

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: **2024-12-29**

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 farmacija

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*



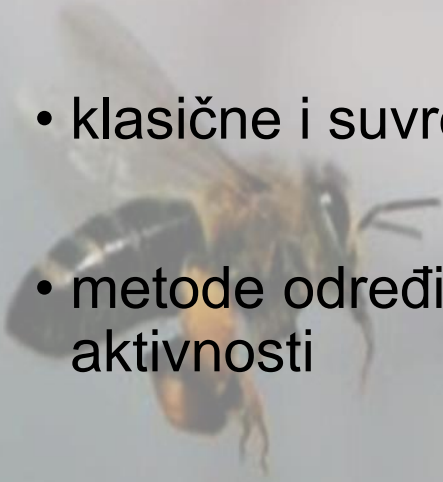
Manuka med

- 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



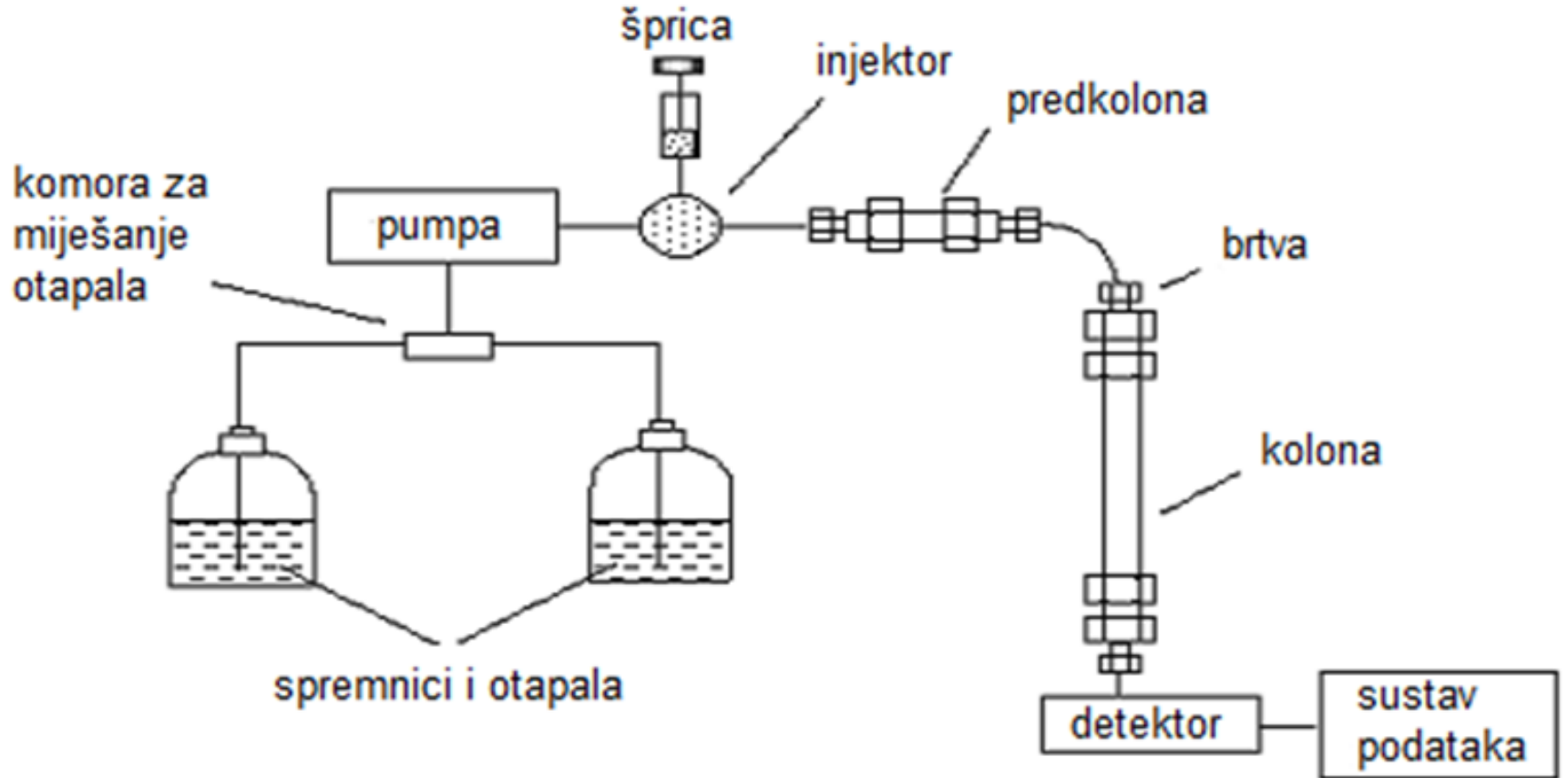
MATERIJALI I METODE

Metode određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda

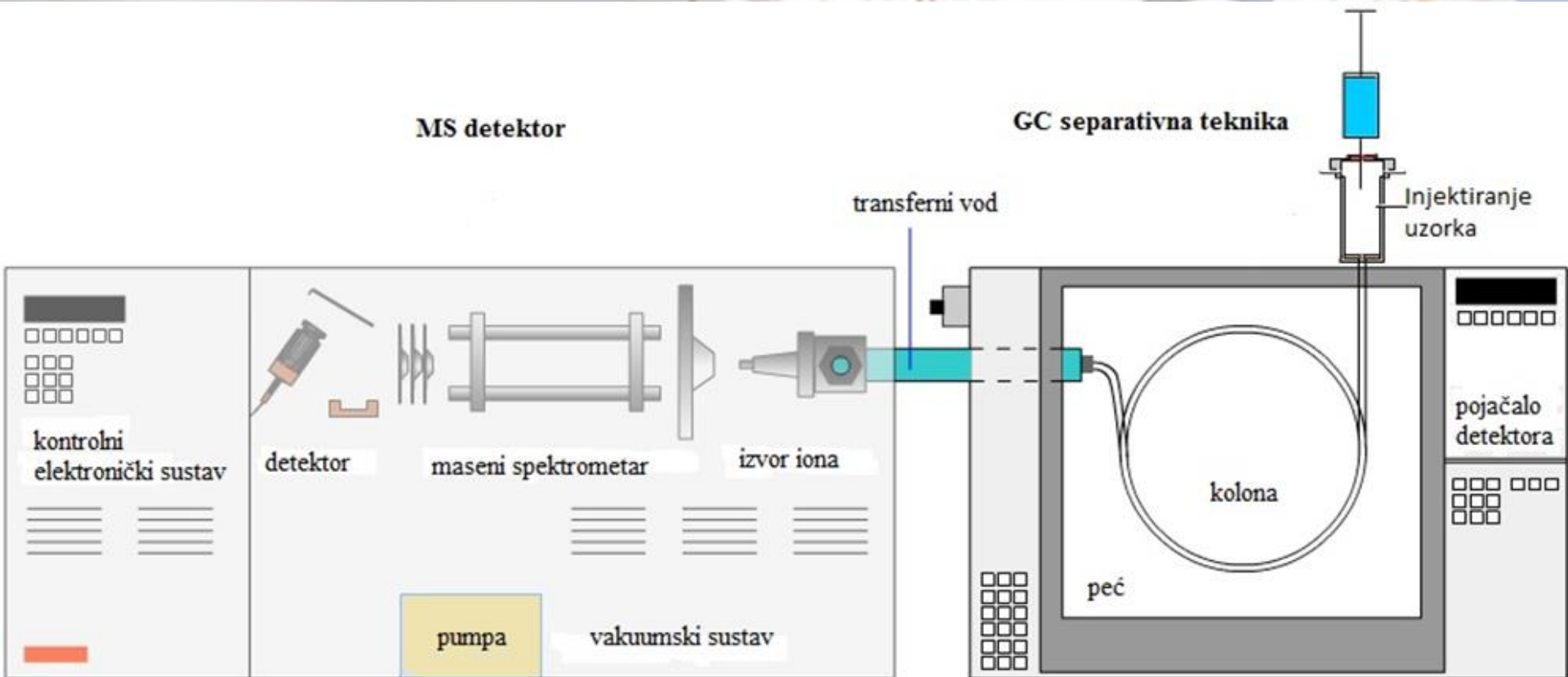
Klasične metode

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 vrijesku

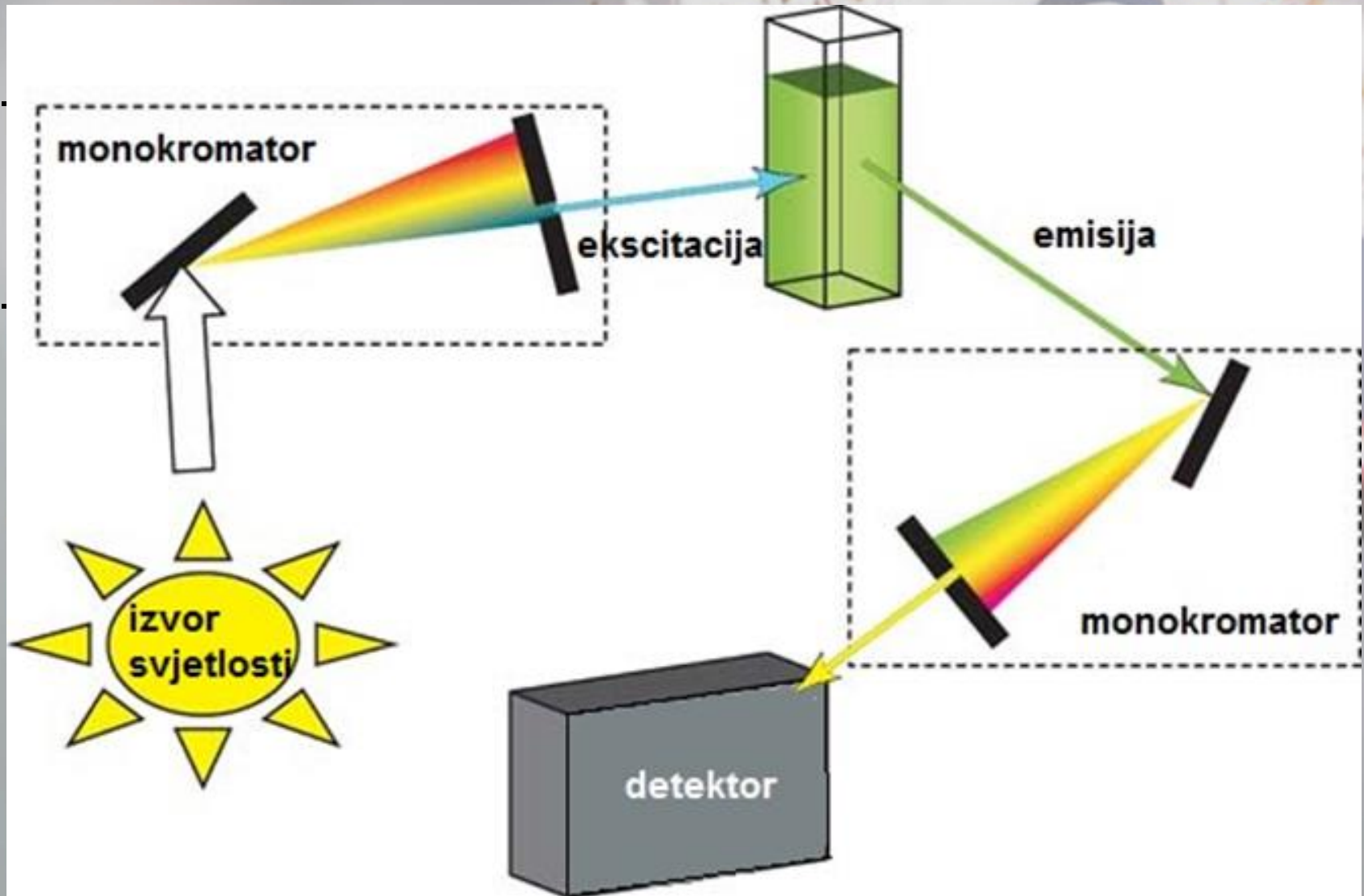
Suvremene metode



• GC-MS

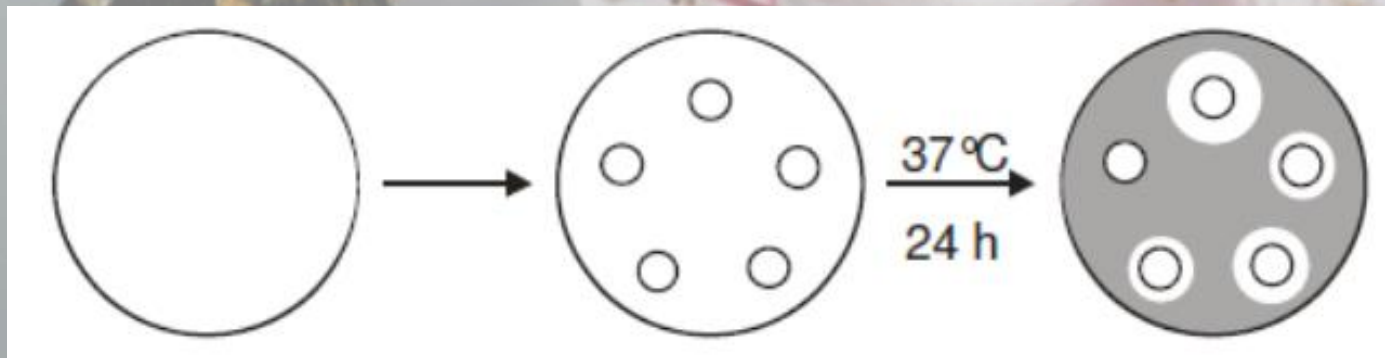


• Fluorescencijska spektrometrija



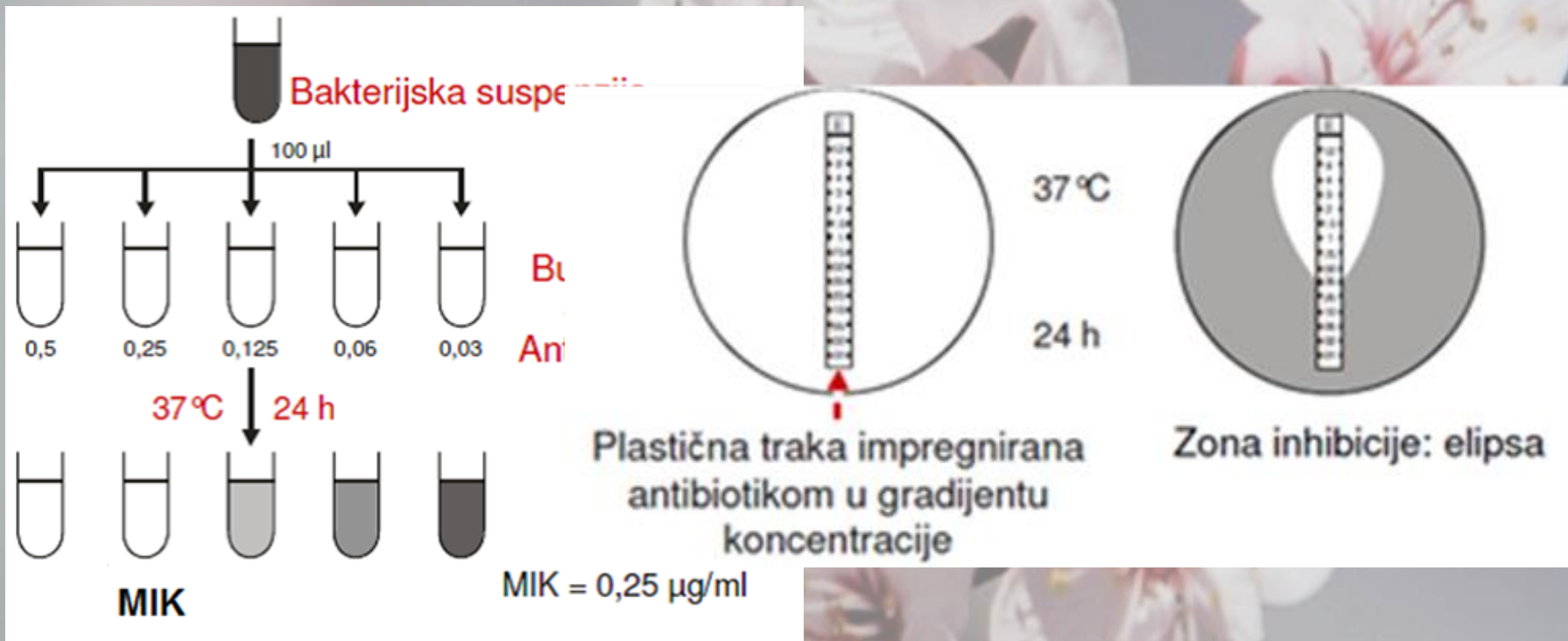
Metode određivanja antimikrobnog djelovanja meda

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



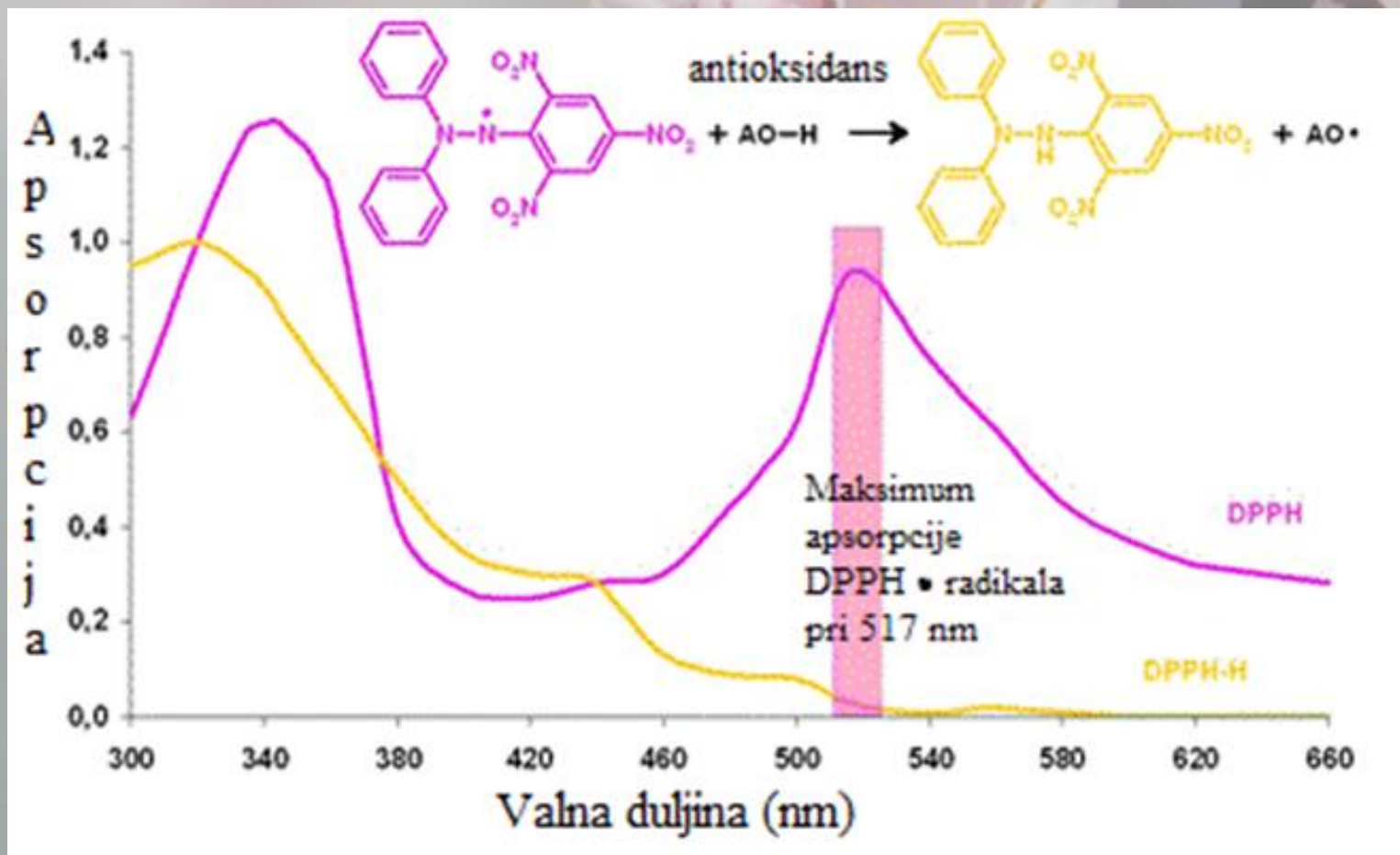
• Metoda dilucije

• E-test

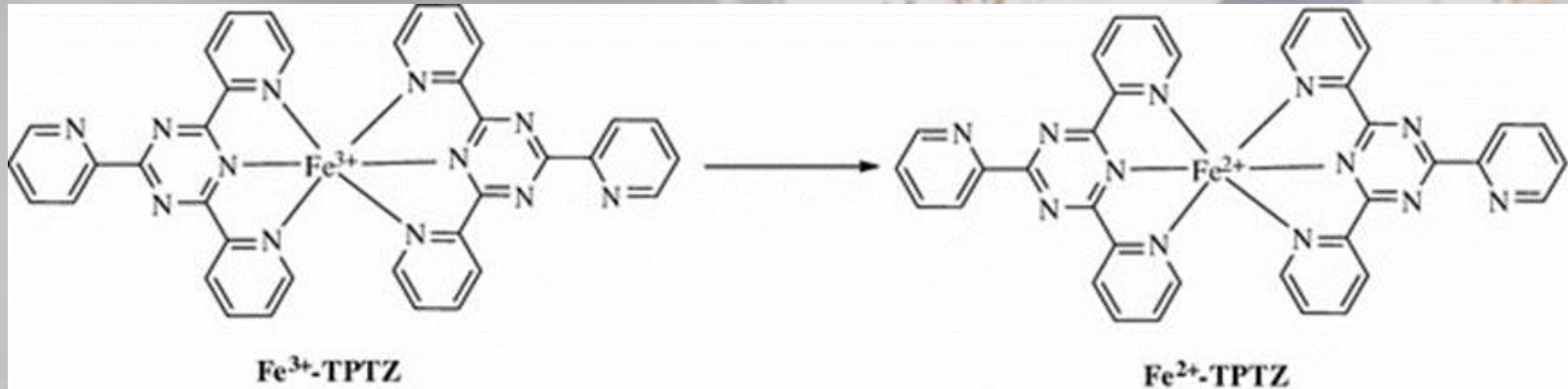


Metode određivanja antioksidacijskih svojstava meda

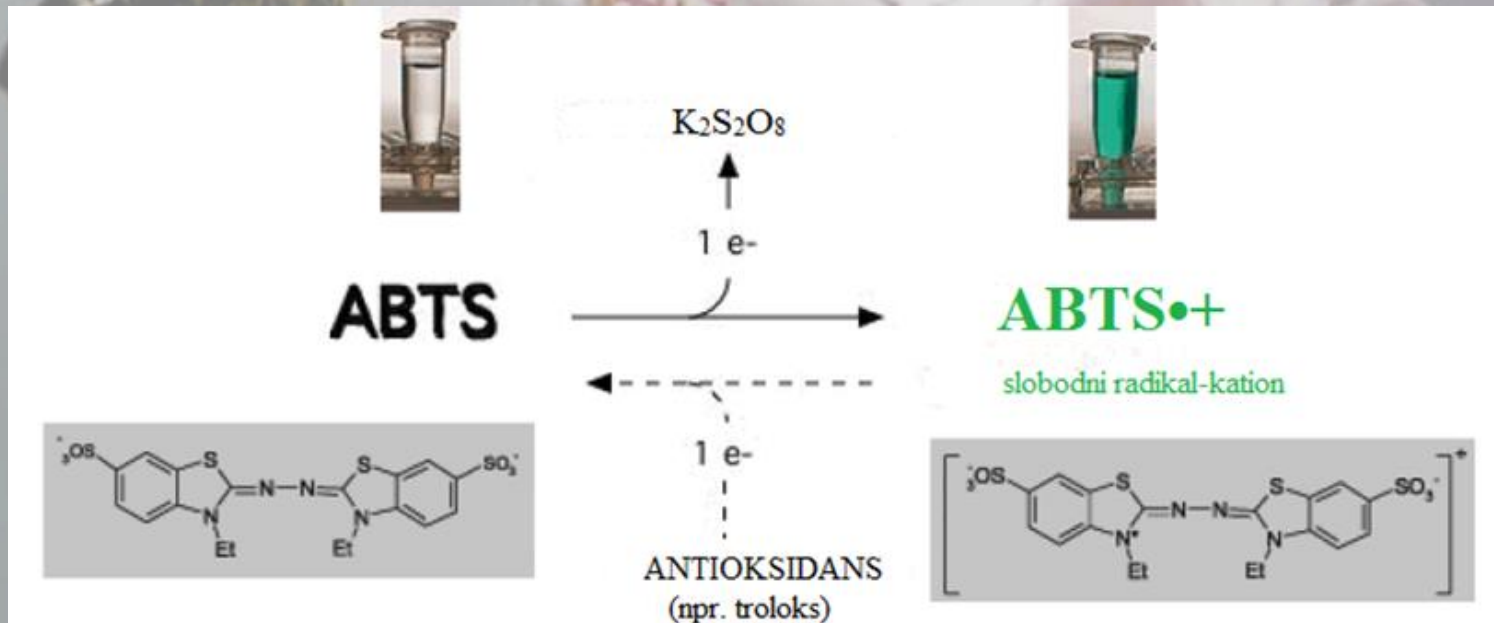
- DPPH - metoda



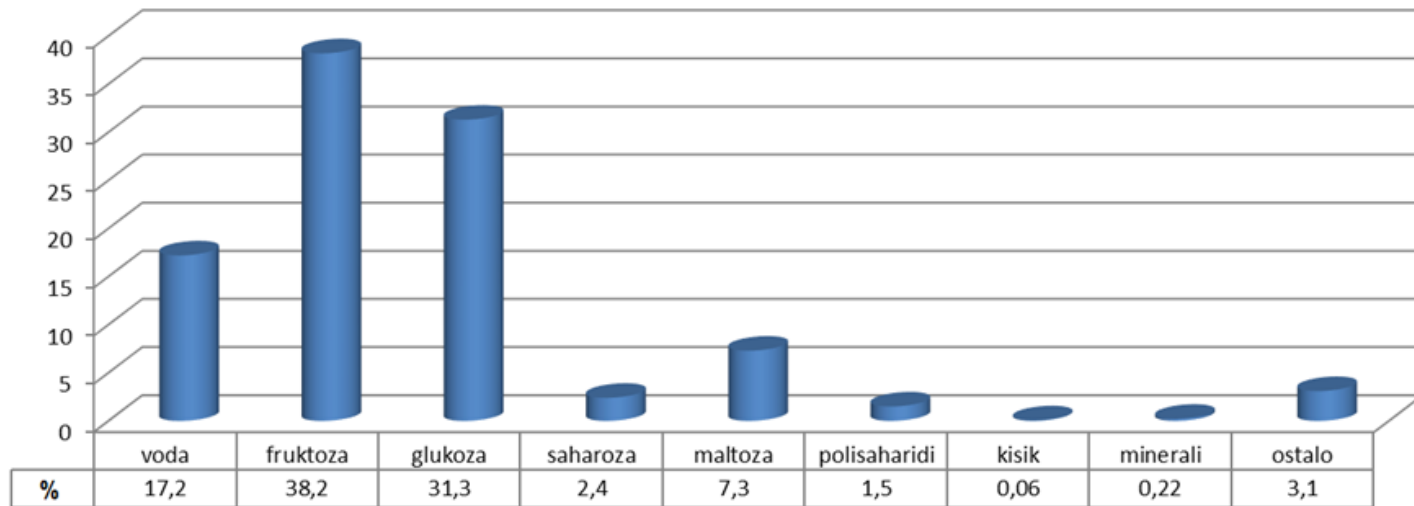
- FRAP metoda



- ABTS metoda



REZULTATI



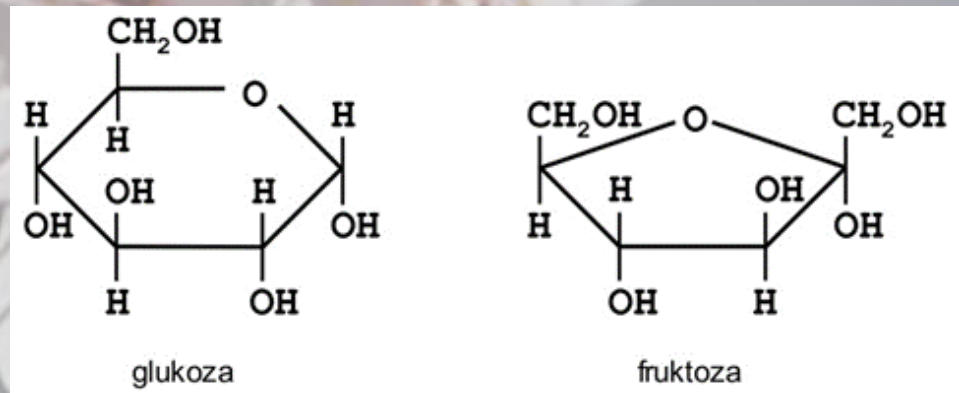
- **Voda** – 17,8 % u manuka medu

- **Ugljikohidrati**

 - 40 % fruktoze

 - 36 % glukoze

 - u manuka medu

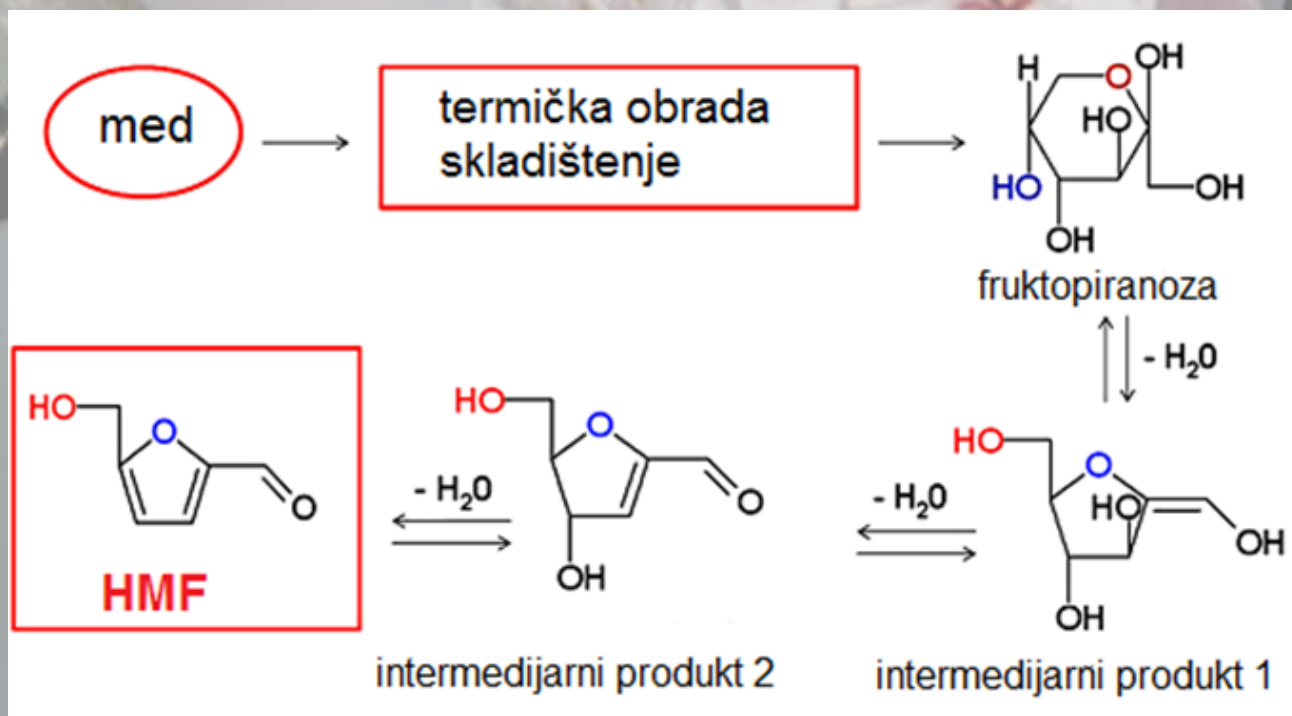


- glukoza – voda, melecitoza, > glukoze, < fruktoze
→ vjerojatnost kristalizacije meda
- **Aminokiseline** – prolin – 71 % u manuka medu
- **Proteini** - 58 do 786 mg/100g meda

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 glukoze i fruktoze -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

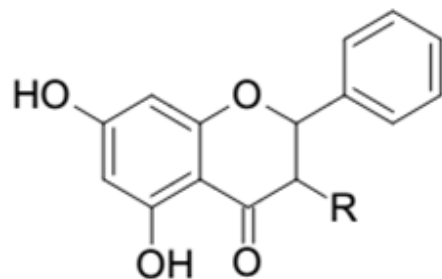
- specifična antioksidacijska aktivnost na superoksid anion radikale

- metil-siringat (MSYR)

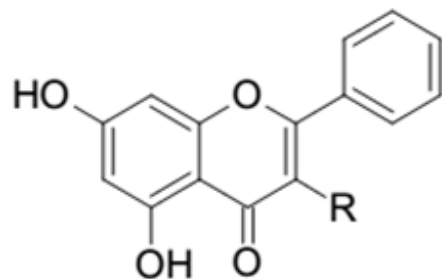
- visok udio polifenola



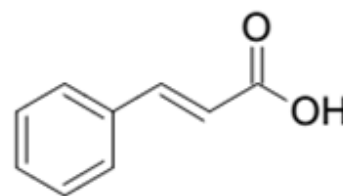
Polifenoli



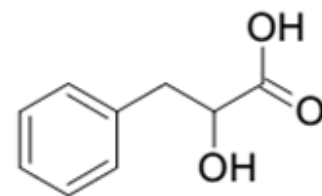
R = H pinocembrin
R = OH pinobanksin



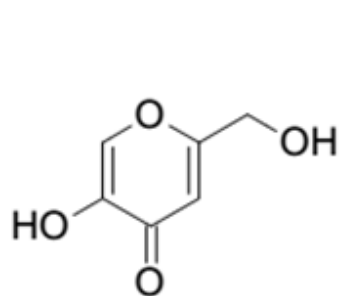
R = H krizin
R = OH galangin



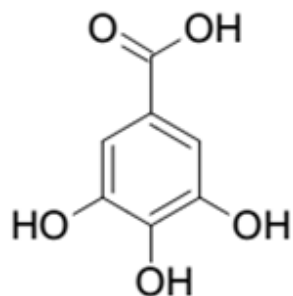
cimetna kiselina



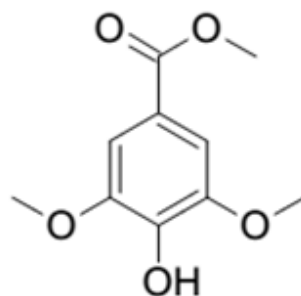
fenilmliječna kiselina



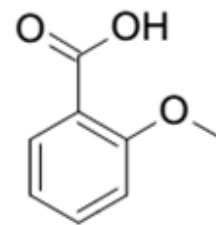
kojična kiselina



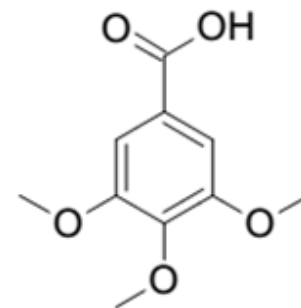
galna kiselina



metil-siringat



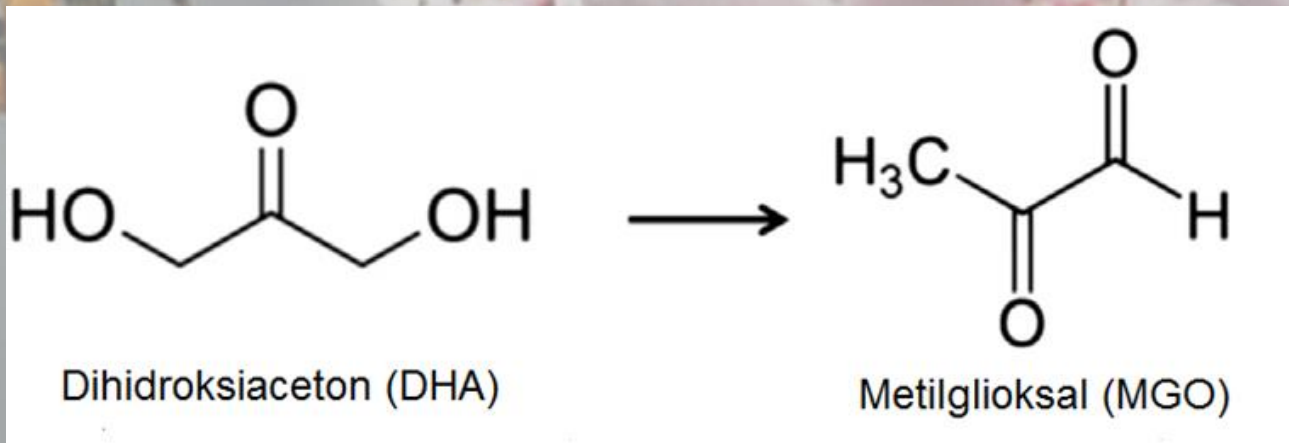
2-metoksibenzojeva kiselina



3,4,5-trimetoksibenzojeva kiselina

1,2-Dikarbonilni spojevi

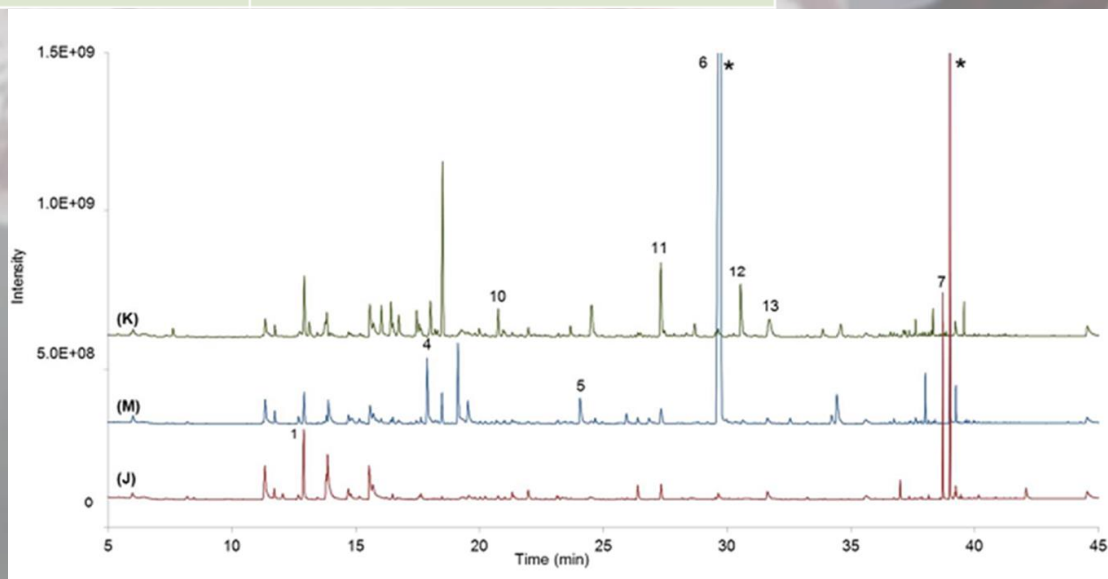
- glioksal (GO), 3-deoksiglukozon (3-DG), metilglioksal (MGO)
- neperoksidna antibakterijska aktivnost
- MGO od 38 do 828 mg/kg u manuka medu



Cvjetni markeri meda manuke

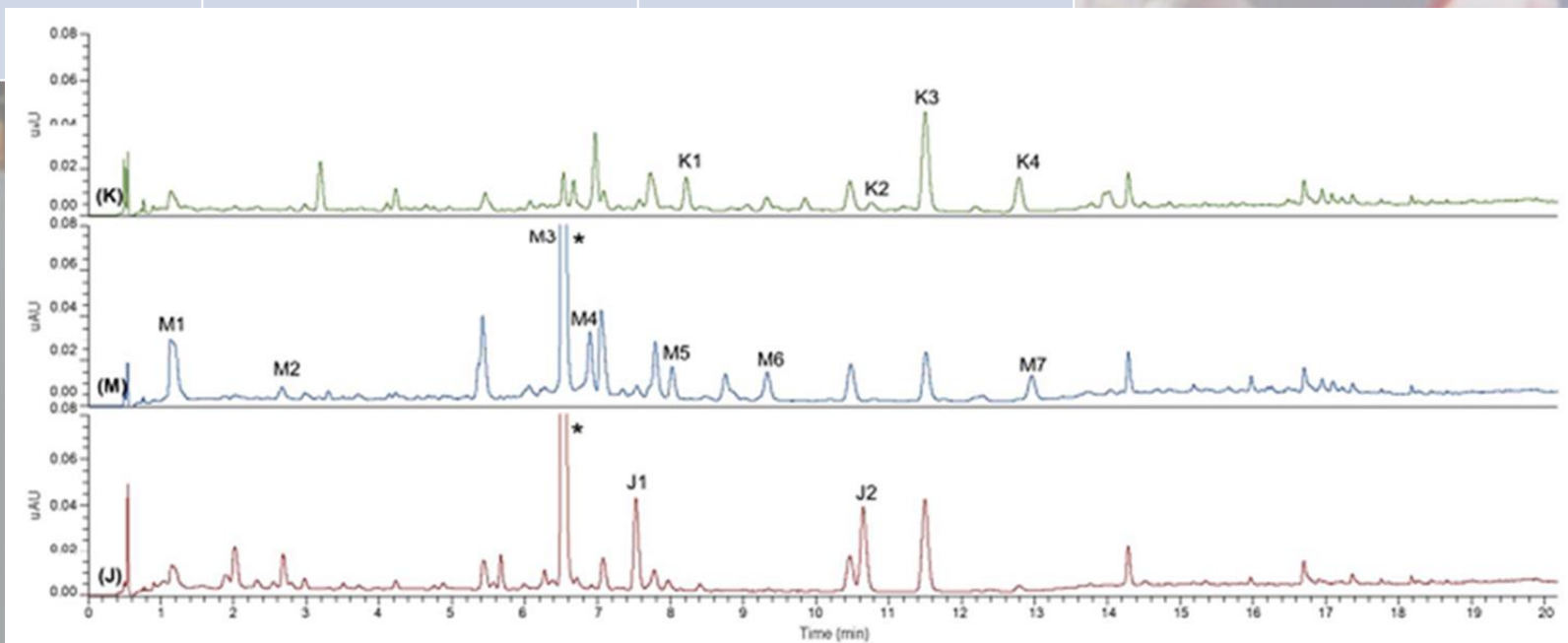
- Hlapljivi spojevi

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-anisaldehyd (12) neidentificirani spoj (13)	cis-linalool oksid (1) 3,4,5-trimetilfenol (7)

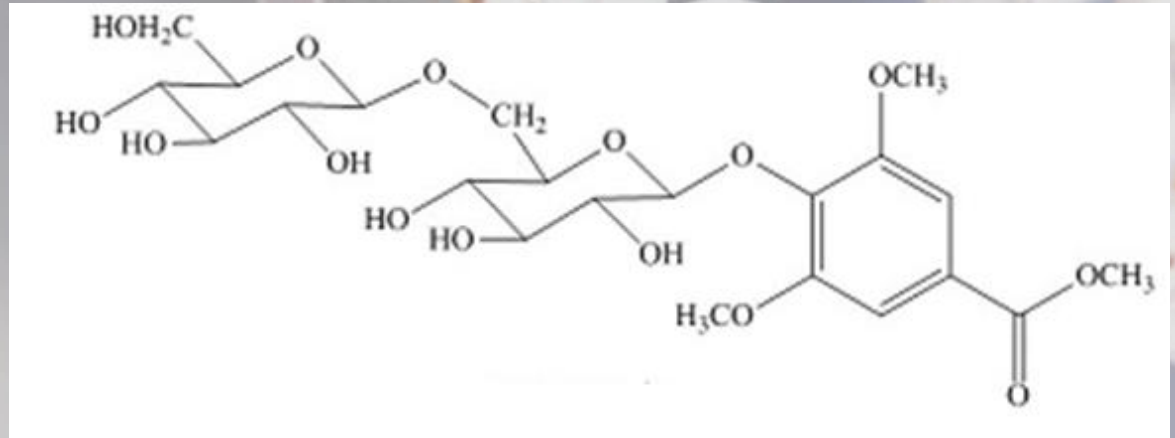


• Nehlapljivi spojevi

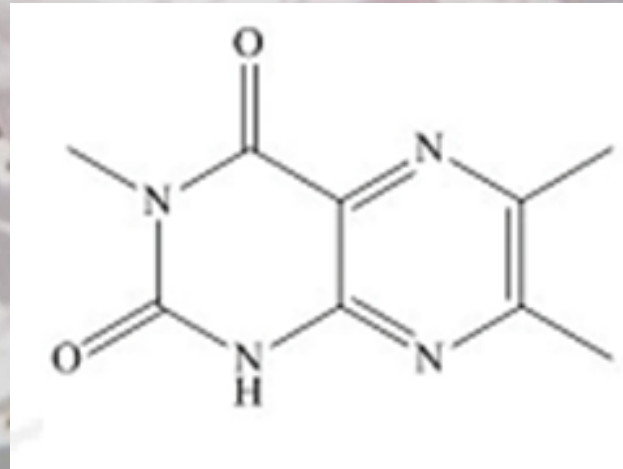
Manuka med	Kanuka med	„Jellybush“ med
leptosperin (M3) lepteridin* acetil-2-hidroksi-4-(2- metoksifenil)-4- oksobutanoat (M5) 3-hidroksi-1-(2- metoksifenil)-penta-1,4- dion (M6) kojična kiselina (M1) 5-metil-3-furankarboksilna kiselina (M2) M4 i M7**	4-metoksifenilmlječna kiselina (K1) metil-siringat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



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 korelaciji sa sadržajem vode i bojom meda
- botaničko podrijetlo i eksterni faktori

Antimikrobna aktivnost

- različiti putevi „napada” na bakterije

Gram pozitivne bakterije	Gram negativne bakterije
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
koagulaza negativni <i>stafilokoki</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
meticilin-rezistentni <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enterica serovar Typhi</i>
(MRSA)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Shigella flexneri</i>
koagulaza-negativni <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
(CONS)	<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 spp.</i>
	<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
- eradicacija 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

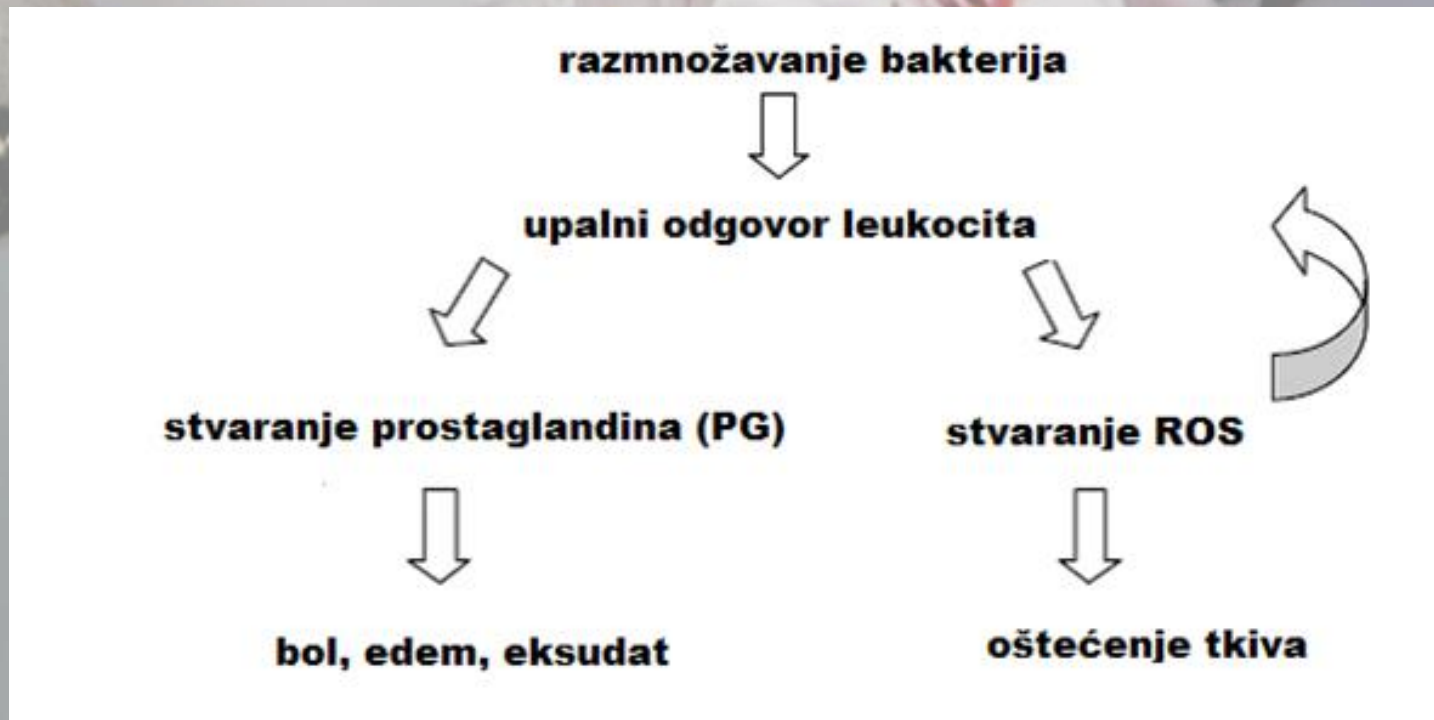
- oslobađanje citokina

- 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 daljnjeg oštećenja
- rane i opekline, GIT, KV sustav



- **Gastroenterologija**

- **dijareja**

- antibakterijski

- ORS

- **peptički ulkus**

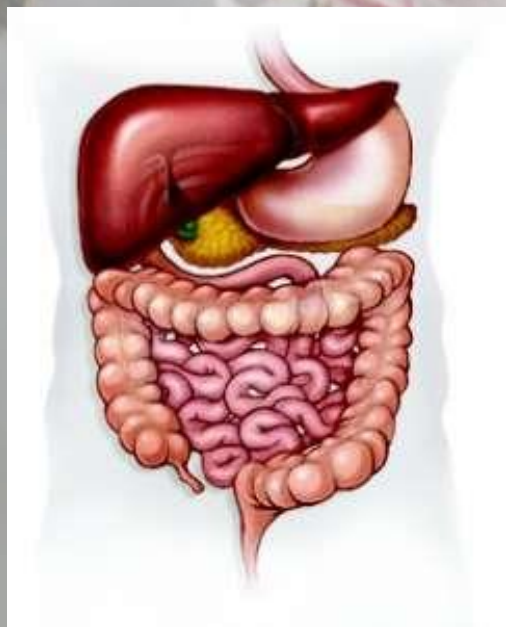
- **gastritis**

- **poboljšanje probave**

- enzimi

- probiotici

- prebiotici



- **Antivirusna aktivnost**

- *Rubella i Herpes virus*

- anti-HIV-1

- influenza

- prehlada

- VZV

- **Antifungalna**

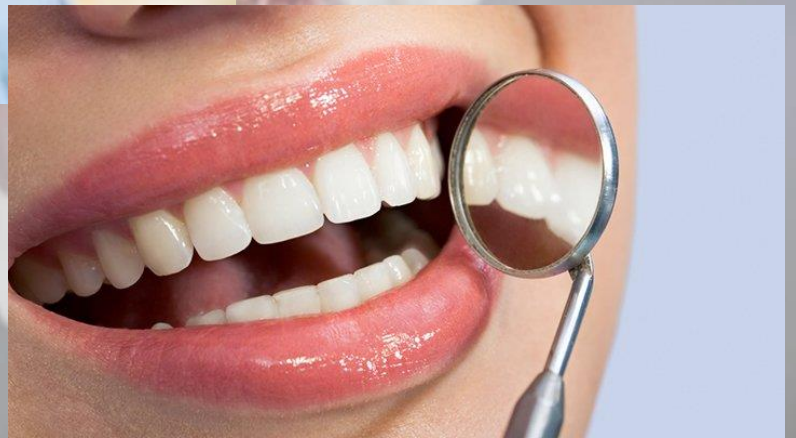
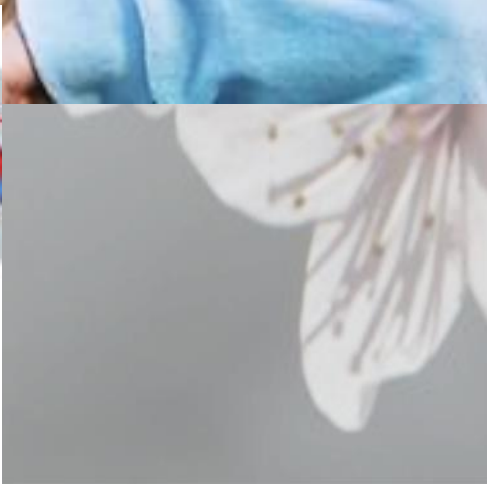
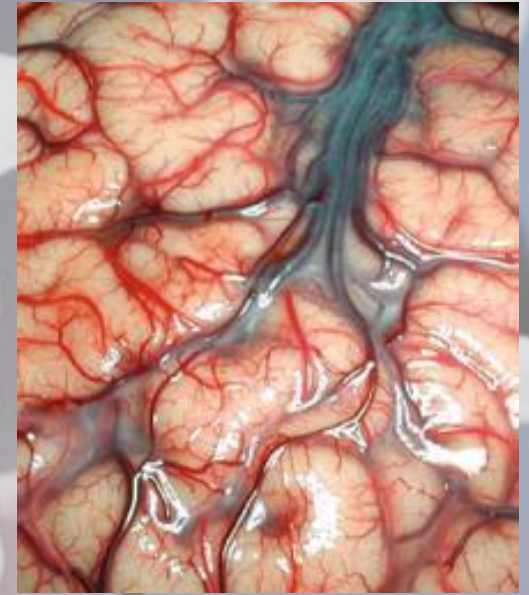
- dermatofiti

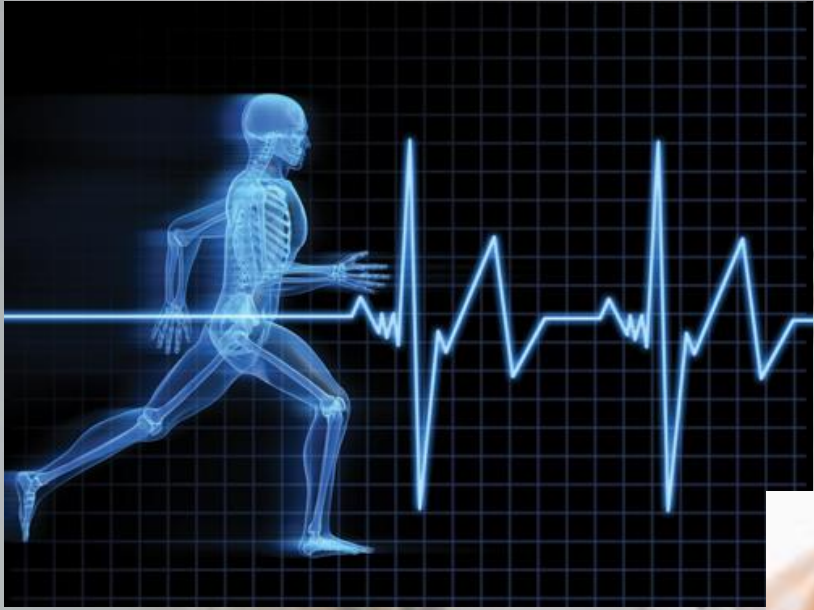
- *Candida albicans*

- **Antiparazitska**

- gliste, trakavice, oblići

- kiseli pH

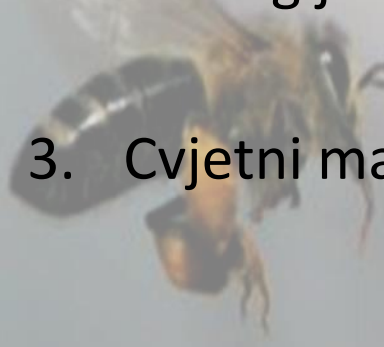




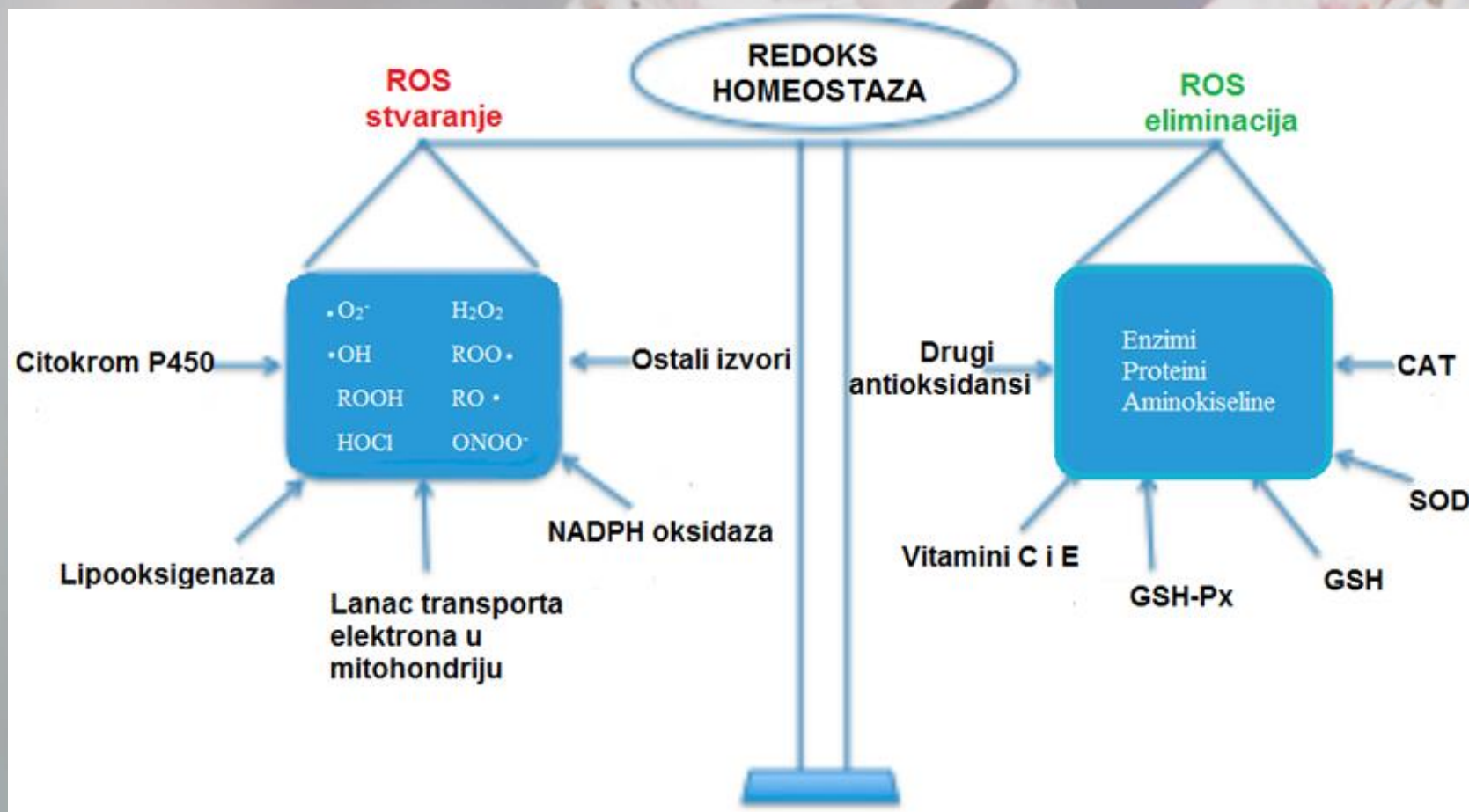
RASPRAVA

• Botaničko i zemljopisno podrijetlo meda manuke

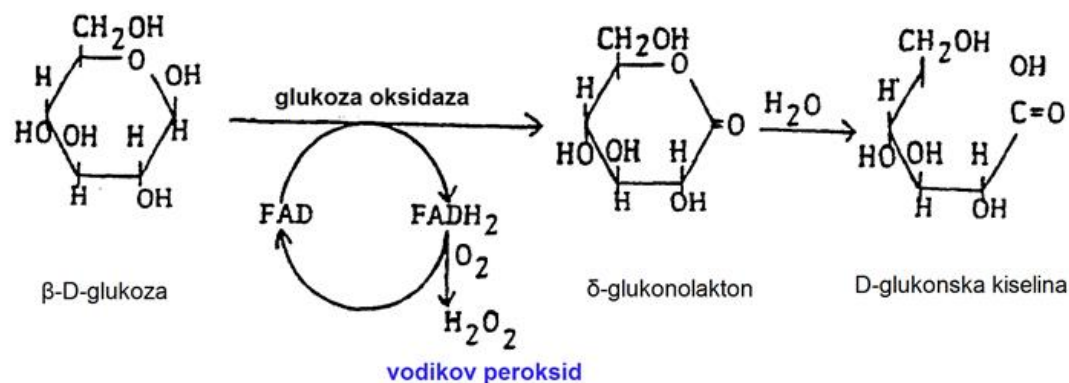
1. Melisopalinologija
2. Reologija - newtonski fluid – kanuka med
- ne-newtonski fluid – manuka med
3. Cvjetni markeri - hlapljivi spojevi
- nehlapljivi spojevi



Mehanizam antioksidacijske aktivnosti



Mehanizam antimikrobne aktivnosti



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

Glukoza oksidaza (peroksidna aktivnost)	Neperoksidna aktivnost (NPA)
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</i> , <i>Enterococci</i> , <i>H. pylori</i>)

Mehanizam djelovanja u zacjeljivanju rana

UČINAK I SVOJSTVO	PREDVIĐENI KLINIČKI ISHOD	PRETPOSTAVLJENI MEHANIZAM DJELOVANJA
Antimikrobni	<ul style="list-style-type: none">- sterilizacija- inhibicija potencijalnih patogena- inhibicija proteolitičkih enzima, toksina i bakterijskih antigena- deodorira (uklanja neugodan miris)	<ul style="list-style-type: none">- nastanak H₂O₂- neperoksidna aktivnost MGO i drugih spojeva- bakterije prisutne u rani kao izvor energije koriste glukozu
Antiinflamatorni	<p><u>Smanjenje:</u></p> <ul style="list-style-type: none">- edema- eksudata- erozija- keloida- ožiljaka- zadebljanje opekotina (keratolitički učinak)- boli (analgetski učinak)	<ul style="list-style-type: none">- reducira broj leukocita na mjestu rane; smanjuje slobodne radikale- smanjuje stvaranje prostaglandina odgovornih za bol, vazodilataciju, oticanje okolnog tkiva, smanjenje protoka u kapilarama, otvaranje stijenki kapilara- smanjuje pretjerano stvaranje fibroblasta

Imunostimulacijski	<ul style="list-style-type: none"> -inhibicija potencijalnih patogena -stimulacija fagocitoze 	<ul style="list-style-type: none"> -potiče nastanak velikog broja makrofaga koji stvaraju H₂O₂ - stvara supstrate glikolize, što je značajan mehanizam za stvaranje energije u makrofazima - stimulira B i T-limfocite
Antioksidacijski	<ul style="list-style-type: none"> - antiinflamatorno - smanjenje daljnjeg oštećenja 	<ul style="list-style-type: none"> - inhibira regrutaciju leukocita; smanjuje upalu - hvatanje slobodnih radikala - inhibicija nastanka slobodnih radikala
Stimulacija staničnog rasta	<p><u>Stimulira</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - granulaciju tkiva - reepitelizaciju - sintezu kolagena - povećanje elasticiteta kolagena - angiogenezu 	<ul style="list-style-type: none"> - glikolizirani proteini meda i neki dr. spojevi stimuliraju makrofage - fibroblasti stvaraju novo vezivno tkivo i zatvaraju ranu - epitelne stanice stvaraju na površini rane i u kapilarama novi epitel

Održavanje rane vlažnom	<u>Stimulira:</u> - reepitelizaciju tkiva - proteolitičko uklanjanje mrtve kože - granulaciju tkiva - staničnu proliferaciju - čišćenje rane	- epitelnim stanicama i fibroblastima potrebni vlažni uvjeti za rast - omogućuje djelovanje proteaza - zavoj s medom bezbolno se ukloni
Nutritivne tvari	- reepitelizacija - stimulacija fagocitoze	-med direktno opskrbljava ranu neophodnim nutrijentima -opskrba glukozom od izuzetne važnosti za zalihu ugljikohidrata epitelnih stanica
Osmolarnost	- čišćenje rane - povećanje dotoka hranjivih tvari - povećanje opskrbe tkiva kisikom	- visoki osmotski tlak povlači tekućinu iz rane ispod zavoja meda; nastaje sloj tekućine koji je razrijeđena otopina meda u plazmi ili limfi - otjecanjem limfe rana se čisti, povećan je konstantni dotok hranjivih tvari funkcionalnim krvnim žilama dublje u ranu
Viskoznost	- sprječavanje prodiranja patogena	- med stvara zaštitnu barijeru

**Nizak pH
(kiselost)**

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

- kiselo okruženje ubrzava zacjeljivanje
- konverzija toksičnog amonijaka, NH_3 u netoksični ionizirani oblik NH_4^+ koji dominira u kiselim uvjetima
- blaže djelovanje meda kao sredstva za zakiseljavanje rana zbog glukonske kiseline (kiselu spoj meda); prisutna u obliku neutralnog laktone koji sporo konvertira u oblik slobodne kiseline
- pomaže makrofazima u uništavanju bakterija

Hvala na pozornosti!

