

# Fitoterapijski potencijal ploda bijelog duda

---

Dasović, Mateja

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:622980>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Mateja Dasović**

**Fitoterapijski potencijal  
ploda bijelog duda**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakognozija 1 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakognoziju pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Maje Bival Štefan.

*Od srca se zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Maji Bival Štefan na odabiru teme, svojoj pruženoj pomoći i stručnim savjetima tijekom izrade diplomskog rada.*

*Hvala mami na bezuvjetnoj ljubavi i podršci, svim ohrabrenjima i strpljenju tijekom ovih godina studiranja. Hvala na svakom zagrljaju i utjehi kad je bilo teško, kao i na svakom veselju zbog mojih uspjeha. Hvala Ivani što je uvijek bila tu za mene i spremna pomoći.*

*I na kraju, posebne zahvale idu mome Leonardu. Hvala za sve što se riječima ne može opisati. Uz tebe je sve bilo lakše.*

*„Stavi misli u prazan hod,  
stresi zvijezde k'o dudove.  
I polako nasuči brod  
Na te plišane sprudove.  
I sanjaj...“*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Botanički podaci o vrsti <i>Morus alba</i> L.....	1
1.2. Tradicionalna primjena bijelog duda.....	3
1.3. Kemijski sastav bijelog duda .....	4
1.3.1. Bioaktivne sastavnice .....	5
1.3.1.1. Antocijani.....	5
1.3.1.2. Flavonoidi .....	6
1.3.1.3. Fenolne kiseline .....	7
<b>2. OBRAZLOŽENJE TEME</b> .....	9
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	10
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	11
4.1. Biološki učinci plodova bijelog duda.....	11
4.1.1. Antioksidacijski učinak .....	11
4.1.2. Hipolipidemijski učinak .....	14
4.1.3. Antidijabetski učinak.....	15
4.1.4. Antihipertenzivni učinak .....	16
4.1.5. Protuupalni učinak.....	17
4.1.6. Imunostimulativni učinak .....	18
4.1.7. Hepatoprotektivni učinak.....	19
4.1.8. Nefroprotektivni učinak.....	21
4.1.9. Antimikrobni učinak.....	21
4.1.10. Učinak na Parkinsonovu bolest.....	23
4.1.11. Neuroprotektivni učinak .....	24
4.1.12. Učinak na pamćenje .....	25
4.1.13. Antitumorski učinak .....	26
4.1.14. Toksičnost .....	29

<b>5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>30</b>
<b>6. LITERATURA .....</b>	<b>31</b>
<b>7. SAŽETAK .....</b>	<b>37</b>
<b>8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD</b>	

# 1. UVOD

## 1.1. Botanički podaci o vrsti *Morus alba* L.

Bijeli dud ili Sang Shen (*Morus alba* L.) je biljna vrsta koja pripada porodici dudovki (Moraceae) i rodu murvi (*Morus*). Potječe iz Indije, Kine i Japana gdje se više od 5000 godina koristi prvenstveno u svrhu uzgoja dudovog svilca (*Bombyx mori*) koji se hrani lišćem duda (Yang i sur., 2010). Radi uzgoja svile, bijeli je dud u 12. stoljeću prenesen u Europu pa je danas široko rasprostranjen u toplijim dijelovima srednje i istočne Azije te Europe, najčešće u nizinama kontinentalnih i primorskih predjela (Franjić, 2010). Osim toga, prisutan je i na južnom području Sjeverne Amerike, sjeverozapadu Južne Amerike i na nekim područjima Afrike (Gundogdu i sur., 2011).

Bijeli dud raste u obliku grmlja ili drveća, visine 3-10 metara (www.efloras.org). Prema nekim izvorima, stablo bijelog duda može doseći visinu od čak 10 do 15 metara. Ima razgranatu, okruglastu krošnju s jakim, neravnomjerno raspoređenim granama. Kora je svjetlosmeđe boje i plitko, uzdužno izbrazdana (Vlahović, 2019). Listopadna je vrsta, listovi su naizmjenično raspoređeni, duljine 6-14 cm, širine 4-10 cm s peteljkom od 2-4 cm. Svjetlozelene su boje, u jesen zlatnožuti, goli, dlanasto mrežaste nervature. Oblikom mogu biti jednostavni, široko jajasti i cjeloviti (Slika 1) ili urezani, šiljastog do tupog vrha, nazubljenog ruba, srcaste osnove. Urezani listovi su pravilno ili nepravilno režnjasti ili razdijeljeni s zaobljenim urezima (Slika 2) (Idžojtić, 2009).



Slika 1. List bijelog duda (Izvor: Idžojtić, 2009)



Slika 2. List bijelog duda (Izvor: Idžojtić, 2009)

Bijeli dud je anemofilna vrsta koja je uglavnom dvodomna (odvojene muške i ženske biljke), ali može biti i jednodomna (muški i ženski cvjetovi prisutni su na istoj biljci) (Chan i sur., 2016). Cvjetovi su jednospolni, razvijaju se u pazušcima listova mladih izbojaka, a grupirani su u klasove. Muški su cvjetovi sitni, s perigonom građenim od 4 eliptična, svjetlozelena lista koji su pri osnovi srasli. Imaju 4 prašnika. Više takvih cvjetova grupirano je u duguljastim, 2-3,5 cm dugim klasovima. Ženski su cvjetovi također sitni, sličnog perigona kao i muški cvjetovi. Plodnica im je nadržala, imaju dvije velike bijele njuške. Ovdje je također više cvjetova grupirano zajedno u nešto kraćim, 1-2 cm dugim klasovima. Listanje i cvjetanje odvija se u travnju i svibnju (Idžojić, 2013). Razlika između muških i ženskih cvjetova vidljiva je na Slici 3.



Slika 3. Cvjetovi bijelog duda (Izvor: [thepolycultureproject.medium.com](http://thepolycultureproject.medium.com))

Plod duda je sočni skupni plod građen od sitnih bijelih, ružičastih, slatkih i jestivih koštunica koje su poredane oko izduženog cvjetišta. Plod je duguljasto jajastog do elipsoidnog oblika, duljine 1-2,5 cm. Koštice su svjetlosmeđe boje, sitne, elipsoidnog do obrnuto jajastog oblika. Dozrijevaju u lipnju i srpnju te nakon toga otpadaju. Vrsta se širi zoohorno (Idžojić, 2013). Slika 4 prikazuje plodove bijelog duda.



Slika 4. Plodovi bijelog duda (Izvor: [verywellhealth.com](http://verywellhealth.com))

## 1.2. Tradicionalna primjena bijelog duda

U većini zemalja koje uzgajaju dud, posebice u Kini i Indiji, dud se koristi zbog lišća koje služi kao glavni izvor hrane za gusjenicu dudovog svilca (*Bombyx mori*), tako da je uzgoj duda u tim zemljama usredotočen na povećanje proizvodnje lišća (Vijayan i sur., 1997). Gusjenica dudovog svilca hrani se lišćem duda kako bi izradila svoju čahuru, koja je u konačnici izvor svile ([www.fao.org](http://www.fao.org)). Zanimljivo, 30-tih godina 20. stoljeća, Jugoslavija je bila peta sila u svijetu po proizvodnji svile, s više od 2,5 milijuna stabala duda (Natić i sur., 2015). Osim za uzgoj svile, listovi služe i kao stočna hrana jer su hranjivi i netoksični te mogu poboljšati proizvodnju mlijeka kod životinja koje se uzgajaju u te svrhe. Nadalje, od drveta se izrađuje sportska oprema, namještaj, posuđe za kućanstvo i poljoprivredni pribor (Chan i sur., 2016). Vlakna dobivena iz kore koriste se za izradu tekstila i papira. U većini europskih zemalja, kao što su Turska, Grčka i Srbija, dud se prvenstveno uzgaja zbog sočnih plodova (Ercisli i Orhan, 2007; Natić i sur., 2015).

Bijeli dud ima dugu povijest upotrebe u tradicionalnoj orijentalnoj medicini. Gotovo se svi dijelovi biljke, uključujući koru korijena, listove i plodove, koriste u medicinske svrhe. Indijska su ga plemena koristila za tegobe poput astme, kašlja, bronhitisa, edema, nesаницe, infekcija oka i dijabetesa (Devi i sur., 2013). Vjeruje se da listovi bijelog duda imaju hipoglikemijski, hipotenzivni, diuretički i antitumorski učinak (Dimitrova i sur., 2015). Kora korijena koristi se kao antitusik, antipiretik, diuretik i kod upalnih stanja (Kang i sur., 2006).



Plod bijelog duda (*Sang Shen Zi* (Chen i Chen, 2004)) tradicionalno je kinesko jestivo voće koje se može konzumirati svježe ili osušeno. Osim toga, od plodova se može praviti sirup, džem, sladoled, ocat, vino, kao i drugi prehrambeni te kozmetički proizvodi (Gundogdu i sur., 2011; Natić i sur., 2015). U tradicionalnoj orijentalnoj medicini, širok je spektar upotrebe plodova. Koristi se kao “hrana za krv” i za stvaranje “tjelesnih tekućina”, odnosno jačanje zdravlja i promicanje dugovječnosti. U narodnim lijekovima služi za zaštitu jetre i bubrega od oštećenja, za olakšavanje pražnjenja mjehura te za liječenje zatvora. U Britanskoj farmakopeji, navodi se primjena *Syrupus mori* (pripremljen od plodova duda) kod umjerene konstipacije, bolnog grla i kašlja. Osim toga, upotrebljava se za prevenciju kardiovaskularnih bolesti i sniženje krvnog tlaka (Chen i Chen, 2004; Chen i sur., 2005; Kim i sur., 2010; Mahboubi, 2019). Brojne su druge upotrebe plodova bijelog duda, primjerice u prirodnoj se medicini koristi za liječenje povišene temperature i groznice te anemije (Yang i sur., 2010).

### **1.3. Kemijski sastav bijelog duda**

Kao što je ranije navedeno, bijeli dud je široko rasprostranjena vrsta, stoga raste u širokom rasponu klimatskih i topografskih uvjeta te uvjeta tla, što može utjecati na kemijski i nutritivni sastav biljke (Imran i sur., 2010). U raznim studijama ispitan je sastav plodova, listova, korijena, kore, kore korijena i grančica bijelog duda. Najveći broj različitih spojeva primijećen je upravo u plodovima (Chan i sur., 2016). Plodovi sadrže ugljikohidrate, od kojih prevladavaju glukoza i fruktoza, a zanimljivo je da su pronađeni i fruktani inulinskog tipa (inulin, nistoza i 1-kestoza) zbog čega bi plodovi bijelog duda mogli biti izvor prebiotika (Dimitrova i sur., 2015). Osim ugljikohidrata, prisutni su i proteini, lipidi (linolna, stearinska i palmitinska kiselina), organske kiseline (prevladava jabučna kiselina, a prisutne su i limunska, vinska te jantarna), karoten, vitamini i minerali (Devi i sur, 2013; Imran i sur., 2013; Ercisli i Orhan, 2007; Gundogdu i sur., 2011; Yang i sur., 2010). Od vitamina, najzastupljeniji je vitamin C, ali i vitamin E. Upravo su ti vitamini snažni prirodni antioksidansi koji povećavaju aktivnost superoksid dismutaze (SOD) i glutation peroksidaze (GSH-Px), koji su pak jedni od najjačih antioksidansa u stanicama odgovorni za neutralizaciju slobodnih radikala, posebice superoksidnog aniona (Yang i sur, 2010; Ighodaro i Akinloye, 2017). Vitamin C ima i sinergističko djelovanje s fenolima, na način da regenerira fenolne antioksidanse i time im povećava sposobnost antioksidacije (Yang i sur, 2010). Što se minerala tiče, važna je prisutnost bakra, mangana, cinka i željeza, koji su sastavni dijelovi superoksid dismutaze, prethodno

spomenutog staničnog antioksidansa. Bakar, mangan i željezo, kao prostetske skupine SOD-a, imaju važnu ulogu u njegovoj enzimskoj aktivnosti, a cink je važan jer stabilizira strukturu SOD. Prisutan je i selen, koji je pak bitan kao element glutation peroksidaze, antioksidansa koji, između ostalog, regulira metabolizam lipida, prevenira razvoj masne jetre i poboljšava antioksidacijski potencijal u štakora (Yang i sur., 2010).

Nadalje, Polumackanycz i suradnici (2019.) navode prisutnost različitih **terpenoida** (poput linaloola i citrala), **alkaloida** (od kojih je najzanimljiviji 1-deoksinojirimicin, prirodno prisutan u listovima duda, koji djeluje kao najjači inhibitor glikozidaze i na taj način učinkovito smanjuje razinu šećera u krvi), **flavonoida** (poput rutina, kvercetina i izokvercetina), **antocijana** (primjerice cijanidin 3-rutinozid i cijanidin 3-glukozid), **fenolnih kiselina** (poput galne ili protokatehinske kiseline), **stilbenoida** (poput resveratrola) i **kumarina** (Polumackanycz i sur., 2019).

### 1.3.1. Bioaktivne sastavnice

Prethodno spomenuti flavonoidi, antocijani i fenolne kiseline glavne su bioaktivne sastavnice plodova bijelog duda, odgovorne za njihovo blagotvorno djelovanje u prevenciji i liječenju različitih bolesti. Ubrajamo ih u skupinu fenolnih spojeva koji nastaju kao sekundarni metaboliti u biljkama, a biljci služe najčešće kao obrambeni agensi, primjerice u zaštiti od biljojeda. Osim toga, imaju antibakterijsko i antifungalno djelovanje, bojom mogu djelovati kamuflažno te djeluju kao tvari za privlačenje kukaca (Lin i sur., 2016).

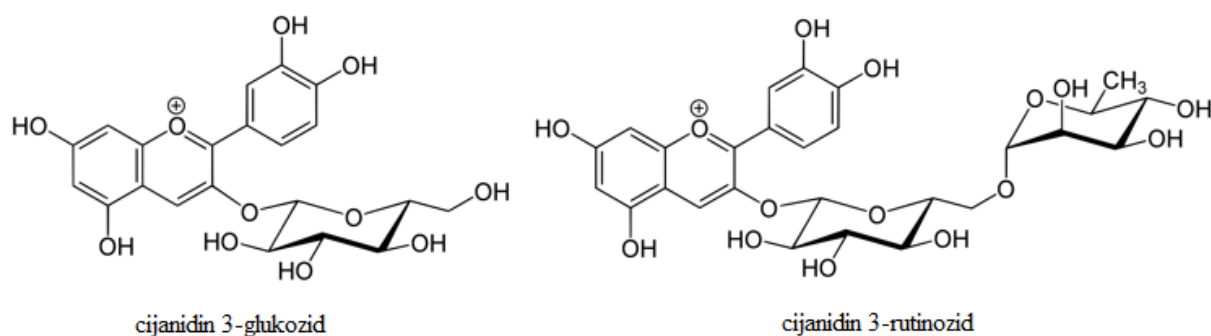
Fenolni spojevi imaju velik antioksidacijski kapacitet, djeluju kao protektivna sredstva protiv oksidativnih oštećenja i kao takvi privlače sve veću pažnju javnosti. Primijećena je povezanost između konzumacije voća i povrća bogatog fenolima i smanjenog rizika od razvoja kroničnih bolesti, preko smanjenja oksidativnog stresa i inhibicije makromolekularne oksidacije (Wang i sur., 2013).

#### 1.3.1.1. Antocijani

Antocijani, vodotopljivi pigmenti, uglavnom su prisutni u tamnijim plodovima i odgovorni su za njihovu obojenost (Natić i sur., 2015). Glavne antocijaninske komponente

plodova bijelog duda, odgovorne za farmakološka djelovanja, jesu: **cijanidin 3-glukozid**, **cijanidin 3-rutinozid**, **pelargonidin 3-glukozid** i **pelargonidin 3-rutinozid** (Liu i sur., 2008; Sarikaphuti i sur., 2013). Prema Liu i suradnicima (2008), sadržaj antocijana u uzorku plodova bijelog duda iznosi **2,5%**. Sarikaphuti i suradnici (2013) navode kako sadržaj antocijana u uzorku iznosi **28 mg/g**, izraženo kao ekvivalenti cijanidin 3-glukozida. Nešto niži sadržaj antocijana detektirali su Yang i suradnici (2010.) u liofiliziranom uzorku plodova, a iznosi **0,87 mg/g (0,087%)** antocijanina, izraženih kao ekvivalenta cijanidin 3-glukozida. Još su nižu srednju vrijednost cijanidin 3-glukozida detektirali Kim i suradnici (2010), koja iznosi **0,43 mg/g**.

Antocijani farmakološke učinke ispoljavaju zahvaljujući snažnom antioksidacijskom djelovanju, a osim toga djeluju i protuupalno te kemoprotektivno pa mogu smanjiti rizik od pojave kardiovaskularnih bolesti i karcinoma (Du i sur., 2008). Kao antioksidansi, mogu neutralizirati reaktivne kisikove specije i brojne druge slobodne radikale, inhibirati oksidaciju lipoproteina niske gustoće (LDL) i povoljno djelovati na lipide u krvi. Osim toga, primijećeno je da imaju znatno veću sposobnost gašenja slobodnih radikala od vitamina C (Chen i sur., 2005; Du i sur., 2008; Yang i sur., 2010).



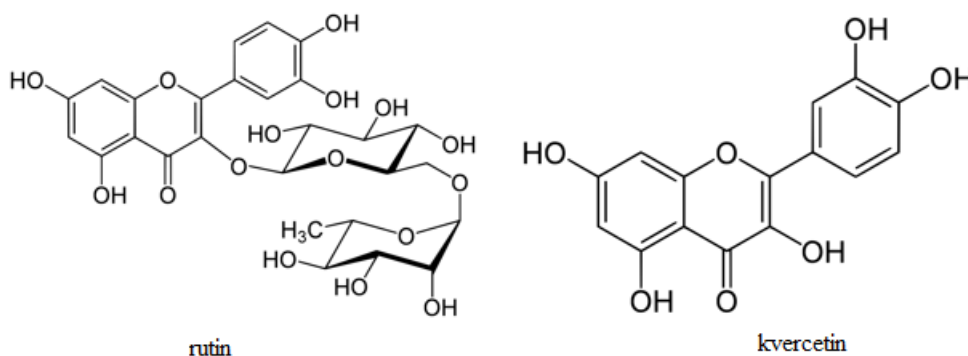
Slika 5. Strukture cijanidin 3-glukozida i cijanidin 3-rutinozida (<https://hr.wikipedia.org/>)

### 1.3.1.2. Flavonoidi

Objavljen je velik broj istraživanja prisutnosti flavonoida u plodovima bijelog duda. Među flavonoidima ističe se **rutin**, a prisutni su i morin, kvercetin i miricetin. Podaci o sadržaju rutina u plodovima su sljedeći: čini **1,111 mg/g** svježih plodova (Gundogdu i sur.,

2011), odnosno **0,433 mg/g** liofiliziranog praha plodova, dok je sadržaj ukupnih flavonoida **3,90 mg/g (0,39%)**, prikazanih kao ekvivalenata rutina (Yang i sur., 2010). Ercisli i Orhan (2007) su pak rezultat ukupnih flavonoida standardizirali na kvercetin, koji iznosi **29 mg QE** (ekvivalenata kvercetina)/**100 g** svježe mase.

Za flavonoide je također primijećeno da imaju snažan antioksidacijski kapacitet (Yang i sur., 2010) i kao takvi mogu spriječiti pojavu ili napredovanje različitih bolesti.



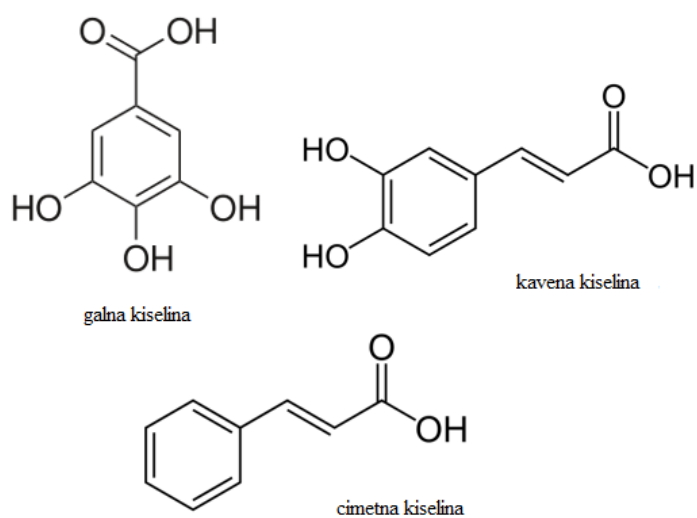
Slika 6. Strukture rutina i kvercetina (<https://hr.wikipedia.org/>)

### 1.3.1.3. Fenolne kiseline

Kao i za flavonoide, puno je dostupnih istraživanja koja daju podatke o prisutnosti i sadržaju fenolnih kiselina u plodovima bijelog dudu. Peng i suradnici (2011.) potvrđuju prisutnost galne kiseline, protokatehinske kiseline, 3- i 4-kafeoilkina kiseline, klorogenske kiseline te kavene kiseline. U određenim istraživanjima sadržaj ukupnih fenola izražen je preko ekvivalenata galne kiseline (GAE), a rezultati su sljedeći: **23,3 mg/g (2,3%) GAE** (Yang i sur., 2010), **1,81 mg/g GAE** (Ercisli i Orhan, 2007), **0,4 mg/g GAE** svježe mase. Nadalje, istraživanja kvantitativnog sastava daju sljedeće podatke: prevladava **galna kiselina** (0,215 mg/g svježih plodova), slijede ju kavena kiselina (0,133 mg/g) i klorogenska kiselina (0,119 mg/g) (Gundogdu i sur., 2011). Prema drugoj analizi, klorogenske kiseline ima 2,43 mg/g, slijede ju kavena kiselina (1,59 mg/g), ferulična kiselina (0,21 mg/g) i cimetna kiselina (0,04 mg/g) (Kim i Oh, 2013).

Fenolne kiseline, osim što su potentni antioksidansi, pokazuju i antikancerogene i anti-mutagene učinke. Primjerice, zamijećeno je da cimetna kiselina, jedna od fenolnih kiselina, blokira učinke nitrozamina, za koje se vjeruje da su jedni od mogućih uzročnika raka (Gundogdu i sur., 2011).

Potrebno je ponovno napomenuti da primijećene varijacije u sadržaju fenolnih spojeva u plodovima ovise o mnogim čimbenicima, kao što su stupanj zrelosti pri berbi, genetske razlike i okolišni čimbenici tijekom razvoja ploda.



Slika 7. Strukture galne, kavene i cimetne kiseline (<https://hr.wikipedia.org>)

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Plodovi bijelog duda (*Morus alba* L.) već se tisućama godina koriste u tradicionalnoj orijentalnoj medicini kao sredstvo za održavanje zdravlja i dugovječnosti. Ukusni plodovi bijelog duda imaju velik potencijal u prevenciji i liječenju kardiovaskularnih bolesti, budući da suvremena istraživanja pokazuju hipolipidemijski, antidijabetski, antihipertenzivni i antiaterosklerotski učinak plodova. Osim toga, može se koristiti u prevenciji i liječenju bolesti središnjeg živčanog sustava, poput Parkinsonove bolesti.

Cilj ovog diplomskog rada bio je proučiti i sistematizirati najnoviju znanstvenu literaturu i kliničke studije o učinkovitosti i opravdanosti primjene plodova bijelog duda u svrhu prevencije, ali i liječenja različitih bolesti.

### 3. MATERIJALI I METODE

Ovaj diplomski rad je teorijskog karaktera i u njegovoj izradi korištena je stručna literatura u obliku knjiga, članaka i znanstvenih radova. Pregledane su knjige iz Knjižnice “Nikola Zrinski” grada Čakovca, a članci i znanstveni radovi nađeni su na dostupnim internetskim znanstvenim bazama podataka. Pretraživane su znanstvene baze podataka *Scopus*, *ScienceDirect* i *PubMed*, a za pretraživanje su upotrijebljene ključne riječi: *morus*, *alba*, *fructus*, *white*, *mulberry*, *fruit*, *bioactivity*.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Biološki učinci plodova bijelog duda

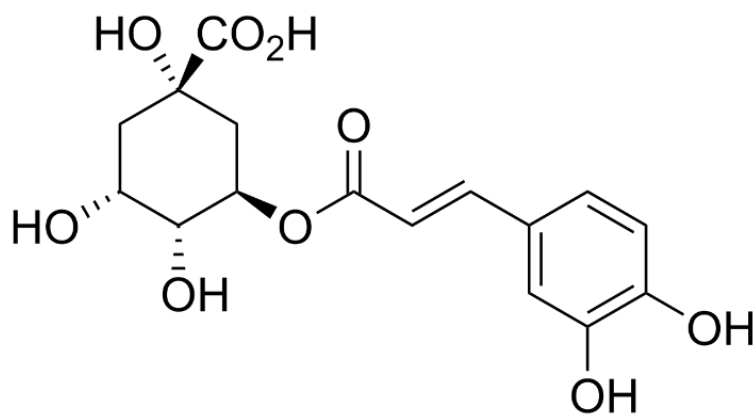
Zahvaljujući širokom spektru upotrebe bijelog duda u tradicionalnoj medicini započeta su istraživanja koja uključuju *in vitro* studije i studije na životinjskim modelima te je tako potvrđen niz bioloških učinaka plodova duda. Međutim, još uvijek nedostaju kliničke studije koje bi potvrdile opravdanost primjene plodova, ekstrakta plodova i spojeva prisutnih u njima u svrhu prevencije ili terapije određenih bolesti.

#### 4.1.1. Antioksidacijski učinak

U današnje vrijeme postoji velik interes za pronalaskom antioksidansa iz prirodnih izvora kako bi se smanjila oksidacijska oštećenja stanica koja uzrokuju slobodni radikali i reaktivni kisikovi spojevi, uglavnom nastali endogeno. Utvrđeno je da su slobodni radikali uključeni u patogenezu različitih bolesti, poput raka, ateroskleroze, šećerne bolesti i ostalih (Leong i sur., 2008). Mnogi su znanstvenici dokazali kako konzumacija hrane bogate antioksidansima, poput voća i povrća, može poništiti njihove štetne učinke. Upravo su zbog izražene antioksidacijske sposobnosti, koja je bila tema mnogih radova, zanimljivi plodovi bijelog duda.

Rađeno je istraživanje u kojem je ispitivana aktivnost plodova duda u gašenju **DPPH** (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikala, izražena kao količina ekvivalenata troloksa (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina; vodotopljivi analog vitamina E). Prema rezultatima, ekstrakti su uspješni u uklanjanju DPPH radikala, a njihova je učinkovitost varirala od 2,5 do 20,3  $\mu$ mola ekvivalenata troloksa po gramu svježih plodova, ovisno o stupnju zrelosti plodova. Zanimljivo je da je najveća antioksidacijska aktivnost opažena kod potpuno zrelih plodova. Za to su odgovorni antocijani, čiji sadržaj ovisi o stadiju zrelosti (što je plod zreliji, to je i sadržaj antocijana veći). Kao glavne antocijaninske komponente ističu se **cijanidin 3-glukozid** i **cijanidin 3-rutinozid**. Nezreli plodovi duda također uklanjaju DPPH radikale. Za to su zaslužni neantocijaninski fenoli, od kojih su najbitnije dvije kafeoilkina kiseline, **klorogenska kiselina** (Slika 8) i njen izomer (Oki i sur., 2006).





Slika 8. Klorogenska kiselina (<https://hr.wikipedia.org/>)

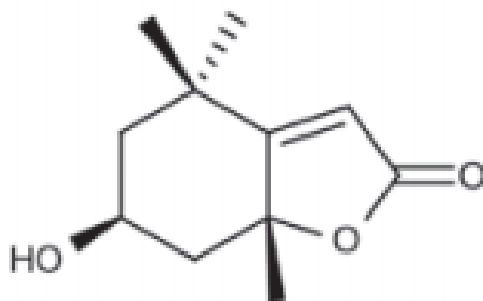
Drugo je istraživanje antioksidacijskog učinka, osim DPPH radikala, uzelo u obzir i **ABTS** (2,20-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) radikal te je provedena i **FRAP** (ferric reducing antioxidant power) metoda. Ekstrakti su pokazali dobru aktivnost uklanjanja DPPH radikala ( $IC_{50}$ , polovica maksimalne inhibitorne koncentracije, iznosi 133,6  $\mu\text{g/ml}$ ), kao i ABTS radikala ( $IC_{50} = 216,6 \mu\text{g/ml}$ ). Rezultat FRAP testa redukcije željeza iznosi 3,727 mmol  $\text{Fe}^{2+}/\text{g}$  (Yu i sur., 2021). Slični su rezultati dobiveni u još jednom istraživanju, gdje  $IC_{50}$  za ABTS radikal iznosi 173,5  $\mu\text{g/ml}$ , dok je dobivena  $IC_{50}$  za DPPH radikal nešto veća, a iznosi 234,8  $\mu\text{g/ml}$ . **Morin**, flavonoidni spoj izoliran iz plodova duda, ima još izraženije antioksidacijsko djelovanje. U slučaju DPPH,  $IC_{50}$  je 30,0  $\mu\text{g/ml}$ , dok u slučaju ABTS iznosi 71,0  $\mu\text{g/ml}$  (Yang i Lee, 2012).

I Wang i suradnici (2013) ispitali su antioksidacijski učinak plodova. Promatrano je gašenje DPPH radikala, a rezultati su prikazani kao  $EC_{50}$  (polovica maksimalne efektivne koncentracije), koji je iznosio 71,12 mg/l. Osim DPPH, prikazana je  $EC_{50}$  ekstrakta u gašenju **superoksidnog aniona**, endogenog slobodnog radikala, koja iznosi 82,37 mg/l. Prikazane razlike u antioksidacijskom učinku uzoraka ovise o sadržaju fenola u plodovima, a kao što je gore spomenuto, sadržaj fenolnih spojeva ovisi o stupnju zrelosti pri berbi, genetskim razlikama i okolišnim čimbenicima (sastav tla, klima) tijekom razvoja ploda.

Visoke razine slobodnih radikala unutar stanice mogu oštetiti stanične organele i aktivirati različite signalne puteve, koji posljedično utječu na stanične procese povezane sa starenjem i razvojem srodnih bolesti. Istraživanje je pokazalo da kod istovremene primjene **ekstrakta LPS** (lipopolisaharida), korištenog u svrhu povećanja proizvodnje reaktivnih kisikovih specija, i **ekstrakta plodova bijelog duda**, u koncentraciji od 50  $\mu\text{g/ml}$ , na RAW

264,7 makrofage, dolazi do značajnog smanjenja razine reaktivnih kisikovih spojeva (34,8% u odnosu na pozitivnu kontrolu). U obrani od slobodnih radikala bitni su i unutarstanični antioksidacijski enzimi, poput **SOD** (superoksid dismutaze), **GPx** (glutation peroksidaze) i **CAT** (katalaze). Uzorak lipopolisaharida smanjuje antioksidacijski kapacitet SOD (64,6%), GPx (2,292 nmol/min) i CAT (0,120 jedinica/ml) u odnosu na kontrolu (100%; 2,674 nmol/min; 0,147 jedinica/ml). Kod istovremene primjene ekstrakta plodova duda zajedno s uzorkom LPS, dolazi do oporavka i poboljšanja antioksidacijske aktivnosti enzima (78,7%; 2,776 nmol/min; 0,156 jedinica/ml) (Yu i sur., 2021).

Šećerna bolest tipa 1 razvija se propadanjem  $\beta$ -stanica Langerhansovih otočića gušterače, odgovornih za proizvodnju inzulina, što je djelomično rezultat negativnog učinka reaktivnih spojeva kisika (ROS) na stanice i njihove posljedične apoptoze i nekroze. Prema istraživanju, ekstrakt duda posjeduje citoprotektivni i antioksidacijski učinak na MIN6N stanice gušterače koje proizvode inzulin, na mišjem modelu. Ekstrakti plodova duda smanjili su H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-om induciranu smrt stanica MIN6N, produkciju unutarstaničnih slobodnih radikala i peroksidaciju lipida te su inhibirali fragmentaciju DNA u stanicama MIN6N (Kim i sur., 2014). U sličnom je istraživanju streptozotocinom inducirana toksičnost na INS-1 stanice gušterače. **Loliolid**, benzofuran prirodno prisutan u plodovima duda, pokazuje snažni zaštitni učinak na INS-1 stanice, povećavajući vijabilnost stanica na 80,27% u odnosu na pozitivnu kontrolu (60%). Također, loliolid učinkovito smanjuje streptozotocinom-induciranu proizvodnju ROS, kao i apoptozu, inhibicijom signalnog puta kaspaza, proteaza važnih u napredovanju apoptoze. Ovi rezultati sugeriraju kako bi loliolid (Slika 9) mogao biti prikladan lijek za liječenje šećerne bolesti tipa 1 (Song i sur., 2018).



Slika 9. Loliolid (Izvor: Song i sur., 2018)

U modelu šećerne bolesti tipa 2, promatran je utjecaj ekstrakta plodova duda, ali i metformina (lijeka koji se koristi u terapiji šećerne bolesti), na aktivnost antioksidacijskih enzima (**SOD, CAT i GPx**) u serumu, jetri i bubrezima u modelu Kunming miševa. U slučaju SOD i CAT, vidljiv je porast njihove aktivnosti u serumu i bubrezima nakon primjene ekstrakta (100-200 mg/kg), kao i metformina (300 mg/kg), u odnosu na kontrolnu grupu. Aktivnost GPx u bubregu također je porasla u grupi koja je dobivala ekstrakt. Taj je porast čak bio nešto veći u odnosu na grupu koja je dobivala metformin. Zanimljivo, u jetri je primijećena veća aktivnost SOD, CAT i GPx nakon primjene ekstrakta, dok se aktivnost navedenih enzima nakon primjene metformina nije bitno razlikovala od one u kontrolnoj grupi. Dakle, ekstrakt duda time što povećava aktivnost SOD, CAT i GPx, posljedično povećava antioksidativni kapacitet seruma i organa (Wang i sur., 2013).

#### **4.1.2. Hipolipidemijski učinak**

Prehrana s visokim udjelom masti, odn. kolesterola uzrokuje disbalans u metabolizmu lipida i vodi do hiperlipidemije, jednog od vodećih uzroka kardiovaskularnih oboljenja, poput ateroskleroze i koronarne bolesti srca. Hiperlipidemiju karakterizira porast razine serumskih triglicerida i ukupnog kolesterola, ali i lipoproteina niske gustoće (LDL). Istraživanje na modelu hrčaka pokazalo je da primjenom ekstrakta plodova duda, uz istovremenu prehranu s visokim sadržajem masti, dolazi do manjeg porasta tjelesne težine, kao i do smanjenja količine visceralne masti, u odnosu na kontrolu. Smanjena je i razina serumskih lipida – uslijed primjene većih koncentracija ekstrakta (1-2%) potpuno je inhibiran porast razine triglicerida u odnosu na kontrolnu skupinu. Razina serumskog kolesterola, kao i LDL kolesterola bila je znatno smanjena. Primjerice, skupina životinja koja je suplementirana 2%-tnim (*w/w*) ekstraktom plodova duda imala je 220 mg/dl ukupnog kolesterola i 70 mg/dl LDL kolesterola, u odnosu na pozitivnu kontrolu (470 mg/dl; 310 mg/dl). Primijećen je porast vrijednosti HDL (lipoproteina visoke gustoće) kolesterola (140 mg/dl) u odnosu na pozitivnu kontrolu (70 mg/dl), ali i smanjenje razine slobodnih masnih kiselina u serumu za 25% u odnosu na pozitivnu kontrolu. Analizom uzroka jetre dobiveni su slični rezultati pa se može zaključiti da ekstrakt, smanjenjem jetrenih razina triglicerida i kolesterola, štiti jetru od mogućih oštećenja uzrokovanih prehranom s visokim udjelom masti. Nadalje, ekstrakt uzrokuje povećanu hepatičku ekspresiju PPAR $\alpha$  (peroksisom proliferator aktiviranog receptora R) i CPT-1 (karnitin palmitoiltransferaze-1), markera lipolize, kao i smanjenu ekspresiju FAS (sintaze

masnih kiselina) i HMG-CoA (3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A) reduktaze, markera lipogeneze. To sugerira da je smanjenje serumskih razina slobodnih masnih kiselina povezano s regulacijom metabolizma lipida u jetri (Peng i sur., 2011). U drugom istraživanju na modelu hrčaka suplementiranih ekstraktom duda u koncentraciji 1-2 % (w/w), osim potvrde hipolipidemijskog učinka plodova duda, autori navode da su snižene razine LDL kolesterola posljedica povećane ekspresije LDL-receptora na HepG2 stanicama jetre uslijed primjene ekstrakta. LDL receptor prirodno je prisutan na površini stanica jetre, a odgovoran je za klirens LDL-a (Liu i sur., 2009). Nadalje, ekstrakt inhibira napredovanje ateroskleroze uslijed prehrane bogate kolesterolom, na modelu kunića. Smanjena je razina oksidacije LDL-a, a posljedično i broj pjenastih stanica na endotelu krvnih žila. Histopatološka analiza potvrdila je smanjenje broja aterosklerotskih lezija na luku aorte (Chen i sur., 2005).

#### **4.1.3. Antidijabetski učinak**

Šećerna bolest ili dijabetes (lat. *diabetes mellitus*) kronična je metabolička bolest s najvećom stopom prevalencije i smrtnosti u razvijenim zemljama i zemljama u razvoju (Wang i sur., 2013). U pozadini dijabetesa je nemogućnost dostatne proizvodnje endogenog inzulina ili nemogućnost učinkovitog korištenja inzulina koje tijelo proizvodi (www.healthline.com). Šećerna se bolest povezuje s oksidacijskim oštećenjima, iako glavni mehanizam nastanka dijabetičkih komplikacija ostaje nejasan. Upravo je zbog toga jedna od mogućih strategija u prevenciji razvoja dijabetesa sprječavanje oksidacijskih oštećenja unosom prirodnih antioksidansa. U jednom je istraživanju ispitivan, *in vitro* i *in vivo*, hipoglikemijski i antioksidacijski učinak polifenolima bogatih dijelova plodova bijelog duda. Primijećeno je da ekstrakt inhibira  $\alpha$ -glukozidazu ( $IC_{50} = 72,01$  mg/l).  $\alpha$ -glukozidaza je glavni enzim u probavi šećera iz hrane do glukoze, a njenom inhibicijom postiže se kontrola postprandijalne hiperglikemije. *In vivo* studija na modelu miševa promatrala je učinak različitih koncentracija ekstrakta duda, kao i metformina, na prosječnu razinu glukoze u krvi (GUK). Metformin je jedan od lijekova koji se koristi u terapiji šećerne bolesti tip II. U skupini koja je primala metformin (300 mg/kg), prosječna razina GUK natašte (17,38 mmol/l) bila je očekivano značajno niža od one u kontrolnoj skupini (22,27 mmol/l). No, zanimljivo je da je ekstrakt plodova duda, u dozi od 200 mg/kg, također vrlo učinkovito snizio razinu GUK natašte (19,66 mmol/l). Nadalje, vrijednost GSP (glikiliranog serumskog proteina) uzima se kao pokazatelj razine GUK tijekom razdoblja od 2-3 tjedna. Nakon dvotjedne primjene ekstrakta, vrijednost

GSP iznosila je 6,44 mmol/l, dok je u skupini koja je primala metformin GSP bio 6,06 mmol/l, što je značajno niže nego u kontrolnoj skupini (7,25 mmol/l). Prema tome, može se zaključiti da ekstrakt ploda duda doista smanjuje razinu glukoze u krvi (Wang i sur., 2013).

Polisaharidi duda također imaju antidijabetsko djelovanje, na modelu štakora. Izvijesteno je da dvije polisaharidne frakcije duda, MFP50 i MFP90, vrlo učinkovito snižavaju razinu GUK natašte (31,9%, 47,5%), u odnosu na metformin (55,4%). Razina GSP bila je za 31,7% niža nakon primjene MFP90, što je čak i više nego nakon primjene metformina (29,0%). Osim toga, iako nije primijećen utjecaj na sekreciju inzulina, MFP50 i MFP90 bi mogli smanjiti inzulinsku rezistenciju i zaštititi gušteraču od mogućih oštećenja (Jiao i sur., 2017).

Promatran je i antidijabetski učinak **rutina** i **kvercetin-3-O- $\beta$ -D-glukozida** (Q3G), flavonoida izoliranih iz plodova duda, na primjeru 3T3-L1 stanica adipocita. U prisutnosti inzulina, rutin i Q3G povećavaju unos glukoze od strane 3T3-L1 stanica, tako da aktiviraju Akt i AMPK (AMP-aktivirana protein kinaza) signalne puteve, važne u translokaciji GLUT4 transportera. GLUT4 u prisutnosti inzulina translocira na površinu plazmatske membrane adipocita i prenosi glukozu u adipocite. Osim toga, primijećeno je da rutin i Q3G ne uzrokuju akumulaciju lipida u adipocitima, što upućuje na to da se apsorpcija glukoze aktivacijom Akt i AMPK odvija bez induciranja adipogeneze. Prema tome, ti bi spojevi mogli biti dobri potencijalni kandidati u terapiji šećerne bolesti tip 2, s manje nuspojava u vidu povećanja tjelesne težine od primjerice roziglitazona, lijeka koji se koristi u liječenju dijabetesa (Lim i sur., 2021).

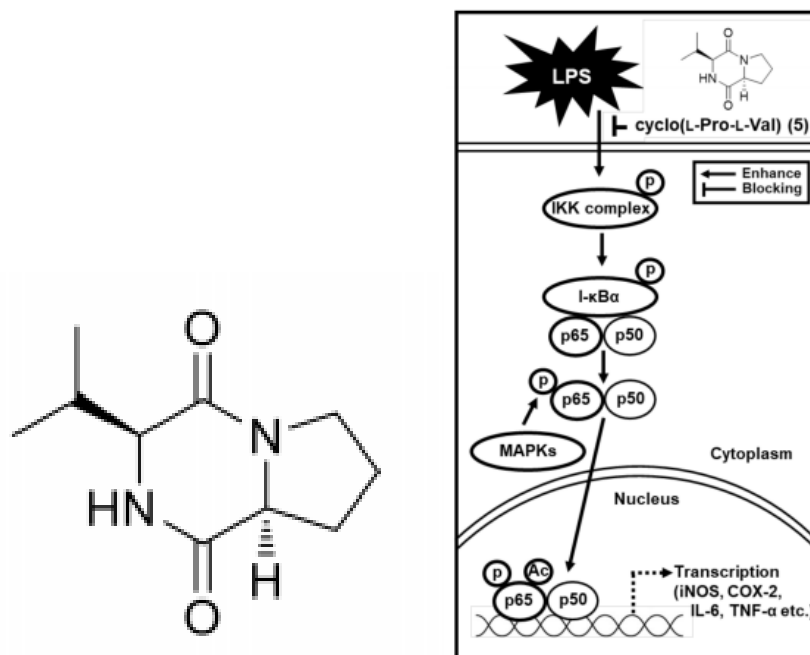
#### 4.1.4. Antihipertenzivni učinak

Hipertenzija ili povišeni krvni tlak glavni je faktor rizika kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta. U jednom je istraživanju promatran utjecaj polisaharida prisutnih u plodovima bijelog duda na hipertenziju. U sastavu polisaharida obiluju **galaktoza** i **arabinoza**, a prisutni su i ramnoza, glukoza, manoza i ksiloza. Upravo su ti polisaharidi, ovisno o primijenjenoj dozi, pokazali antihipertenzivno djelovanje, inhibirajući angiotenzin-konvertirajući enzim (ACE), koji ima ključnu ulogu u regulaciji krvnog tlaka (Wang i sur., 2018). Daljnim istraživanjem primijećeno je da ekstrakt polisaharida direktno opušta krvne žile, stimulirajući proizvodnju dušikovog oksida (NO) u endotelnim stanicama. NO je važan čimbenik uključen u relaksaciju glatkih mišićnih stanica u krvnim žilama. Na *in vivo* modelu,

nakon intravenozne primjene ekstrakta polisaharida, primijećeno je smanjenje srednjeg arterijskog tlaka za 10% kod normotenzivnih, a još je veće smanjenje vidljivo kod hipertenzivnih štakora (pad sistoličkog krvnog tlaka s 160 mmHg na 120 mmHg) (Wang i sur., 2019).

#### 4.1.5. Protuupalni učinak

Upala je složeni fiziološki odgovor organizma na strane, štetne tvari, uključujući bakterije, viruse i otrove. Kao ključne stanice u obrambenom sustavu domaćina ističu se makrofagi, koji potaknuti prisutnošću stranih tvari (poput lipopolisaharida bakterija) pretjerano proizvode proupalne čimbenike, primjerice dušikov oksid (NO) i ciklooksigenazu 2 (COX-2), kako bi pojačali upalni odgovor. Spojevi koji inhibiraju taj proces djeluju kao protuupalne tvari. Nedavno je provedeno istraživanje u kojem se promatrao protuupalni učinak spojeva iz plodova bijelog duda na RAW 264,7 makrofagima stimuliranim lipopolisaharidima. Primijećeno je da ekstrakt plodova bijelog duda inhibira LPS-stimuliranu proizvodnju dušikovog oksida, inhibicijom sintaze dušikovog oksida (iNOS), i na taj način poboljšava vijabilnost stanica (Yu i sur., 2021). Nastavno na ovo istraživanje, drugi je tim suradnika na istom modelu proveo fitokemijsku analizu kako bi utvrdio koje sastavnice ploda duda imaju protuupalno djelovanje. Izolirana su 22 spoja, a jedan od njih, **ciklo(L-Pro-L-Val)**, istaknuo se zbog svoje izrazite sposobnosti inhibicije proizvodnje proupalnog NO, inhibicijom aktivacije iNOS, u RAW 264,7 stanicama makrofaga. Zanimljivo, inhibitorni učinak ciklo(L-Pro-L-Val) čak je usporediv s učinkom L-NMMA (N-monometil-L-arginin acetatna sol), poznatim inhibitorom sinteze NO. Osim iNOS, promatrani spoj također inhibira aktivaciju ciklooksigenaze 2 (COX-2). Identificirani je spoj dobar kandidat za liječenje upalnih bolesti, no potrebna su dodatna istraživanja na *in vivo* modelima kako bi se ispitala bioraspoloživost i ostali parametri (Lee i sur., 2021). Struktura i shematski prikaz potencijalnog mehanizma djelovanja ciklo(L-Pro-L-Val) na upalni odgovor prikazani su na Slici 10.

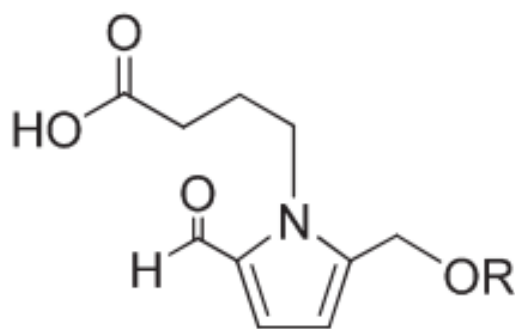


Slika 10. Struktura i mehanizam protuupalnog djelovanja ciklo(L-Pro-L-Val) (Izvor: Lee i sur., 2021).

Drugo je istraživanje, na modelu štakora, promatralo protuupalni učinak oralno primijenjenog ekstrakta plodova duda na karagenanom-induciran reumatoidni artritis. Karagenan potiče akutni upalni odgovor na šapi štakora, karakteriziran lokalnim nakupljanjem tekućine, kao i porastom mokraćne kiseline te reumatoidnog faktora u serumu. Nakon primjene ekstrakta ploda duda u dozi od 50 mg/kg primijećeno je smanjenje upalnih znakova: 35%-tno smanjenje formiranih edema (5 sati nakon primjene), 44,5% niža vrijednost mokraćne kiseline, kao i 44,1% niža vrijednost reumatoidnog faktora u serumu (Kim i Park, 2006).

#### 4.1.6. Imunostimulatorni učinak

U *in vitro* istraživanju promatrano je mogu li spojevi izolirani iz plodova bijelog duda aktivirati makrofage na RAW 264,7 stanicama, na temelju proizvodnje dušikovog oksida (NO) i proupalnih citokina, TNF $\alpha$  (faktora nekroze tumora) i IL-12 (interleukina 12). Izolirani spojevi su pirolski alkaloidi, a istaknuli su se **2-formil-5-(hidroksimetil)-1H-pirol-1-butanska kiselina** i **2-formil-5-(metoksimetil)-1H-pirol-butanska kiselina**. Navedeni spojevi povećavaju proizvodnju NO, TNF $\alpha$  i IL-12 te potiču fagocitnu aktivnost makrofaga (Kim i sur., 2013). Strukture izoliranih spojeva prikazane su na Slici 11.



3 R=H

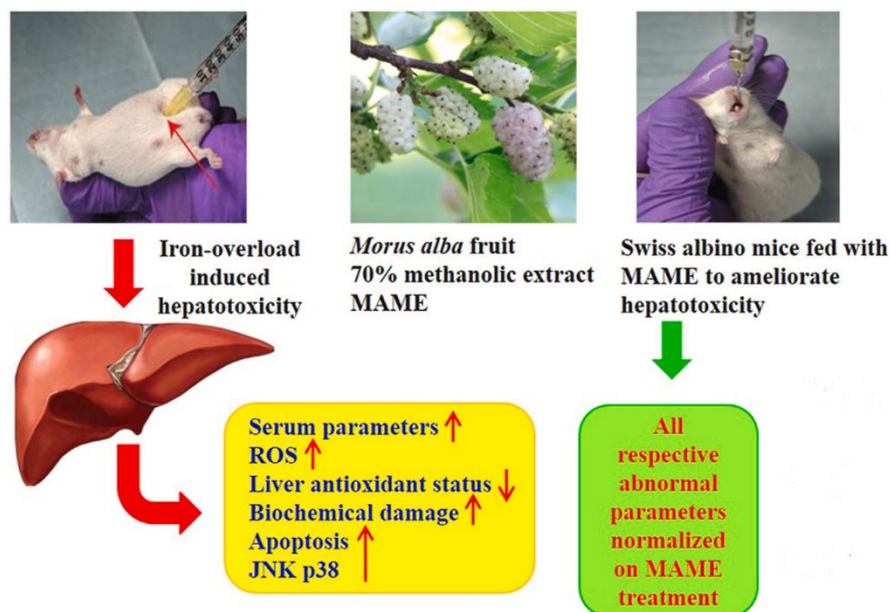
4 R=CH<sub>3</sub>

Slika 11. Struktura 2-formil-5-(hidroksimetil)-1H-pirol-1-butanske kiseline i 2-formil-5-(metoksimetil)-1H-pirol-butanske kiseline (Izvor: Kim i sur., 2013).

#### 4.1.7. Hepatoprotektivni učinak

Provedeno je istraživanje u kojem je promatran učinak ekstrakta plodova duda na oksidativni stres uzrokovan preopterećenjem željezom i posljedičnu fibrozu jetre na uzorku miševa. Poznato je da višak željeza uzrokuje oksidacijsko oštećenje biomolekula, što zatim uzrokuje ozljedu tkiva i u konačnici zatajenje jetre. Liječenje ekstraktom duda značajno je smanjilo razinu željeza u jetri i feritina u serumu. Osim toga, biokemijskom i histopatološkom analizom utvrđeno je poboljšanje stanja jetre, u vidu smanjenog oštećenja i fibroze. Primijećeno je da ekstrakt smanjuje i razinu apoptoze uzrokovanu preopterećenjem željeza i to preko regulacije razine proteina uključenih u apoptski put: BAX (BCL-2 sličan protein X), kaspaza-3 i PARP (poli (ADP-riboza) polimeraza). Upravo bi se zbog ovih rezultata ekstrakt plodova duda mogao koristiti u stanjima fibroze jetre uzrokovane preopterećenjem željezom, kao njegov učinkovit kelator (Shendge i sur., 2021). Mehanizam hepatoprotektivnog djelovanja ekstrakta prikazan je na Slici 12.



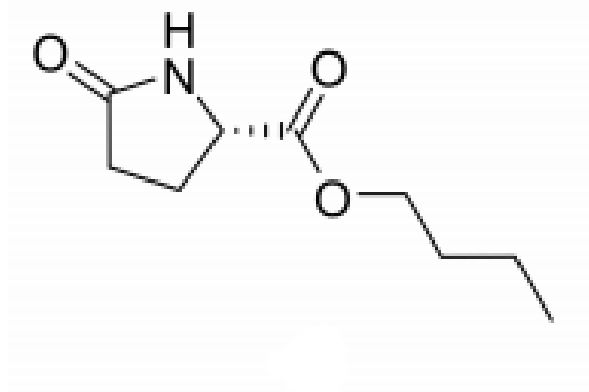


Slika 12. Mehanizam hepatoprotektivnog učinka ekstrakta plodova duda (Izvor: Shendge i sur., 2021).

Zanimljivo je i istraživanje u kojem je promatran utjecaj vodenog ekstrakta plodova bijelog duda (u koncentraciji 0,5-2% w/w) na oštećenja jetre izazvana alkoholom na modelu miševa. Prekomjernom konzumacijom alkohola nastaje steatoza jetre, koju karakterizira povećana akumulacija masti u stanicama jetre. Primijećeno je da ekstrakt plodova inhibira razvoj mogućih oštećenja jetre na način da inhibira porast jetrenih razina triglicerida i kolesterola, smanjuje ekspresiju enzima uključenih u lipogenezu, a povećava ekspresiju onih zaduženih za lipolizu te potiče oksidaciju slobodnih masnih kiselina. Nadalje, smanjena je plazmatska aktivnost AST (aspartat-aminotransferaze), ALT (alanin-aminotransferaze) i ALP (alkalne fosfataze), koji služe kao biomarkeri ozljede jetre. Histopatološki i histološki, nakon primjene ekstrakta vidljiva je smanjena ozljeda jetrenog tkiva uzrokovana primjenom alkohola, kao i smanjenje jetrene razine proupalnih medijatora, poput COX2 i TNF $\alpha$ . Rezultati za sve promatrane parametre usporedivi su s onima od pozitivne kontrole, a posebno je zanimljiva činjenica to što je u tu svrhu korišten silimarin, poznati hepatoprotektiv. Stoga bi ekstrakt plodova duda mogao biti koristan u prevenciji, a i u mogućoj terapiji alkoholom-inducirane steatoze jetre (Tang i sur., 2013).

#### 4.1.8. Nefroprotektivni učinak

Nefrotoksičnost je jedna od najčešće proučavanih nuspojava lijekova. Tijekom resorpcije u proksimalnim tubulima bubrega, lijekovi mogu doseći visoke koncentracije i djelovati toksično. Jedan od takvih lijekova je i **cisplatin**, citostatik učinkovit u liječenju raka vrata maternice. Provedeno je istraživanje protektivnog učinka spojeva bijelog duda na cisplatinom-induciranu citotoksičnost u LLC-PK1 stanicama bubrega. Primijećeno je da **butil piroglutamat** (Slika 13), spoj prirodno prisutan u plodovima, ima nefroprotektivni učinak, u ovisnosti o dozi. Primjerice, pri 10  $\mu\text{M}$ , butil piroglutamat ima 83,14% zaštitnog učinka pozitivne kontrole, N-acetilcisteina (NAC, spoj koji dokazano štiti stanice bubrega od utjecaja cisplatina). Štoviše, butil piroglutamat pokazuje i jači nefroprotektivni učinak od NAC. Nadalje, ispitivani spoj smanjuje razinu cisplatinom-inducirane apoptoze (za 19,3%). Kao pokazatelji smanjenja apoptoze, promatrani su spojevi uključeni u MAPK/ERK signalni put i primijećena je njihova smanjena ekspresija, ovisno o primijenjenoj dozi promatranog spoja (Lee i sur., 2018). Upravo bi zbog ovih rezultata butil piroglutamat mogao biti dobar nefroprotektivni agens, no potrebna su dodatna istraživanja.



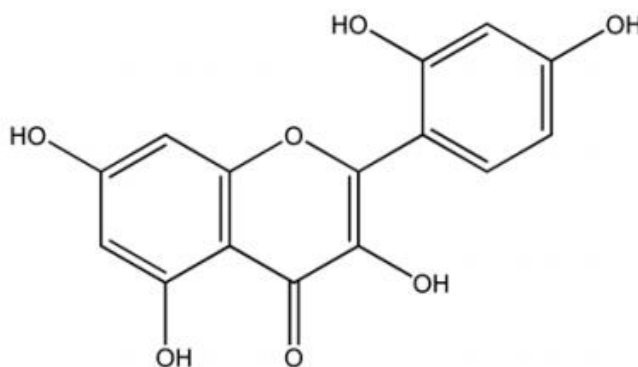
Slika 13. Butil piroglutamat (Izvor: Lee i sur., 2018).

#### 4.1.9. Antimikrobni učinak

U današnje se vrijeme ulažu veliki naponi kako bi se otkrili spojevi iz biljnih izvora s antimikrobnim svojstvima, zbog sve veće rezistencije bakterija na dostupne antibiotike. Upravo je iz tog razloga provedeno istraživanje u kojem se ispitivao antibiotski učinak ekstrakta plodova (0,5 g) na rast gram-pozitivnih bakterija *Bacillus* sp., *Staphylococcus aureus* i

*Enterococcus faecalis*. Primijećeno je da metanolni ekstrakt plodova blago inhibira rast *S. aureus*, dok na ostale bakterije nema utjecaj (Wahab i sur., 2020).

**Morin**, flavonoidni spoj izoliran iz plodova duda, posjeduje određena antibakterijska svojstva (Slika 14). Konkretno, umjereno inhibira rast *Streptococcus mutans*, a nešto slabije djeluje i na *S. sobrinus*. Međutim, nema antibakterijski učinak na *Porphyromonas asaccharolytica* i *P. gingivalis*, u odnosu na pozitivnu kontrolu (klorheksidin). (Yang i Lee, 2012).



Slika 14. Morin (Izvor: Yang i Lee, 2012).

Nešto drugačije istraživanje antimikrobne aktivnosti plodova proveli su Dimitrijević i suradnici, 2014. godine. Primijećena je različita antimikrobna aktivnost ovisno o otapalu u kojem je ekstrakt (koncentracije 30 mg/ml) pripremljen. Tako je vodeni ekstrakt inhibirao rast bakterija *S. aureus* i *Salmonella typhimurium* pri većem testiranom volumenu (50 µl). Vodeno-metanolni ekstrakt djelovao je samo na bakterije *S. typhimurium*, dok je metanolni ekstrakt pokazao najširi spektar antimikrobnog djelovanja, inhibirajući rast *S. typhimurium*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli*. Ovi rezultati podupiru tradicionalnu upotrebu plodova bijelog duda kod raznih bolesti uzrokovanih mikroorganizmima, poput proljeva i drugih bolesti crijevnog trakta, infekcija grla i uha te kožnih bolesti.

U jednom je istraživanju korišten vodeni ekstrakt plodova bijelog duda za izradu Ag-, Cu- i Pd-koloidnih nanočestica (NP) te je promatran *in vitro* antimikrobni učinak istih na kulture bakterija koje se lako prenose hranom, *E. coli* i *Listeria monocytogenes*. Nanočestice se široko primjenjuju u medicini, poljoprivredi i proizvodnji hrane zbog poboljšanih fizikalno-kemijskih i bioloških svojstava u odnosu na njihove zasebne sastavne dijelove. Posebno se puno truda ulaže kako bi se izradile nove nanočestice koristeći prirodne izvore, sa značajnim

antimikrobnim djelovanjem. U spomenutom su istraživanju nanočestice biosintetizirane uz pomoć ekstrakta duda pokazale antimikrobno djelovanje na obje vrste bakterija. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) Cu-, Ag- i Pd-NP za *E. coli* iznosila je 2500, 5000 i 5000 µg/ml, dok je za *L. monocytogenes* iznosila 2500, 5000 i 2500 µg/ml. Nije u potpunosti razjašnjen inhibicijski mehanizam NP na rast bakterija, no autori navode da bi se NP mogle nakupljati u staničnoj stijenci bakterija, što rezultira poremećajem permeabilnosti stanične membrane bakterija, generiranjem reaktivnih kisikovih specija, oslobađanjem velike količine iona pozitivnog naboja s površine NP, koji stupaju u interakciju s proteinima i DNA bakterija te u konačnici dovode do smrti bakterijske stanice. Nadalje, dobivene su nanočestice ugrađene su u bakterijski nanocelulozni film (BNC), polimerni nanomaterijal široke primjene u medicini i proizvodnji hrane. Sam BNC nema nikakvo antimikrobno djelovanje, dok BNC s ugrađenim nanočesticama pokazuju antimikrobni učinak, a najjači je primijećen kod AgBNC. Ove bi se nanočestice, dobivene korištenjem ekstrakta plodova bijelog duda, mogle koristiti u proizvodnji hrane, no potrebna su daljnja istraživanja (Razavi i sur., 2019).

#### **4.1.10. Učinak na Parkinsonovu bolest**

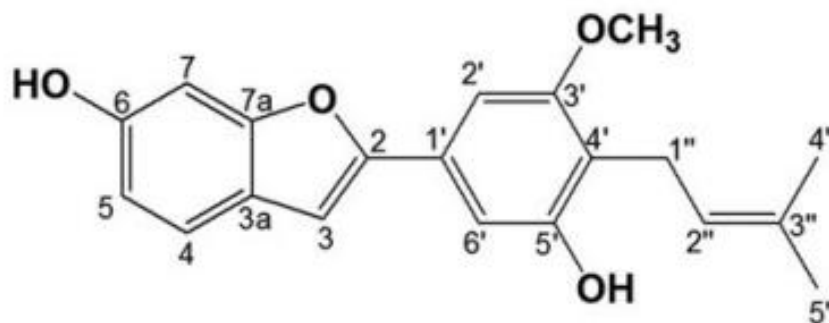
Parkinsonova bolest (PB) jedna je od najčešćih neuroloških poremećaja, koji pogađa 2% stanovništva starijih od 60 godina. Karakteristika PB je selektivni gubitak dopaminergičkih neurona u *substantia nigra pars compacta*. Ispitivan je protektivni učinak ekstrakta ploda bijelog duda (u rasponu koncentracija 0,1-100 µg/ml) na dopaminergične neurone u *in vitro* modelima PB, koristeći SH-SY5Y stanice humanog neuroblastoma, gdje su simptomi PB uzrokovani 6-hidroksidopaminom (6-OHDA). Vidljiv je značajan zaštitni učinak ekstrakta duda na SH-SY5Y stanice jer, ovisno o dozi, smanjuje unutarstanično 6-OHDA-inducirano stvaranje ROS, kao i akumulaciju toksičnog dušikovog oksida (NO). Na taj način smanjuje mogućnost interakcije između ROS i NO i posljedično pokretanje neurotoksične kaskade oksidativnog stresa. Osim toga, primijećena je i smanjena razina 6-OHDA-inducirane apoptoze, preko regulacije apoptotskih faktora Bcl-2 i Bax te inhibicije kaspaze 3. Nadalje, promatran je učinak ekstrakta na dopaminergične neurone mezencefalona štakora, gdje je PB uzrokovana djelovanjem 6-OHDA i 1-metil-4-fenilpiridina (MPP+). Kao i u prethodnom primjeru, ispitivani ekstrakt već i pri nižim dozama značajno štiti dopaminergične neurone od 6-OHDA. MPP+ inducira selektivni gubitak dopaminergičkih neurona, dok ekstrakt pokazuje zaštitnički učinak na iste, u širokom rasponu koncentracija. Prema ovim rezultatima,

pretpostavlja se da je ekstrakt plodova duda učinkovitiji u MPTP-induciranom mišjem modelu PB nego u drugim modelima izazvanim toksinima. Zato je ispitan učinak istog ekstrakta u *in vivo* modelu PB, izazvane 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinom (MPTP), na modelu miševa. U testu motoričke koordinacije, pokazano je da bi terapija ekstraktom, u dozi od 500 mg/kg dnevno, mogla očuvati sposobnost kretanja u bradikineziji izazvanoj MPTP-om. U histološkoj analizi, ME značajno smanjenjuje oštećenje dopaminergičnih neurona izazvano MPTP-om u supstanciji nigri i striatumu, inhibicijom apoptotskog proteina Bax (Kim i sur., 2010). Ovi rezultati sugeriraju da bi plod bijelog duda ili spojevi prisutni u njemu mogli biti dobri kandidati za upotrebu u prevenciji ili liječenju Parkinsonove bolesti.

#### 4.1.11. Neuroprotektivni učinak

Cerebralna ishemija nastaje u stanjima niske opskrbe mozga kisikom i glukozom, što može biti posljedica opstrukcije ili začepljenja krvnih žila. Mozak je veoma osjetljiv na nedostatak kisika, kao i na oštećenja koja nastaju djelovanjem slobodnih radikala. Jedno je istraživanje proučilo neuroprotektivni učinak ekstrakta ploda duda na PC12 stanice s oksidativnim oštećenjem, nastalim djelovanjem vodikovog peroksida. Rezultati pokazuju da ekstrakt plodova inhibira ishemijsko oštećenje mozga, koje nastaje zbog nedostatka glukoze i kisika u stanicama PC12. Primijećeno je da je za neuroprotektivno djelovanje ekstrakta zaslužan **cijanidin-3-O- $\beta$ -D-glukopiranozid**, spoj prirodno prisutan u plodovima duda (Kang i sur., 2006).

U drugom je istraživanju promatran neuroprotektivni učinak spojeva prirodno prisutnih u plodovima duda na HT22 stanicama hipokampusu s oksidacijskim oštećenjem nastalim uslijed djelovanja glutamata. Glutamat djeluje kao glavni ekscitacijski neurotransmiter u središnjem živčanom sustavu sisavaca, no prisutan u prekomjernoj količini može potaknuti reakciju oksidacijskog stresa, što rezultira propadanjem stanica neurona. U istraživanju je primijećeno da spojevi prisutni u plodovima duda zaista štite stanice neurona od oštećenja. Istaknuli su se prenilirani arilbenzofuran, **artoindonesianin O** ( $EC_{50} = 19,7 \mu M$ ), kao i flavonoidi **morakalkon A** ( $EC_{50} = 35,5 \mu M$ ) i **kvercetin** ( $EC_{50} = 37,2 \mu M$ ), u odnosu na pozitivnu kontrolu ( $EC_{50} = 15,8 \mu M$ ). Ovi rezultati sugeriraju da bi artoindonesianin O (Slika 15) mogao biti korisno neuroprotektivno sredstvo, no potrebne su dodatne studije koje bi potvrdile taj potencijal (Seo i sur., 2015).



Slika 15. Artoindonesianin O (Izvor: Seo i sur., 2015).

#### 4.1.12. Učinak na pamćenje

2013. godine Kim i Oh ispitivali su učinak flavonoidnih spojeva iz plodova bijelog duda (u koncentracijama od 20 do 500 mg/kg/dan) na poboljšanje memorije, na modelu miševa. Kao pokazatelj je uzet **NGF**, faktor rasta živaca, koji utječe na proliferaciju, diferencijaciju, preživljavanje i odumiranje kolinergičnih neurona u središnjem živčanom sustavu. Smatra se da je NGF važan terapijski cilj za demenciju, uključujući i Alzheimerovu bolest, budući da su kolinergički neuroni u hipokampusu važni za samu memoriju i pamćenje. Prema istraživanju, ekstrakt plodova povećava koncentraciju NGF u hipokampusu, u ovisnosti o koncentraciji. Primjerice, primjenom 100 mg/kg ekstrakta, razina NFG iznosi 441 pg/mg proteina (u odnosu na kontrolu, 314 pg/mg). To potvrđuje i porast razine ekspresije pCREB/CREB (primjenom 100 mg/kg ekstrakta iznosi 182%), transkripcijskih faktora koji služe kao pokazatelj aktivnosti NFG-a. CREB je ključna signalna molekula uključena u učenje i pamćenje. Smanjena je i razina ekspresije acetilkolin esteraze, enzima koji sudjeluje u razgradnji acetilkolina, budući da acetilkolin u hipokampusu ima ključnu ulogu tijekom obrade memorije. Dobiveni su rezultati potvrđeni na testu prepoznavanja, gdje su miševima prezentirani poznati (prethodno viđeni) i nepoznati predmeti. Autori navode kako glodavci preferiraju nove, nepoznate predmete i istražuju ih dulje u odnosu na poznate predmete. Miševi hranjeni sa 100 mg/kg ekstrakta potrošili su 65,3% više vremena od kontrolne grupe proučavajući nove predmete. Ovi rezultati sugeriraju kako plod bijelog duda, odnosno njegove sastavnice imaju pozitivan utjecaj na NFG, no potrebne su dodatne analize kako bi se razumjela funkcionalnost, ali i toksičnost, farmakokinetika i metabolizam ekstrakta bijelog duda i njegovih sastavnica.

U drugom je istraživanju promatran protektivni učinak ekstrakta ploda duda na gubitak pamćenja u životinjskom modelu vaskularne demencije, koja je drugi najčešći uzrok demencije u starijih osoba. Životinjama je apliciran ekstrakt u dozama od 2, 10 i 50 mg/kg/dan. Kao pozitivna kontrola korišten je donepezil, lijek koji se koristi kod demencije uzrokovane Alzheimerovom bolešću. Kao i u slučaju pozitivne kontrole, primjenom ekstrakta duda primijećeno je povećanje gustoće neurona u hipokampusu, kao i smanjenje aktivnosti acetilkolinesteraze pa na taj način raste razina acetilkolina, neurotransmitera bitnog za obradu pamćenja. Vjeruje se da je navedeni učinak posljedica smanjenja oksidacijskog stresa i apoptoze (Kaewkaen i sur., 2012).

#### **4.1.13. Antitumorski učinak**

Rak (neoplazma, zloćudni tumor) obuhvaća veliku skupinu bolesti koje se mogu pojaviti u gotovo svim organima ili tkivima tijela i drugi je vodeći uzrok smrti na globalnoj razini. Prema procjenama, u 2018. je godini svaka šesta osoba umrla od neke vrste raka. Metastaziranje, proces u kojem rak postaje invazivan, glavni je uzrok smrti, a uključuje nekontrolirani rast abnormalnih stanica koje zatim nadilaze svoje granice da bi zahvatile susjedne dijelove tijela, odnosno da bi se proširile na druge organe (www.who.int).

Chen i tim suradnika (2006.) istražili su učinak **cijanidin 3-glukozida (C3G)** i **cijanidin 3-rutinozida (C3R)**, antocijanina plodova bijelog duda, na migraciju i invaziju tumorskih stanica, promatranjem aktivnosti relevantnih proteaza, uključujući **MMP-2** (metaloproteinazu 2) i **u-PA** (urokinazni tip plazminogenog aktivatora). Proteaze su bile iz kulture A549 humanih stanica raka pluća s velikom sposobnosti metastaziranja. Rezultati su pokazali da cijanidin 3-rutinozid i cijanidin 3-glukozid, u ovisnosti o dozi, značajno smanjuju invaziju stanica A549. Nadalje, budući da se vjeruje da su proteaze koje razgrađuju komponente izvanstaničnog matriksa potrebne za metastaziranje stanica raka, promatran je utjecaj antocijana na aktivnost u-PA i MMP. Aktivnost u-PA značajno je smanjena. Primjerice, primjenom 10  $\mu$ M C3R, aktivnost je pala na 40% početne vrijednosti, dok je primjenom 10  $\mu$ M C3G iznosila 30% početne vrijednosti. S druge strane, aktivnost MMP-2 bila je samo neznatno inhibirana (primjenom iste koncentracije C3R i C3G, aktivnost je iznosila 85%, odn. 90% početne vrijednosti). Promatran je i utjecaj C3G i C3R na interakciju stanice-matriks, budući da je interakcija između abnormalnih stanica i komponenata izvanstaničnog matriksa bitna za invaziju raka. Cijanidin 3-glukozid značajno smanjuje vezanje A549 stanica za kolagen tipa 1

(u dozi od 25 µg, smanjuje navedeno vezanje za 47,9%, a u dozi od 100 µg, vezanje je smanjeno za čak 90%). Cijanidin 3-rutinozid ne utječe značajno na interakciju stanica A549 i kolagena. Istovremeno, nije primijećen citotoksični učinak ispitivanih antocijana na stanice A549. Dakle, rezultati ove analize pokazali su da cijanidin 3-rutinozid i cijanidin 3-glukozid imaju snažno antikancerogeno djelovanje, inhibirajući sposobnost invazije stanica A549 pa bi stoga mogli poslužiti kao novi spojevi u prevenciji, ali i u mogućoj terapiji raka pluća.

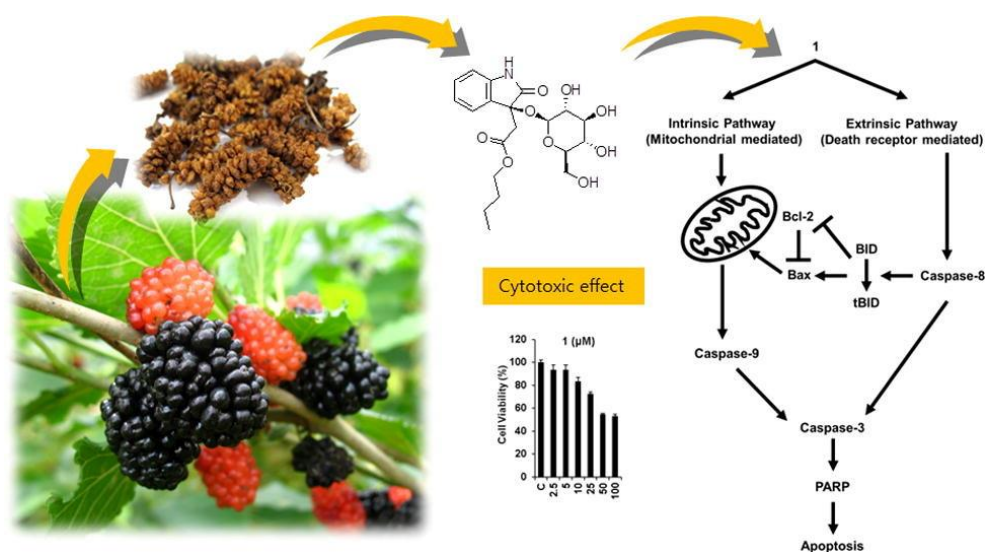
Potvrđeno je antitumorsko djelovanje **cijanidin 3-glukozida** (izoliranog iz plodova duda) i na MDA-MB-453 stanicama raka dojke. Cijanidin 3-glukozid inducira apoptozu, povećanjem aktivnosti pro-apoptotske kaspaze 3, kao i smanjenjem razine anti-apoptotskog Bcl-2. Osim toga, *in vivo* analiza na modelu miševa pokazala je smanjenje rasta tumora nakon administracije cijanidin 3-glukozida, u odnosu na kontrolu (Cho i sur., 2017).

Drugo je istraživanje provedeno kako bi se promotrio učinak antocijana duda na metastaziranje B16-F1 stanica melanoma *in vitro* i *in vivo*. Osim **C3G** i **C3R**, ovo je istraživanje uključilo i **pelargonidin 3-glukozid** i **pelargonidin 3-rutinozid**. Antocijani su, u ovisnosti o dozi, pokazali inhibitorni učinak na rast B16-F1 stanica. Osim što inhibiraju rast, antocijani inhibiraju i pokretljivost te sposobnost migracije navedenih stanica. Nadalje, i u ovom je istraživanju promatran utjecaj antocijana na aktivnost metaloproteinaza. Primjenom 3 mg/ml ekstrakta vidljiva je smanjena aktivnost MMP-2 (za 68%), kao i MMP-9 (za 55%), još jedne metaloproteinaze bitne u procesu metastaziranja. Kako bi se detaljnije promotrila pozadina smanjene aktivnosti MMP, promatrani su određeni transkripcijski faktori, primjerice NFκB (nuklearni faktor-κB) i AP-1 (aktivatorski protein 1). Primijećena je snažna inhibicija vezanja navedenih transkripcijskih faktora na DNA nakon primjene 3 mg/ml ispitivanih antocijana. Ovi rezultati sugeriraju kako bi antocijani mogli djelovati na razini gena, regulirajući njihovu transkripciju. Istraživanje na *in vivo* modelu miševa tretiranih B16-F1 stanicama melanoma pokazalo je kako antocijani, pri višim koncentracijama (3%), povećavaju stopu preživljavanja životinja, a istovremeno inhibiraju metastaziranje stanica na jetru i pluća, u odnosu na kontrolu. Također, potvrđena je smanjena razina ekspresije proteina povezanih s migracijom stanica raka, kao što je to vidljivo u *in vitro* modelu (Huang i sur., 2008).

Osim antocijana, postoje i drugi spojevi s antitumorskim djelovanjem. Primjerice, u jednoj su studiji iz plodova izolirani derivati indol-3-octene kiseline. **Butilni ester 3S-(β-D-glukopiranozil)-2,3-dihidro-2-okso-1H-indol-3-octene kiseline**, nastao je butiliranjem izoliranog spoja ploda duda. Pokazao je citotoksični učinak na Hela stanice



humanog raka vrata maternice kod čovjeka aktivacijom kaspaza, skupine proteaza koje imaju ključnu ulogu u programiranoj staničnoj smrti. Poznato je da je aktivnost kaspaza u tumorima smanjena, zbog čega tumori nekontrolirano rastu, a i u konačnici metastaziraju. Istovremeno, primijećena je promjena u ekspresiji mitohondrijskih proteina, poput Bax i Bcl-2, također uključenih u kontrolu apoptoze. U konačnici, dolazi do apoptoze, pa i smanjene vijabilnosti Hela stanica. Struktura i mehanizam djelovanja izoliranog spoja prikazan je na Slici 16 (Yu i sur., 2018). Upravo bi zbog ovih rezultata navedeni spoj mogao biti koristan u liječenju raka vrata maternice kod ljudi, no potrebna su dodatna istraživanja.



Slika 16. Struktura i mehanizam djelovanja butilnog estera 3S-(β-D-glukopiranozil)-2,3-dihidro-2-okso-1H-indol-3-octene kiseline (Izvor: Yu i sur., 2018).

U jednom je istraživanju iz plodova duda izolirano nekoliko spojeva, od kojih **lololid** pokazuje antiangiogeni učinak na primjeru HUVEC stanica (humanih endotelnih stanica pupčane vene). Angiogeneza, proces u kojem tumori stvaraju nove, vlastite krvne žile, je osobito bitna za rast tumora ([www.onkologija.hr](http://www.onkologija.hr)). Prema istraživanju, navedeni spoj u HUVEC uzrokuje značajno smanjenje ekspresije VEGF, važnog mitogena endotelnih stanica koji igra ključnu ulogu u patološkim stanjima povezanim s angiogenezom, kao i signalnih molekula uključenih u njegovu aktivaciju i djelovanje. Također, test angiogeneze pokazao je inhibiciju stvaranja cijevi nalik kapilarama nakon primjene ispitivanog spoja (Lee i sur., 2016).

#### **4.1.14. Toksičnost**

Obzirom na rezultate svih ovih istraživanja, pretpostavlja se da bi plodovi duda mogli imati korisne učinke uslijed dugotrajne, ponavljane upotrebe. No, zbog malo dostupnih podataka o sigurnosti, provedeno je istraživanje akutne i subkronične toksičnosti plodova duda, na modelu miševa. Za procjenu akutne toksičnosti, oralno je primijenjen vodeni ekstrakt plodova duda u dozi od 2000 mg/kg. Subkronična toksičnost ispitivana je u razdoblju od 90 dana, gdje su na isti način primjenjivane doze od 2, 10 i 500 mg/kg. Promatrana je tjelesna težina, unos vode i hrane, težina odabranih tkiva, kao i histopatološki te hematološki parametri. Dobiveni rezultati bili su u granicama normale i nisu primijećene nikakve abnormalnosti u tretiranim skupinama, u odnosu na kontrolu. Prema tome, plodovi duda ne izazivaju ni akutnu ni subkroničnu toksičnost (Wattanathorn i sur., 2012).

## 5. ZAKLJUČAK

Bijeli dud (*Morus alba* L.) iz porodice Moraceae već je tisućama godina sastavni dio tradicionalne orijentalne medicine. Gotovo se svi dijelovi biljke koriste u medicinske svrhe, a posebno su zanimljivi ukusni plodovi bijelog duda, Sang Shen Zi, koji u tradicionalnoj kineskoj medicini služe za jačanje zdravlja i promicanje dugovječnosti. Upravo iz tog razloga plodovi duda pobuđuju sve veći interes znanstvenika.

Što se kemijskog sastava plodova bijelog duda tiče, sadrže ugljikohidrate, proteine, lipide, organske kiseline, karoten, vitamine i minerale. Nadalje, kao glavni bioaktivni spojevi ističu se antocijani, flavonoidi i fenolne kiseline, spojevi velikog antioksidacijskog kapaciteta. Glavne antocijaninske komponente, odgovorne za farmakološka djelovanja, su cijanidin 3-glukozid i cijanidin 3-rutinozid. Među flavonoidima, najviše se ističe rutin, dok se među fenolnim kiselinama ističe prisutnost galne kiseline.

U mnogim je *in vitro* studijama i studijama na životinjskim modelima ispitivan učinak plodova bijelog duda pa je tako uočeno da imaju pozitivan učinak na kardiovaskularni sustav, djelujući antioksidacijski, hipolipidemijski, antidijabetski i antiaterosklerotski. Štite jetru i bubrege od mogućih oštećenja. Povoljno djeluju i na živčani sustav, poboljšavajući pamćenje i štiteći neurone od mogućih oštećenja u modelu Parkinsonove bolesti. Osim toga, velik broj studija potvrđuje antitumorsko djelovanje plodova i spojeva prisutnih u njima. Istovremeno, nije zamijećen toksični učinak uslijed dugotrajne primjene plodova. Većina istraženih studija učinak pripisuje fenolnim spojevima. Upravo bi iz tog razloga plodovi bijelog duda mogli biti korisni u prevenciji i liječenju brojnih zdravstvenih tegoba, kao što su hiperlipidemija, pretilost, ateroskleroza, šećerna bolest tip 2, Parkinsonova bolest, ali i neke vrste tumora.

Ovaj širok terapijski potencijal plodova potrebno je potvrditi dodatnim istraživanjima i kliničkim studijama, koja će dati detaljnije podatke o mehanizmu djelovanja, farmakokinetici, neželjenim učincima i potencijalnim interakcijama s lijekovima.

## 6. LITERATURA

Angiogeneza tumora, <https://www.onkologija.hr/>, pristupljeno 10.09.2021.

Cancer, <https://www.who.int/health-topics/>, pristupljeno 26.08.2021.

Chan EWC, Lye PY, Wong SK. Phytochemistry, pharmacology and clinical trials of *Morus alba*. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(1), 17-30.

Chen JK, Chen TT. Chinese Medical Herbology and Pharmacology. City of Industry, Art of Medicine Press, 2004, str. 659.

Chen CC, Liu LK, Hsu JD, Huang HP, Yang MY, Wang CJ. Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Food Chem*, 2005, 91, 601-607.

Chen PN, Chu SC, Chiou HL, Kuo WH, Chiang CL, Hsieh YS. Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer Lett*, 2006, 235(2), 248-259.

Cho E, Chung EY, Jang HY, Hong OY, Chae HS, Jeong YJ, Kim SY, Kim BS, Yoo DJ, Kim JS, Park KH. Anti-cancer Effect of Cyanidin 3-glucoside from Mulberry via Caspase-3 Cleavage and DNA Fragmentation *in vitro* and *in vivo*. *Anticancer Agents Med Chem*, 2017, 17(11), 1519-1525.

Devi B, Sharma N, Kumar D, Jeet K. *Morus alba* Linn: A Phytopharmacological review. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2013, 5(2), 14-18.

Dimitrijević DS, Kostić DA, Stojanović GS, Mitić SS, Mitić MN, Đorđević AS. Phenolic composition, antioxidant activity, mineral content and antimicrobial activity of fresh fruit extracts of *Morus alba* L. *J Food Nutr Res*, 2014, 53(1), 22-30.

Dimitrova MP, Petkova NT, Denev PP, Aleksieva IN. Carbohydrate Composition and Antioxidant Activity of Certain *Morus* species. *Int J Pharmacognosy and Phytochem Res*, 2015, 7(3), 621-627.

Du QZ, Zheng J, Xu Y. Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity. *J Food Compost Anal*, 2008, 21, 390-395.

Ercisli S, Orhan E. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chem*, 2007, 103(4), 1380-1384.

Everything You Need to Know About Diabetes, <https://www.healthline.com/>, pristupljeno 27.08.2021.

Franjić J, Škvorc Ž. Šumsko drveće i grmlje Hrvatske. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu – Šumarski fakultet, 2010, str. 238.

Gundogdu M, Muradoglu F, Sensoy RIG, Yilmaz H. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Sci Horti*, 2011, 132, 37-41.

Huang HP, Shih YW, Chang YC, Hung CN, Wang CJ. Chemoinhibitory effect of mulberry anthocyanins on melanoma metastasis involved in the Ras/PI3K pathway. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(19), 9286-9293.

Idžojić M. Dendrologija – cvijet, češer, plod, sjeme. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu – Šumarski fakultet, 2013, str. 373.

Idžojić M. Dendrologija – list. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu – Šumarski fakultet, 2009, str. 508.

Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med*, 2017, 54(4), 287-293.

Imran M, Khan H, Shah M, Khan R, Khan F. Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2010, 11(12), 973-980.

Jiao Y, Wang X, Jiang X, Kong F, Wang S, Yan C. Antidiabetic effects of *Morus alba* fruit polysaccharides on high-fat diet- and streptozocin-induced type 2 diabetes in rats. *J Ethnopharmacol*, 2017, 199, 199-127.

Kaewkaen P, Tong-Un T, Wattanathorn J, Muchimapura S, Kaewrueng W, Wongcharoenwanakit S. Mulberry Frut Extract Protects against Memory Impairment and Hippocampal Damage in Animal Model of Vascular Dementia. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2012, 263520.

Kang TH, Hur JY, Kim HB, Ryu JH, Kim SY. Neuroprotective effects of the cyanidin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside isolated from mulberry fruit against cerebral ischemia. *Neurosci Lett*, 2006, 391(3), 122-126.

Kim AJ, Park S. Mulberry Extract Supplements Ameliorate the Inflammation-Related Hematological Parameters in Carrageenan-Induced Arthritic Rats. *J Med Food*, 2006, 9(3), 431-435.

Kim HG, Oh MS. Memory-enhancing effect of Mori Fructus via induction of nerve growth factor. *Br J Nutr*, 2013, 110(1), 86-94.

Kim HG, Ju MS, Shim JS, Kim MC, Lee SH, Huh Y, Kim SY, Oh MS. Mulberry fruit protects dopaminergic neurons in toxin-induced Parkinson's disease models. *Br J Nutr*, 2010, 104(1), 8-16.

Kim SB, Chang BY, Jo YH, Lee SH, Han SB, Hwang BY, Kim SY, Lee MK. Macrophage activating activity of pyrrole alkaloids from *Morus alba* fruits. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145, 393-396.

Kim YR, Lee JS, Lee KR, Kim YE, Baek NI, Hong EK. Effects of mulberry ethanol extracts on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in pancreatic  $\beta$ -cells. *Int J Mol Med*, 2014, 33(1), 128-134.

Laong CNA, Tako M, Hanashiro I, Tamaki H. Antioxidant flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. *Food Chem*, 2008, 109(2), 415-420.

Lee D, Lee SR, Kang KS, Kim KH. Bioactive Phytochemicals from Mulberry: Potential Anti-Inflammatory Effects in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264,7 Macrophages. *Int J Mol Sci*, 2021, 22, 8120.

Lee D, Yu JS, Lee SR, Hwang GS, Kang KS, Park JG, Kim HY, Kim KH, Yamabe N. Beneficial Effects of Bioactive Compounds in Mulberry Fruits against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Int J Mol Sci*, 2018, 19, 1117.

Lee SR, Park JY, Yu JS, Lee SO, Ryu JY, Choi SZ, Kang KS, Yamabe N, Kim KH. Odisolane, a Novel Oxolane Derivative, and Antiangiogenic Constituents from the Fruits of Mulberry (*Morus alba* L.). *J Agric Food Chem*, 2016, 64(19), 3804-3809.

Lim SH, Yu JS, Lee HS, Choi CI, Kim KH. Antidiabetic Flavonoids from Fruits of *Morus alba* Promoting Insulin-Stimulated Glucose Uptake via Akt and AMP-Activated Protein Kinase Activation in 3T3-L1 Adipocytes. *Pharmaceutics*, 2021, 13(4), 526.

- Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, Kong M, Li L, Zhang Q, Liu Y, Chen H, Qin W, Wu H, Chen S. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules*, 2016, 21(10), 1374.
- Liu LK, Chou FP, Chen YC, Chyau CC, Ho HH, Wang CJ. Effects of mulberry (*Morus alba* L.) extracts on lipid homeostasis in Vitro and in Vivo. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(16), 7605-7611.
- Liu LK, Lee HJ, Shih YW, Chyau CC, Wang CJ. Mulberry anthocyanin extracts inhibit LDL oxidation and macrophage-derived foam cell formation induced by oxidative LDL. *J Food Sci*, 2008, 73(6), 113-121.
- Mahboubi M. *Morus alba* (mulberry), a natural potent compound in management of obesity. *Pharmacol Res*, 2019, 146, 104341.
- Morus alba*, [http://www.efloras.org/flora\\_page.aspx?flora\\_id=2](http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=2), pristupljeno 20.08.2021.
- Mulberry breeding, cultivation and utilization in Japan, 2000, <http://www.fao.org/livestock/agap/frg/mulberry/>, pristupljeno 21.08.2021.
- Natić MM, Dabić DČ, Papetti A, Fotirić Akšić MM, Ognjanov V, Ljubojević M, Tešić ŽLJ. Analysis and characterisation of phytochemicals in mulberry (*Morus alba* L.) fruits grown in Vojvodina, North Serbia. *Food Chem*, 2015, 171, 128-136.
- Oki T, Kobayashi M, Nakamura T, Okuyama A, Masuda M, Shiratsuchi H, Suda I. Changes in Radical-scavenging Activity and Components of Mulberry Fruit During Maturation. *Food Chem Toxicol*, 2006, 71(1), 18-22.
- Peng CH, Liu LK, Chuang CM, Chyau CC, Huang CN, Wang CJ. Mulberry water extracts possess an anti-obesity effect and ability to inhibit hepatic lipogenesis and promote lipolysis. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(6), 2663-2671.
- Polumackanycz M, Sledzinski T, Goyke E, Wesolowski M. A comparative study on the phenolic composition and biological activities of *Morus alba* L. Commercial samples. *Molecules*, 2019, 24(17), 3082.
- Razavi R, Molaei R, Moradi M, Tajik H, Ezati P, Yordshahi AS. Biosynthesis of metallic nanoparticles using mulberry fruit (*Morus alba* L.) extract for the preparation of antimicrobial nanocellulose film. *Appl Nanosci*, 2019, 10, 465-476.

Sarikaphuti A, Nararatwanchai T, Hashiguchi T, Ito T, Thaworanunta S, Kikuchi K, Oyama Y, Maruyama I, Tancharoen S. Preventive effects of *Morus alba* L. anthocyanins on diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Exp Ther Med*, 2013, 6(3), 689-695.

Seo KH, Lee DY, Jeong RH, Lee DS, Kim YE, Hong EK, Kim YC, Baek NI. Neuroprotective Effect of Prenylated Arylbenzofuran and Flavonoids from *Morus alba* Fruits on Glutamate-Induced Oxidative Injury in HT22 Hippocampal Cells. *J Med Food*, 2015, 18(4), 403-408.

Shendge AK, Panja S, Basu T, Ghate NB, Mandal N. Ameliorating effects of white mulberry on iron-overload-induced oxidative stress and liver fibrosis in Swiss albino mice. *Food Chem Toxicol*, 2021, 156, 112520.

Song JH, Lee D, Lee SR, Yu JS, Jang TS, Nam JW, Kim KH, Kang KS. Identification of bioactive heterocyclic compounds from mulberry and their protective effect against streptozotocin-induced apoptosis in INS-1 cells. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4), 5982-5987.

Tang CC, Huang HP, Lee YJ, Tang YH, Wang CJ. Hepatoprotective effect of mulberry water extracts on ethanol-induced liver injury via anti-inflammation and inhibition of lipogenesis in C57BL/6J mice. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62, 786-796.

Vijayan K, Chauhan S, Das NK, Chakraborti SP, Roy BN. Leaf yield component combining abilities in mulberry (*Morus* spp.). *Euphytica*, 1997, 98(1-2), 47-52.

Vlahović S. Primijenjena dendrologija, drveće i grmlje: bogatstvo našeg okoliša – Svezak 2. Zagreb, Školska knjiga, 2019, str. 61.

Wahab NHA, Hao HZ, Misbah S. Evaluation of phytochemical and antibacterial properties of white mulberry (*Morus alba*). *Malays Appl Biol*, 2020, 49(4), 107-112.

Wang C, Cheng W, Bai S, Ye L, Du J, Zhong M, Liu J, Zhao R, Shen B. White mulberry fruit polysaccharides enhance endothelial nitric oxide production to relax arteries *in vitro* and reduce blood pressure *in vivo*. *Biomed Pharmacother*, 2019, 116, 109022.

Wang CY, Cheng JW, Zhang XH, Kan JS, Fang Y, Zhang YL. The compositional analysis and antihypertensive activity of polysaccharides from white mulberry fruit. *Curr Top Nutr Res*, 2018, 17(1), 105-110.

Wang Y, Xiang L, Wang C, Tang C, He X. Antidiabetic and Antioxidant Effects and Phytochemicals of Mulberry Fruit (*Morus alba* L.) Polyphenol Enhanced Extract. *PLoS One*, 2013, 8(7), e71144.



Wattanathorn J, Thukummee W, Thipkaew C, Wannanond P, Tong-Un T, Muchimapura S, Kaewrueng W. Acute and Subchronic Toxicity of Mulberry Fruits. *Am J Agric Biol Sci*, 2012, 7(3), 378-383.

Yang JY, Lee HS. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Morin Isolated from Mulberry Fruits (*Morus alba* L.). *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 2012, 55, 485-489.

Yang X, Yang L, Zheng H. Hypolipidemic and antioxidant effects of mulberry (*Morus alba* L.) fruits in hyperlipidaemia rats. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(8-9), 2374-2379.

Yu JS, Lee D, Lee SR, Lee JW, Choi CI, Jang TS, Kang KS, Kim KH. Chemical characterization of cytotoxic indole acetic acid derivative from mulberry fruit (*Morus alba* L.) against human cervical cancer. *Bioorg Chem*, 2018, 76, 28-36.

Yu JS, Lim SH, Lee SR, Choi C, Kim KH. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of White Mulberry (*Morus alba* L.) Fruits on Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264,7 Macrophages. *Molecules*, 2021, 26(4), 920.

## 7. SAŽETAK

Plodovi bijelog duda (*Morus alba* L., *Moraceae*) dugi se niz godina koriste u tradicionalnoj medicini kao sredstvo jačanja zdravlja i promicanja dugovječnosti. Provedena znanstvena istraživanja pokazuju terapijski potencijal plodova bijelog duda u prevenciji i liječenju niza zdravstvenih tegoba, poput hiperlipidemije, pretilosti, ateroskleroze, šećerne bolesti tipa 2, Parkinsonove bolesti, ali i nekih vrsta tumora. Plodovi bijelog duda pokazuju izrazito antioksidacijsko djelovanje koje se može pripisati fenolnim spojevima prisutnima u njima, posebice cijanidin 3-glukozidu i cijanidin 3-rutinozidu, rutinu te galnoj kiselini. Potrebna su daljnja istraživanja koja bi pokazala mehanizme djelovanja, potencijalne nuspojave i indikacije za kliničku primjenu plodova.

The fruits of white mulberry (*Morus alba* L., *Moraceae*) have long been used in traditional medicine as a remedy to strengthen health and promote longevity. Scientific research that have been published show the therapeutic potential of white mulberry fruits in the prevention and treatment of a number of health problems, such as hyperlipidemia, obesity, atherosclerosis, type 2 diabetes, Parkinson's disease and also some types of tumors. White mulberry fruits show a pronounced antioxidant effect that can be attributed to the phenolic compounds present in them, especially cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-rutinoside, rutin and gallic acid. Further research is needed to show the mechanisms of action, potential side effects and indications for clinical use of the fruits.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmakognoziju  
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### FITOTERAPIJSKI POTENCIJAL PLODA BIJELOG DUDA

Mateja Dasović

#### SAŽETAK

Plodovi bijelog duda (*Morus alba* L., *Moraceae*) dugi se niz godina koriste u tradicionalnoj medicini kao sredstvo jačanja zdravlja i promicanja dugovječnosti. Provedena znanstvena istraživanja pokazuju terapijski potencijal plodova bijelog duda u prevenciji i liječenju niza zdravstvenih tegoba, poput hiperlipidemije, pretilosti, ateroskleroze, šećerne bolesti tipa 2, Parkinsonove bolesti, ali i nekih vrsta tumora. Plodovi bijelog duda pokazuju izrazito antioksidacijsko djelovanje koje se može pripisati fenolnim spojevima prisutnima u njima, posebice cijanidin 3-glukozidu i cijanidin 3-rutinozidu, rutinu te galnoj kiselini. Potrebna su daljnja istraživanja koja bi pokazala mehanizme djelovanja, potencijalne nuspojave i indikacije za kliničku primjenu plodova.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Rad sadrži: 37 stranica, 16 slika i 60 literaturnih navoda

Ključne riječi: plod bijelog duda, *Morus alba* L., fitoterapija, tradicionalna kineska medicina (TCM)

Mentor: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Bival Štefan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*  
**Dr. sc. Jasna Jablan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*  
**Dr. sc. Marijana Zovko Končić**, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2021.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmacognosy  
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### PHYTOTHERAPEUTIC POTENTIAL OF WHITE MULBERRY FRUIT

Mateja Dasović

#### SUMMARY

The fruits of white mulberry (*Morus alba* L., Moraceae) have long been used in traditional medicine as a remedy to strengthen health and promote longevity. Scientific research that have been published show the therapeutic potential of white mulberry fruits in the prevention and treatment of a number of health problems, such as hyperlipidemia, obesity, atherosclerosis, type 2 diabetes, Parkinson's disease and also some types of tumors. White mulberry fruits show a pronounced antioxidant effect that can be attributed to the phenolic compounds present in them, especially cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-rutinoside, rutin and gallic acid. Further research is needed to show the mechanisms of action, potential side effects and indications for clinical use of the fruits.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry. Original is in Croatian language.

Thesis includes: 37 pages, 16 figures and 60 references.

Keywords: white mulberry fruit, *Morus alba* L., phytotherapy, traditional Chinese medicine (TCM)

Mentor: **Maja Bival Štefan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Bival Štefan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Jasna Jablan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Marijana Zovko Končić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2021