

OCENA WPŁYWU MIKROBIOTY JELITOWEJ NA WYCIĄG WODNY Z LIŚCI MELISY (*Melissa officinalis* L.)

ALEKSANDRA MALARCZYK

Promotor: prof. dr hab. Sebastian Granica
Opiekun: mgr Diana Dolzko
Katedra i Zakład Biologii Farmaceutycznej



WSTĘP

Melisa lekarska (*Melissa officinalis* L.) to roślina od wieków stosowana w tradycyjnej medycynie wielu kultur w celu łagodzenia objawów natury neuropsychicznej (takich jak stres i zaburzenia snu), a także dolegliwości przewodu pokarmowego. W europejskiej medycynie ludowej liść melisy tradycyjnie podawany jest doustnie w formie naparów, herbatek oraz wyciągów [1, 2], dlatego też zawarte w nim związki ulegają metabolizmowi jelitowemu. Mimo że, *Melissae folium* jest surowcem farmakopealnym, brakuje badań dotyczących jego interakcji z mikrobiotą jelitową.

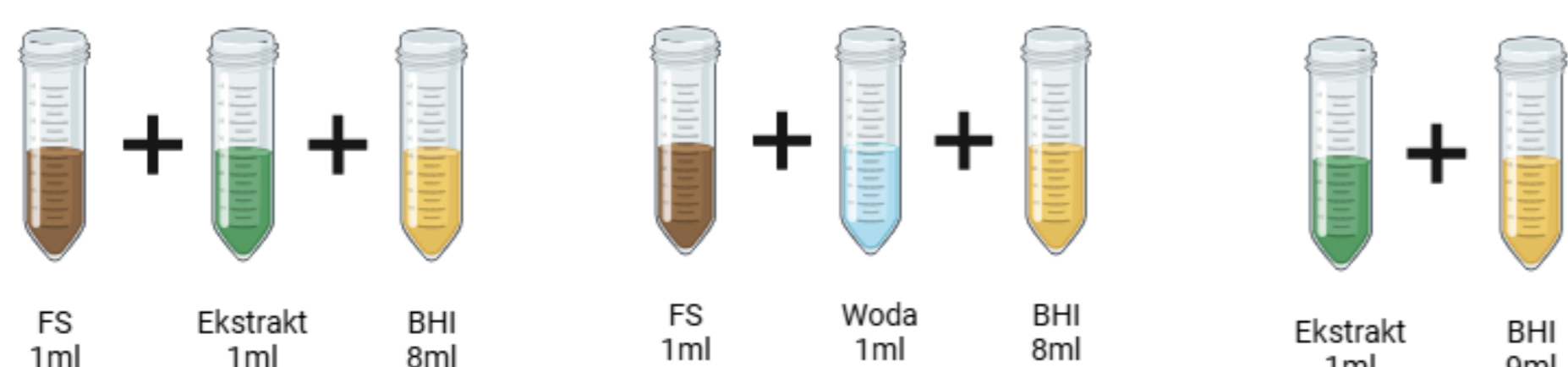
MATERIAŁY I METODY

Wyciąg z wodny z liści melisy (ME) wykonano według schematu przedstawionego na rycinie. Następnie wykonano analizę HPLC-DAD-MS wyciągu w celu identyfikacji obecnych w nim związków.



Następnie ME inkubowano *ex vivo* w komorze beztlenowej Bactron z zawiesiną kałową (FS) próbek otrzymanych od 3 zdrowych ochotników. FS zawieszono w przygotowanej wcześniej pożywce wzrostowej (Brain Heart Infusion, BHI).

3 rodzaje próbek zostały przygotowane w 50 ml probówkach typu Falcon:



Ocena wpływu mikrobioty jelitowej na skład ekstraktu z liści melisy

Identyfikacja związków endogennych produkowanych przez mikrobiotę

Ocena stabilności ekstraktu w warunkach inkubacji (bez mikrobioty)

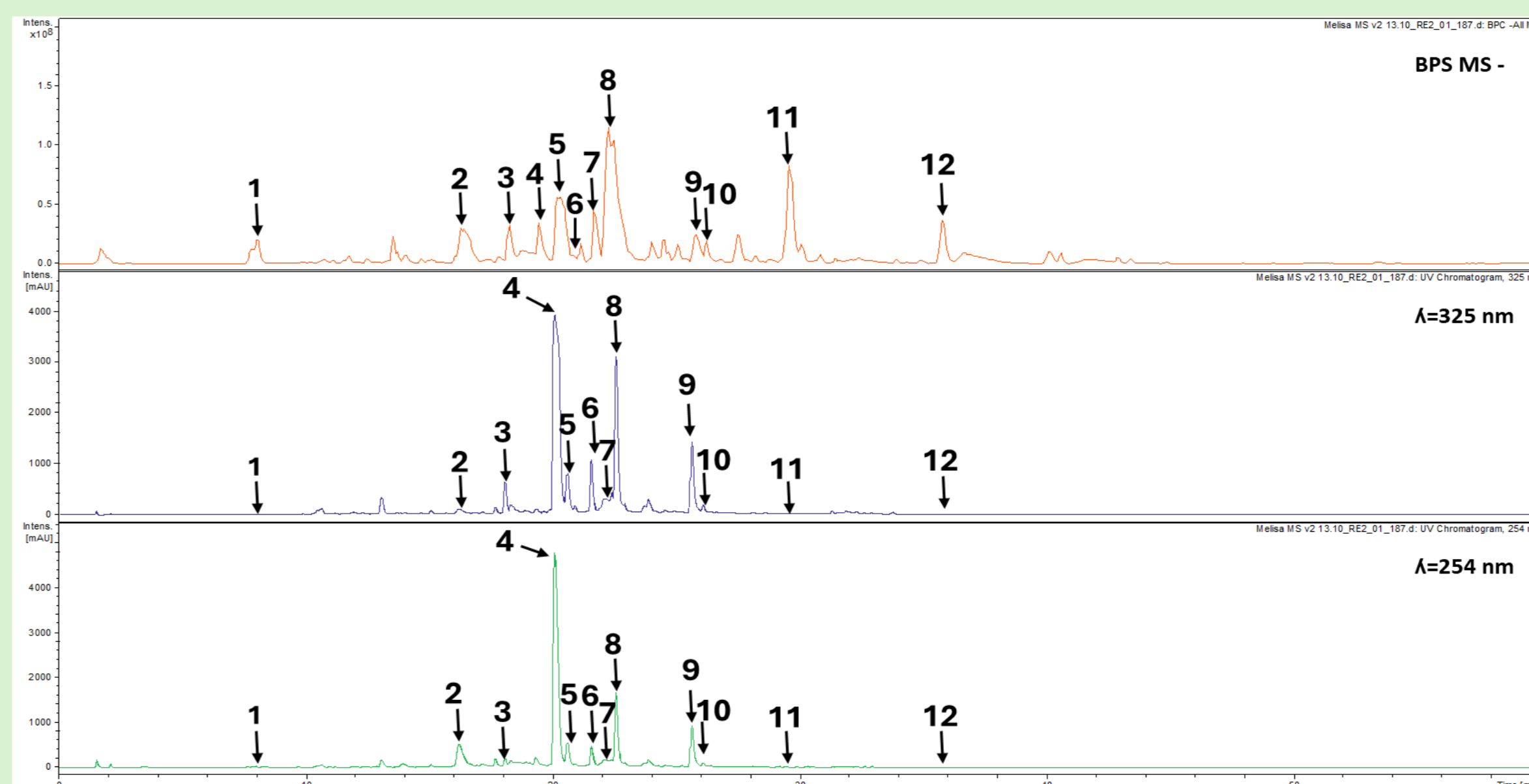
Próbki do analizy pobierano siedmiokrotnie (0, 2, 4, 12, 24, 36, 48h) w trakcie 48-godzinnej inkubacji. Każda próbka była natychmiast stabilizowana mieszaniną MeOH z HCOOH (1:1), a metabolizm wstrzymywano przez chłodzenie. 0,5 ml każdej próbki wymieszano z 0,5 ml MeOH z 0,1% HCOOH i poddano analizie HPLC-DAD-MS. W celu identyfikacji metabolitów postbiotycznych wyniki analizy porównywano z danymi literaturowymi.

CEL PRACY

Celem pracy była ocena interakcji mikrobioty jelitowej ze związkami zawartymi w wodnym ekstrakcie z liści melisy (*Melissa officinalis* L.) poprzez:

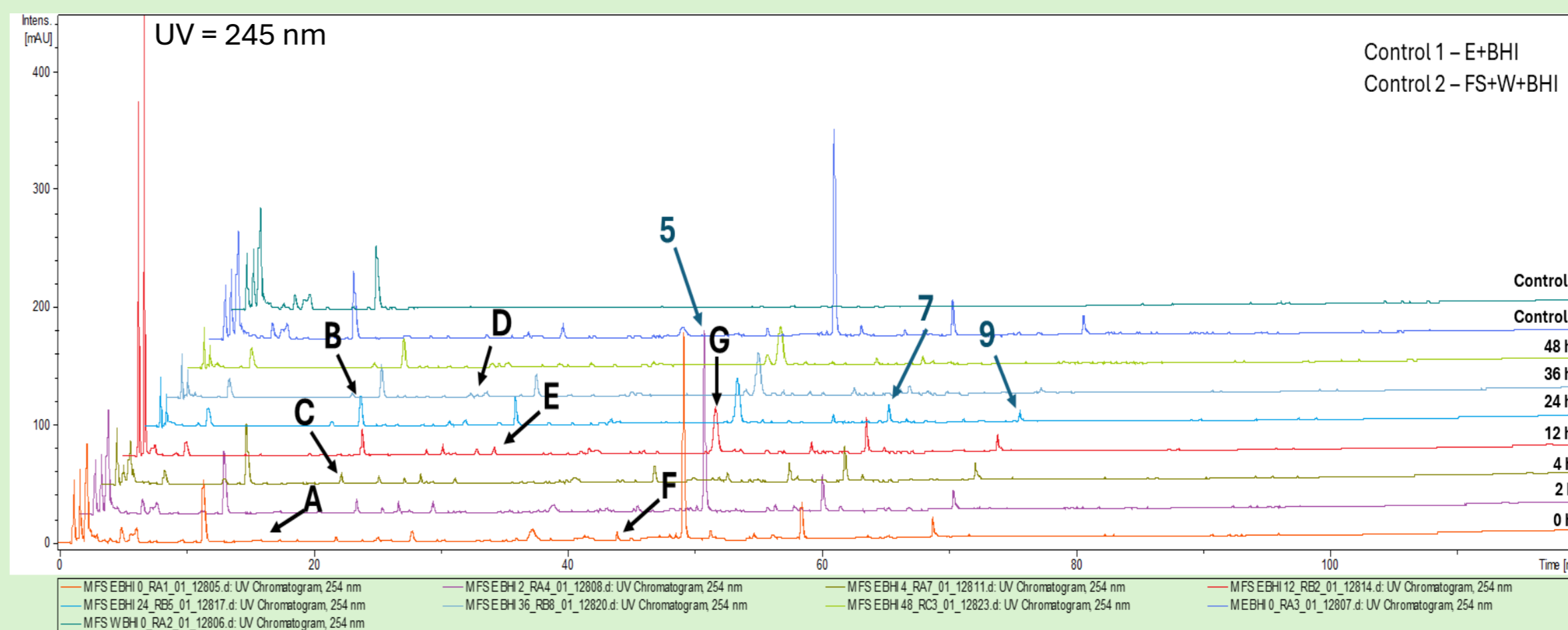
1. Identyfikację związków obecnych w wodnym wyciągu z liści melisy lekarskiej za pomocą HPLC-DAD-MS.
2. Obserwację interakcji mikrobioty jelitowej ze związkami zawartymi w wodnym ekstrakcie z liści melisy oraz identyfikację powstałych w wyniku tej interakcji metabolitów postbiotycznych.

WYNIKI



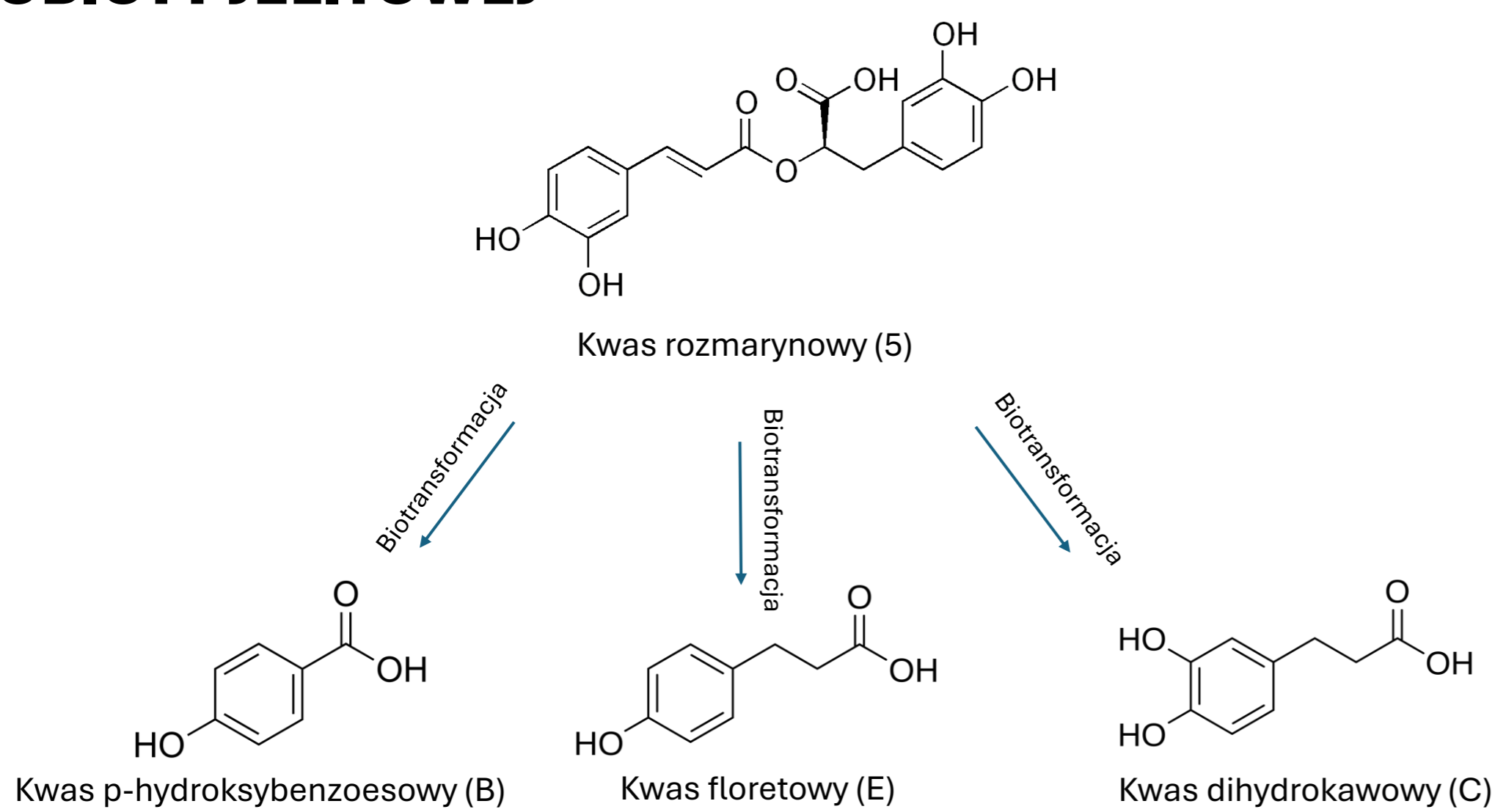
Chromatogram związków obecnych w wodnym roztworze ME zidentyfikowanych przy $\lambda = 254$ nm w analizie HPLC-DAD-MS.

1 – dimer danshensu, 2- izomer kwasu litospermy A, 3 – heksozyd kwasu rozmarynowego, 4- kwas sagerynowy, 5- kwas rozmarynowy, 6 – 7-O-glukuronid luteoliny, 7- kwas salwianolowy H lub kwas litospermy A, 8 – sulfatowany kwas rozmarynowy, 9 – pochodna kwasu salwianolowego C, 10 - kwas litospermy B, 11 i 12 – związki niezidentyfikowane

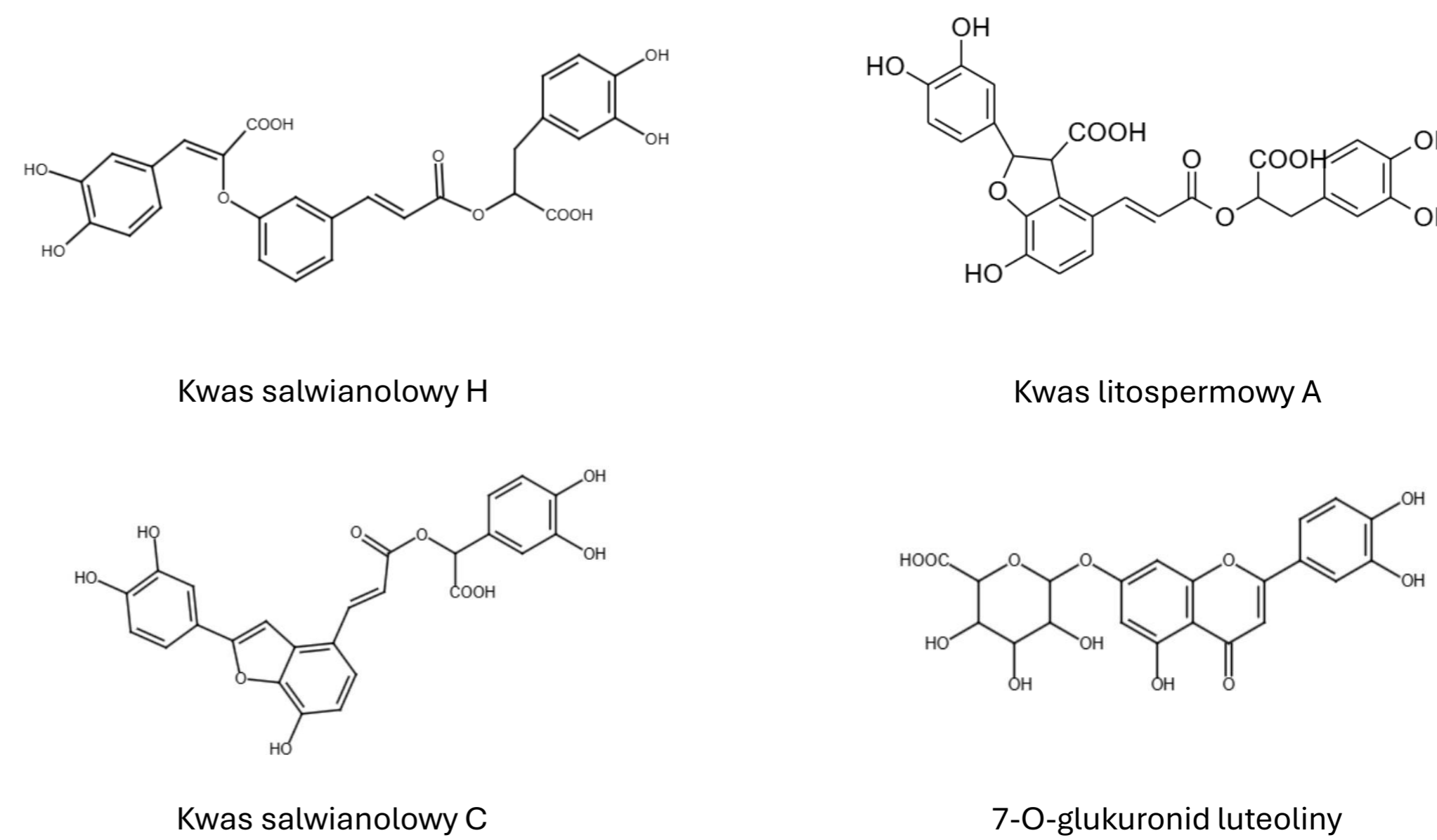


Chromatogram przedstawiający interakcję mikrobioty jelitowej dawcy 1 i związków zawartych w ME.

BIOTRANSFORMACJA KWASU ROZMARYNOWEGO POD WPŁYWEM MIKROBIOTY JELITOWEJ



INNE ZWIĄZKI ULEGAJĄCE BIOTRANSFORMACJI POD WPŁYWEM MIKROBIOTY JELITOWEJ



WNIOSKI

1. Zachodzi interakcja między mikrobiotą jelitową a związkami obecnych w wodnym wyciągu z liści melisy – powstają metabolity postbiotyczne oraz dochodzi do degradacji związków występujących w pierwotnym ME.
2. Metabolity postbiotyczne wymagają jednoznacznej identyfikacji za pomocą NMR po wcześniejszej izolacji.
3. Różna dynamika metabolizmu u dawców najprawdopodobniej wynika z różnic osobniczych wynikających ze składu mikrobiomu jelitowego, dlatego wymagana jest analiza na większej próbie dawców.