

***Melilotus officinalis* – tradycyjne zastosowania i współczesna wiedza fitochemiczna i farmakologiczna**

***Melilotus officinalis* – traditional uses and modern phytochemical and pharmacological knowledge**

Grzegorz Kos^{1,2}, Agnieszka Szopa^{2*}

¹ Studenckie Koło Naukowe Biotechnologii Roślin i Grzybów Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

² Katedra Biotechnologii Roślin i Grzybów Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

*e-mail: a.szopa@uj.edu.pl

Słowa kluczowe: nostrzyk żółty, nostrzyk lekarski, kumaryna, działanie przeciwzapalne, właściwości przeciwutleniające, ekstrakty roślinne, zastosowanie w fitoterapii i kosmetologii

Keywords: melilot, *Melilotus officinalis*, coumarin, anti-inflammatory effect, antioxidant properties, plant extracts, use in phytotherapy and cosmetology

Streszczenie:

Melilotus officinalis (nostrzyk żółty) to gatunek rośliny leczniczej o wielowiekowej tradycji stosowania, który obecnie zyskuje na zainteresowaniu naukowym. W ramach pracy omówiono cechy ekologiczne i botaniczne, skład chemiczny, działanie farmakologiczne oraz potencjalne zastosowania *M. officinalis* w leczeniu i kosmetologii. Ziele nostrzyka zawiera szereg związków biologicznie czynnych, w tym kumarynę i jej pochodne, flawonoidy, saponiny, sterole, kwasy fenolowe oraz związki azotowe. Szczególną uwagę zwrócono na dikumarol, produkt metabolizmu kumaryny, będący prototypem nowoczesnych leków przeciwzakrzepowych. Ekstrakty z ziela nostrzyka wykazują właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne, wazoprotekcyjne, przeciwochrząstkowe oraz przyspieszają gojenie ran. Najnowsze doniesienia naukowe wskazują na nowe kierunki aktywności surowca – działanie anksjolityczne oraz neuroprotektoryjne. Ekstrakty z *M. officinalis* mają zastosowanie w leczeniu trudno gojących się ran, takich jak owrzodzenia w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej. Roślina jest również wykorzystywana w kosmetologii jako składnik o działaniu pielęgnacyjnym i aromatyzującym. Pomimo rosnącej liczby badań wciąż brakuje danych dotyczących wykorzystania kultur *in vitro* *M. officinalis* jako alternatywnego źródła związków czynnych. Praca wskazuje na potrzebę kontynuacji badań nad biotechnologicznym i klinicznym potencjałem tej rośliny oraz propagowania jej zastosowań w produktach leczniczych, dietetycznych i kosmetycznych.

Abstract

Melilotus officinalis (yellow melilot) is a species of medicinal plant with a centuries-old tradition of use, which is currently gaining scientific interest. The paper discusses the ecological and botanical features, chemical composition, pharmacological activity and potential applications of *M. officinalis* in medicine and cosmetology. The melilot herb contains a number of biologically active compounds, including coumarin and its derivatives, flavonoids, saponins, sterols, phenolic acids and nitrogen compounds. Particular attention was paid to dicoumarol, a product of coumarin metabolism, which is a prototype of modern antithrombotic drugs. Melilot herb extracts exhibit antioxidant, anti-inflammatory, vasoprotective, anti-edematous and wound healing properties. The latest scientific reports indicate new directions of the raw material's activity – anxiolytic and neuroprotective effects. *M. officinalis* extracts are used in the treatment of difficult-to-heal wounds, such as ulcers in the course of diabetic foot syndrome. The plant is also used in cosmetology as an ingredient with care and aromatizing effects. Despite the growing number of studies, there is still a lack of data on the use of in vitro cultures of *M. officinalis* as an alternative source of active compounds. The work indicates the need to continue research on the biotechnological and clinical potential of this plant and the need to promote its use in medicinal, dietary and cosmetic products.

Wprowadzenie

Wśród roślin leczniczych szczególną grupę stanowią te, których wieloletnie zastosowanie tradycyjne zyskuje potwierdzenie we współczesnych badaniach i rekomendacjach instytucji zdrowia publicznego. Interesującym z tego punktu widzenia gatunkiem leczniczym, wprowadzonym między innymi do Farmakopei Europejskiej oraz Farmakopei Polskiej, jest gatunek *Melilotus officinalis* L. (nostrzyk żółty), należący do rodziny *Fabaceae* (bobowate) [1] – znany z medycyny starożytnej i ludowej, a obecnie zyskujący na zainteresowaniu. Wzmianki o powszechnym stosowaniu *M. officinalis* pojawiły się już w dziele Dioskurydesa „Materia Medica” z około 70 roku n.e. Wspominał o nim w swoich pracach również Galen, a także inni autorzy średniowiecznych i nowożytnych traktatów medycznych [2]. Tradycyjnie ziele nostrzyka stosowano w leczeniu owrzodzeń i stanów zapalnych skóry [3]. W monografii Farmakopea Polska XIII za substancję roślinną uznaje się ziele nostrzyka (*Meliloti herba*), które powinno zawierać nie mniej niż 0,3% kumaryny w suchej masie surowca [4]. Ziele nostrzyka żółtego jest również wykorzystywane w tradycyjnej medycynie chińskiej (Traditional Chinese Medicine – TCM) i posiada swoją monografię w Farmakopei Chińskiej Republiki Ludowej, gdzie przypisuje się mu głównie działanie detoksyfikujące [5].

Według wytycznych Europejskiej Agencji Leków (European Medicines Agency – EMA) ziele nostrzyka żółtego może być stosowane w leczeniu uczucia ciężkości nóg związanego z niewielkimi zaburzeniami krążenia oraz w łagodzeniu stanów

zapalnych skóry. Wskazania te opracowano na podstawie długotrwałego, tradycyjnego stosowania surowca, z zaznaczeniem, że może on być stosowany bez nadzoru lekarza [6]. W europejskiej bazie składników kosmetyków CosIng ekstrakt z ziela nostrzyka figuruje jako dopuszczony do stosowania składnik zapachowy (Baza Cosmetic Ingredients). Wszystko to sprawia, że *M. officinalis* jest składnikiem wielu leków i suplementów diety sprzedawanych bez recepty, a także produktów spożywczych i kosmetyków.



Rysunek 1. Wygląd morfologiczny gatunku *Melilotus officinalis*
Figure 1. Morphological appearance of the species *Melilotus officinalis*

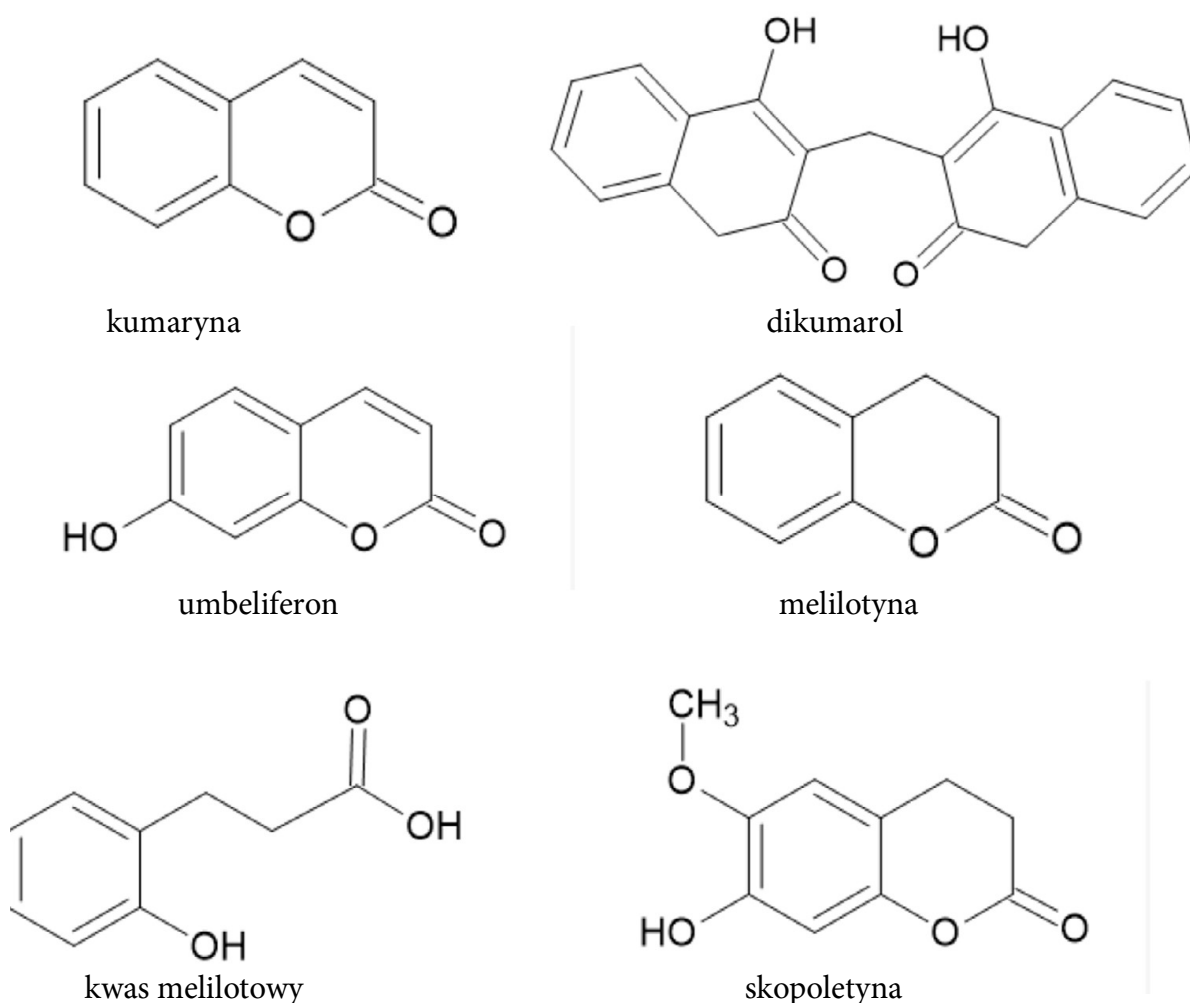
Źródło: Douglas Goldman, CC4.0, <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MelilotusO13.jpg> [17, 26].

Charakterystyka ekologiczna i botaniczna gatunku

Nostrzyk żółty jest rośliną zielną występującą w formie jednorocznej lub dwuletniej. Osiąga wysokość do 250 cm. Trójlistkowe liście złożone wyrastają z prostych, wzniesionych łodyg, zazwyczaj silnie rozgałęzionych. Na ich szczytach występują kwiatostany typu grona o długości do 10 cm, złożone z licznych kwiatów motylkowych o płatkach barwy żółtej lub kremowej [8]. Zielone pędy rozwijają się najczęściej wczesną wiosną, natomiast kwitnienie przypada na okres od lipca do

października. Z kwiatów rozwijają się strąki długości 3–4 mm, zawierające po jednym nasieniu. System korzeniowy jest silnie rozwinięty – główny korzeń palowy może sięgać głębokości nawet 120 cm. Charakterystyczną cechą rośliny jest zapach, określany jako woń suszącej się trawy [9–11] (rys. 1).

Naturalny obszar występowania *M. officinalis* obejmuje Europę i Azję, w tym tereny Bliskiego Wschodu oraz zachodnią część Syberii. Z tych obszarów *M. officinalis* został introdukowany między innymi do Chin, Ameryki Północnej i Południowej, Afryki Południowej oraz Australii [11]. Rozprzestrzenianie się *M. officinalis* wiąże się z uprawami prowadzonymi w celu pozyskania wysokiej jakości paszy dla zwierząt lub poprawy jakości gleby [11]. *M. officinalis* jest gatunkiem o niskich wymaganiach glebowych, zaliczonym do tzw. roślin pionierskich [13–14]. W Stanach Zjednoczonych *M. officinalis* został uznany za gatunek inwazyjny i jest zwalczany w wielu ekosystemach ze względu na wypieranie rodzimych gatunków roślin [15–16].



Rysunek 2. Wybrane składniki bioaktywne zawarte w ziele nostryzka żółtego
Figure 2. Selected bioactive compounds present in yellow sweet clover herb

Źródło: opracowanie własne na podstawie [18, 24].

Skład chemiczny surowca

Ziele nostrzyka żółtego jest przede wszystkim znanym źródłem związków z grupy kumaryn [17] (rys. 2). Ponadto zawiera fitoskładniki z grupy flawonoidów, saponin, steroli, karotenoidów oraz kwasów fenolowych [18].

Zawartość wolnej kumaryny w świeżo zebranych roślinach jest niewielka. Występują w nich głównie glikozydy kwasu trans-o-hydroksycynamonowego (melilotozyd) oraz glikozydy kwasu o-kumarowego. Po uszkodzeniu tkanek oraz podczas suszenia ziela glikozydy ulegają hydrolizie pod wpływem obecnej w roślinie β -glukozydazy. W efekcie z glikozydów powstaje kwas o-kumarynowy, który następnie ulega wewnętrznej estryfikacji prowadzącej do powstania kumaryny [19] (rys. 3). Zawartość kwasu o-hydroksycynamonowego w ziele nostrzyka wynosi około 5,3% suchej masy [20]. Z kolei zawartość kumaryny w przeliczeniu na suchą masę surowca może wahać się od 0,3% do 1,5% [17, 21].

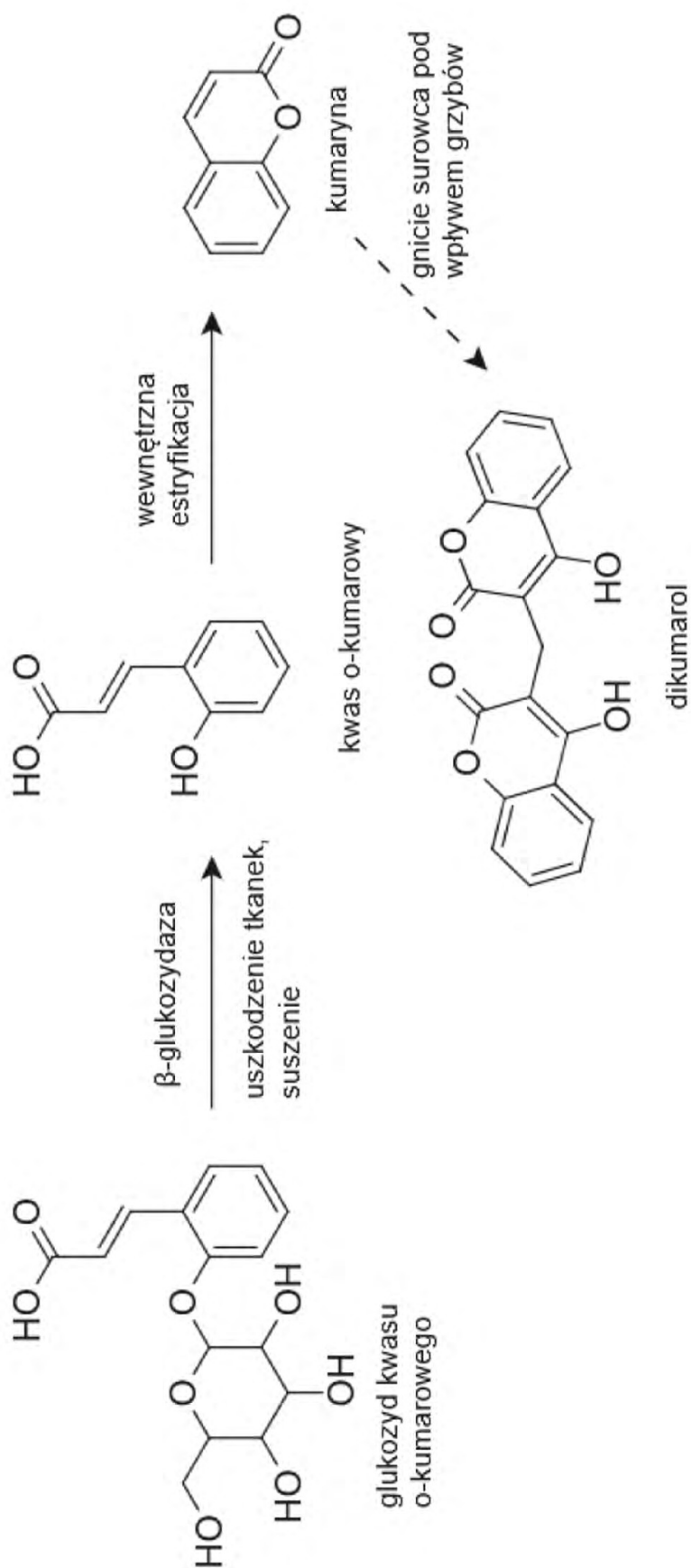
Do występujących w ziele nostrzyka hydroksykumaryn zalicza się umbeliferon (7-hydroksykumaryna), skopoletyna (7-hydroksy-6-metoksykumaryna) oraz melilotynę (3,4-dihydrokumaryna) [22].

Szczególnym związkiem z grupy kumaryn obecnym w ziele nostrzyka jest dikumarol. Po raz pierwszy został on zidentyfikowany jako związek powodujący krwawienia u bydła karmionego paszą zawierającą przegniłe ziele nostrzyka żółtego [22]. Badania wykazały, że dikumarol powstaje w procesie dimeryzacji kumaryny, zachodzącym pod wpływem grzybów z rodzaju *Aspergillus* lub *Penicillium*, powodujących gnicie surowca [24]. Dikumarol jest antagonistą witaminy K, a jego struktura chemiczna stała się podstawą do opracowania warfaryny, będącej powszechnie stosowanym lekiem przeciwzakrzepowym [5]. Odpowiednio przechowywane suszone ziele nostrzyka nie zawiera istotnych ilości dikumarolu [26].

Poza kumarynami najważniejszymi związkami o budowie fenolowej występującymi w surowcu są kwasy fenolowe, takie jak kwas melilotowy, kwas p-kumarowy, kwas o-kumarowy, kwas kawowy, kwas ferulowy, kwas p-hydroksybenzoesowy oraz kwas salicylowy, jak również flawonoidy, takie jak rutozyd, hyperozyd i hesperydyna, które razem tworzą istotną komponentę związków fenolowych [18, 27].

W ziele nostrzyka żółtego należy wyróżnić również frakcję saponinową, w której dominują saponiny triterpenowe, takie jak melitogenina, sojasaponina I, wistariasaponina D oraz astragalozyd VII [28].

Surowiec zawiera również związki azotowe: alantoinę, kwas alantoinowy oraz trygonelinę [27]. Alantoina jest pochodną mocznika i u roślin stanowi produkt pośredni katabolizmu puryn [29]. Trygonelina z kolei jest alkaloidem pirydynowym – pochodną niacyny (witaminy B3) [30].



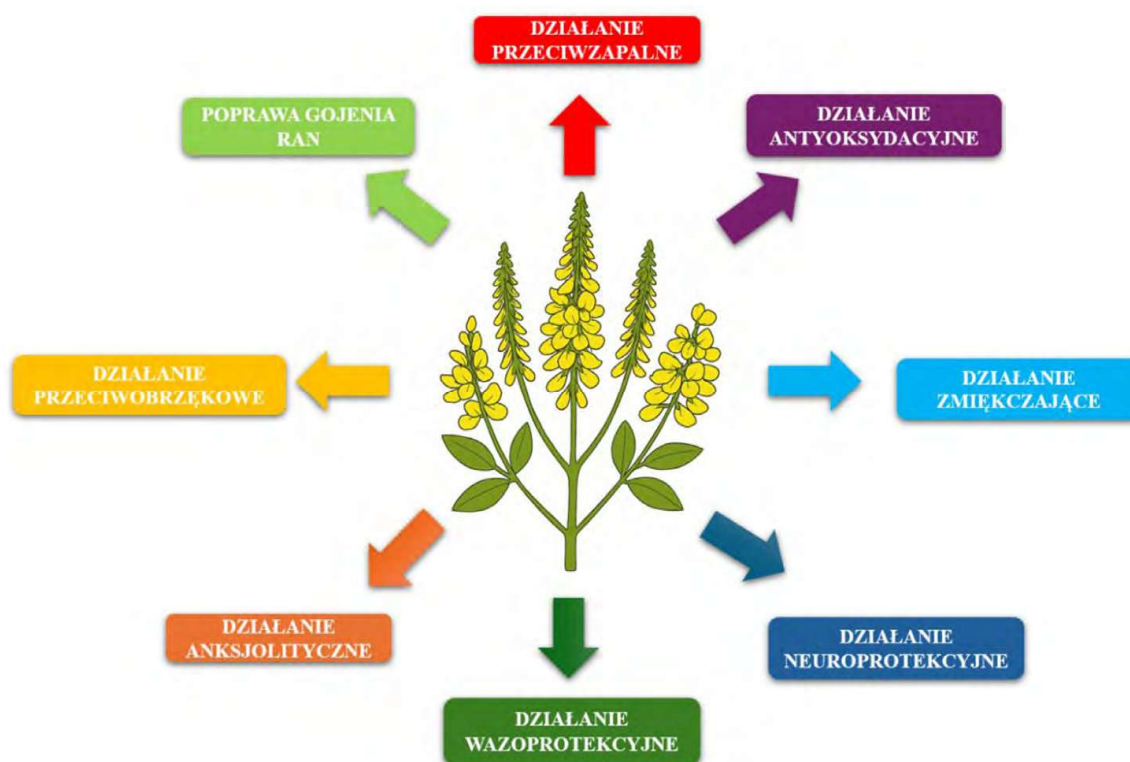
Rysunek 3. Proces powstawania kumaryny oraz dikumarolu w ziele *Melilotus officinalis*
Figure 3. The process of coumarin and dicoumarol formation in the herb of *Melilotus officinalis*
Źródło: opracowanie własne na podstawie [18, 24].

Aktywność farmakologiczna

Ekstrakty z ziela nostrzyka żółtego wykazują szerokie spektrum aktywności farmakologicznej, co determinuje szerokie zastosowanie surowca zarówno w podaniu zewnętrznym, jak i wewnętrznym. Wśród najważniejszych kierunków działania ekstraktów z tego surowca wymienić należy działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, wazoprotekcyjne, przeciwobrzękowe, zmiękczejące oraz przyspieszające gojenie ran (rys. 3).

Działanie antyoksydacyjne ekstraktów z ziela nostrzyka żółtego związane jest z wysoką zawartością związków fenolowych. Mladenović i wsp. wykazali, że najwyższa całkowita zawartość flawonoidów w przeliczeniu na rutynę jest uzyskiwana poprzez ekstrakcję surowca acetonem i wynosi 53 mg/g suchego ekstraktu. Z kolei najwyższa całkowita zawartość związków fenolowych, w przeliczeniu na kwas galusowy, uzyskiwana jest przez ekstrakcję wodą i wynosi 36 mg na 1 g suchego ekstraktu. W tym samym badaniu wykazano, że zdolność ekstraktów z ziela nostrzyka żółtego do zmiatania wolnych rodników ustalona w oparciu o test DPPH jest wyższa niż w przypadku ekstraktów z owocu aronii czarnej i jest istotnie skorelowana z zawartością związków fenolowych w ekstrakcie [31]. Działanie antyoksydacyjne surowca zostało potwierdzone również w badaniach zdolności zmiatania wolnych rodników ABTS^{•+}, HO[•] oraz O₂^{•-} metodą spektroskopii EPR (electron paramagnetic resonance) oraz zdolności chelatowania jonów żelaza [32–33].

Właściwości przeciwzapalne ekstraktu z ziela nostrzyka żółtego potwierdzono w badaniach na królikach, u których wywoływano ostrą reakcję zapalną. Wykazano, że ekstrakt wodno-etanolowy z tego surowca osłabia proces zapalny. U zwierząt, którym podano wyciąg drogą dootrzewnową, obserwowano zmniejszenie zdolności leukocytów do fagocytozy, spadek liczby neutrofilii oraz obniżenie ilości wytwarzanego w fagocytach tlenku azotu (NO). Efekt ten był podobny do obserwowanego u zwierząt, którym podawano standaryzowany roztwór kumaryny [34]. Dodatkowo na podstawie przeprowadzonych badań *in vitro* stwierdzono, że związki czynne zawarte w ekstraktach z ziela *M. officinalis* mogą wywierać efekt przeciwzapalny na drodze interakcji z receptorami adenozynowymi A_{2A}, które odgrywają istotną rolę w ograniczaniu stanu zapalnego. Związki obecne w ekstrakcie etanolowym z ziela nostrzyka wykazały znaczne powinowactwo do tych receptorów w badaniu wypierania wzorcowego radioliganda [35].



Rycina 4. Wybrane kierunki działania ekstraktów z ziela *Melilotus officinalis*

Figure 4. Selected directions of activity of extracts from the herb of *Melilotus officinalis*

Źródło: opracowanie własne na podstawie [27, 31, 36].

Ziele nostrzyka żółtego było tradycyjnie stosowane w leczeniu ran i owrzodzeń. Przygotowywano z niego plaster nostrzykowy (*Emplastrum Meliloti*), będący rodzajem maści nakładanej na opatrunek i przykładanej do ran i owrzodzeń w celu poprawy oraz przyspieszenia ich gojenia [37]. Współcześnie udowodniono, że stosowane zewnętrznie ekstrakty z ziela *M. officinalis* pozytywnie wpływają na proces gojenia ran, w tym trudno gojących się, takich jak owrzodzenia w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej. Badania *in vitro* przeprowadzone przez Pastorino i wsp. na keratynocytach i fibroblastach wykazały, że ekstrakt etanolowy z ziela *M. officinalis* o stężeniu 50 µg/ml przyspiesza proces zasklepienia wytworzonej na płytce hodowlanej rany o 600% względem próby kontrolnej [36]. Z kolei w badaniach klinicznych na grupie 75 pacjentów z zespołem stopy cukrzycowej ekstrakty etanolewe z ziela *M. officinalis* wykazały pozytywne efekty przy jednoczesnym podaniu dożylnym i miejscowym. Odnotowano m.in. statystycznie istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie obszaru owrzodzenia [38]. Istotną rolę w tych przypadkach odgrywa działanie przeciwbakteryjne ekstraktów z ziela *M. officinalis*. Badania Mladenović i wsp. wykazały, że suche ekstrakty (etanolewe i acetonowe) z ziela nostrzyka wykazują zdolność hamowania rozwoju bakterii Gram-dodatnich, takich jak *Staphylococcus aureus*. Wykazano także słabe działanie przeciwgrzybicze tych ekstraktów. Stwierdzono dodatkowo, że ekstrakt acetonowy wykazuje zdolność ograniczania rozwoju biofilmu [31].

Prowadzono również badania mające na celu opracowanie opatrunków zawierających wyciąg z ziela *M. officinalis* o działaniu przeciwbakteryjnym, jednak nie przeprowadzono dla nich testów *in vivo* [39].

Na podstawie wyników badań Zhao i wsp. stwierdzono, że ekstrakt z ziela nostryka może wykazywać właściwości neuroprotektoryjne. W ramach tych badań przeprowadzono eksperyment na szczurach, u których sztucznie wywołano niedokrwienie mózgu. Zwierzętom w trzech grupach badanych podawano ekstrakt wodny z ziela *M. officinalis* w dawkach 100, 200 i 500 mg/kg masy ciała. Badane szczury wykazywały statystycznie istotne ($p < 0,05$) zmniejszenie zaburzeń neurologicznych w porównaniu ze szczurami z grupy kontrolnej. Na podstawie przeprowadzonych sekcji stwierdzono również, że rozmiar obszaru tkanki mózgowej objętej zawałem był u nich istotnie ($p < 0,05$) mniejszy i zmniejszał się ze wzrostem dawki ekstraktu. Ponadto w badanej tkance mózgowej zwierząt z grup doświadczalnych stwierdzono istotnie ($p < 0,05$) obniżoną zawartość czynników proapoptotycznych [40].

Badania Kaur i wsp. przeprowadzone na myszach wykazały istotny efekt anksjolityczny ekstraktu etanolowego z ziela *M. officinalis*. Przeprowadzone testy uniesionego labiryntu krzyżowego (elevated plus maze – EPM) oraz komory luster (mirror chamber test) wykazały znaczny spadek nasilenia reakcji związanych ze strachem u myszy, którym podawano ekstrakt etanolowy, w porównaniu z grupą kontrolną. Uzyskane wyniki były niemal porównywalne z rezultatami uzyskanymi w grupie referencyjnej, w której myszom podawano diazepam. Podobnego działania nie wykazywały ekstrakty z części podziemnych roślin ani ekstrakty wodne, chloroformowe i eterowe z ziela. Skład ekstraktu etanolowego zbadano metodą wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej (HPTLC) z analizą densytometryczną. Wykazano, że zawierał on flawonoidy, garbniki, aminokwasy, kumarynę oraz węglowodany. Nie podano jednak konkretnych związków z tych grup poza kumaryną [41].

Zastosowania kosmologiczne surowca

Ziele *M. officinalis* jest dość powszechnie wykorzystywane w kosmologii. Ekstrakty, ze względu na właściwości zmiękczające skórę, przeciwzapalne i antyoksydacyjne, mają zastosowanie jako składniki kosmetyków do pielęgnacji skóry. Pastorino i wsp. w badaniach na keratynocytach i fibroblastach wykazali, że ekstrakt etanolowy z ziela nostryka o stężeniu 50 µg/ml istotnie nasila wytwarzanie kolagenu typu I przez fibroblasty. Jednocześnie wykazuje on zdolność do nasilania lipolizy w ludzkich adipocytach, co skutkuje zmniejszaniem się objętości kropeł tłuszczu wewnątrz tych komórek [36]. Brak jest jednak dostępnych wyników badań *in vivo* w tym zakresie.

Ziele *M. officinalis* jest również źródłem substancji zapachowych stosowanych jako składniki perfum. Otrzymuje się z niego między innymi olejek eteryczny zawierający przede wszystkim kumarynę oraz *cis*-3-heksen-1-ol, będące związkami o słodkim, trawiastym zapachu [42]. Inną substancją zapachową otrzymywaną z ziela nostrzyka żółtego jest dihydrokumaryna. Olaharski i wsp. w badaniu przeprowadzonym w warunkach *in vitro* wykazali, że może ona hamować proces starzenia tkanek poprzez inhibicję enzymów z grupy sirtuin, które odpowiadają między innymi za regulację ekspresji genów związanych z procesem starzenia [43]. Inne badania Quijano-Celis i wsp. nie wykazały jednak obecności dihydrokumaryny w olejku otrzymywanym metodą destylacji liści nostrzyka żółtego [42].

Stan badań nad kulturami *in vitro* *M. officinalis*

Mimo silnej pozycji ziela *M. officinalis* w leczeniu oraz licznych współczesnych badań dotyczących jego zastosowania badania biotechnologiczne nad kulturami tkankowymi *M. officinalis* prowadzonymi w warunkach *in vitro* pozostają nieliczne. Jedyne dostępne badanie przeprowadzone z wykorzystaniem kultur *in vitro* *M. officinalis* dotyczy potwierdzenia ich zdolności do endogennej akumulacji ołowiu [44]. Zaproponowanie kultur *in vitro* *M. officinalis* jako źródła związków biologicznie czynnych jest potencjalnie interesującym tematem badań naukowych.

Podsumowanie

Nostrzyk żółty jest rośliną leczniczą o zarówno ugruntowanym zastosowaniu tradycyjnym, jak i o potwierdzonych badaniami właściwościach leczniczych. Mimo że jest on znany od starożytności jako środek przeciwzapalny i poprawiający gojenie ran, współczesne badania pozwalają nadal odkrywać nowe, potencjalne kierunki zastosowania *M. officinalis*. Doniesienia o kierunkach działania ekstraktów z tego surowca, takich jak efekt anksjolityczny czy neuroprotektoryny, są obiecujące, jednak wymagają dalszych badań. Brak jest również badań biotechnologicznych nad kulturami *M. officinalis* prowadzonymi w warunkach *in vitro*, których wyniki mogą przynieść nowe informacje na temat zastosowania tej rośliny. W związku z tym dla dalszego rozwoju wiedzy na temat zastosowań medycznych tego gatunku istotne będą badania biotechnologiczne, a także szersze badania kliniczne, zwłaszcza pod kątem zastosowania ekstraktów w leczeniu trudno gojących się ran.

Literatura

- [1] The World Flora Online, *Melilotus officinalis* (L.) Lam, <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0001055378> (stan na dzień 1 lutego 2025).
- [2] Cutler T., *Melilotus officinalis* – The source of dicoumarol which gave rise to warfarin, [w:] *Modern medicines from plants*, t. 28, (red.) H. Oakeley, CRC Press, Boca Raton, 2024, s. 219–223.
- [3] Senderski M., *Prawie wszystko o ziołach i ziołolecznictwie*, t. II, Mateusz E. Senderski, Podkowa Leśna 2015.
- [4] URPLW MiPB, *Meliloti herba*, Farmakopea Polska XIII, Warszawa 2023.
- [5] Sun C., Zhao W., Wang X., Sun, Y., Chen X., A pharmacological review of dicoumarol: An old natural anticoagulant agent, *Pharmacological Research*, 2020, 160, 105193.
- [6] European Medicines Agency, *Melilot: Summary for the public*, 2018, <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/meliloti-herba> (stan na dzień 16 lutego 2025).
- [7] Komisja Europejska, *Ingredient: Melilotus officinalis herb extract, cosmetic ingredients*, <https://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/details/40052> (stan na dzień 30 marca 2025).
- [8] Akhalkatsi M., Pfauth M., Calvin C. L., Structural aspects of ovule and seed development and nonrandom abortion in *Melilotus officinalis* (Fabaceae), *Protoplasma*, 1999, 208, s. 211–223.
- [9] United States Forest Service, *Yellow Sweetclover (Melilotus officinalis)*, 2015, <https://www.fs.usda.gov/database/feis/plants/forb/melspp/all.html#Botanical%20description> (stan na dzień 17 lutego 2025).
- [10] Turkingtoni R. A., Cavers P. B., Rempel E., The biology of Canadian weeds: 29. *Melilotus alba* Desr. and *M. officinalis* (L.) Lam, *Canadian Journal Plant Science*, 1978, 5E: s. 523–537.
- [11] Plants of the world online, *Melilotus officinalis* (L.) Lam, 2025, <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30429323-2> (stan na dzień 17 lutego 2025).
- [12] Nogues I., Passatore L., Bustamante M. Á., Pallozzi E., Luz J., Traquete F., Ferreira A. E. N., Sousa Silva M., Cordeiro C., Cultivation of *Melilotus officinalis* as a source of bioactive compounds in association with soil recovery practices, *Frontiers Plant Science*, 2023, 12(14).
- [13] Rogers M. E., Colmer T. D., Frost K., Henry D., Cornwall D., Hulm E., Deretic J., Steven Hughes S., Craig A. D., Diversity in the genus *Melilotus* for tolerance to salinity and waterlogging, *Plant Soil*, 2008, t. 304, 1–2(304), s. 89–10.
- [14] Van Riper L. C., Larson D. L., Role of invasive *Melilotus officinalis* in two native plant communities, *Plant Ecology*, 2009, 1(200), s. 129–139.
- [15] Conn J. S., Beattie K. L., Shephard M. A., Carlson M. L., Lapina I., Hebert M., Gronquist R., Densmore R., Rasy M., Alaska *Melilotus* invasions: Distribution, origin, and susceptibility of plant communities, *Arctic, Antarctic Alpine Research*, 2008, 2(40), s. 298–308.

- [16] Zhang J., Di H., Luo K., Jahufer Z., Wu F., Duan Z., Stewart A., Yan Z., Wang Y., Coumarin content, morphological variation, and molecular phylogenetics of melilotus, *Molecules*, 2018, 4(23), nr 4, 2018, 810.
- [17] Liu Y. T., Gong P. H., Xiao F. Q., Shao S., Zhao D. Q., Yan M. M., Yang X. W., Chemical constituents and antioxidant, anti-inflammatory and anti-tumor activities of melilotus officinalis (linn.) pall, *Molecules*, 2018, 2(23), 2711.
- [18] Brown S. A., Wright D., Towers G. H. N., Biosynthesis of the coumarins. Tracer studies on coumarin formation in Hierochloe odorata and Melilotus officinalis, *Canadian Journal Biochemistry Physiology*, 1960, 38, s. 143–156.
- [19] Gorz H. J., Haskins F. A., Occurrence of o-hydroxycinnamic acid in species Melilotus and Trigonella, 1964, 2(4), s. 193–196.
- [20] Nair, R. R., Whittall A., Hughes S. J., Craig A. D., Revell D. K., Miller S. M., Powell T. M., Auricht G. C., Variation in coumarin content of Melilotus species grown in South Australia, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 2010, 3(53), s. 201–213.
- [21] Marshall M. E., Kervin K., Benefield C., Umerani A., Albainy-Jenei S., Zhao Q., Kha-zaeli M. B., Growth-inhibitory effects of coumarin (1,2-benzopyrone) and 7-hydroxy-coumarin on human malignant cell lines in vitro, *Journal of Cancer Research Clinical Oncology* 1994, 120, s. 3–10.
- [22] Campbell H. A., Link K. P., Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. IV. The isolation and crystallization of the hemorrhagic agent, *Journal of Biological Chemistry*, 1941, s. 21–83.
- [23] Ruiz H., Lacasta D., Ramos J. J., Quintas H., Ruiz de Arcaute M., Ramo M. Á., Villanueva-Saz S., Ferrer L. M., Anaemia in ruminants caused by plant consumption, *Animals*, 2022, 18(12), s. 2373.
- [24] Sun C., Zhao W., Wang X., Sun Y., Chen X., A pharmacological review of dicoumarol: An old natural anticoagulant agent, *Pharmacological research*, 2020, 160, 105193.
- [25] Hroboňová K., Machyňáková A., Čižmárik J., Determination of dicoumarol in Melilotus officinalis L. by using molecularly imprinted polymer solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography, *Journal Chromatography A*, 2018, t. 1539, s. 93–102.
- [26] Szymański M., Szajkowski, D., Szymański A., Analiza fitochemiczna gatunków Melilotus officinalis i Melilotus alba, *Postępy Fitoterapii*, 2020, 4(21), s. 207–213.
- [27] Hirakawa T., Okawa M., Kinjo J., Nohara T., A New oleanene glucuronide obtained from the aerial parts of Melilotus officinalis, 2000, 2(48), s. 286–287.
- [28] Kaur H., Chowrasia S., Gaur V. S., Mondal T. K., Allantoin: Emerging role in plant abiotic stress tolerance, *Plant Molecular Biology Reporter*, 2021, 39(1), s. 648–661.
- [29] Nguyen V., Taine E. G., Meng D., Cui T., Tan W., Pharmacological activities, therapeutic effects, and mechanistic actions of trigonelline, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 2024, 6(25), 3385.
- [30] Mladenović K. G., Muruzović Ž., Stefanović M., Vasić O. D., Čomić, R., Antimicrobial, antioxidant and antibiofilm activity of extracts of Melilotus officinalis (L.) pall, *Journal of Animal Plant Sciences*, 2016, 5(26), s. 1436–1444.

- [31] Braga P. C., Sasso M. D., Lattuada N., Marabini L., Calò R., Antonacci R., Bertelli A., Falchi M., Verducci P., Antioxidant activity of *Melilotus officinalis* extract investigated by means of the radical scavenging activity, the chemiluminescence of human neutrophil bursts and lipoperoxidation assay, *Journal of Medicinal Plants Research*, 2013, 7(7), s. 358–365.
- [32] Sheikh N. A., Desai T. R., Tirgar P. R., Investigation into iron chelating and antioxidant potential of *Melilotus officinalis* in iron dextran induced iron overloaded sprague dawley rat model, *Drug Research*, 2016, 12(66), s. 618–627.
- [33] Pleșca-Manea L., Pârvu A. E., Pârvu M., Taămaș M., Buia R., Puia M., Effects of *Melilotus officinalis* on acute inflammation, *Phytotherapy Research*, 2002, 4(16), s. 316–319.
- [34] Merighi S., Travagli A., Tedeschi P., Marchetti N., Gessi S., Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Epilobium parviflorum*, *Melilotus officinalis* and *Cardiospermum halicacabum* plant extracts in macrophage and microglial cells, *Cells*, 2021, 10(10), 2691.
- [35] Ożarowski A., Jaroniewski W., *Rośliny lecznicze i ich praktyczne zastosowanie*, t. I, Instytut Wydawniczy Związków Zawodowych, Warszawa 1987.
- [36] Pastorino G., Marchetti C., Borghesi B., Cornara L., Ribulla S., Burlando B., Biological activities of the legume crops *Melilotus officinalis* and *Lespedeza capitata* for skin care and pharmaceutical applications, *Industrial Crops and Products*, 2017, t. 96, s. 158–164.
- [37] Chorepsima S., Tentolouris K., Dimitroulis D., Tentolouris N., *Melilotus*: Contribution to wound healing in the diabetic foot, *Journal of Herbal Medicine*, 2013, 3(3), s. 81–86.
- [38] Shahrousvand M., Haddadi-Asl V., Shahrousvand M., Step-by-step design of poly (ϵ -caprolactone) /chitosan/*Melilotus officinalis* extract electrospun nanofibers for wound dressing applications, *International Journal Biological Macromolecules*, 2021, 180, s. 36–50.
- [39] Zhao G., Yuan Y., Chai F., Ji F., Effect of *Melilotus officinalis* extract on the apoptosis of brain tissues by altering cerebral thrombosis and inflammatory mediators in acute cerebral ischemia, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2017, 89, s. 1346–1352.
- [40] Kaur S. i wsp., Evaluation of anxiolytic effect of *Melilotus officinalis* extracts in mice, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2017, 6(10), s. 396–399.
- [41] Quijano-Celis C. E., Pino J. A., Morales G., Chemical composition of the leaves essential oil of *Melilotus officinalis* (L.) pallas from Colombia, *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 2010, 3(13), s. 313–315.
- [42] Olaharski A. J., Rine J., Marshall B. L., Babiarz J., Zhang L., Eric Verdin E., Smith M. T., The flavoring agent dihydrocoumarin reverses epigenetic silencing and inhibits sirtuin deacetylases, *PLoS Genet*, 2005, 6(1), s. 0689–0694.
- [43] Fernández R., Bertrand A., García J. I., Tamés R. S., González A., Lead accumulation and synthesis of non-protein thiolic peptides in selected clones of *Melilotus alba* and *Melilotus officinalis*, *Environmental Experimental Botany*, 2012, t. 78, s. 18–24.