

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: **2024-04-18**

Repository / Repozitorij:

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



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



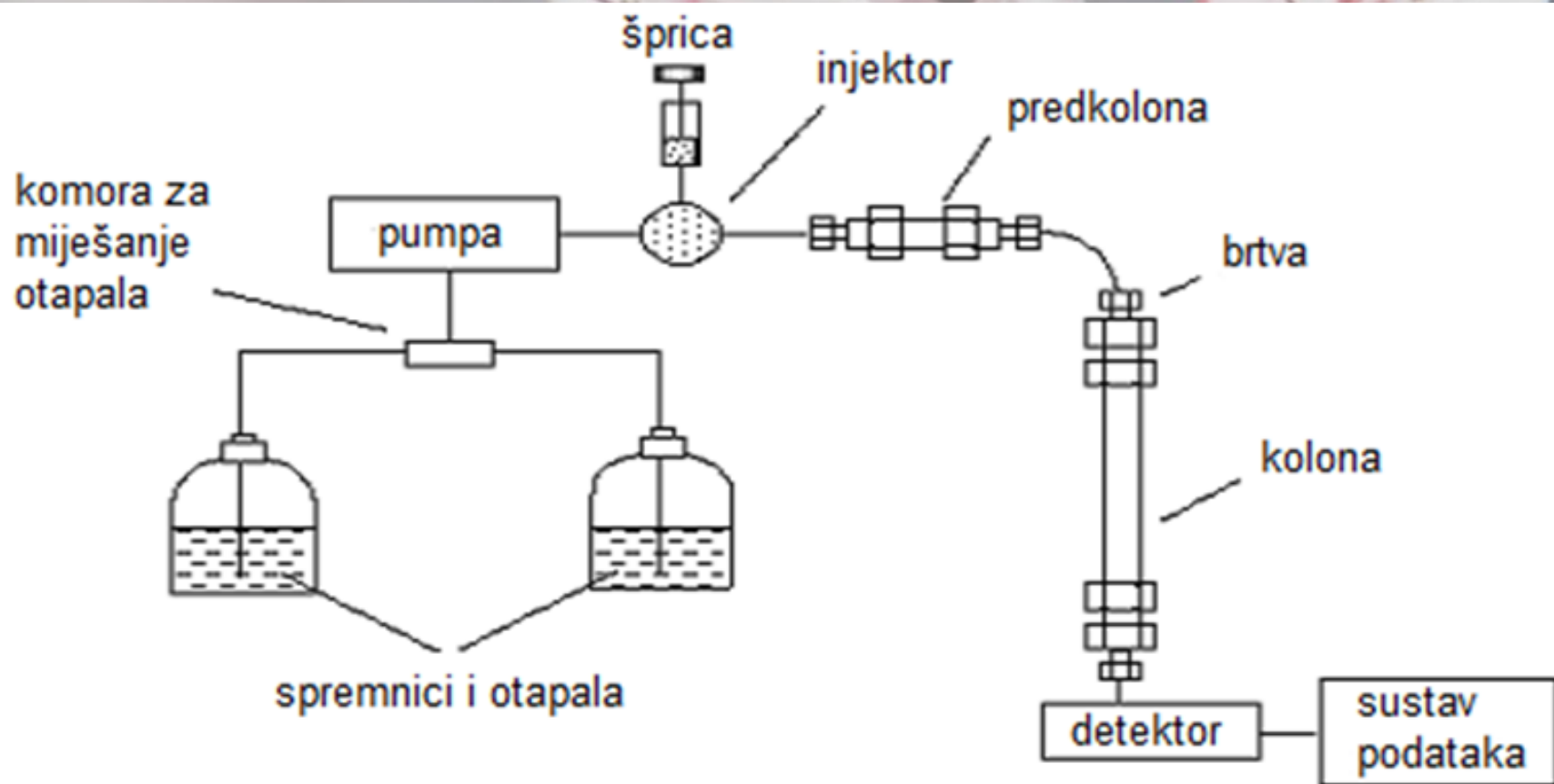
MATERIJALI I METODE

Metode određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda

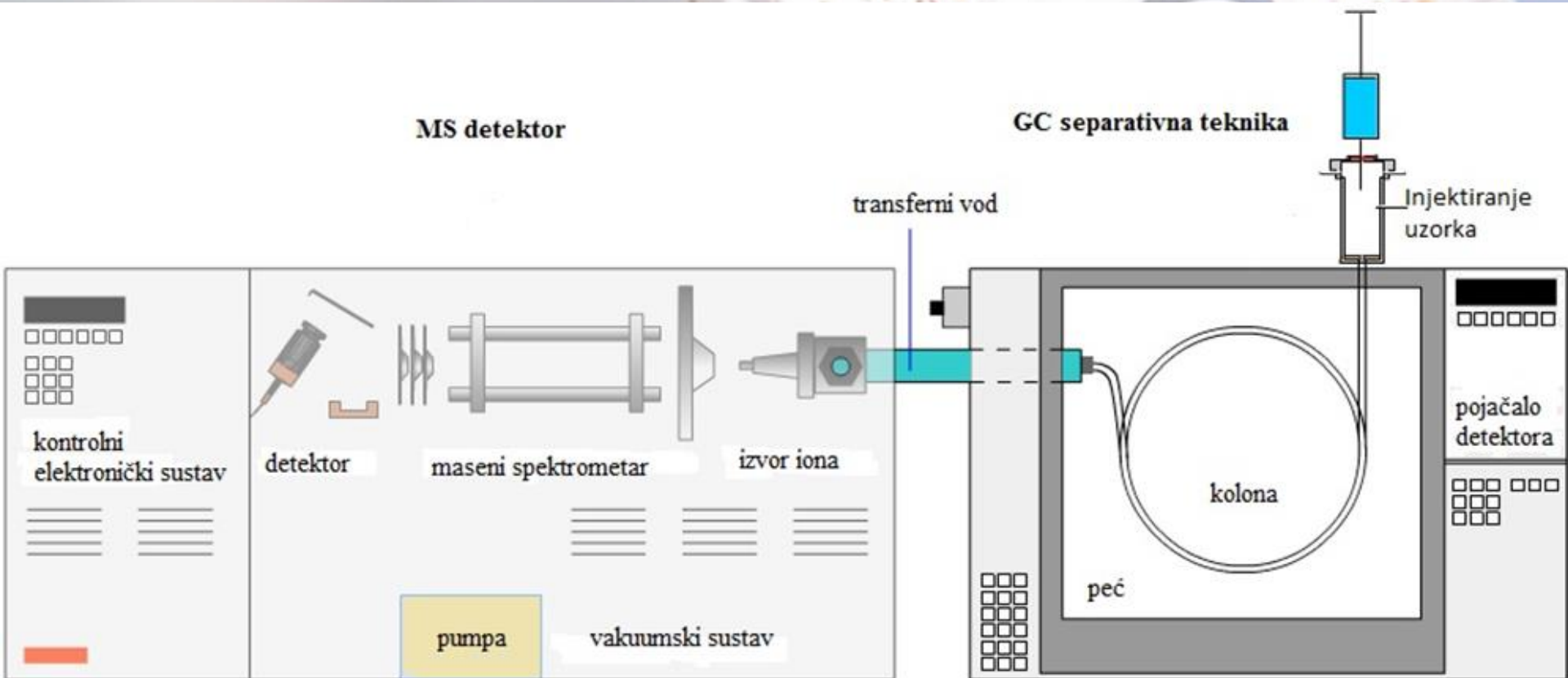
Klasične metode

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

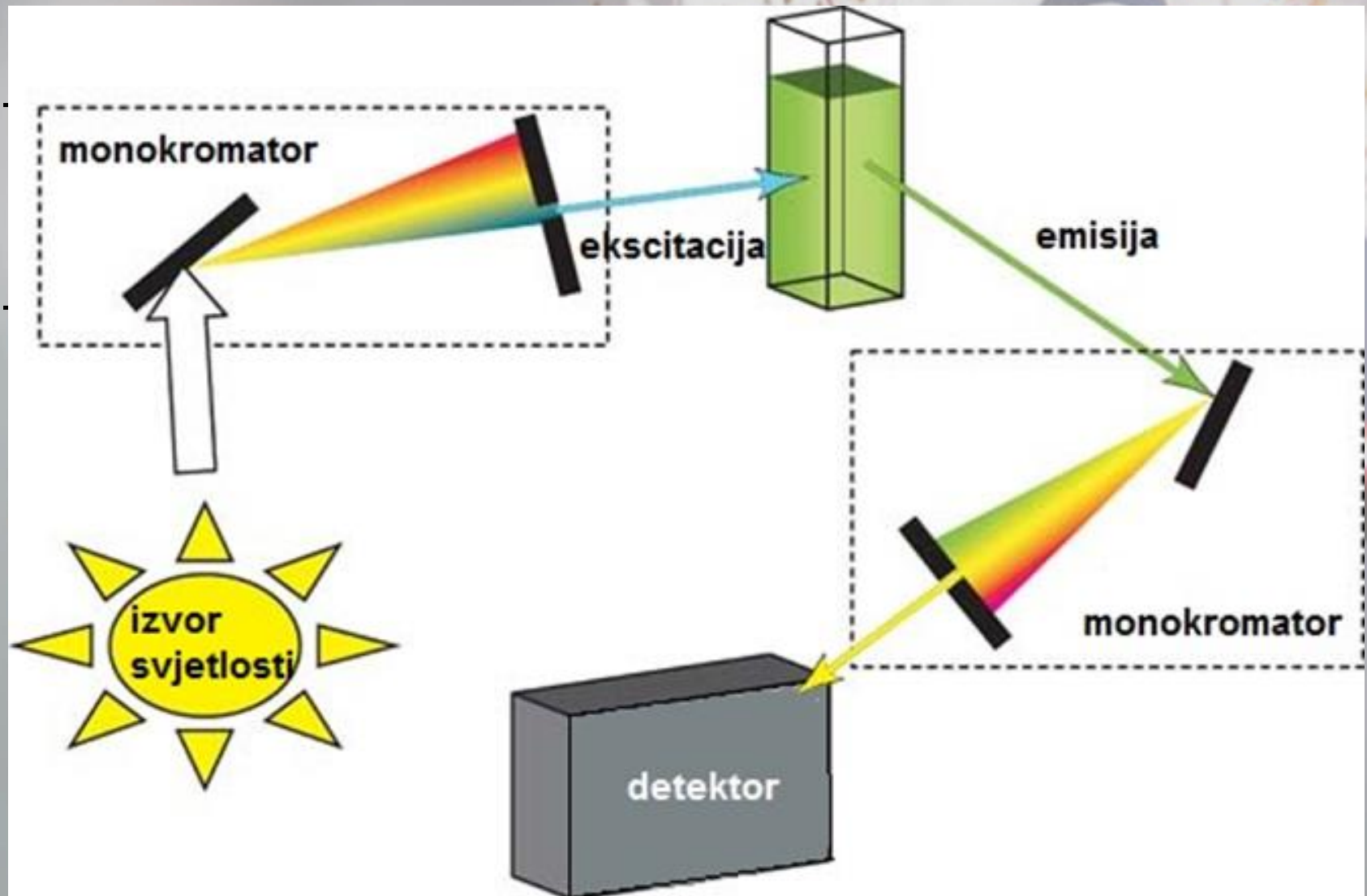
Suvremene metode



• GC-MS

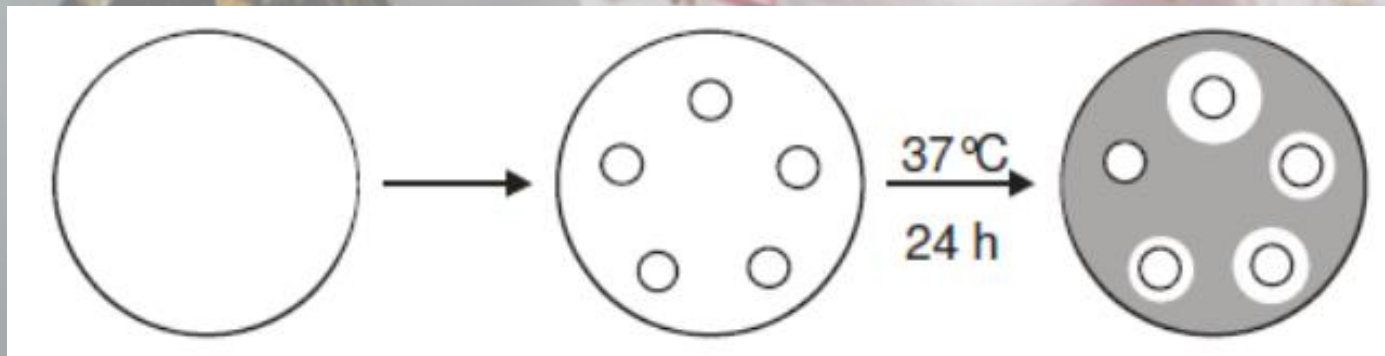


- Fluorescencijska spektrometrija

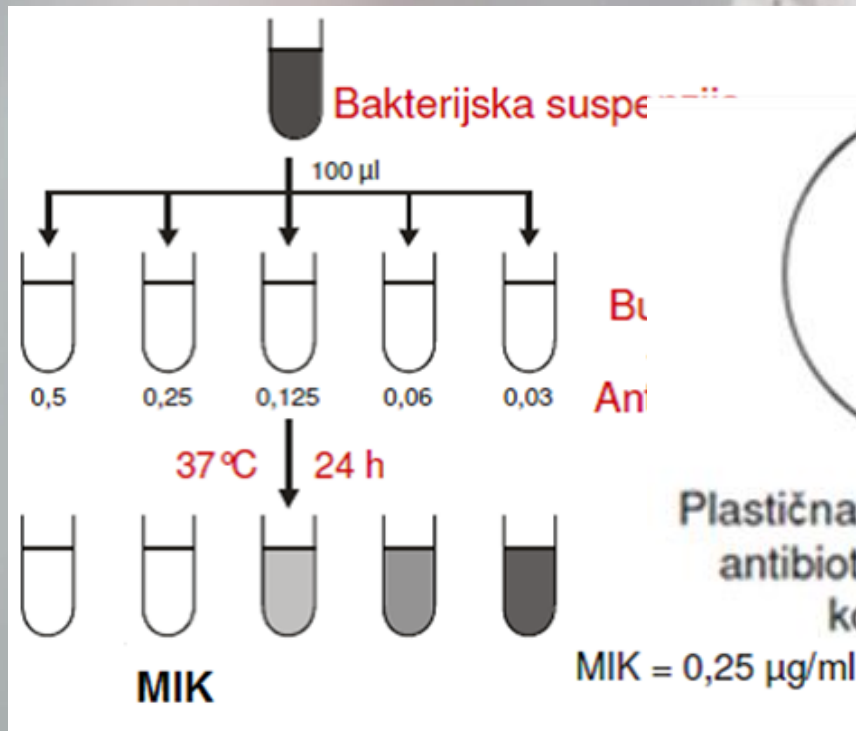


Metode određivanja antimikrobnog djelovanja meda

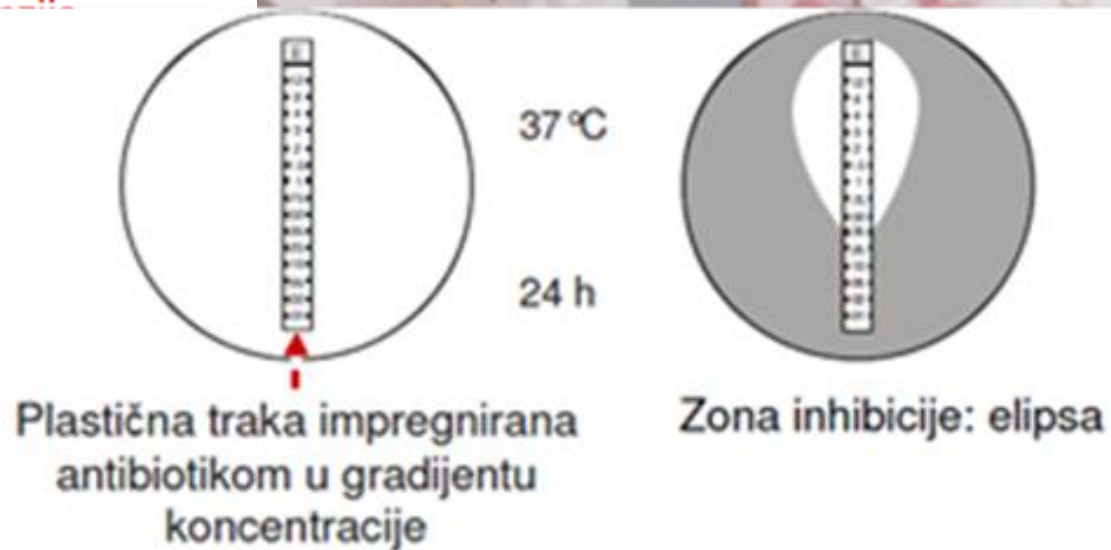
- MIK – najmanja koncentracija tvari koja inhibira rast mikroorganizama *in vitro*
- **Antibiogram**
- **Difuzijska metoda**



• Metoda dilucije

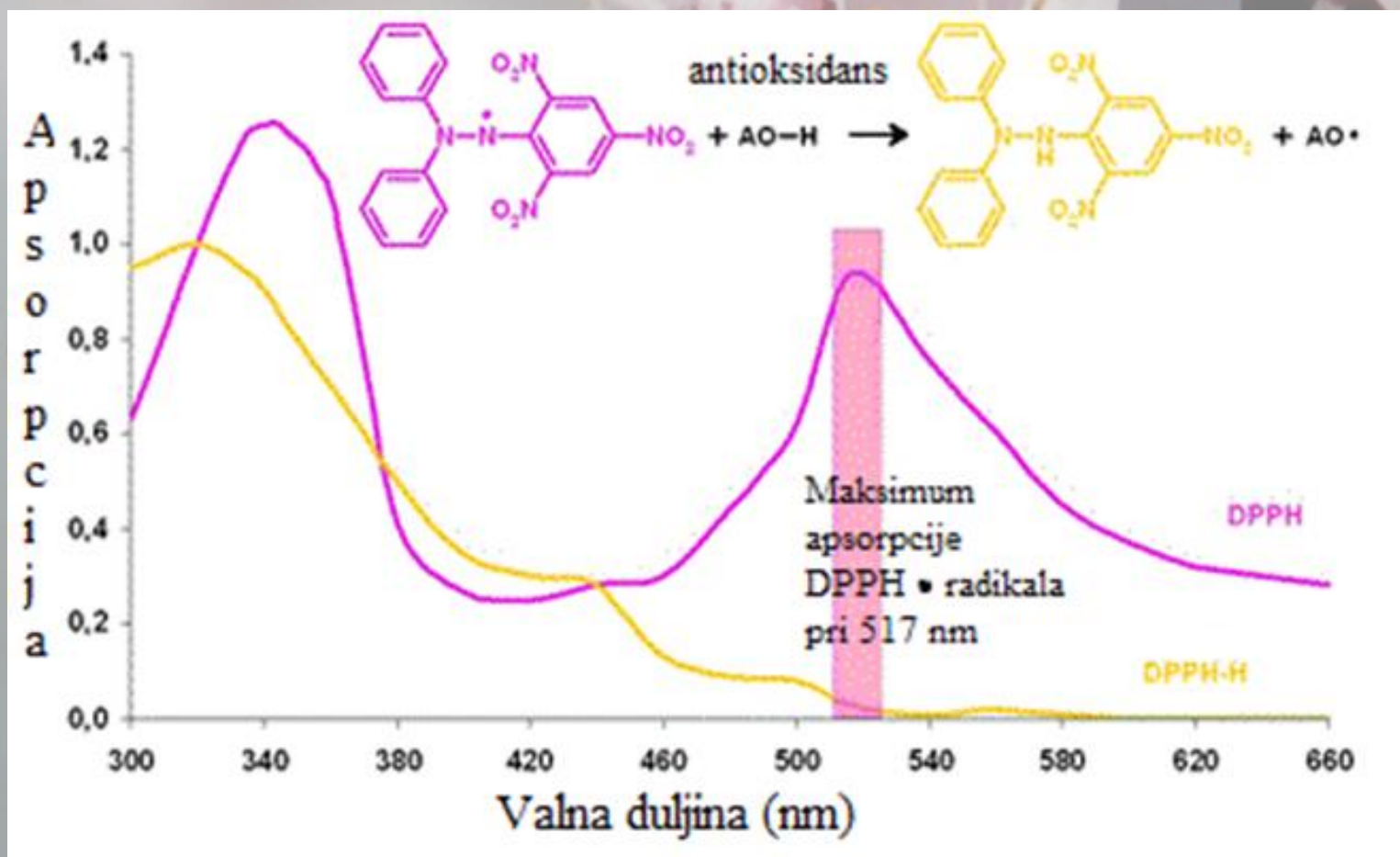


• E-test

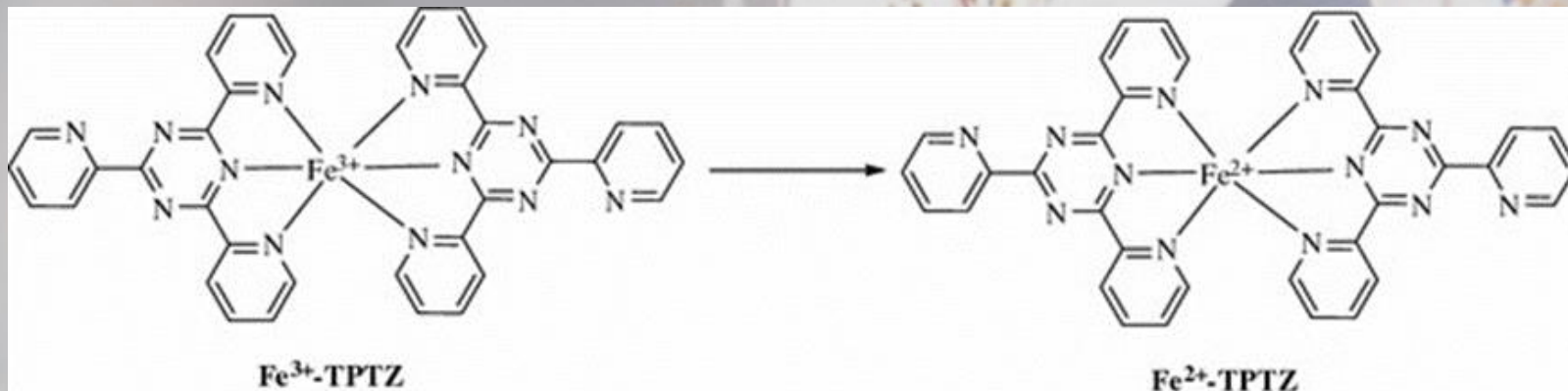


Metode određivanja antioksidacijskih svojstava meda

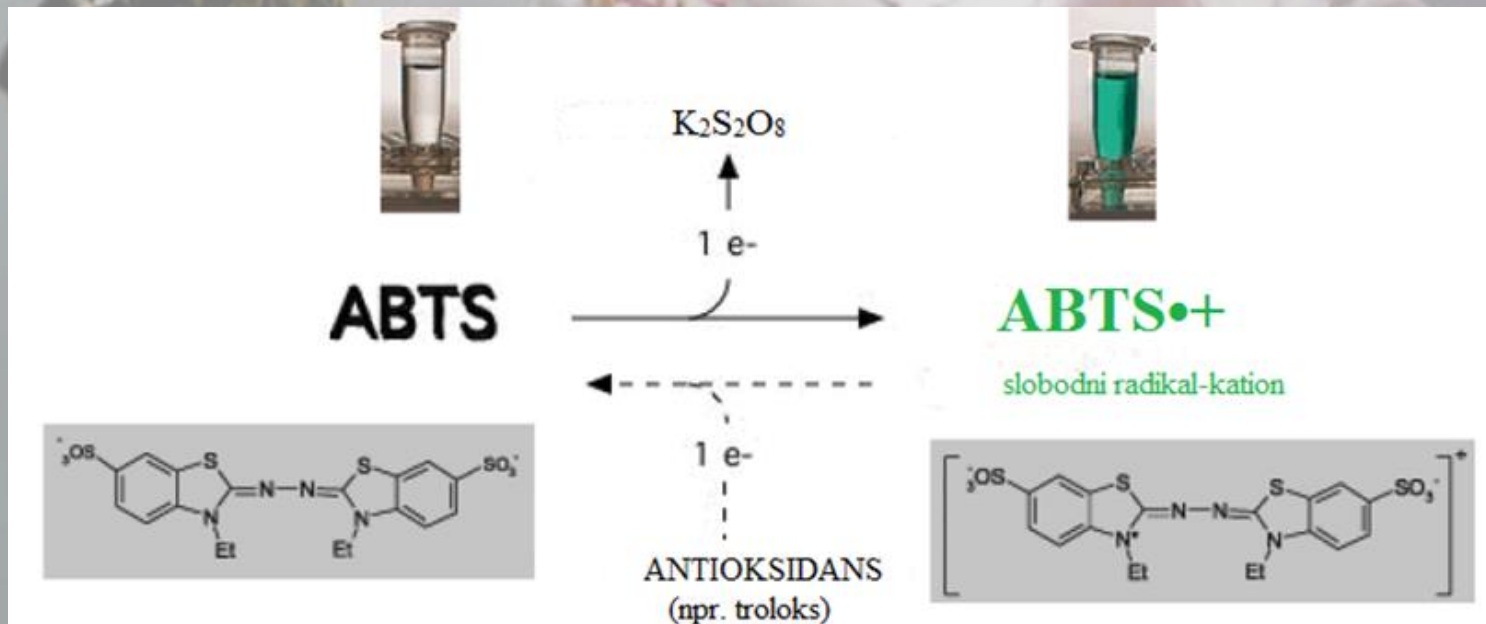
- DPPH - metoda



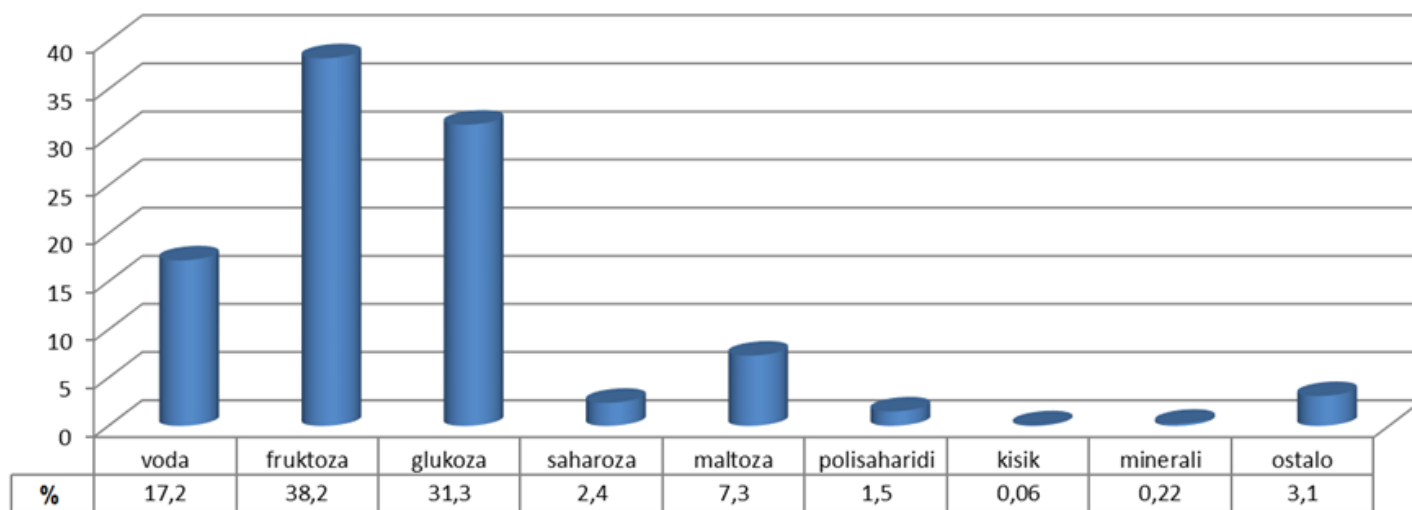
- FRAP metoda



- ABTS metoda



REZULTATI



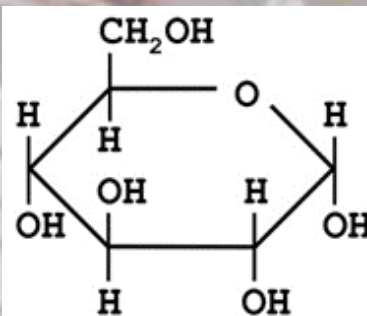
- **Voda** – 17,8 % u manuka medu

- **Ugljikohidrati**

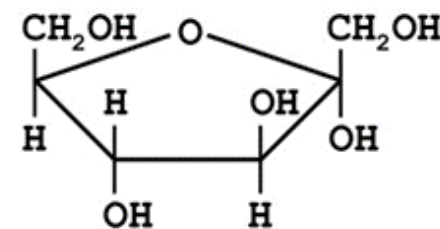
40 % fruktoze

36 % glukoze

u manuka medu



glukoza



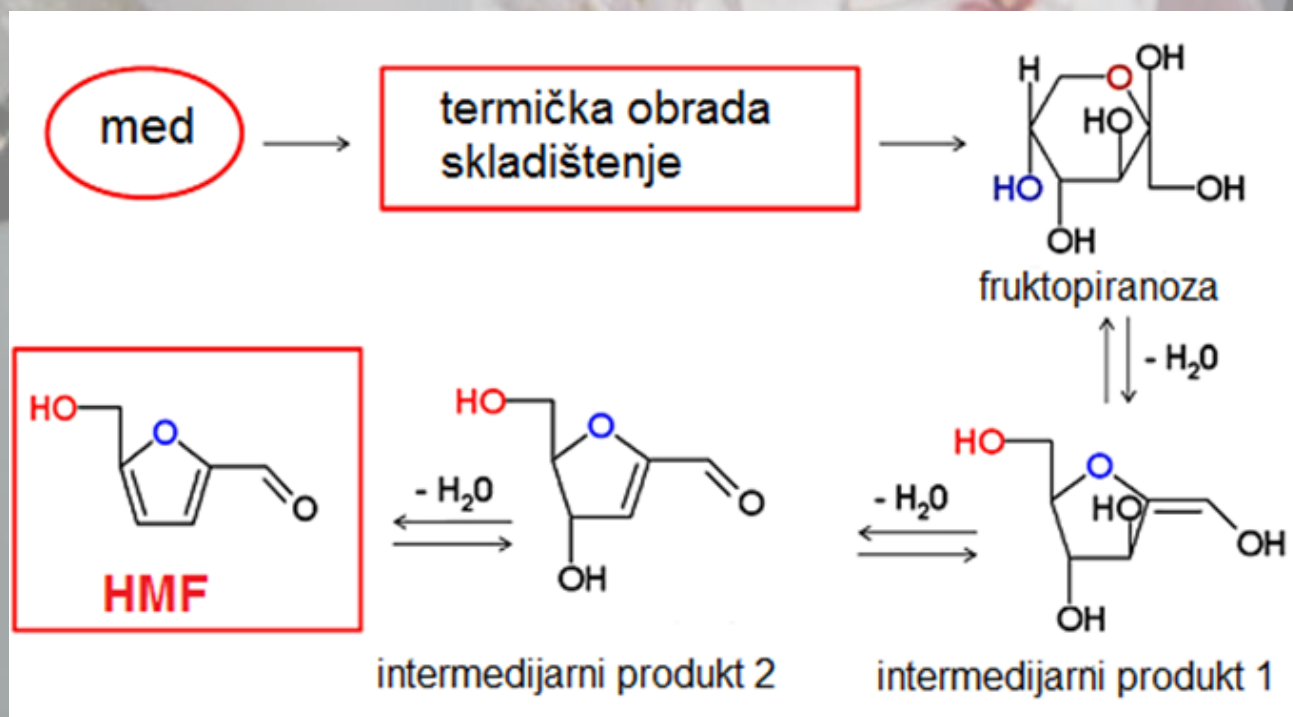
fruktoza

- 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 -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

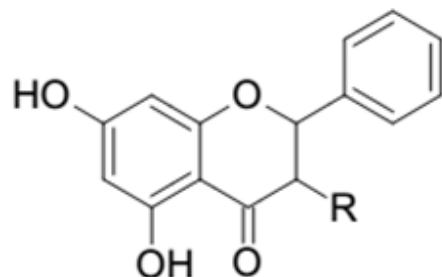
- specifična antioksidacijska aktivnost na superoksid anion radikale

- metil-siringat (MSYR)

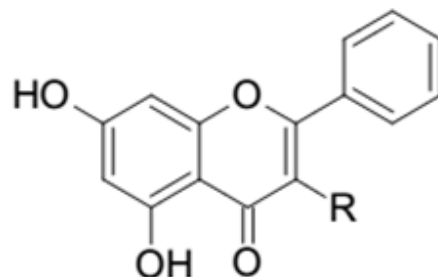
- visok udio polifenola



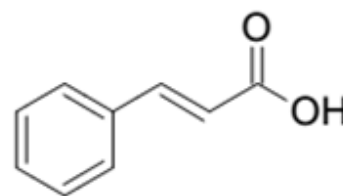
Polifenoli



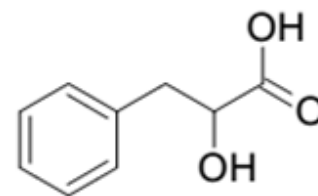
R = H pinocembrin
R = OH pinobanksin



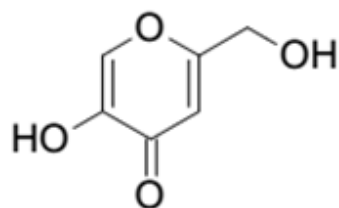
R = H krizin
R = OH galangin



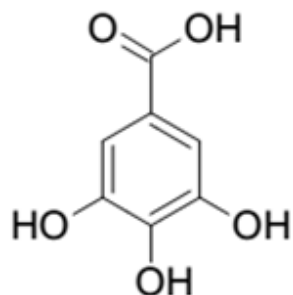
cimetna kiselina



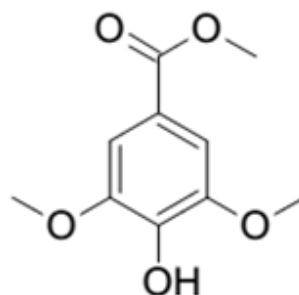
fenilmlječna kiselina



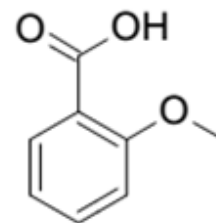
kojična kiselina



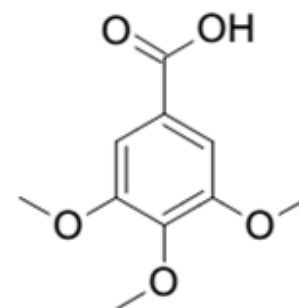
galna kiselina



metil-siringat



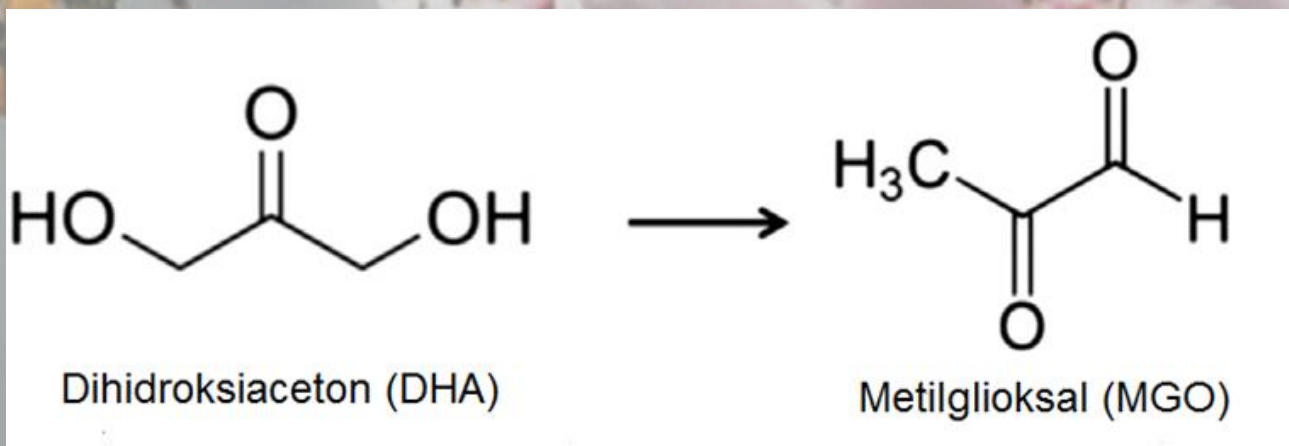
2-metoksibenzojeva
kiselina



3,4,5-trimetoksibenzojeva
kiselina

1,2-Dikarbonilni spojevi

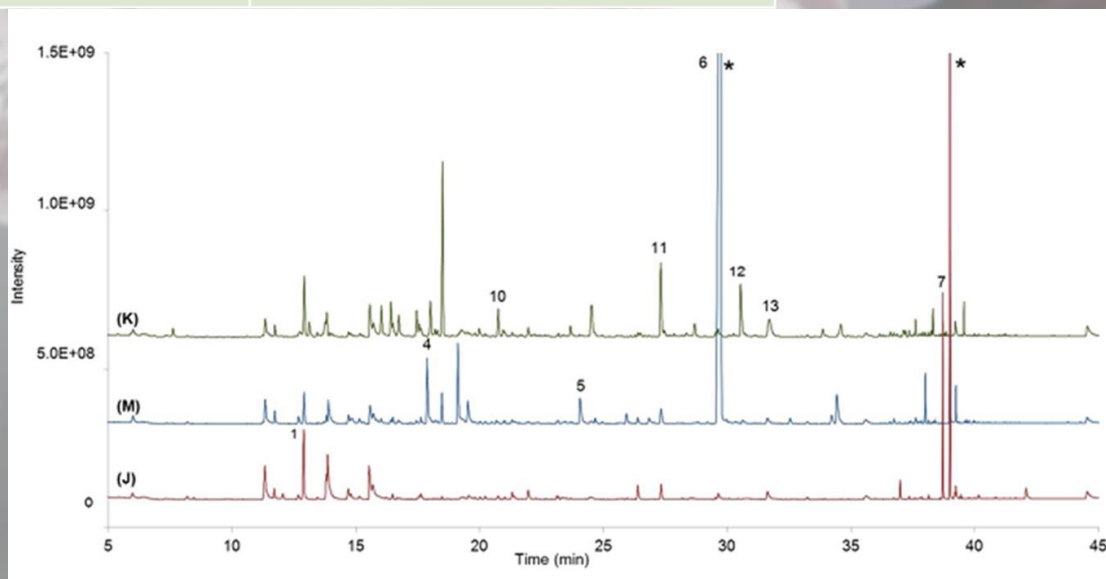
- glioksal (GO), 3-deoksiglukozon (3-DG), metilglioksal (MGO)
- neperoksidna antibakterijska aktivnost
- MGO od 38 do 828 mg/kg u manuka medu



Cvjetni markeri meda manuke

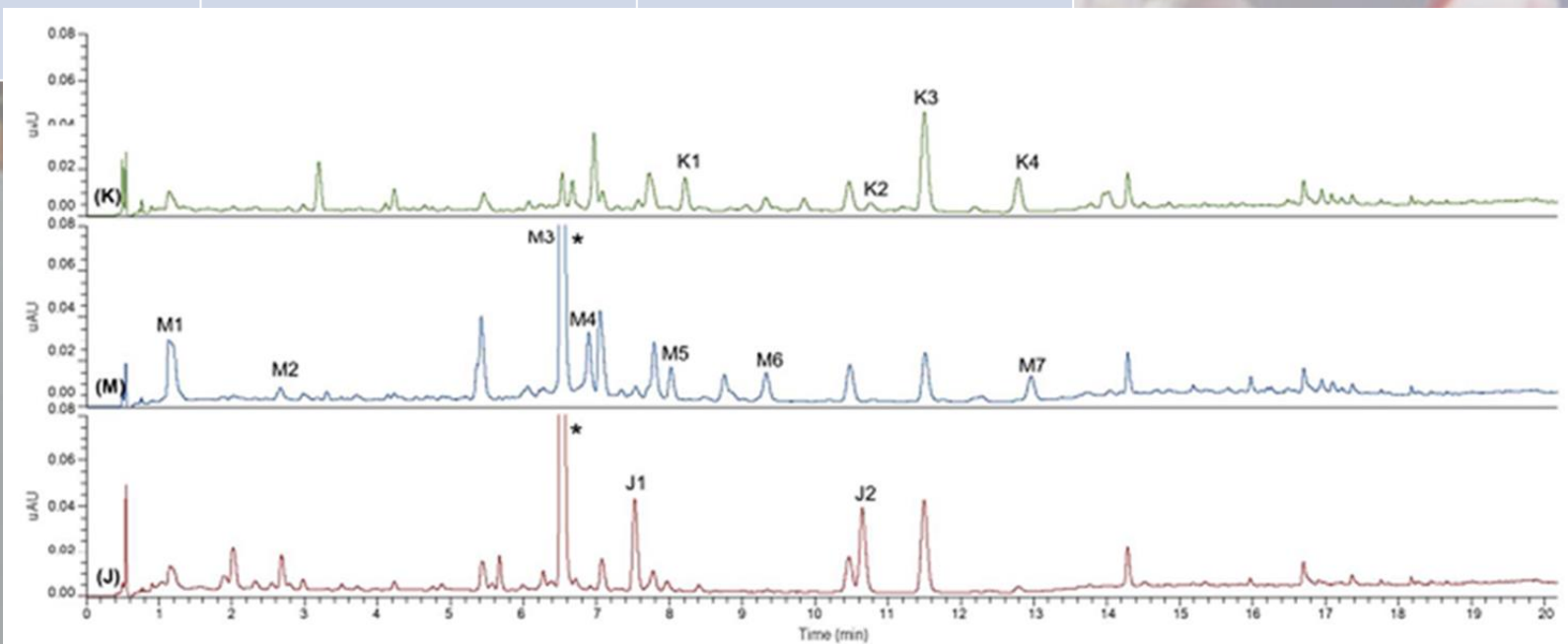
- Hlapljivi spojevi

Manuka med (<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)

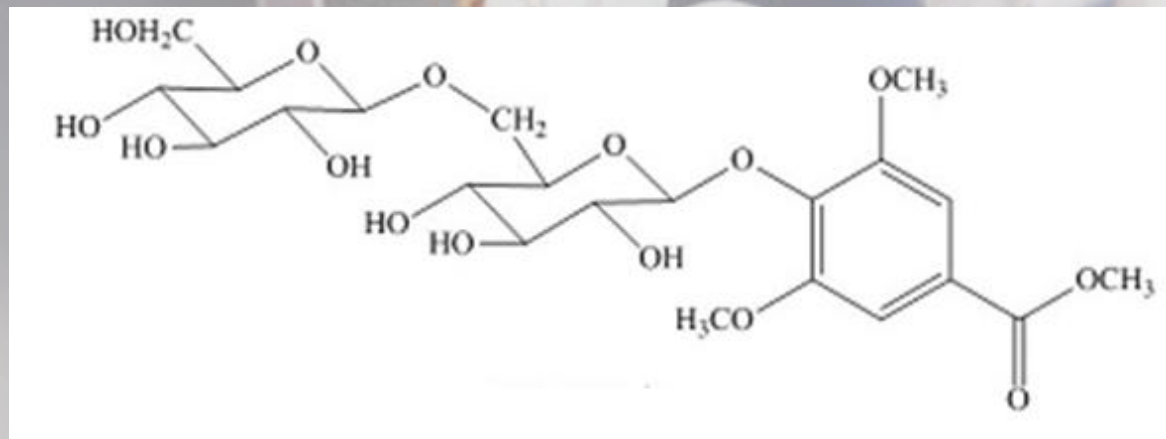


• Nehlapljivi spojevi

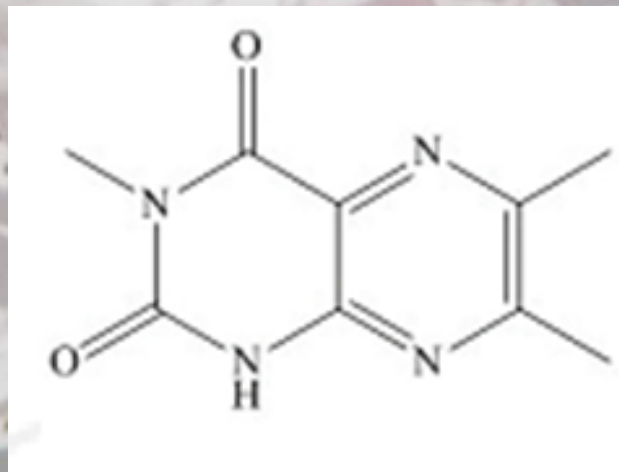
Manuka med	Kanuka med	„Jellybush” med
leptosperin (M3) lepteridin* acetil-2-hidroksi-4-(2-metoksifenil)-4-oksobutanoat (M5) 3-hidroksi-1-(2-metoksifenil)-penta-1,4-dion (M6) kojična kiselina (M1) 5-metil-3-furankarboksilna kiselina (M2) M4 i M7**	4-metoksifenilmlječna kiselina (K1) metil-siringat (K3)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



The background of the slide features a soft-focus photograph of a bee on a branch with light pink cherry blossoms. The bee is positioned on the left side, facing right, with its wings slightly spread. The blossoms are in various stages of opening, with some showing prominent stamens. The overall tone is light and natural.

- **Citotoksična aktivnost**

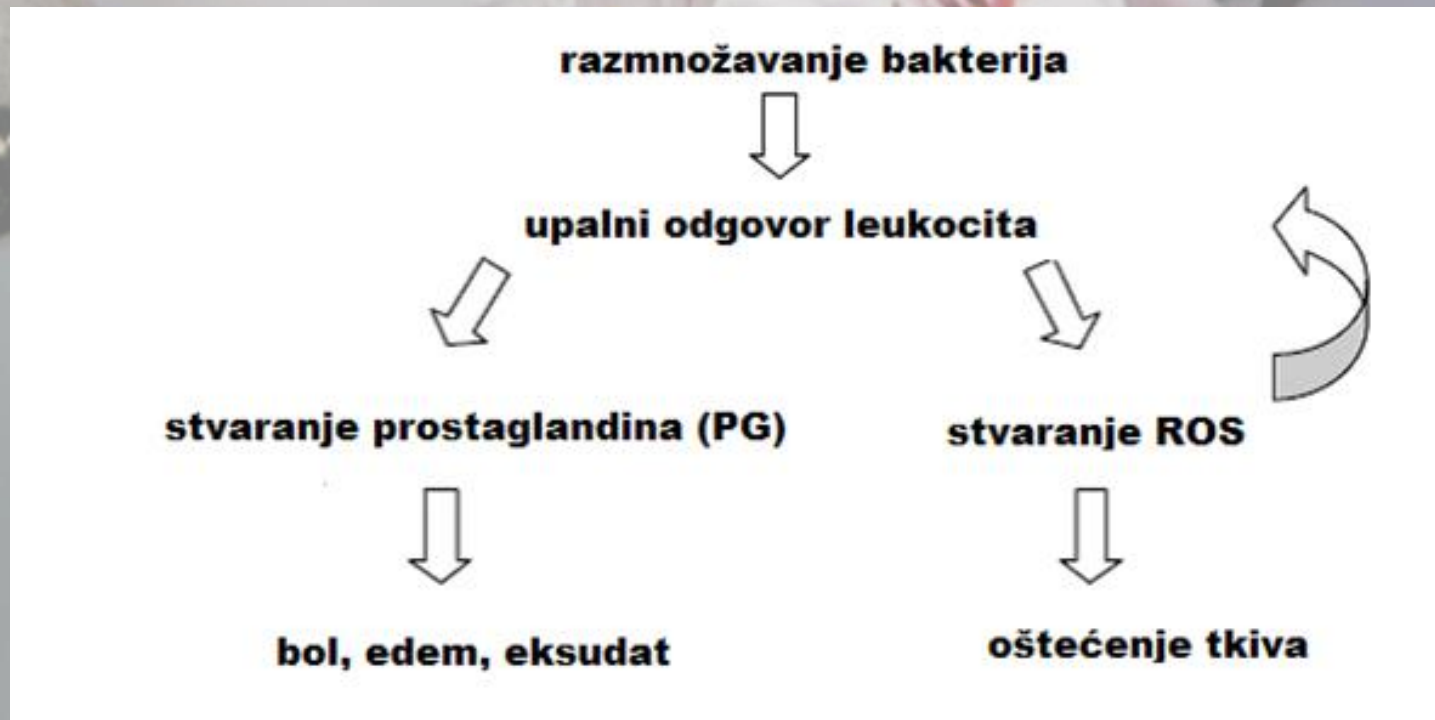
- antiproliferativni učinak na melanomu, kolorektalnom karcinomu i karcinomu dojke
- ublažavanje nuspojava onkoloških tretmana

- **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**

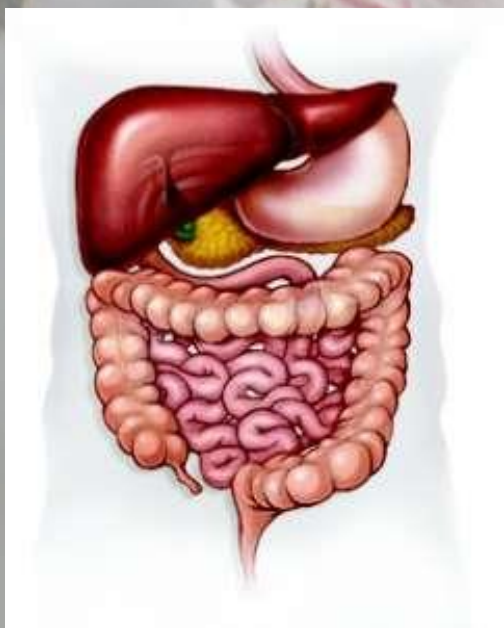
- **gastritis**

- **poboljšanje probave**

- enzimi

- probiotici

- prebiotici



- **Antivirusna aktivnost**

- *Rubella i Herpes virus*

- anti-HIV-1

- influenza

- prehlada

- VZV

- **Antifungalna**

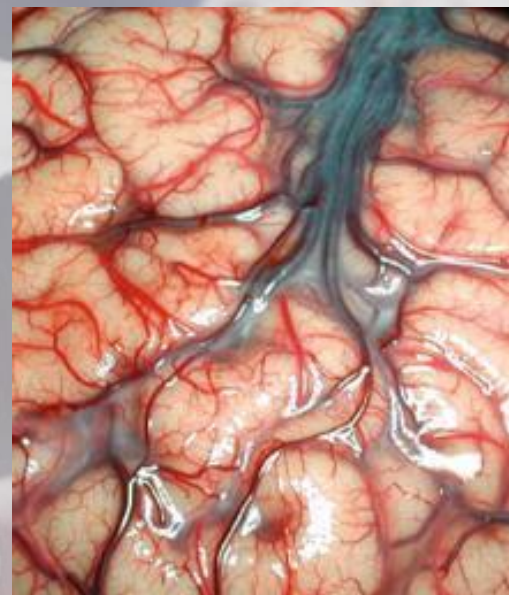
- dermatofiti

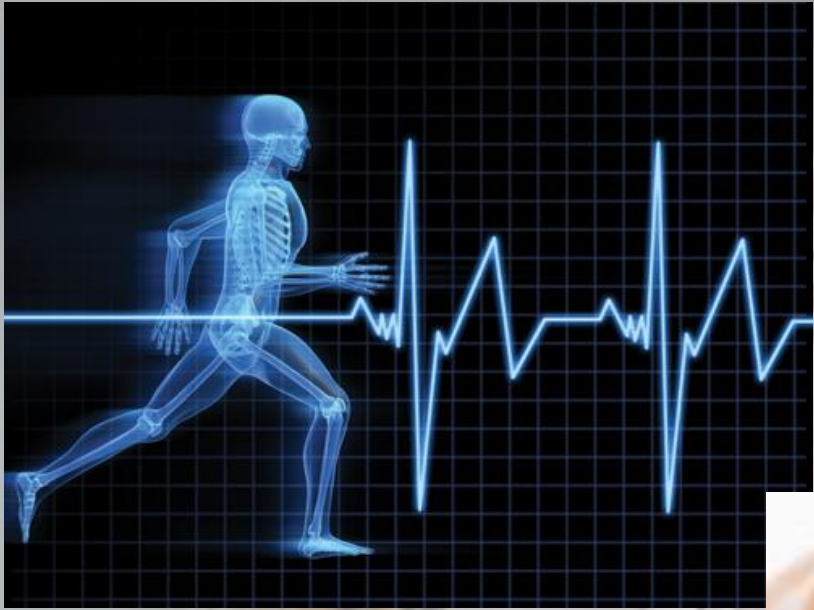
- *Candida albicans*

- **Antiparazitska**

- gliste, trakavice, oblići

- kiseli pH





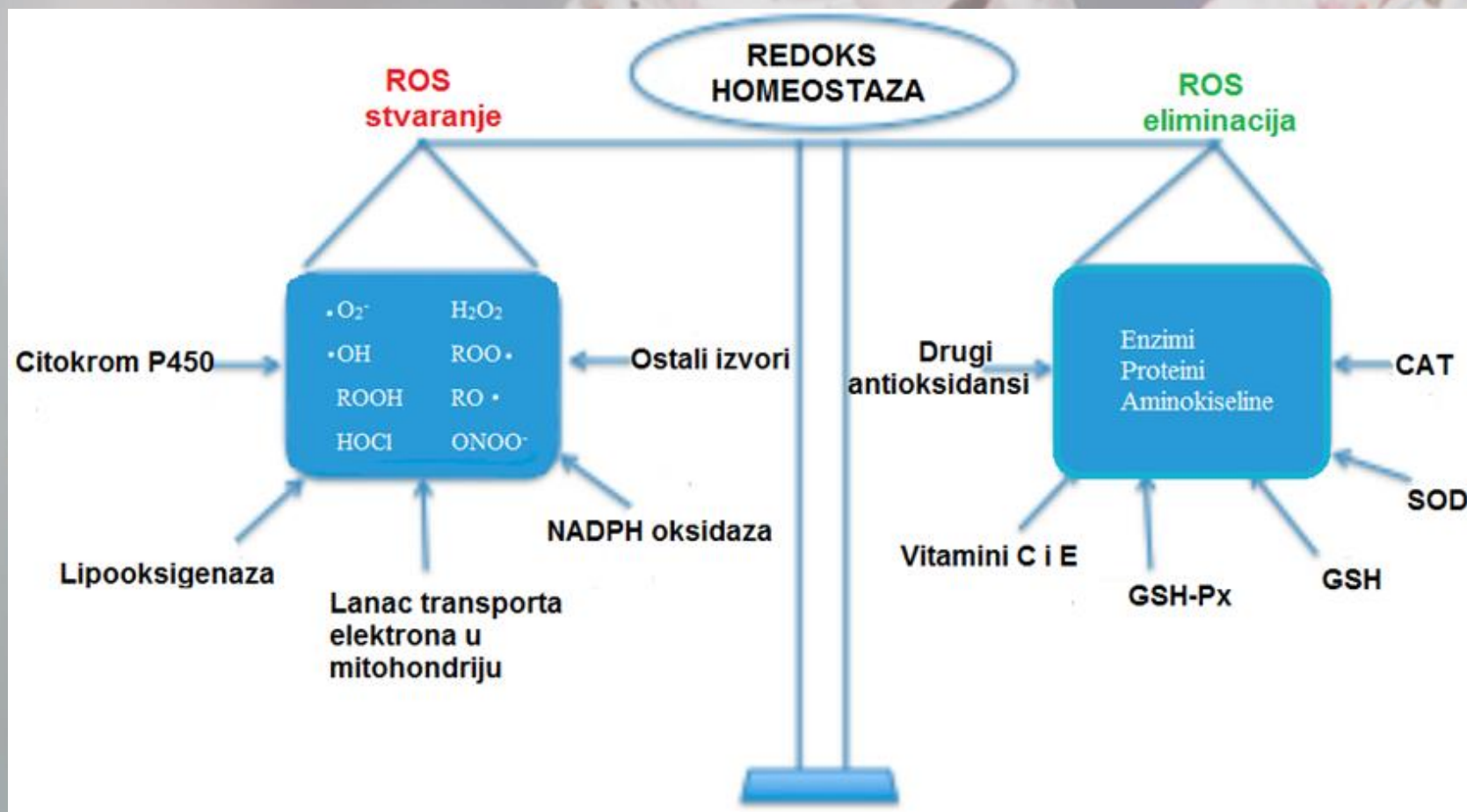
RASPRAVA

- **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

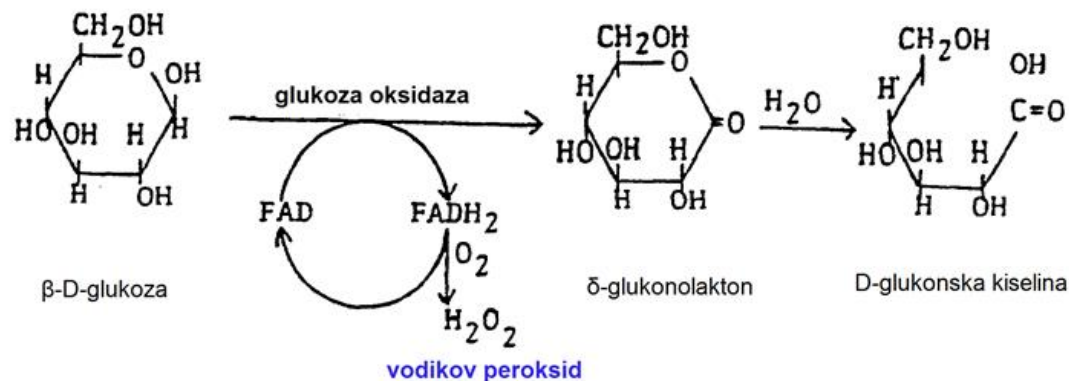


Mehanizam antioksidacijske aktivnosti



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	- sterilizacija - inhibicija potencijalnih patogena - inhibicija proteolitičkih enzima, toksina i bakterijskih antigena - deodorira (uklanja neugodan miris)	- nastanak H_2O_2 - neperoksidna aktivnost MGO i drugih spojeva - bakterije prisutne u rani kao izvor energije koriste glukozu
Antiinflamatorni	<u>Smanjenje:</u> - edema - eksudata - erozija - keloida - ožiljaka - zadebljanje opekotina (keratolitički učinak) - boli (analgetski učinak)	- 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	-inhibicija potencijalnih patogena -stimulacija fagocitoze	-potiče nastanak velikog broja makrofaga koji stvaraju H_2O_2 - stvara supstrate glikolize, što je značajan mehanizam za stvaranje energije u makrofazima - stimulira B i T-limfocite
Antioksidacijski	- antiinflamatorno - smanjenje daljnjeg oštećenja	- inhibira regrutaciju leukocita; smanjuje upalu - hvatanje slobodnih radikala - inhibicija nastanka slobodnih radikala
Stimulacija staničnog rasta	<u>Stimulira</u> - granulaciju tkiva - reepitelizaciju - sintezu kolagena - povećanje elasticiteta kolagena - angiogenezu	- 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 zalihi 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 (kiseli spoj meda); prisutna u obliku neutralnog laktone koji sporo konvertira u oblik slobodne kiseline
- pomaže makrofazima u uništavanju bakterija

Hvala na pozornosti!

