

# 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:* **2024-04-25**

*Repository / Repozitorij:*

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



UNIVERSITY OF SPLIT

The logo for 'dabar', featuring a stylized black and red graphic above the word 'dabar' in a bold, lowercase sans-serif font.

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

# **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

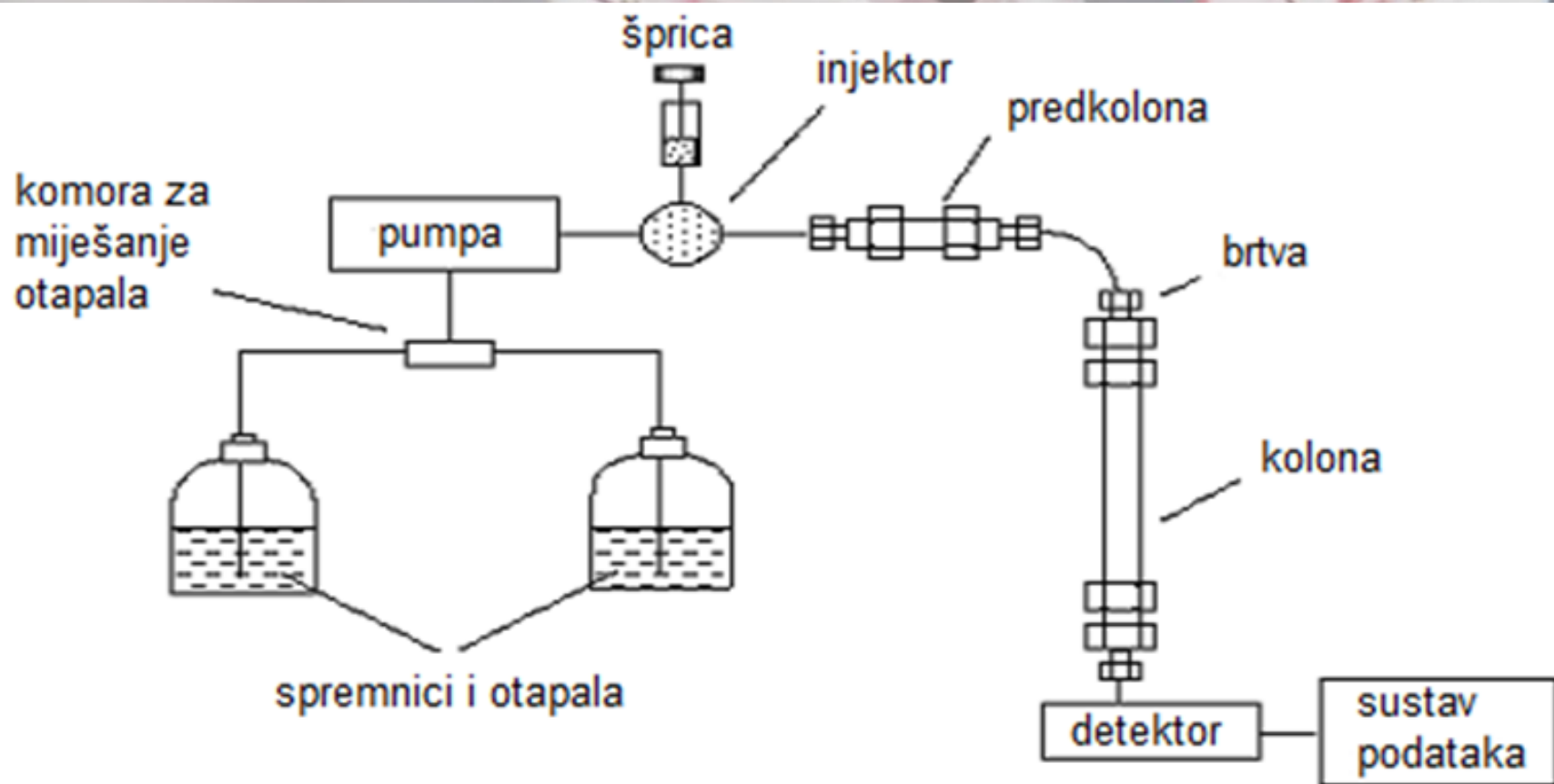
## Metode određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda

### Klasične metode

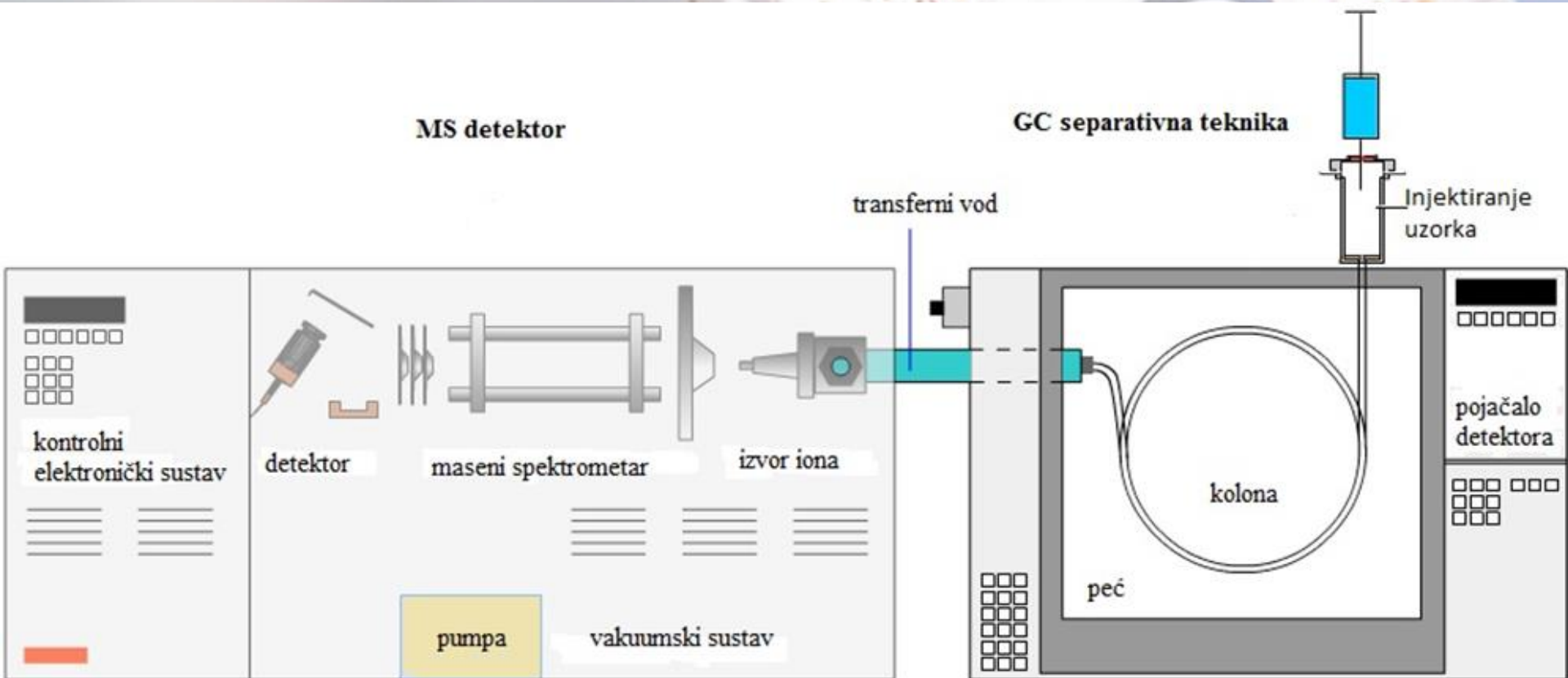
1. Melisopalinologija
2. Fizikalno-kemijska analiza – električna vodljivost, optička aktivnost, kristalizacija, viskoznost, higroskopnost, specifična masa, sastav šećera
3. Organoleptička svojstva
  - boja: svijetlo jantarna
  - okus: mineralan, blago ljut, osebujan, manje sladak
  - miris: po vlažnoj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



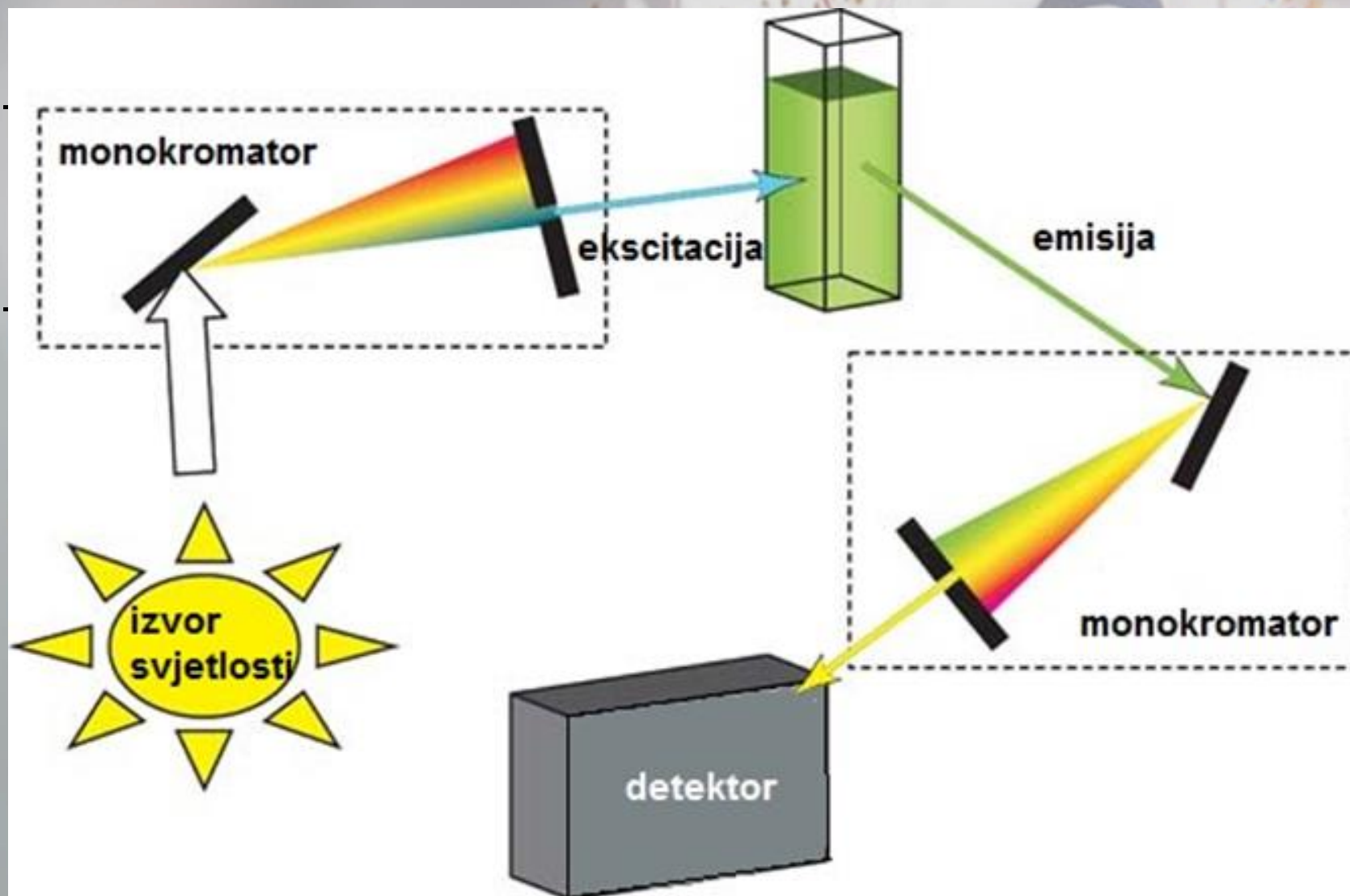
# Suvremene metode



# • GC-MS



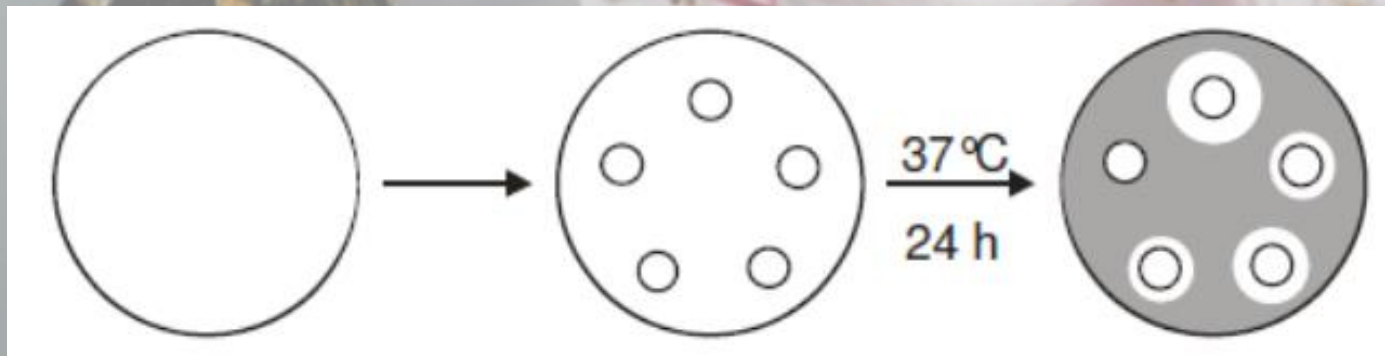
- Fluorescencijska spektrometrija



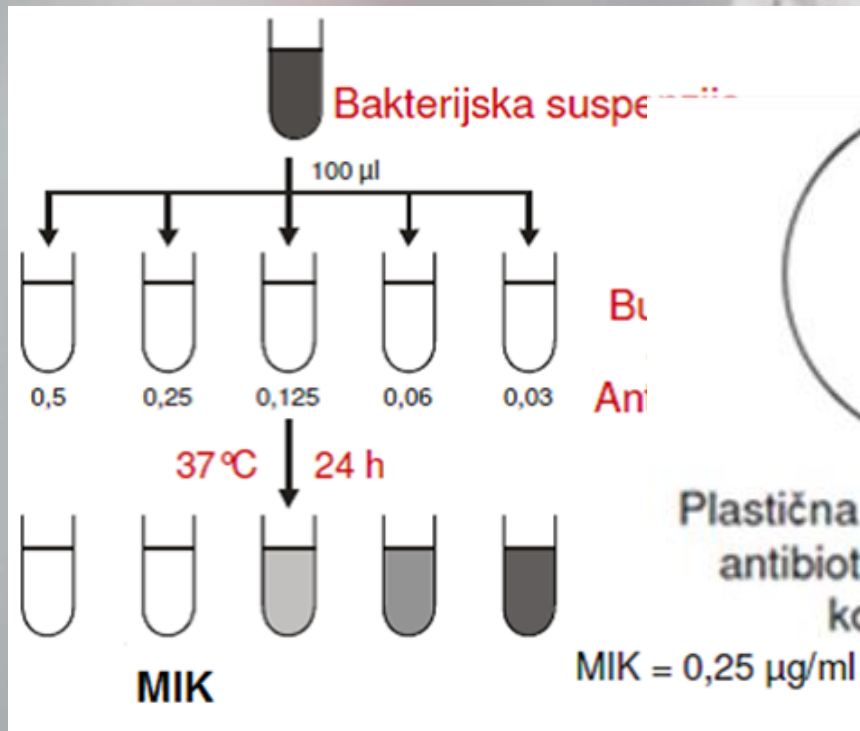


# Metode određivanja antimikrobnog djelovanja meda

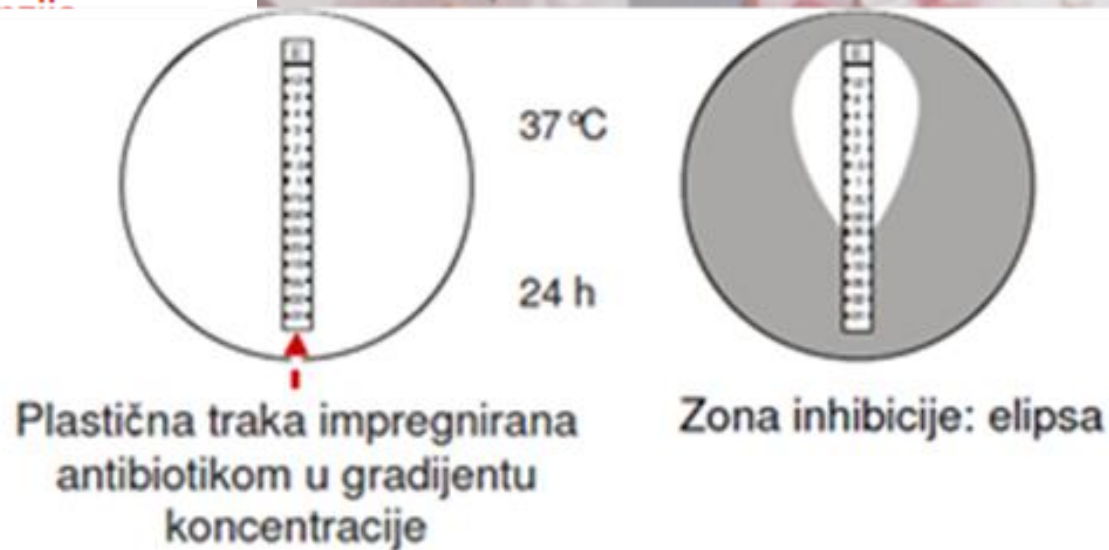
- MIK – najmanja koncentracija tvari koja inhibira rast mikroorganizama *in vitro*
- **Antibiogram**
- **Difuzijska metoda**



## • Metoda dilucije

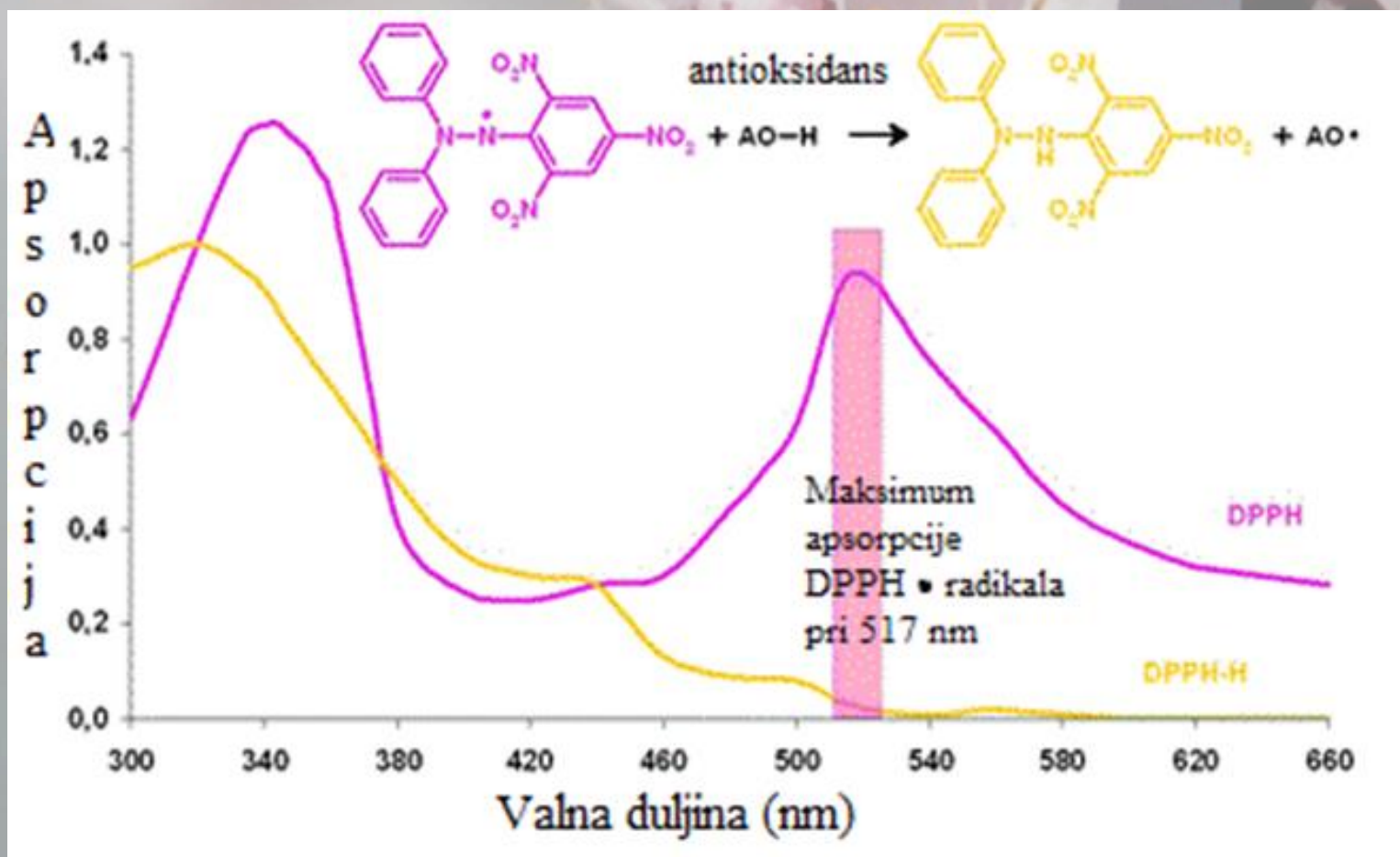


## • E-test



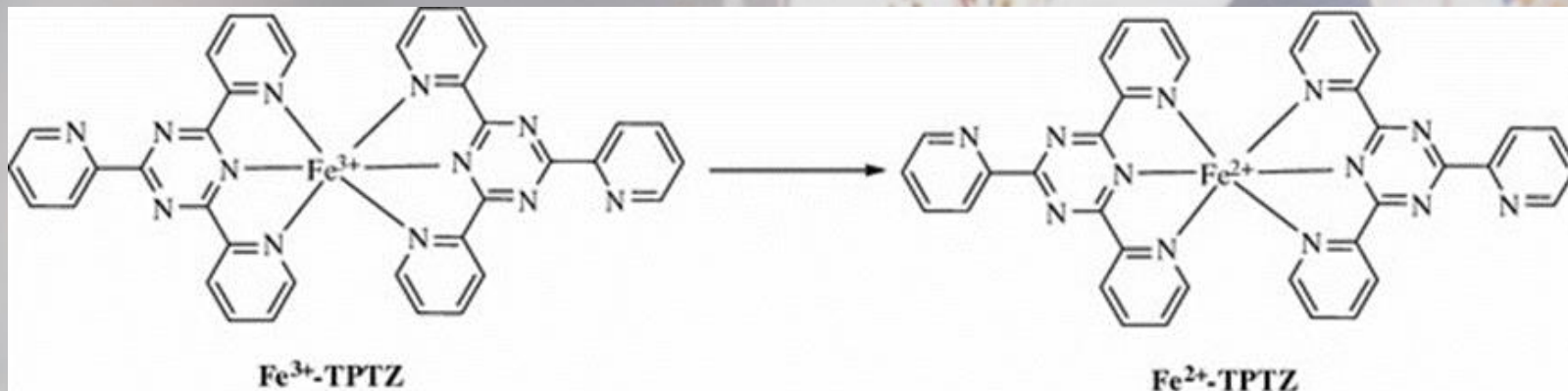
# Metode određivanja antioksidacijskih svojstava meda

- DPPH - metoda

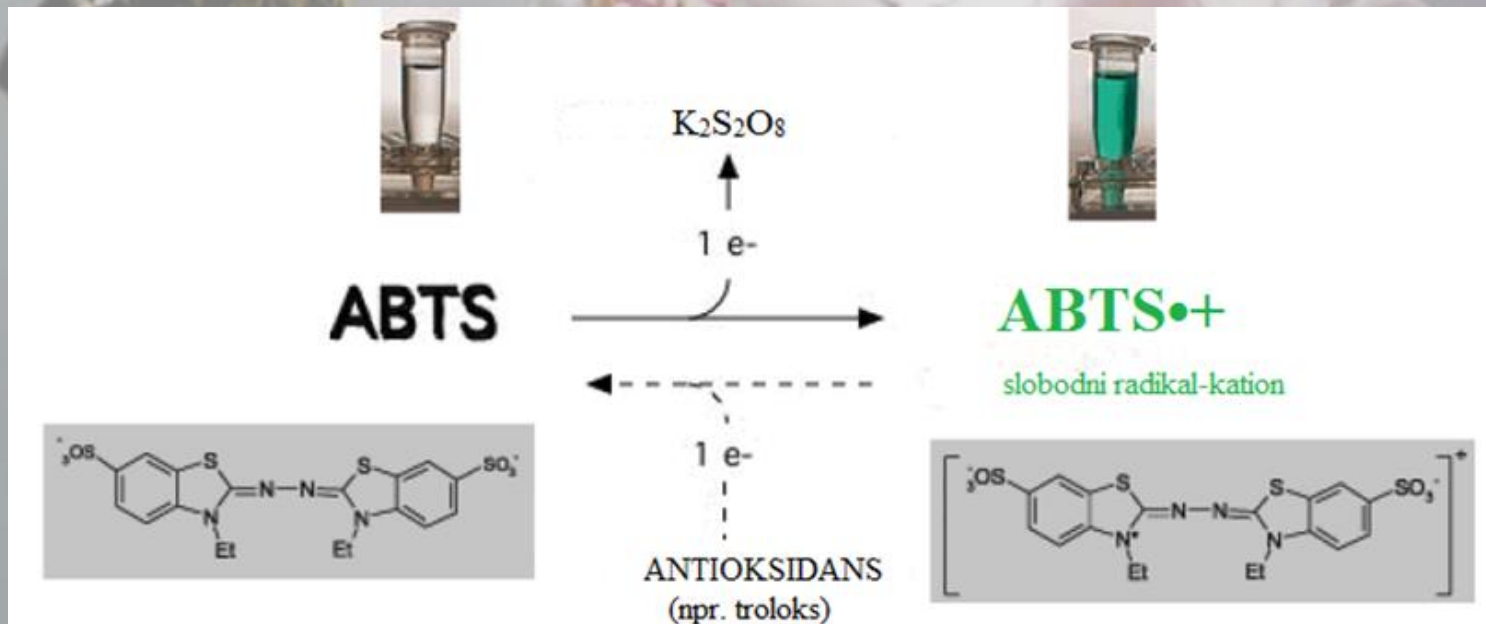




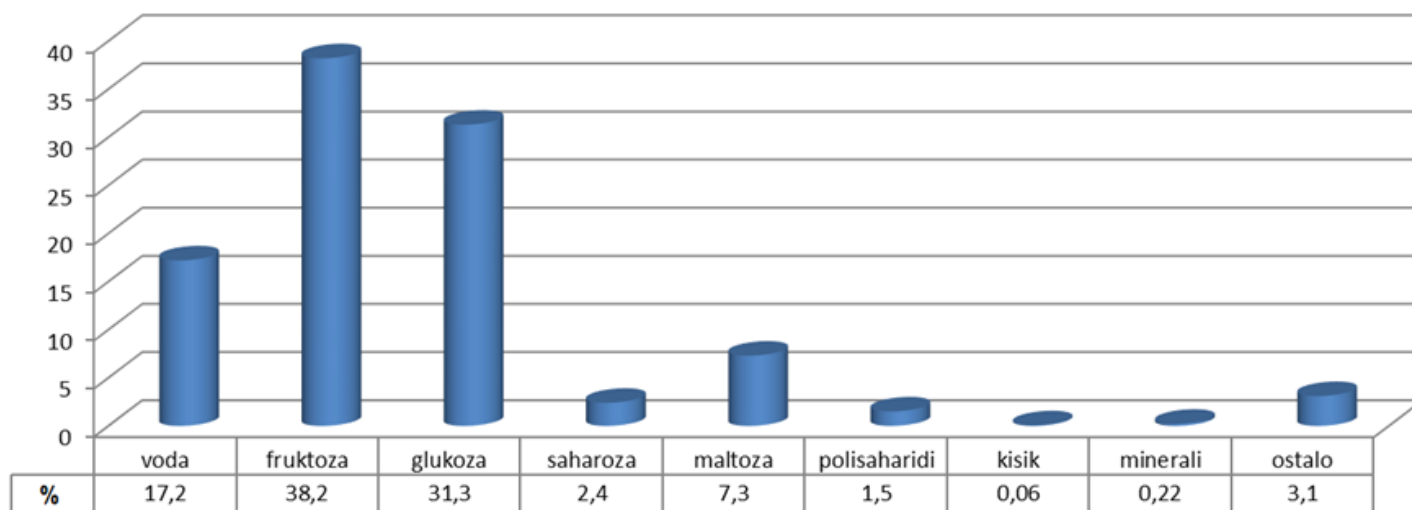
- FRAP metoda



- ABTS metoda



# REZULTATI



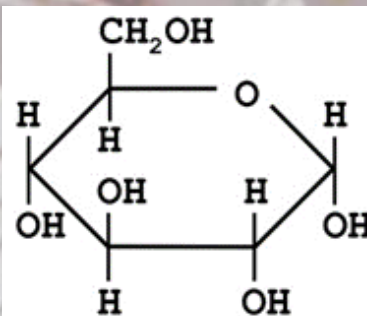
- **Voda** – 17,8 % u manuka medu

- **Ugljikohidrati**

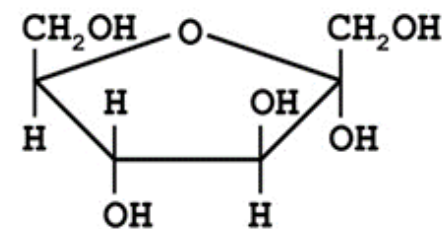
40 % fruktoze

36 % glukoze

u manuka medu



glukoza



fruktoza

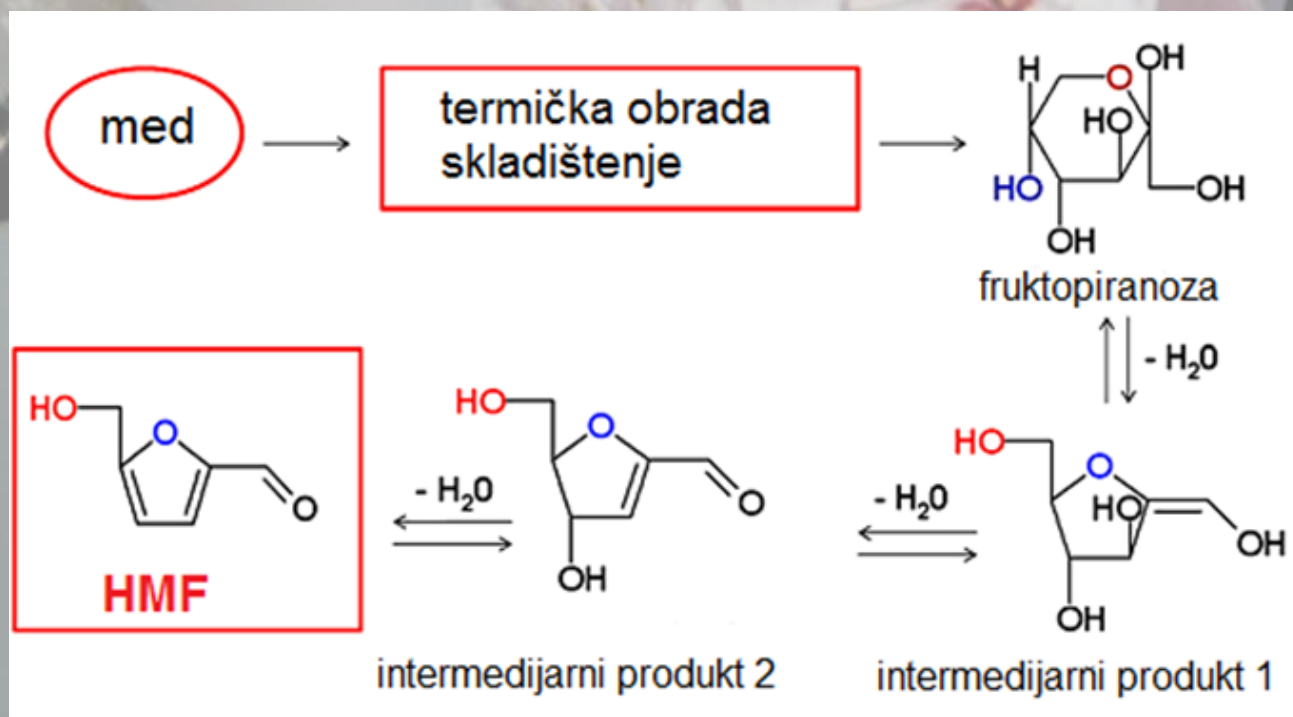
- glukoza – voda, melecitoza, > glukoze, < fruktoze  
→ vjerojatnost kristalizacije meda
- **Aminokiseline** – prolin – 71 % u manuka medu
- **Proteini** - 58 do 786 mg/100g meda

| Enzim            | Podrijetlo     | Temperaturni optimum (°C) | Učinak u medu                                                                |
|------------------|----------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| dijastaza        | pčela          | 40 - 55                   | -razgradnja škroba na maltozu<br>-za određivanje pregrijanog meda            |
| invertaza        | pčela          | 35 - 40                   | -pretvorba saharoze u glukozu i fruktozu<br>-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

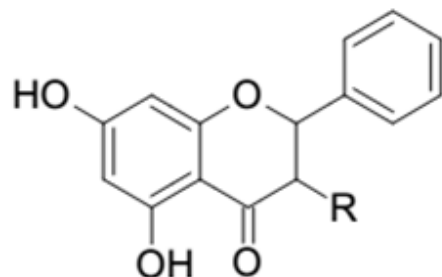
- specifična antioksidacijska aktivnost na superoksid anion radikale

- metil-siringat (MSYR)

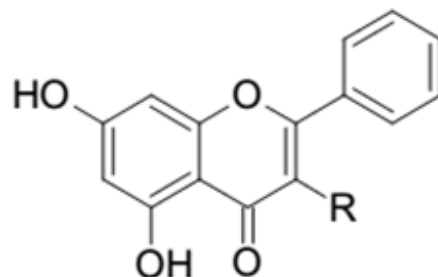
- visok udio polifenola



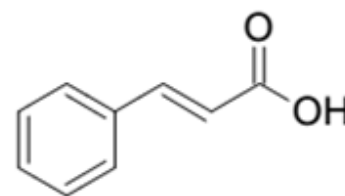
# Polifenoli



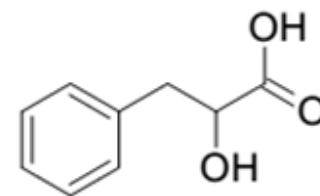
R = H pinocembrin  
R = OH pinobanksin



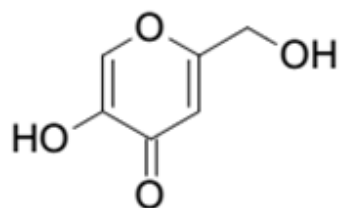
R = H krizin  
R = OH galangin



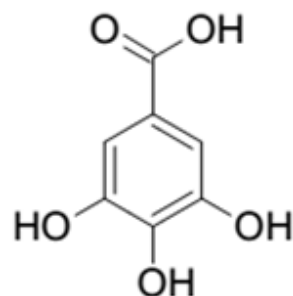
cimetna kiselina



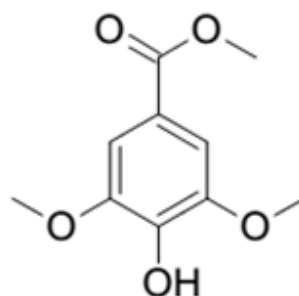
fenilmlječna kiselina



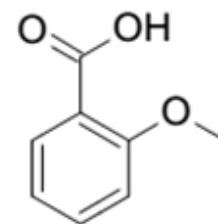
kojična kiselina



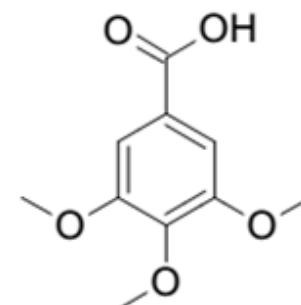
galna kiselina



metil-siringat



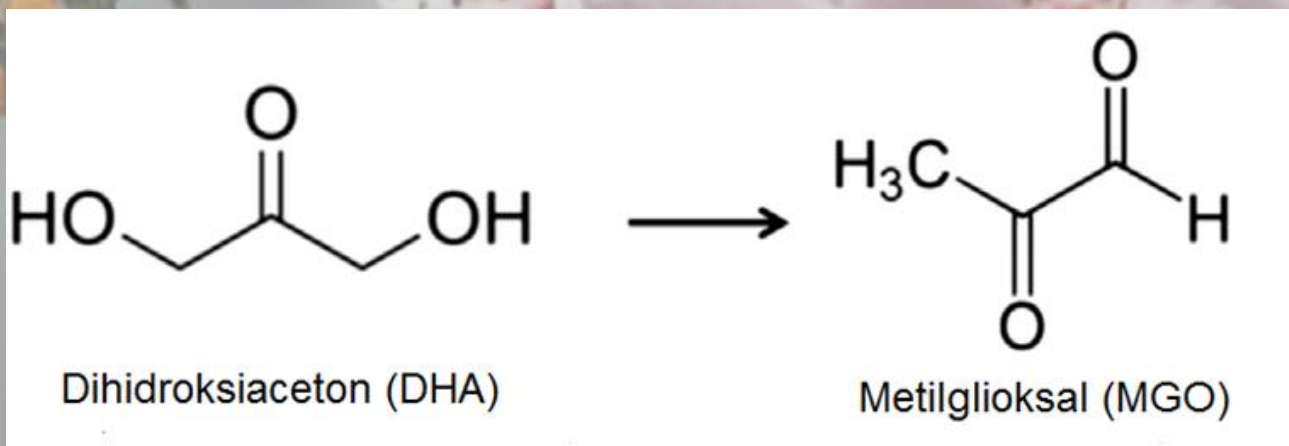
2-metoksibenzojeva  
kiselina



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

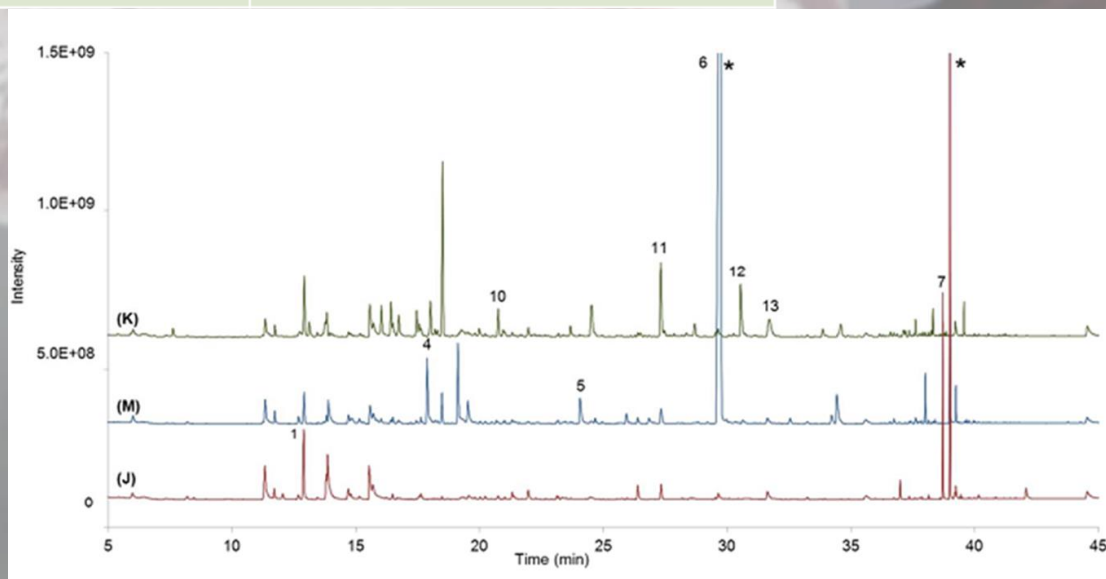




# Cvjetni markeri meda manuke

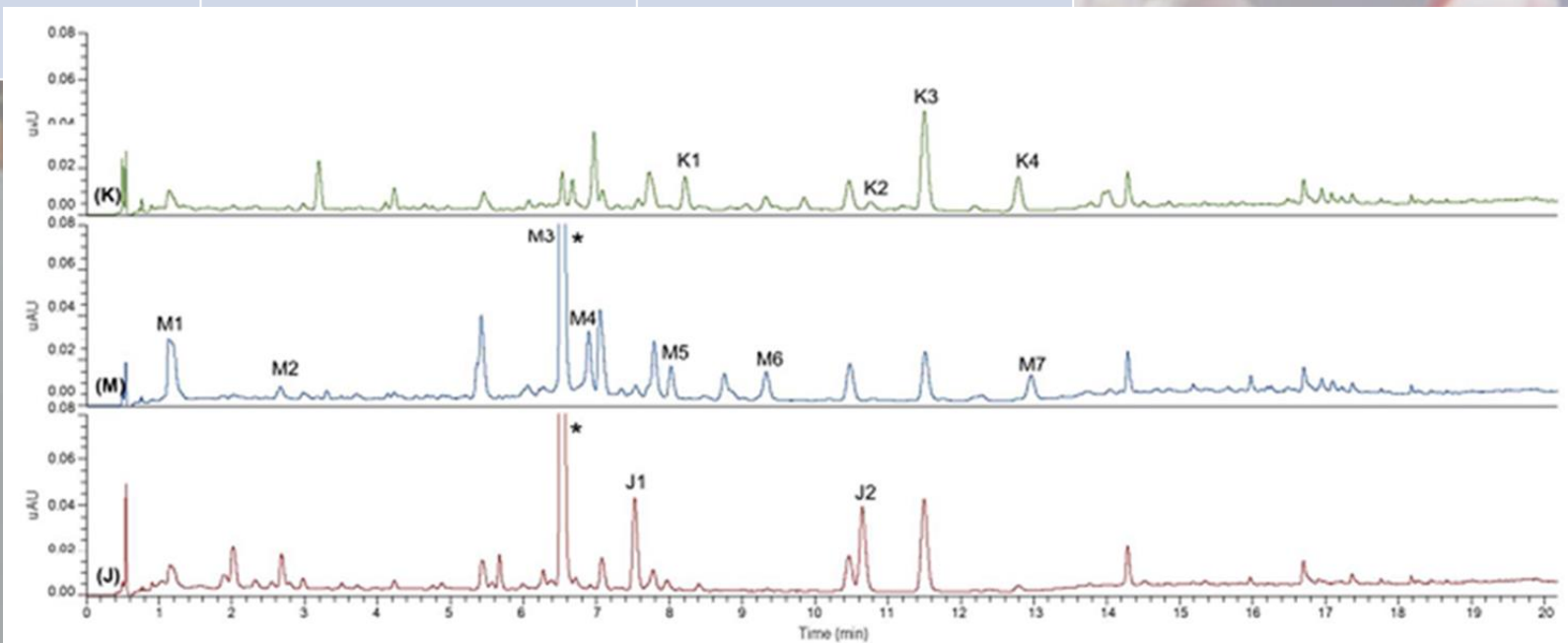
- Hlapljivi spojevi

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

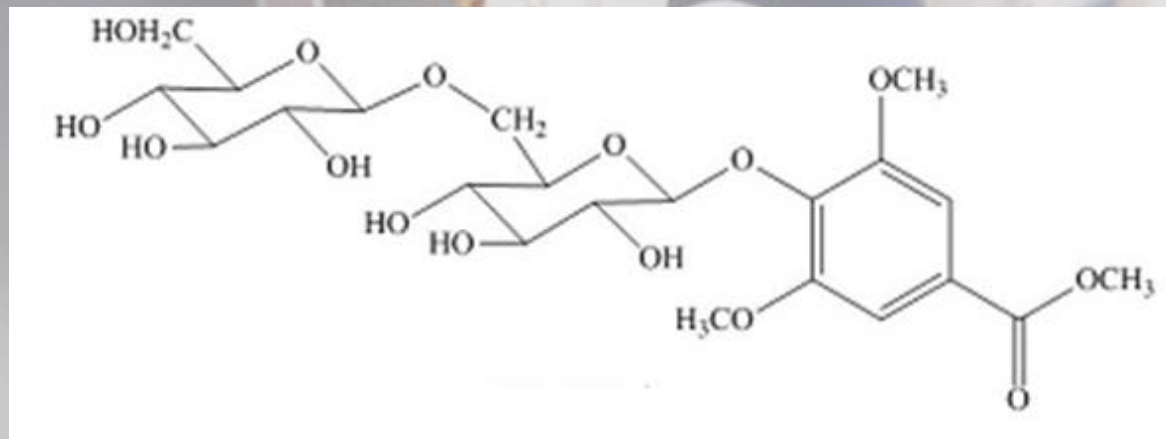


# • Nehlapljivi spojevi

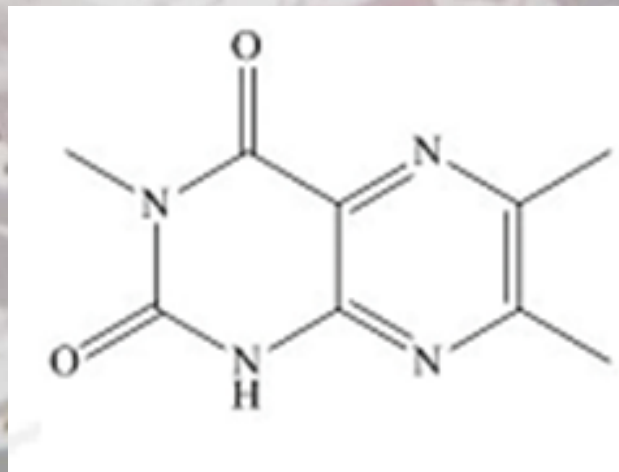
| Manuka med                                                                                                                                                                                                                         | Kanuka med                                                                                               | „Jellybush“ med                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| leptosperin (M3)<br>lepteridin*<br>acetil-2-hidroksi-4-(2-metoksifenil)-4-oksobutanoat (M5)<br>3-hidroksi-1-(2-metoksifenil)-penta-1,4-dion (M6)<br>kojična kiselina (M1)<br>5-metil-3-furankarboksilna kiselina (M2)<br>M4 i M7** | 4-metoksifenilmlječna kiselina (K1)<br>metil-siringat (K3)<br>p-anizinska kiselina (K2)<br>lumikrom (K4) | 2-metoksibenzojeva kiselina (J1)<br>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><br>koagulaza negativni <i>stafilokoki</i><br>meticilin-rezistentni <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)<br><i>Streptococcus agalactiae</i><br><i>Staphylococcus aureus</i><br>koagulaza-negativni <i>Staphylococcus aureus</i> (CONS)<br>hemolitički streptokoki<br><i>Enterococcus</i><br><i>Streptococcus mutans</i><br><i>Streptococcus sobrinus</i><br><i>Actinomyces viscosus</i> | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i><br><i>Acinetobacter baumannii</i><br><i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i><br><i>Proteus mirabilis</i><br><i>Shigella flexneri</i><br><i>Escherichia coli</i><br><i>Enterobacter cloacae</i><br><i>Shigella sonnei</i><br><i>Salmonella typhi</i><br><i>Klebsiella pneumonia</i><br><i>Burkholderia cepacia</i><br><i>Helicobacter pylori</i><br><i>Campylobacter</i> spp.<br><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



A background image featuring a bee on the left, positioned as if it is about to land on or has just landed on a cluster of light pink cherry blossoms. The blossoms are in various stages of opening, with some showing prominent stamens. The overall scene is soft and natural, with a light blue-grey background.

- **Citotoksična aktivnost**

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

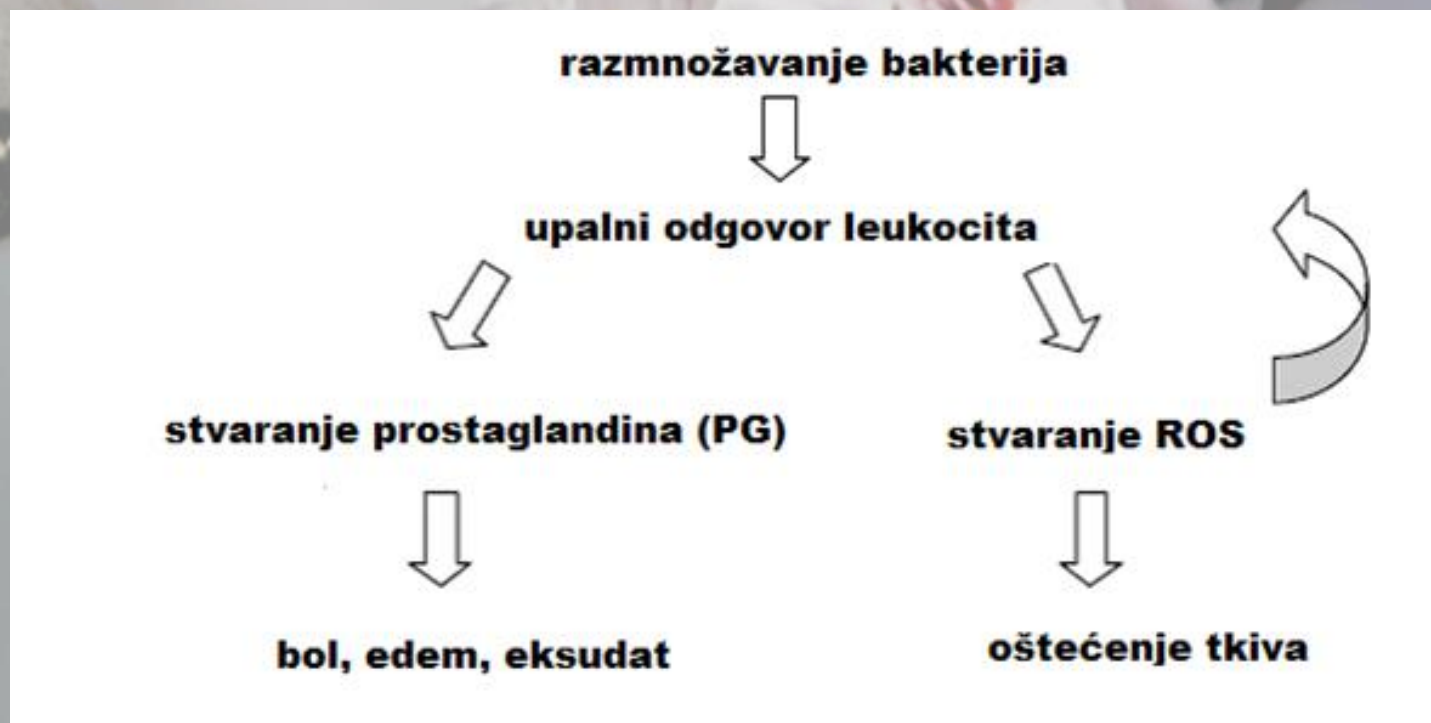
- **Imunostimulacijska aktivnost**

- 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**

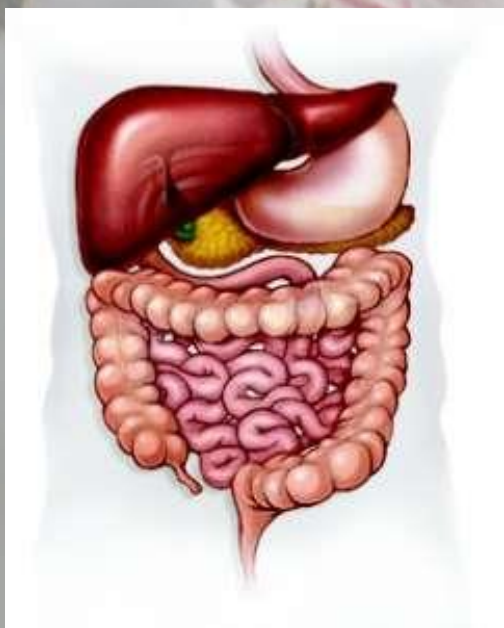
- **gastritis**

- **poboljšanje probave**

- enzimi

- probiotici

- prebiotici



- **Antivirusna aktivnost**

- *Rubella i Herpes virus*

- anti-HIV-1

- influenza

- prehlada

- VZV

- **Antifungalna**

- dermatofiti

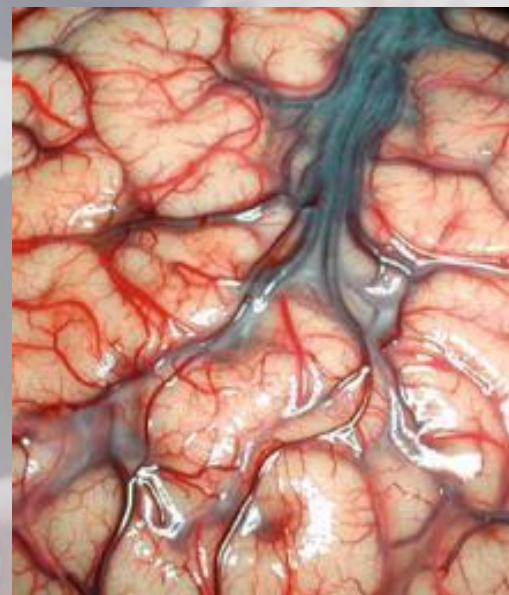
- *Candida albicans*

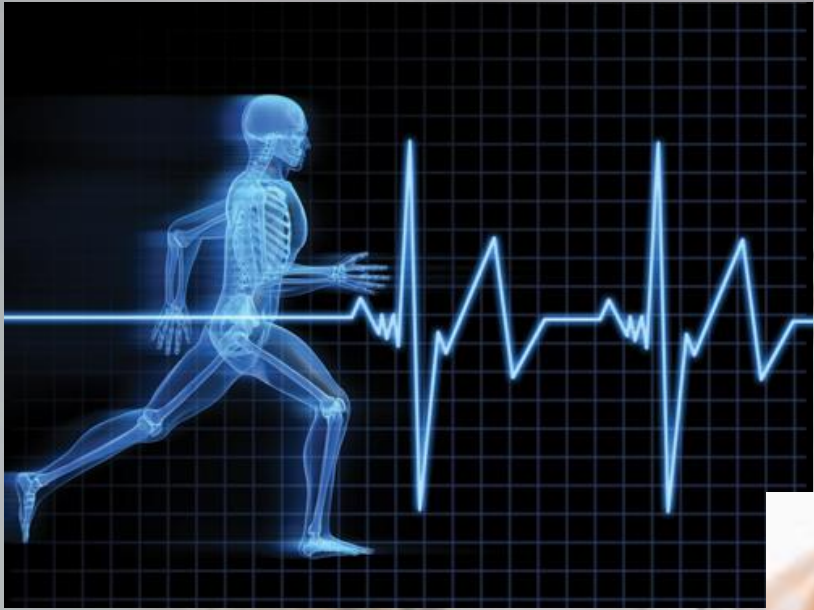
- **Antiparazitska**

- gliste, trakavice, oblići

- kiseli pH









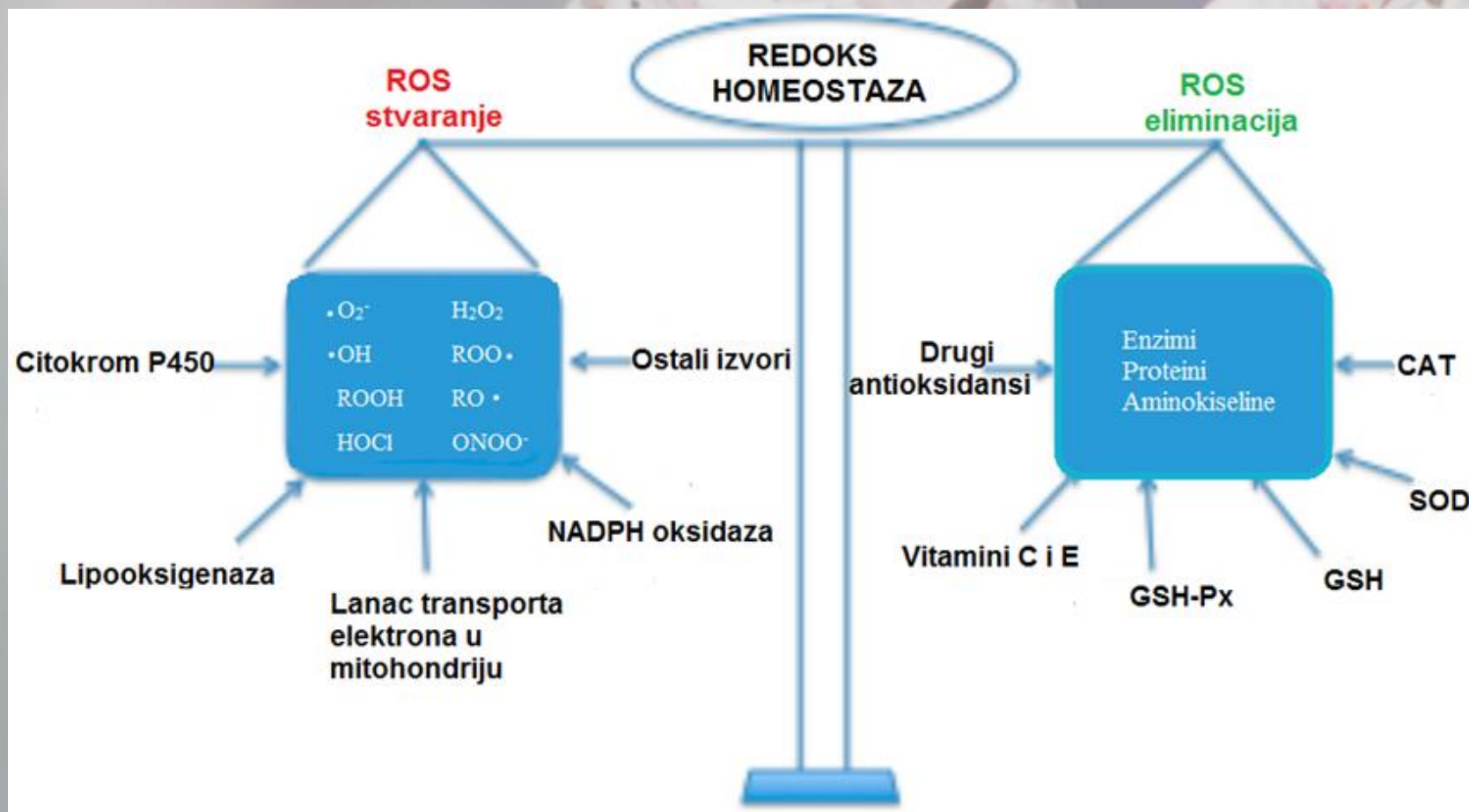
# RASPRAVA

- **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

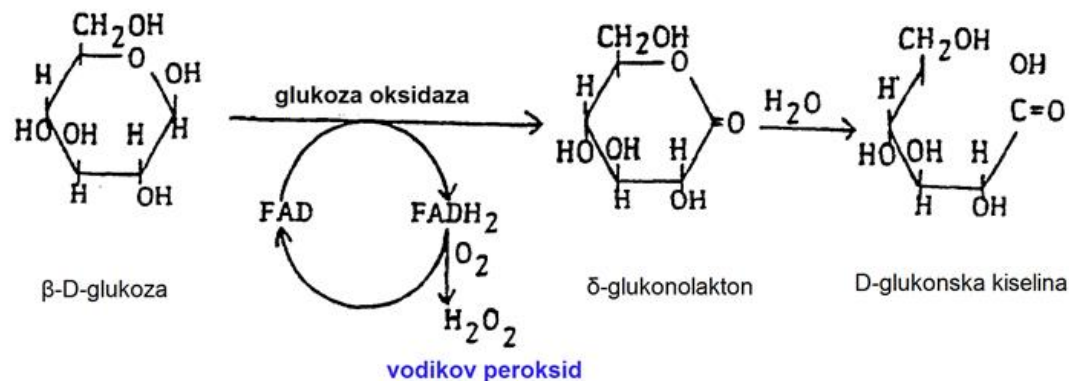


# Mehanizam antioksidacijske aktivnosti



# 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 <math>H_2O_2</math></li><li>- neperoksidna aktivnost MGO i drugih spojeva</li><li>- bakterije prisutne u rani kao izvor energije koriste glukozu</li></ul>                                                                                                                                 |
| <b>Antiinflamatorni</b> | <u>Smanjenje:</u> <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 <math>H_2O_2</math></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> | <u>Stimulira</u> <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> <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>              | - 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 (kiseli spoj meda); prisutna u obliku neutralnog laktone koji sporo konvertira u oblik slobodne kiseline
- pomaže makrofazima u uništavanju bakterija



Hvala na pozornosti!

