

# 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*





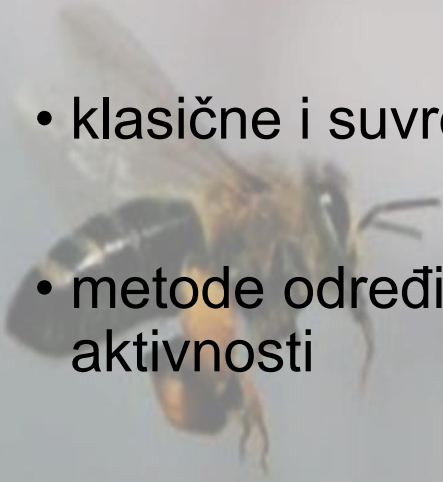
# Manuka med

- 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

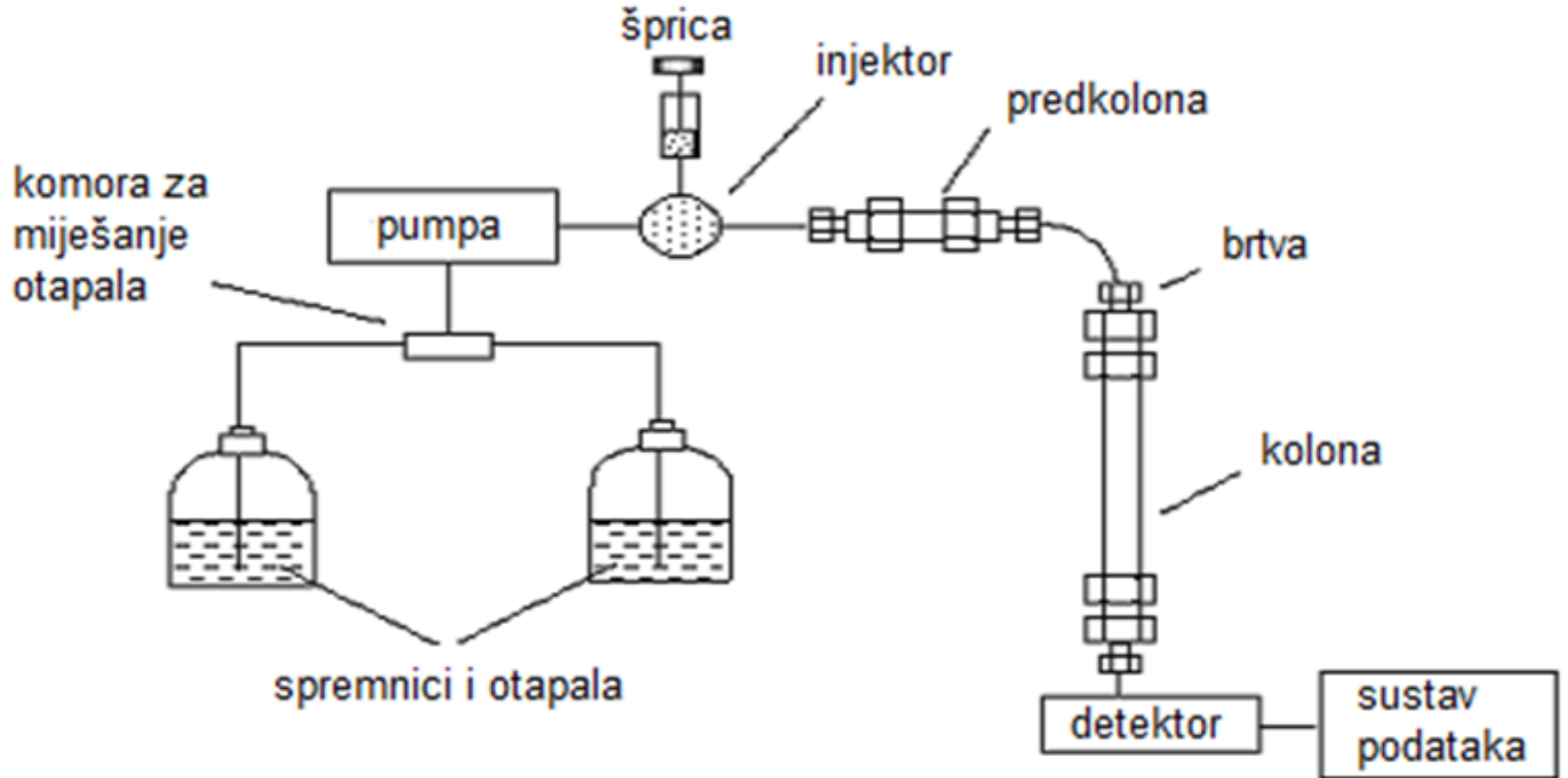
## Metode određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda

### Klasične metode

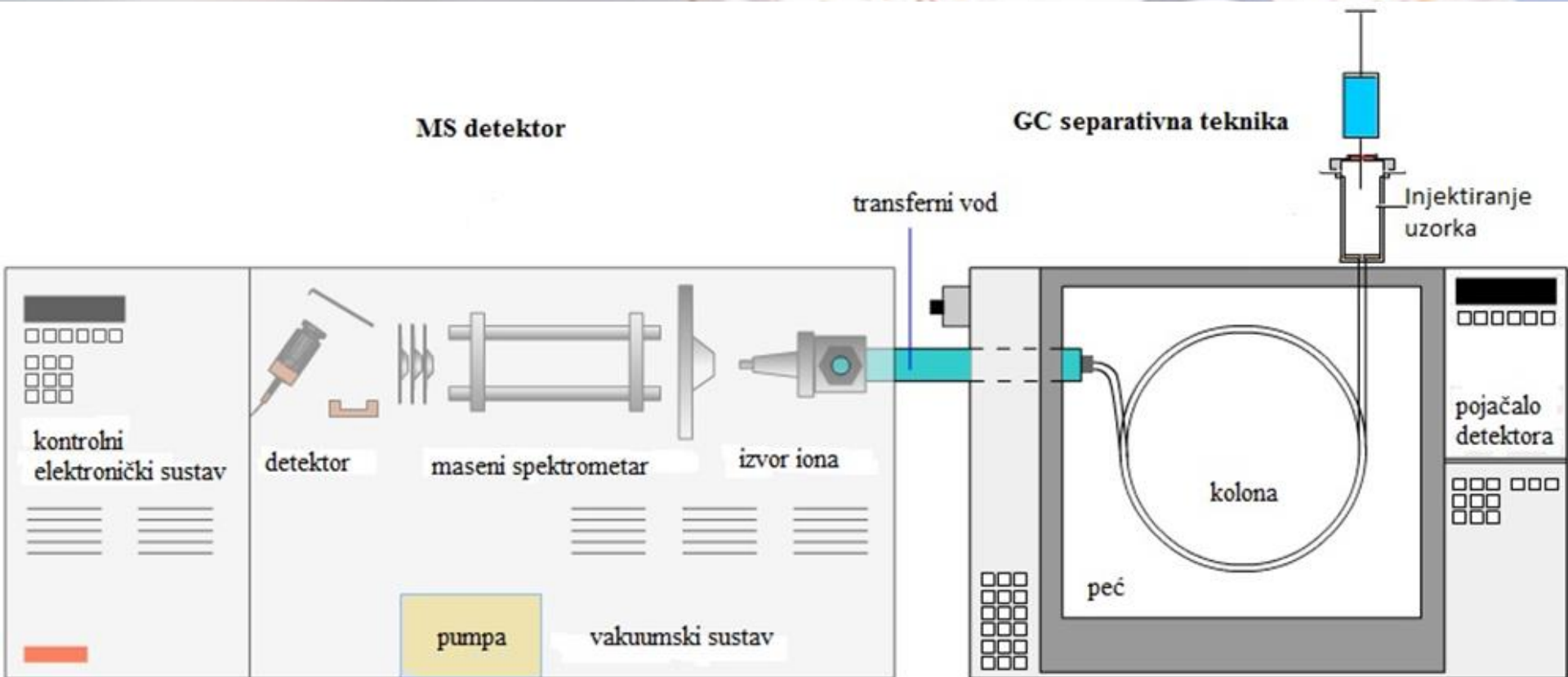
1. Melisopalinologija
2. Fizikalno-kemijska analiza – električna vodljivost, optička aktivnost, kristalizacija, viskoznost, higroskopnost, specifična masa, sastav šećera
3. Organoleptička svojstva
  - boja: svijetlo jantarna
  - okus: mineralan, blago ljut, osebujan, manje sladak
  - miris: po vlažnoj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



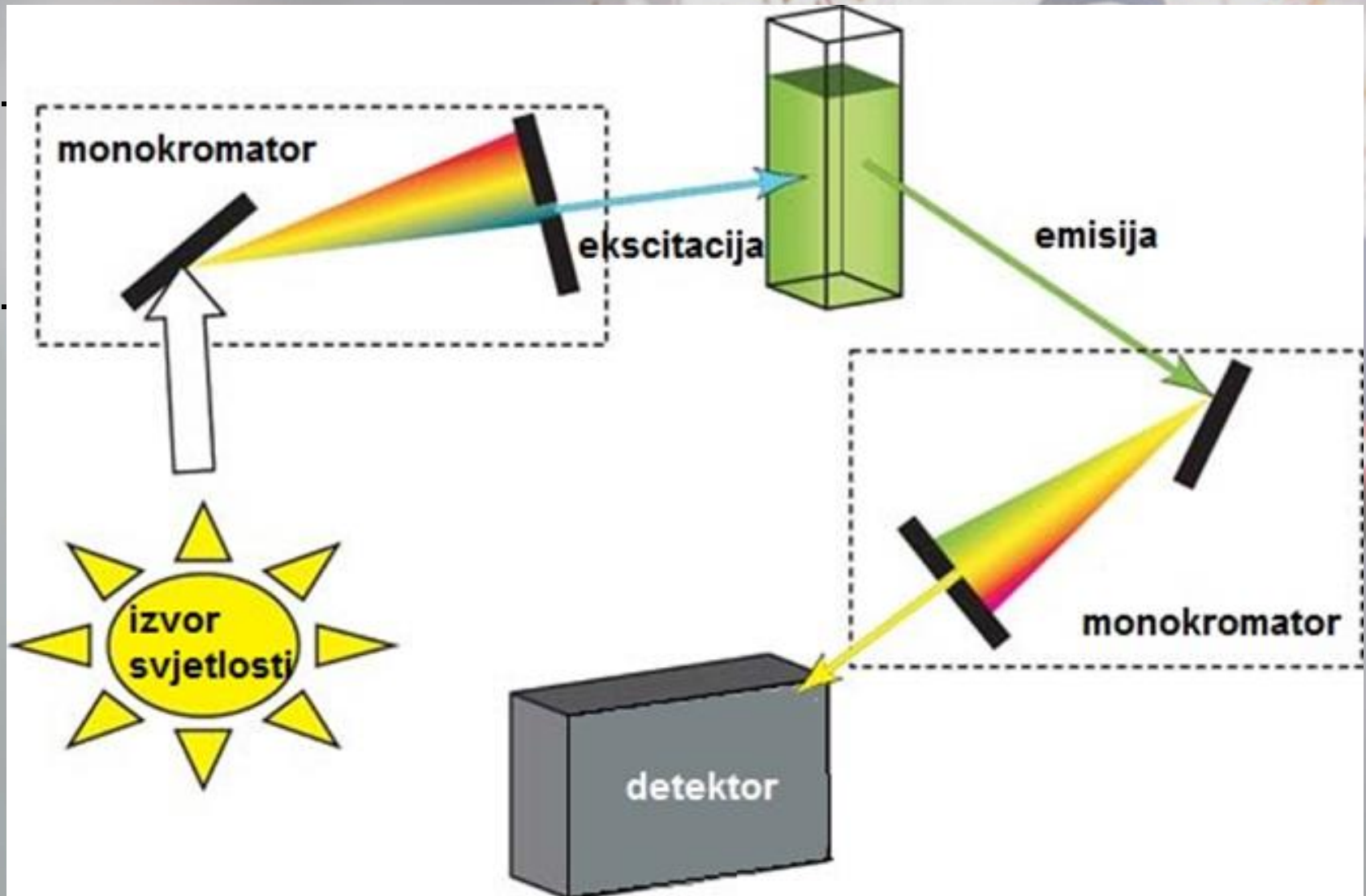
# Suvremene metode



# • GC-MS



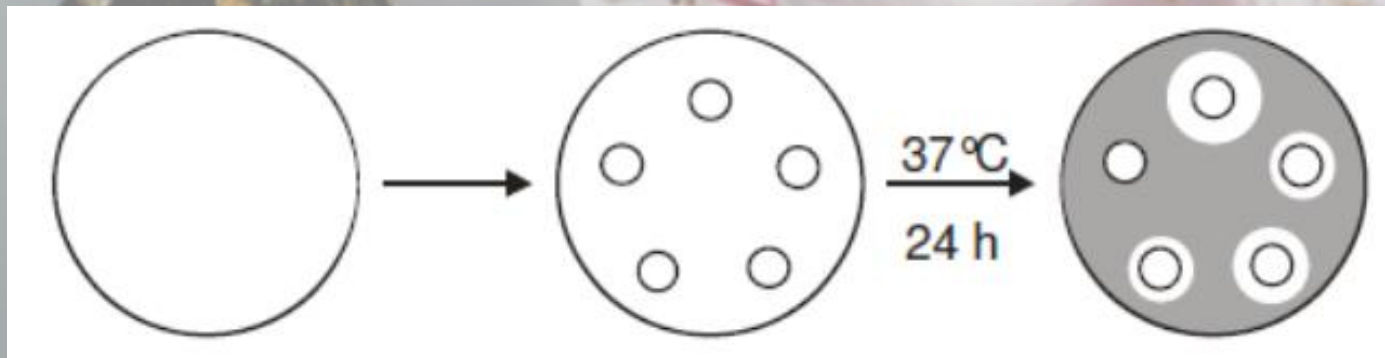
# • Fluorescencijska spektrometrija





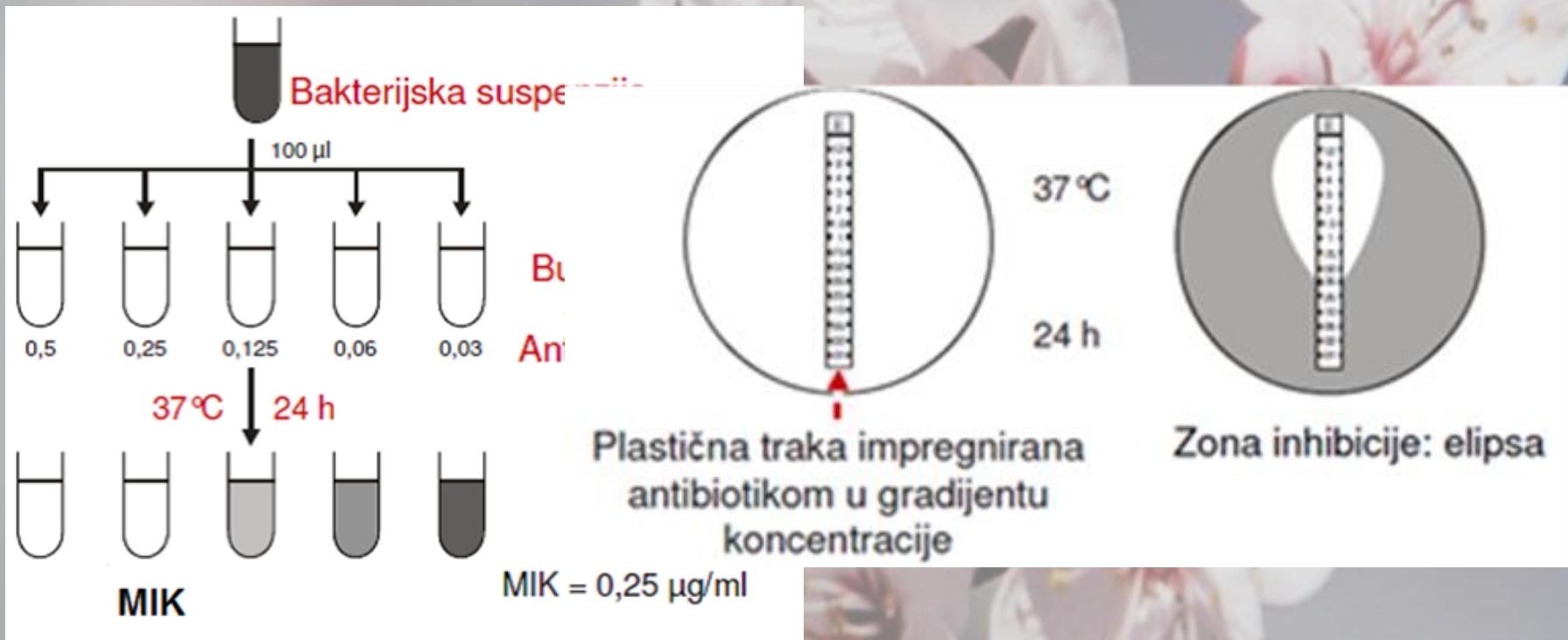
# Metode određivanja antimikrobnog djelovanja meda

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



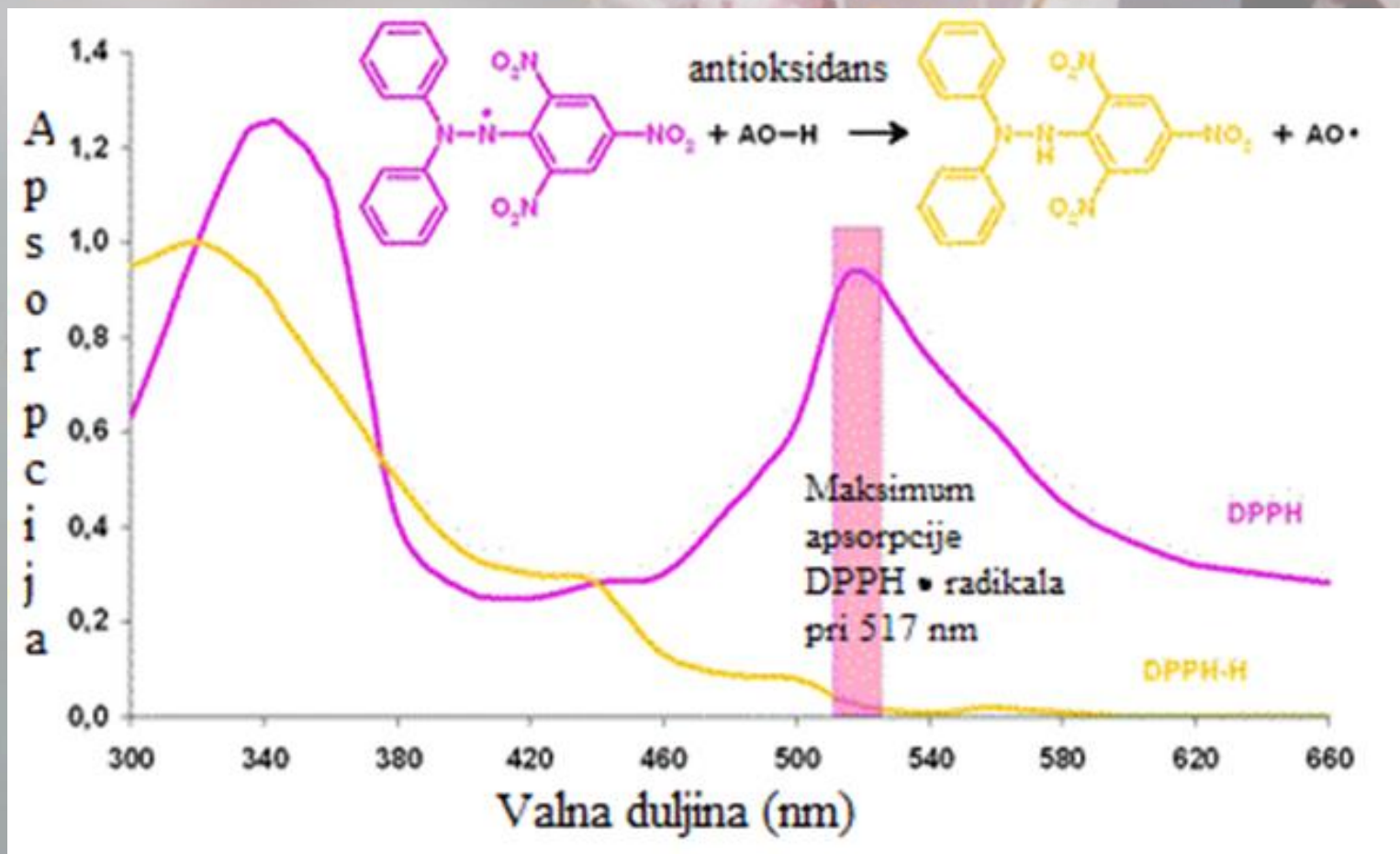
# • Metoda dilucije

# • E-test



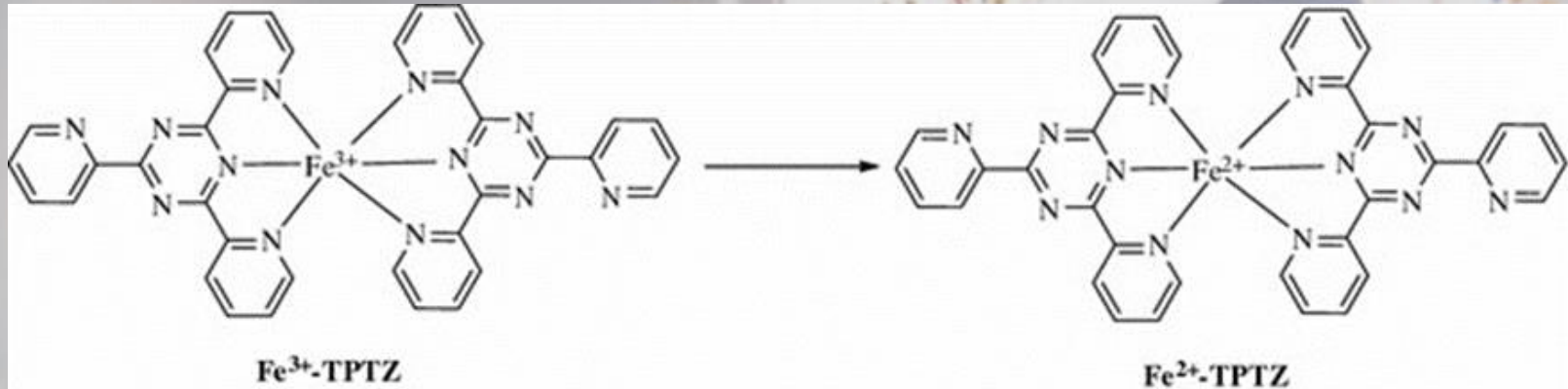
# Metode određivanja antioksidacijskih svojstava meda

- DPPH - metoda

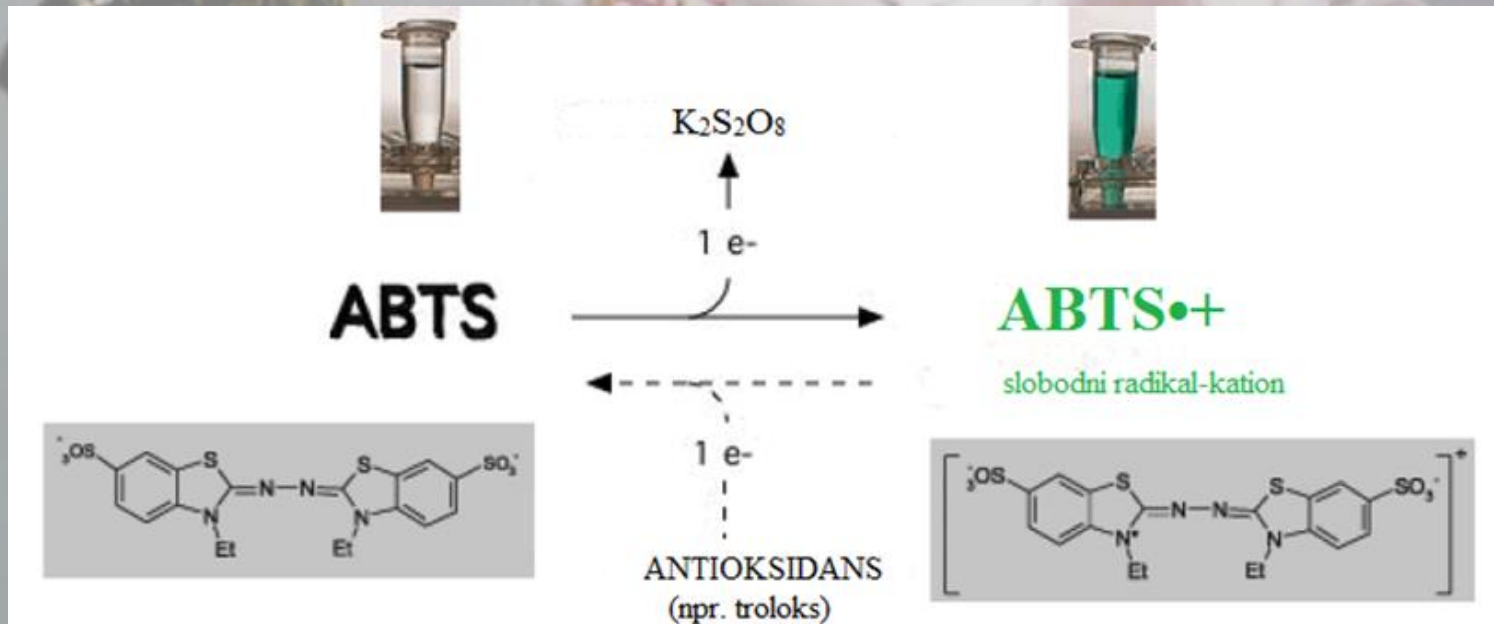




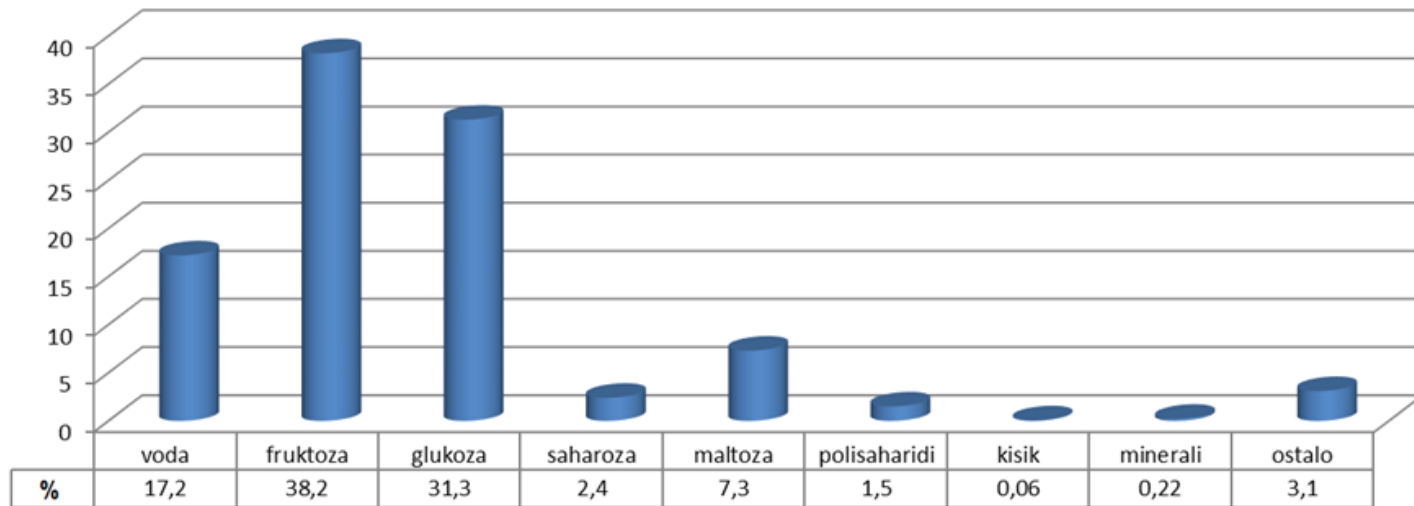
- FRAP metoda



- ABTS metoda



# REZULTATI



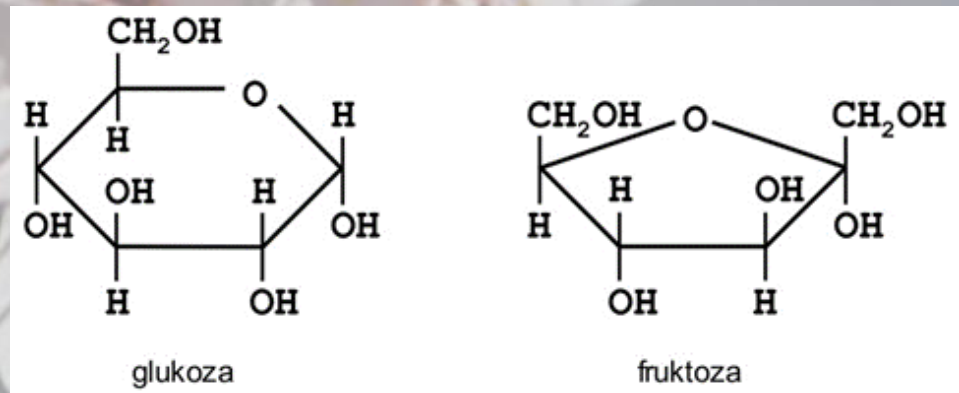
- **Voda** – 17,8 % u manuka medu

- **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





- glukonska kiselina

- pH manuka meda 4,21 i 3,57

- minerali – kalij



- **Antioksidansi**

- enzimski

- neenzimski - mnoge fitokemikalije u medu, kvantiteta ovisi o botaničkom podrijetlu

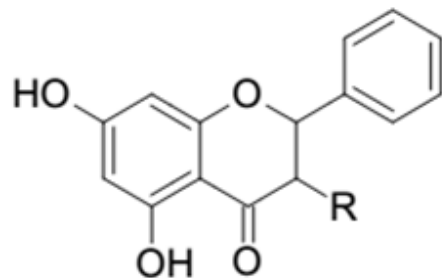
- specifična antioksidacijska aktivnost na superoksid anion radikale

- metil-siringat (MSYR)

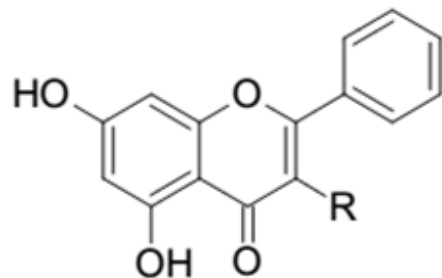
- visok udio polifenola



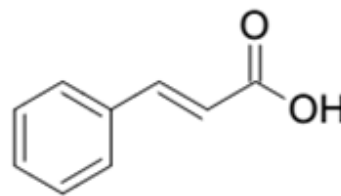
# Polifenoli



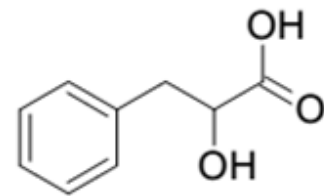
R = H pinocembrin  
R = OH pinobanksin



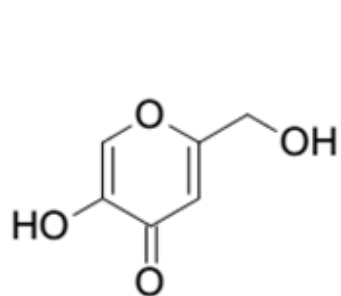
R = H krizin  
R = OH galangin



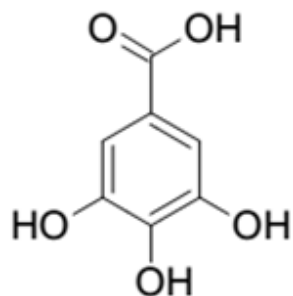
cimetna kiselina



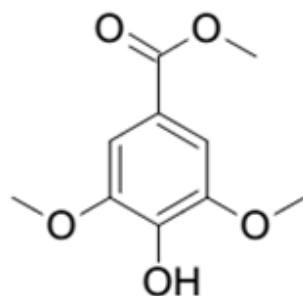
fenilmliječna kiselina



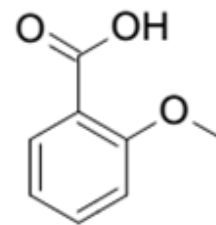
kojična kiselina



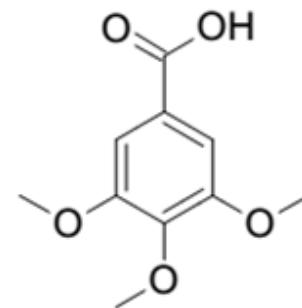
galna kiselina



metil-siringat



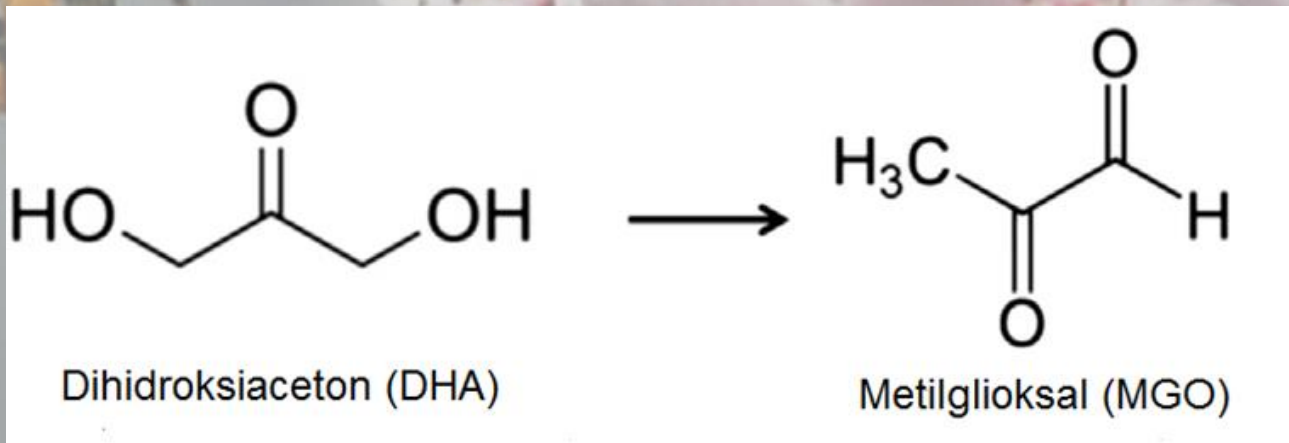
2-metoksibenzojeva kiselina



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

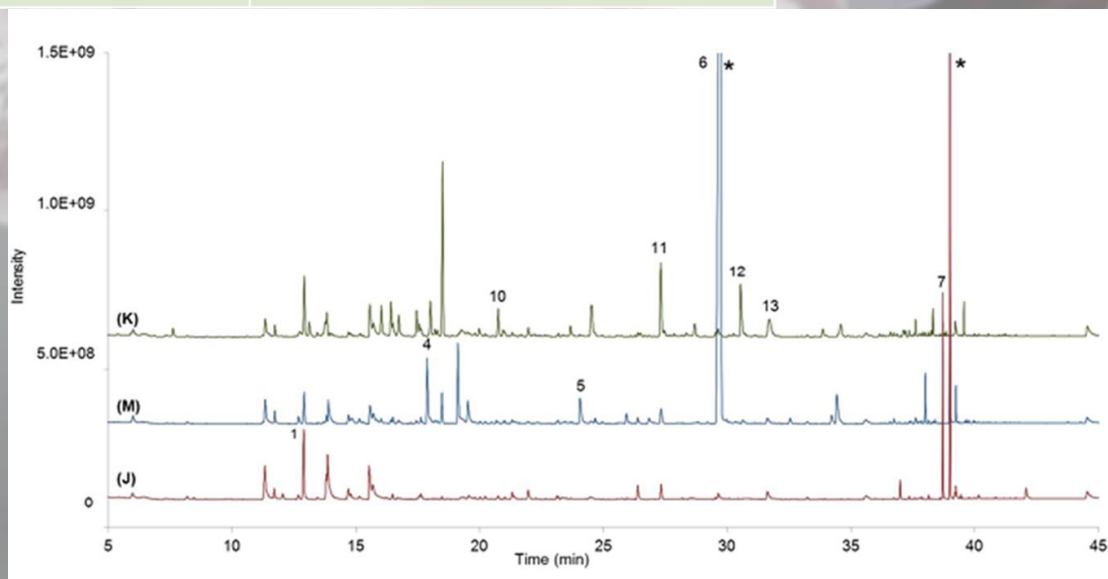




# Cvjetni markeri meda manuke

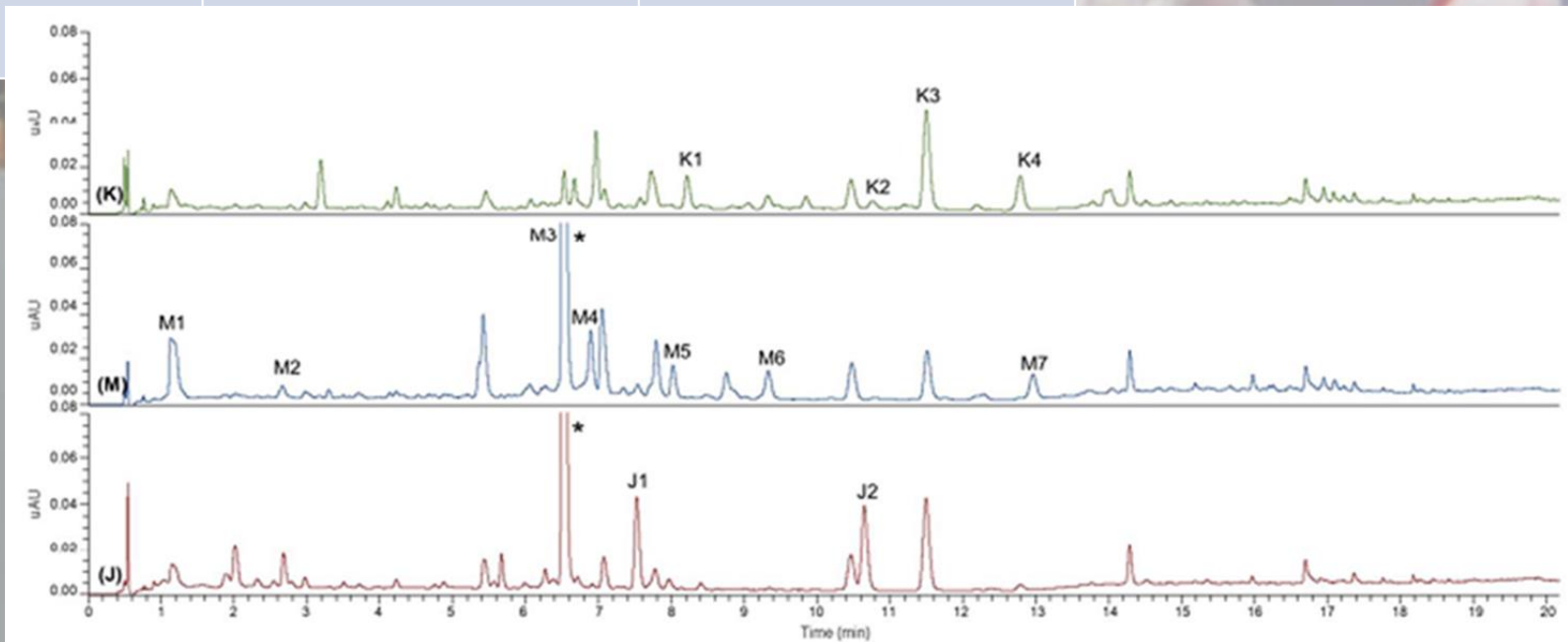
- Hlapljivi spojevi

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)

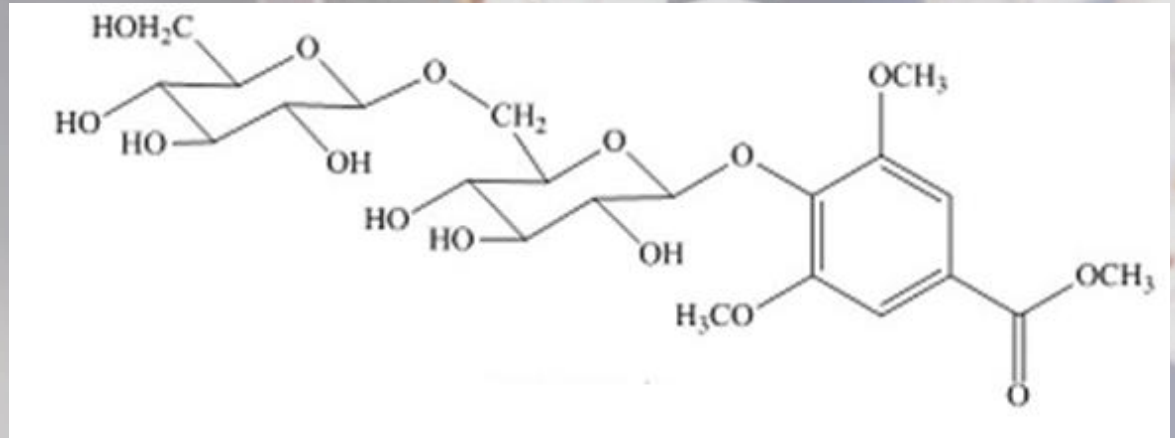


# • Nehlapljivi spojevi

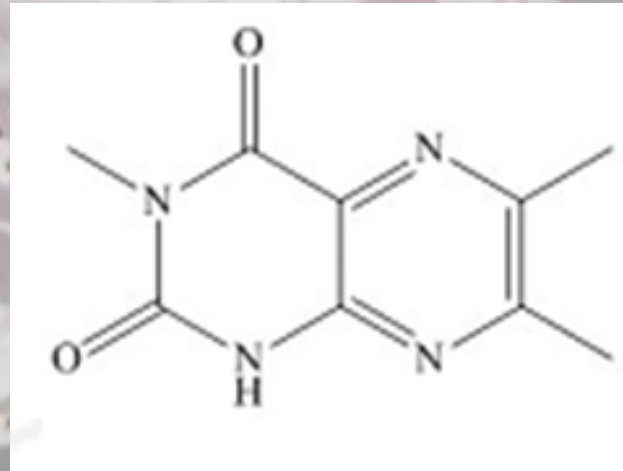
Manuka med	Kanuka med	„Jellybush” med
leptosperin (M3) lepteridin* acetil-2-hidroksi-4-(2- metoksifenil)-4- oksobutanoat (M5) 3-hidroksi-1-(2- metoksifenil)-penta-1,4- dion (M6) kojična kiselina (M1) 5-metil-3-furankarboksilna kiselina (M2) M4 i M7**	4-metoksifenilmlječna kiselina (K1) metil-siringat (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 streptokoki	<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
- eradikacija rezistentnih bakterija
- Anti-biofilm aktivnost (MGO i dr. čimbenici)
- sinergistička kombinacija s antibioticima

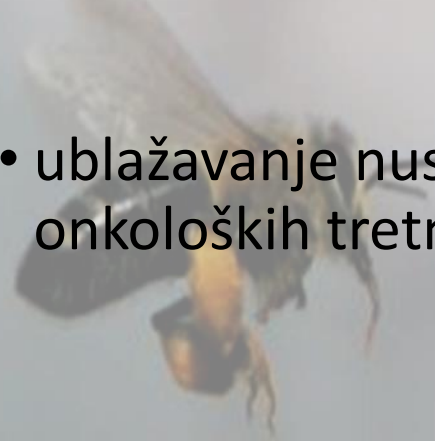


## • Citotoksična aktivnost

- antiproliferativni učinak na melanomu, kolorektalnom karcinomu i karcinomu dojke
- ublažavanje nuspojava onkoloških tretmana

## • Imunostimulacijska aktivnost

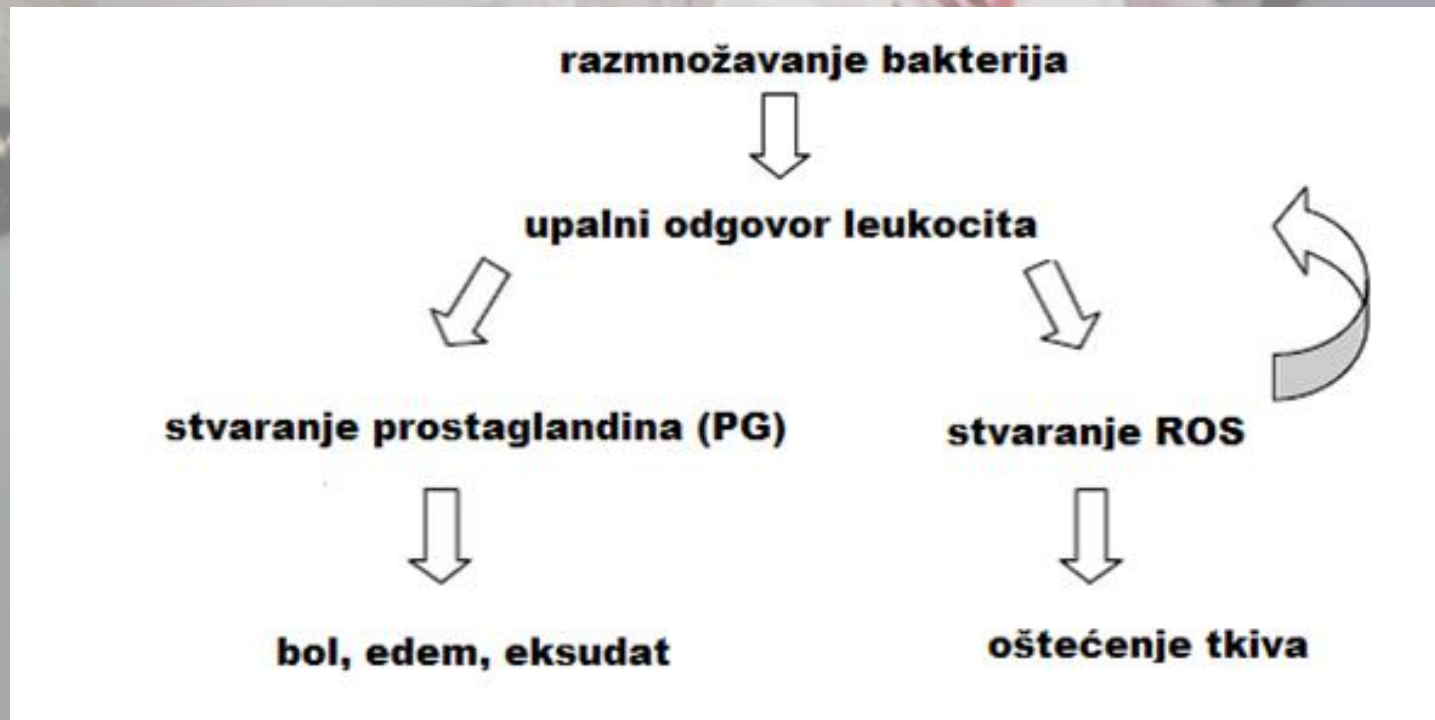
- stimulacija limfocita T i B
- aktivacija neutrofila
- oslobađanje citokina
- aktivacija imunološkog odgovora
- osiguranje zaliha glukoze makrofazima → proizvodnja energije unutar oštećenih tkiva





## • **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

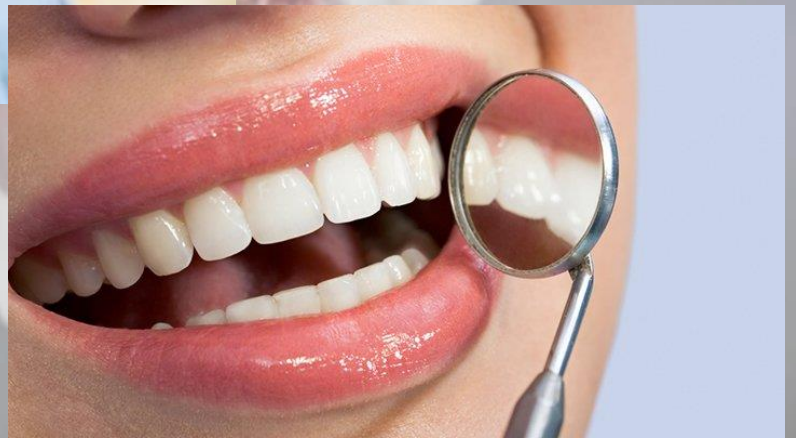
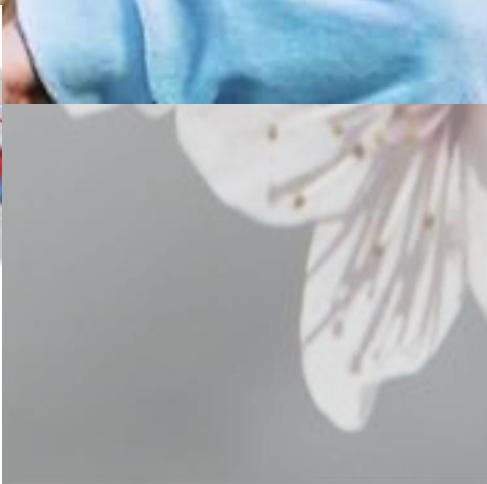
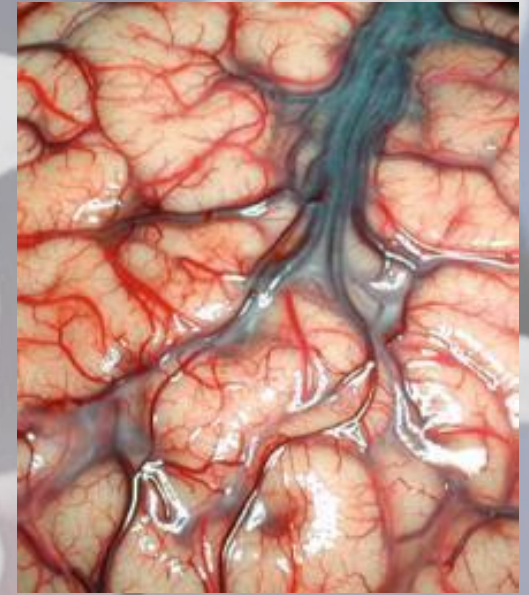
- *Candida albicans*

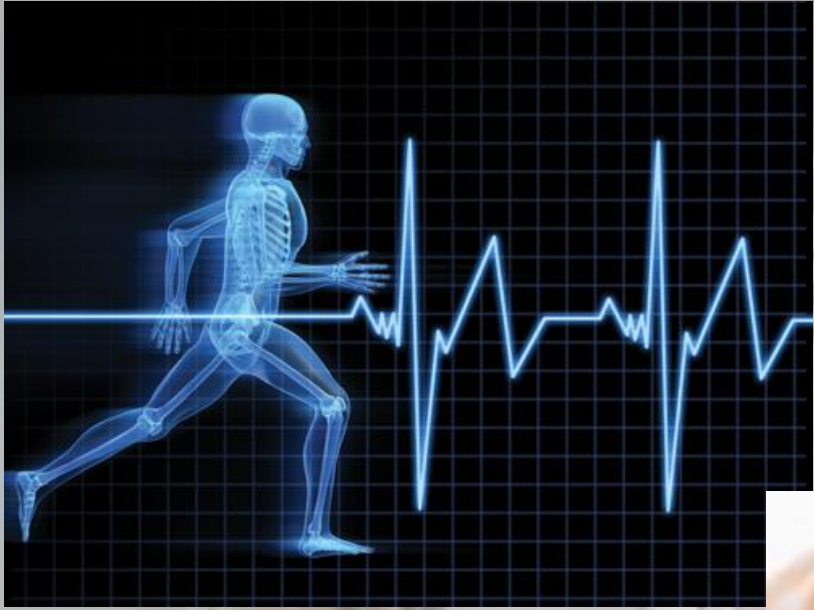
- **Antiparazitska**

- gliste, trakavice, oblići

- kiseli pH





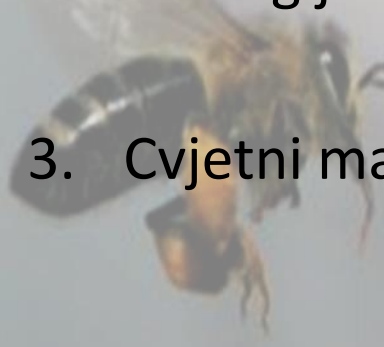




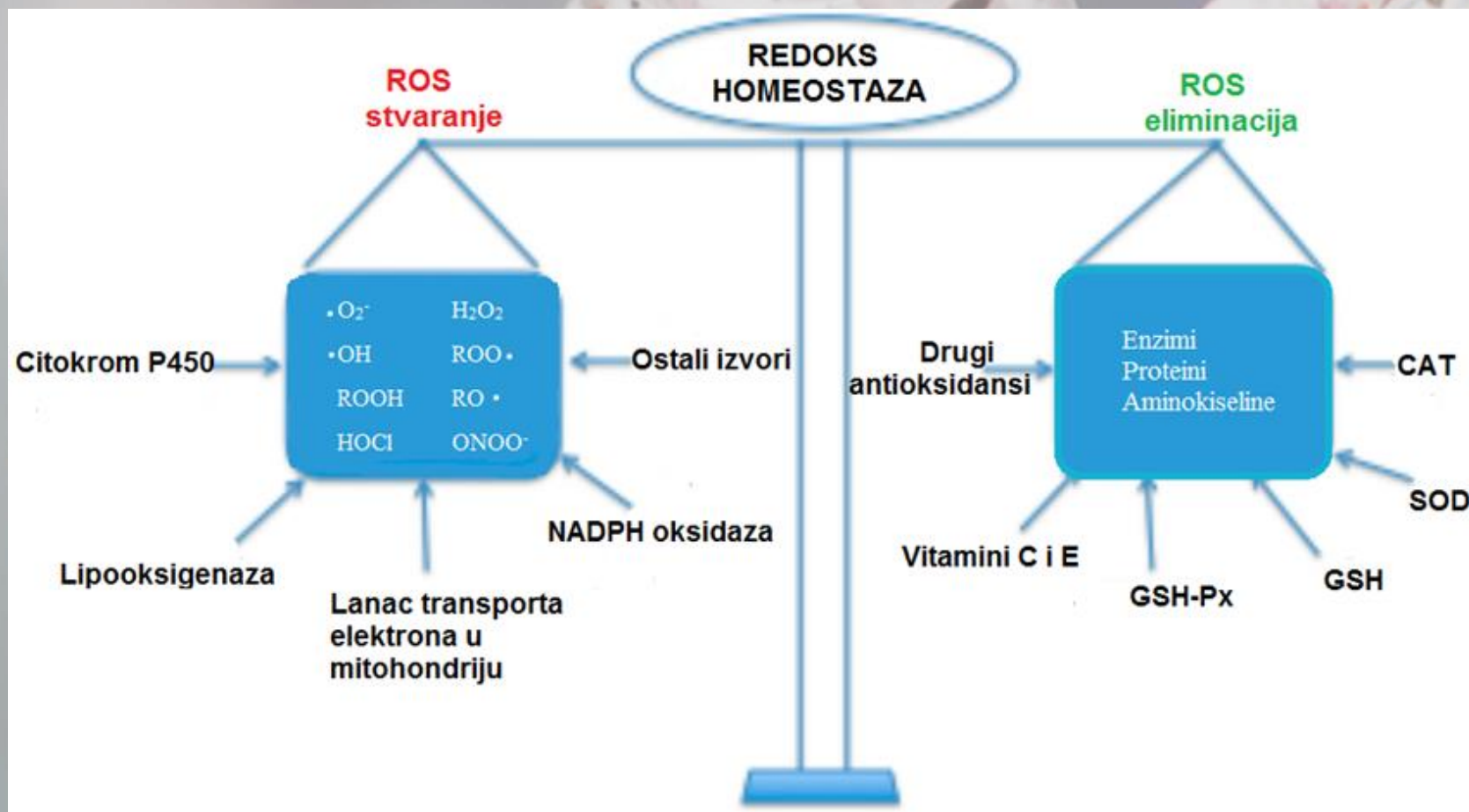
# RASPRAVA

## • Botaničko i zemljopisno podrijetlo meda manuke

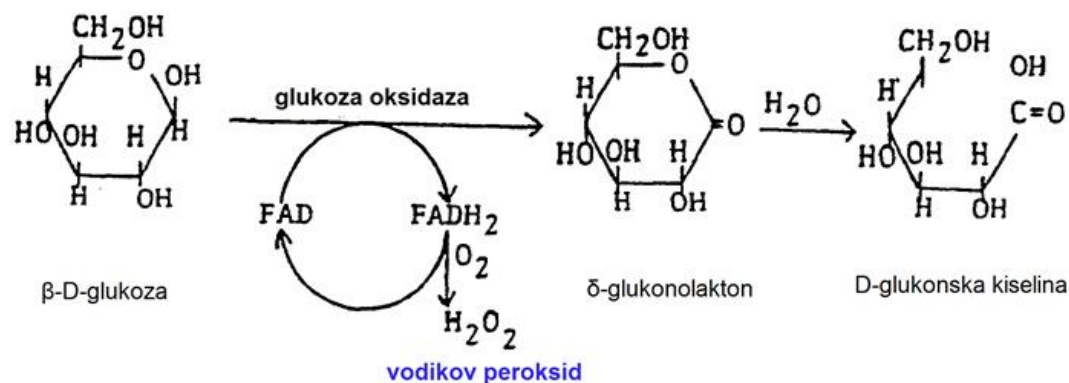
1. Melisopalinologija
2. Reologija - newtonski fluid – kanuka med  
- ne-newtonski fluid – manuka med
3. Cvjetni markeri - hlapljivi spojevi  
- nehlapljivi spojevi



# 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
<b>Antimikrobni</b>	<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>
<b>Antiinflamatorni</b>	<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 daljnjeg 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>	<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
<b>Nutritivne tvari</b>	- reepitelizacija - stimulacija fagocitoze	-med direktno opskrbljava ranu neophodnim nutrijentima -opskrba glukozom od izuzetne važnosti za zalihi ugljikohidrata epitelnih stanica
<b>Osmolarnost</b>	- 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
<b>Viskoznost</b>	- 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,  $\text{NH}_3$  u netoksični ionizirani oblik  $\text{NH}_4^+$  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!

