijekom skladištenja
Aktivna jedino pri razrjeđenju meda	Snažno djeluje u nerazrjeđenom medu – veća potentnost antibakterijskog učinka prodirući dublje u inficirano tkivo
Potreban kisik za reaktivaciju – možda neće djelovati ispod zavoja, dubljim ranama ili u crijevu	Uvijek aktivna
Postaje aktivna jedino kad je kiselost meda neutralizirana tjelesnom tekućinom, ali tada je med razrijeđen	
Inaktivna u želucu (nizak pH)	Difundira dublje u tkiva
Razgrađuju je proteinski probavni enzimi koji su u tekućini rane	Snažnije djeluje na neke patogene ( <i>E. coli, Enterococci, H. pylori</i> )

# Mehanizam djelovanja u zacjeljivanju rana

UČINAK I SVOJSTVO	PREDVIĐENI KLINIČKI ISHOD	PREPOSTAVLJENI MEHANIZAM DJELOVANJA
Antimikrobnii	<ul style="list-style-type: none"><li>- sterilizacija</li><li>- inhibicija potencijalnih patogena</li><li>- inhibicija proteolitičkih enzima, toksina i bakterijskih antigena</li><li>- deodorira (uklanja neugodan miris)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- nastanak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li><li>- neperoksidna aktivnost MGO i drugih spojeva</li><li>- bakterije prisutne u rani kao izvor energije koriste glukozu</li></ul>
Antiinflamatorni	<p><u>Smanjenje:</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- edema</li><li>- eksudata</li><li>- erozija</li><li>- keloida</li><li>- ožiljaka</li><li>- zadebljanje opekotina (keratolitički učinak)</li><li>- boli (analgetski učinak)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- reducira broj leukocita na mjestu rane; smanjuje slobodne radikale</li><li>- smanjuje stvaranje prostaglandina odgovornih za bol, vazodilataciju, oticanje okolnog tkiva, smanjenje protoka u kapilarama, otvaranje stijenki kapilara</li><li>- smanjuje pretjerano stvaranje fibroblasta</li></ul>

<b>Imunostimulacijski</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-inhibicija potencijalnih patogena</li> <li>-stimulacija fagocitoze</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-potiče nastanak velikog broja makrofaga koji stvaraju H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li> <li>-stvara supstrate glikolize, što je značajan mehanizam za stvaranje energije u makrofazima</li> <li>-stimulira B i T-limfocite</li> </ul>
<b>Antioksidacijski</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- antiinflamatorno</li> <li>- smanjenje dalnjeg oštećenja</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- inhibira regrutaciju leukocita; smanjuje upalu</li> <li>- hvatanje slobodnih radikala</li> <li>- inhibicija nastanka slobodnih radikala</li> </ul>
<b>Stimulacija staničnog rasta</b>	<p><u>Stimulira</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- granulaciju tkiva</li> <li>- reepitelizaciju</li> <li>- sintezu kolagena</li> <li>- povećanje elasticiteta kolagena</li> <li>- angiogenezu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- glikolizirani proteini meda i neki dr. spojevi stimuliraju makrofage</li> <li>- fibroblasti stvaraju novo vezivno tkivo i zatvaraju ranu</li> <li>- epitelne stanice stvaraju na površini rane i u kapilarama novi epitel</li> </ul>

<b>Održavanje rane vlažnom</b>	<p><u>Stimulira:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- reepitelizaciju tkiva</li> <li>- proteolitičko uklanjanje mrtve kože</li> <li>- granulaciju tkiva</li> <li>- staničnu proliferaciju</li> <li>- čišćenje rane</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- epitelnim stanicama i fibroblastima potrebni vlažni uvjeti za rast</li> <li>- omogućuje djelovanje proteaza</li> <li>- zavoj s medom bezbolno se ukloni</li> </ul>
<b>Nutritivne tvari</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- reepitelizacija</li> <li>- stimulacija fagocitoze</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-med direktno opskrbljava ranu neophodnim nutrijentima</li> <li>-opskrba glukozom od izuzetne važnosti za zalihu ugljikohidrata epitelnih stanica</li> </ul>
<b>Osmolarnost</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- čišćenje rane</li> <li>- povećanje dotoka hranjivih tvari</li> <li>- povećanje opskrbe tkiva kisikom</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- visoki osmotski tlak povlači tekućinu iz rane ispod zavoja meda; nastaje sloj tekućine koji je razrijeđena otopina meda u plazmi ili limfi</li> <li>- otjecanjem limfe rana se čisti, povećan je konstantni dotok hranjivih tvari funkcionalnim krvnim žilama dublje u ranu</li> </ul>
<b>Viskoznost</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- sprječavanje prodiranja patogena</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- med stvara zaštitnu barijeru</li> </ul>

## Nizak pH (kiselost)

- povećanje opskrbe tkiva kisikom
- ubrzano zacjeljivanje rane
- blago zakiseljavanje rane
- inhibicija potencijalnih patogena

- kiselo okruženje ubrzava zacjeljivanje
- konverzija toksičnog amonijaka, NH<sub>3</sub> u netoksični ionizirani oblik NH<sub>4</sub><sup>+</sup> koji dominira u kiselim uvjetima
- blaže djelovanje meda kao sredstva za zakiseljavanje rana zbog glukonske kiseline (kisieli spoj meda); prisutna u obliku neutralnog laktona koji sporo konvertira u oblik slobodne kiseline
- pomaže makrofazima u uništavanju bakterija



Hvala na pozornosti!

