

*Marcin Szymański¹, Daria Szajkowska¹, Arkadiusz Szymański²

Analiza fitochemiczna gatunków *Melilotus officinalis* i *Melilotus alba*

Phytochemical analysis of *Melilotus officinalis* and *Melilotus alba* species

¹Centrum Zaawansowanych Technologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Dyrektor Centrum: prof. dr hab. n. chem. Bronisław Marciniak

²Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Dziekan Wydziału: prof. dr hab. n. chem. Maciej Kubicki

SUMMARY

Introduction. All over the world, natural medicine uses species of the genus *Melilotus* due to their anti-inflammatory, anti-rheumatic, analgesic, spasmolytic, astringent, diuretic and anticoagulant effects. In the Polish Pharmacopoeia, only the yellow melilot herb (*Meliloti herba*) has a monograph.

Aim. The research was aimed at a comparative analysis of the content of the sum of polyphenolic compounds, including the sum of flavonoids and phenolic acids, and antioxidant activity in water extracts of *M. officinalis* and *M. alba* herb and root.

Material and methods. The research was carried out for two species of *Melilotus officinalis* and *M. alba*. The raw material was herb and melilot root, collected during flowering period from natural sites. In aqueous extracts from raw materials, the following methods were determined by colorimetric methods: the sum of polyphenolic compounds using the Folin-Ciocalteu reagent, the sum of phenolic acids using the Arnov reagent, the sum of flavonoids using the Christ-Müller method and the antioxidant activity using the 2,2-diphenyl-1-picryl-radical hydrazyl (DPPH).

Results. *Meliloti alba* herb has a much higher content of polyphenols, including phenolic acids and flavonoids than *M. officinalis*. In the yellow sweet clover the sum of polyphenols in the samples ranged from 2.101 to 2.438%, while in the white sweet clover from 2.765 to 3.540%. The content of phenolic acids in the samples of yellow sweet clover herb was 0.617-0.766%, and in the samples of white sweet clover herb was 0.646-0.900%. The content of flavonoids in the samples of yellow sweet clover herb ranged from 0.748 to 0.975%, and in the case of white sweet clover herb it was at the level of 0.801-1.192%. The samples of the commercial yellow sweet clover herb had the lowest content of phenolic compounds; the sum of polyphenols was 1.579%, phenolic acids 0.361%, and flavonoids 0.441%. The determined content of total polyphenols in the roots of both melilot species was low and amounted to 0.450% in MOR1 and 0.362% in MAR2. Despite the lower content of polyphenolic compounds (2.438%), the yellow melilot showed higher antioxidant activity (IC₅₀ = 4.35 mg/ml) compared to the white melilot herb (IC₅₀ = 5.31) with a higher content of polyphenols (3.010%).

Conclusions. A higher content of the sum of polyphenols as well as phenolic acids and flavonoids was found in the white melilot. In both the yellow and white sweet clover herb extract, significantly more polyphenolic compounds were determined compared to the content in their root extract.

Keywords: *Melilotus officinalis*, *Melilotus alba*, polyphenols, antioxidant activity

STRESZCZENIE

Wstęp. Na całym świecie medycyna naturalna wykorzystuje gatunki z rodzaju *Melilotus* ze względu na ich działanie przeciwpalne, przeciwreumatyczne, przeciwbólowe, spazmolityczne, ściągające, moczopędne i przeciwzakrzepowe. W Farmakopei Polskiej monografię ma jedynie ziele nostrzyka żółtego (*Meliloti herba*).

Cel pracy. Badania miały na celu porównawczą analizę zawartości sumy związków polifenolowych, w tym sumy flawonoidów i sumy kwasów fenolowych oraz aktywności antyoksydacyjnej w wyciągach wodnych z ziela i korzenia *M. officinalis* i *M. alba*.

Materiał i metody. Badania prowadzono dla dwóch gatunków nostrzyka: *Melilotus officinalis* i *M. alba*. Surowiec stanowiły ziele i korzeń nostrzyków zebrane w okresie kwitnienia ze stanowisk naturalnych. W wodnych wyciągach z surowców oznaczono kolorymetrycznymi metodami: sumę związków polifenolowych z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu, sumę kwasów fenolowych z wykorzystaniem odczynnika Arnova, sumę flawonoidów metodą Christa-Müllera oraz aktywność antyoksydacyjną z wykorzystaniem rodnika 2,2-difenylo-1-pikrylo-hydrazylowego (DPPH).

Wyniki. Ziele *Meliloti alba* charakteryzuje się znacznie wyższą zawartością polifenoli, w tym kwasów fenolowych i flawonoidów, niż ziele *M. officinalis*. W ziele nostrzyka żółtego suma polifenoli w próbkach wynosiła od 2,101 do 2,438%, natomiast w ziele nostrzyka białego od 2,765 do 3,540%. Zawartość kwasów fenolowych w próbkach ziela nostrzyka żółtego wynosiła 0,617-0,766%, a w próbkach ziela nostrzyka białego 0,646-0,900%. Zawartość flawonoidów w próbkach ziela nostrzyka żółtego mieściła się w przedziale od 0,748 do 0,975%, a w przypadku ziela nostrzyka białego była na poziomie 0,801-1,192%. Najniższą zawartość związków fenolowych miały próbki handlowego ziela nostrzyka żółtego; suma polifenoli wynosiła 1,579%, kwasów fenolowych 0,361%, a flawonoidów 0,441%. Oznaczona zawartość sumy polifenoli w korzeniach obu gatunków nostrzyka była niska i wynosiła 0,450% w MORAI i 0,362% w MARA2.

Mimo niższej zawartości związków polifenolowych (2,438%) nostrzyk żółty wykazał wyższą aktywność antyoksydacyjną ($IC_{50} = 4,35$ mg/ml) w stosunku do ziela nostrzyka białego ($IC_{50} = 5,31$) o wyższej zawartości związków polifenolowych (3,010%).

Wnioski. Wyższa zawartość sumy polifenoli, a także kwasów fenolowych i flawonoidów występowała w nostrzyku białym. Zarówno w wyciągu z ziela nostrzyka żółtego, jak i białego oznaczono zdecydowanie więcej związków polifenolowych w porównaniu z ich zawartością w wyciągu z korzeni.

Słowa kluczowe: *Melilotus officinalis*, *Melilotus alba*, polifenole, aktywność antyoksydacyjna

Wstęp

Rodzaj *Melilotus* Mill. (Nostrzyk) należy do rodziny *Fabaceae* (Bobowate). Jego nazwa wywodzi się z łacińskich słów *meli* – „słodczy, miód” i *lotus* – „roślina, koniczyna”, stąd gatunki nazywane są także słodką koniczyną (1). Po raz pierwszy rodzaj *Melilotus* został opisany w dziele Millera: „The Gardens Dictionary Edition 4 Vol 2” z 1754 roku (2). Obecnie rodzaj *Melilotus* reprezentują 24 gatunki (3), a według innych źródeł nawet 25 (4, 5). Należą do nich zarówno rośliny jednoroczne, dwuletnie, jak i byliny. Gatunki te występują naturalnie w Europie i Azji, a ze względu na niewielkie wymagania środowiskowe są szeroko rozpowszechnione w Australii, Ameryce Północnej (także na Alasce), Ameryce Południowej i Afryce (4, 6-8). Według Szafera i wsp. (9) w Polsce na terenie całego kraju, od nizin, wyżyn, po niższe partie górskie, występowały 4 gatunki rodzaju *Melilotus*: *M. dentatus* (Nostrzyk ząbkowany), *M. altissimus* (Nostrzyk wyniosły), *M. albus* (Nostrzyk biały) i *M. officinalis* (Nostrzyk żółty). Ostatnie dane z 1995 roku mówią o występowaniu 11 gatunków: *M. alba* Medik, *M. officinalis* (L.) Lam. em. Thuill., *M. altissima* Thuill., *M. polonica* (L.) Pall., *M. coeruleus* (L.) Desr., ***M. siculus* (Turra) A. K., *M. denata* (Walds & Kit.) Pers., ***M. sulcata* Desfr., ***M. indica* (L.) All., **M. wolgica* Poir. in Lam., ***M. messanensis* (L.) All., w tym 4 efemerofitów** i 1 antropofita* zdomowionego (10). W Polsce *M. officinalis* i *M. alba* to gatunki pospolite na terenie całego niżu i w niższych położeniach górskich. Oba gatunki występują na podobnych terenach, są to: zarośla, przydroża, rowy, łąki i słoneczne wzgórza (9).

Na całym świecie medycyna naturalna wykorzystuje gatunki z rodzaju *Melilotus* ze względu na ich działanie przeciwzapalne, przeciwreumatyczne, przeciwbólowe, spazmolityczne, ściągające, moczopędne i przeciwzakrzepowe (3). Monografia *Meliloti herba* umieszczona w Farmakopei Polskiej VI dopuszcza zbiór surowca z dwóch gatunków: *M. officinalis* i *M. altissimus* do stosowania zewnętrznego w preparatach (11). Zhao i wsp. w swojej publikacji wskazują na 12 gatunków nostrzyków najczęściej stosowanych w medycynie naturalnej, w tym *M. suvaevolens* Ledeb. wykorzystywany od wielu lat w Chinach w leczeniu stanów zapalnych, infekcji gardła i układu pokarmowego (5, 12). Są także publikacje informujące o stosowaniu *M. elegans* w medycynie tradycyjnej w Etiopii w schorzeniach dermatologicznych, astmie i hemoroidach. Ponadto w badaniach wykazano porównywalną siłę działania przeciwzapalnego wyciągu z tego gatunku w dawce 333,3 mg/kg m.c. suchego surowca z działaniem indometacyny w dawce 1 mg/kg m.c. (13).

M. officinalis jest dużo lepiej poznany niż *M. alba*. Wynika to z faktu, iż nostrzyk żółty, jak podają autorzy, jest od tysięcy lat cenionym surowcem o wielokierunkowym działaniu, wykorzystywanym w fitoterapii (14, 15), dlatego w wielu badaniach identyfikowano związki odpowiedzialne za działanie lecznicze tego gatunku. Natomiast nostrzyk biały to gatunek doceniany od lat, ale głównie w agronomii (16), stąd być może mniejsze zainteresowanie zbadaniem jego chemizmu. Na podstawie dostępnych źródeł literaturowych dokonano porównania zawartości związków czynnych *M. officinalis* i *M. alba* (tab. 1).

Do podstawowych grup związków występujących w *M. officinalis* i *M. alba* należą: kumaryny, kwasy fenolowe, flawonoidy i saponiny triterpenowe, przy czym najbardziej charakterystyczną grupą dla obu gatunków są kumaryny.

Cel pracy

Celem pracy było oznaczenie zawartości sumy związków polifenolowych, flawonoidów i kwasów fenolowych oraz zbadanie aktywności antyoksydacyjnej wyciągów z ziela i korzenia *M. officinalis* i *M. alba*, zbieranych z czterech stanowisk naturalnych.

Materiał i metody

Badania prowadzono dla dwóch gatunków nostrzyka *Melilotus officinalis* (skrót: MO – *Melilotus*

officinalis; HE – herba [ziele]; RA – radix [korzeń]; 1-4 stanowisko) MOHE1-4, MOHEH (surowiec handlowy: Ziele nostrzyka żółtego, *Meliloti herba* 50 g firmy Flos), MORA1 (korzeń) i *Melilotus alba* (skrót: MA – *Melilotus alba*; HE – herba [ziele]; RA – radix [korzeń]; 1-4 stanowisko) MAHE1-4 (ziele), MARA2 (korzeń). Surowiec zebrano w okresie kwitnienia ze stanowiska naturalnego, suszono w cieniu i przewiewie w temperaturze pokojowej. Charakterystykę miejsc zbioru surowców do badań przedstawiono w tabeli 2.

Oznaczenie całkowitej sumy związków polifenolowych przeprowadzono metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu i 20% roztworu węgla sodu. Metoda oparta jest na proporcjonalnym wzroście natężenia barwy roztworu

Tab. 1. Porównanie związków chemicznych *M. officinalis* i *M. alba*

Grupa związków	<i>M. officinalis</i>	<i>M. alba</i>
kumaryny	<ul style="list-style-type: none"> – kumaryna 0,3-0,8% (wg FP IX nie mniej niż 0,3%) – melilotyna (3,4-dihydrokumaryna) – umbeliferon (7-hydroksykumaryna) – skopoletyna (7-hydroksy-6-metoksykumaryna) – herniaryna – fraksydyna – 4-oksykumaryna (17-20)	<ul style="list-style-type: none"> – kumaryna – melilotyna (3,4-dihydrokumaryna) – umbeliferon (7-hydroksykumaryna) (21)
kwasy fenolowe	<ul style="list-style-type: none"> – kwas <i>p</i>- i <i>o</i>-kumarowy – kwas melilotowy (dihydro-<i>o</i>-kumarowy) 0,2% – kwas kawowy 0,1% – kwas ferulowy – kwas salicylowy – kwas chlorogenowy – kwas cynamonowy – kwas elagowy (17, 18)	<ul style="list-style-type: none"> – kwas <i>p</i>- i <i>o</i>-kumarowy – kwas melilotowy (dihydro-<i>o</i>-kumarowy) – kwas cynamonowy – meliloester (21, 22)
flawonoidy	<ul style="list-style-type: none"> – rutozyd – hiperozyd – hesperydyna – astragalina – luteolina – robinina – witeksyna – genisteina (17, 18, 23-25)	<ul style="list-style-type: none"> – glikozyd kwercetyny (ang. <i>clovin</i>) – glikozyd kemferolu (ang. <i>melitin</i>) – pochodne izoflawonoidów: melilotokarpan A, B, C, D (26, 27)
triterpeny i saponiny triterpenowe	<ul style="list-style-type: none"> – kwas betulinowy – lupanon – lupeol – melilotigenina, sojasapogenol B i E, sojasaponina I, astragalozyd VIII, azukisaponina II, azukisaponina V, karboksylan, melilotus-saponina O₂, wistariasaponina D (17, 20, 23, 28)	w korzeniu: <ul style="list-style-type: none"> – glikozydy pochodne sojasapogenolu B: melilotozyd A, B, C, D (29, 30)
inne	<ul style="list-style-type: none"> – garbniki, trygonelina, kwas moczowy, pochodne mocznika: alantoina i kwas alantoinowy, witamina C, sole mineralne, polisacharydy, karotenoidy, aminokwasy, kwasy tłuszczowe (25, 29, 31)	<ul style="list-style-type: none"> – polisacharydy, kwasy tłuszczowe (29)

Tab. 2. Charakterystyka miejsc zbioru surowców do badań

Symbol próbki	Miejsce zbioru	Orientacyjna temp. powietrza/pogoda	Charakterystyka terenu
MOHE1 MRA1	Okolice Suchego Lasu i Gratowiska	28°C; późne popołudnie, słoneczny, bezwietrzny dzień	Mały ruch samochodowy, sąsiedztwo Zakładu Zagospodarowania Odpadami
MOHE2	Koziegłowy, droga dojazdowa do magazynu Zakładów Drobiarskich	25°C; późne popołudnie, słoneczny, bezwietrzny dzień	Mały ruch samochodowy, sąsiedztwo Elektrociepłowni Karolin
MOHE3	Ostrowąs, przydroże	25°C; popołudnie, słoneczny, bezwietrzny dzień	Mały ruch samochodowy
MOHE4	Koneck, przydroże	23°C; popołudnie, słoneczny, bezwietrzny dzień	Duży ruch samochodowy, sąsiedztwo Zakładu Przetwórstwa Warzywno-Owocowego
MAHE1	Okolice Suchego Lasu i Gratowiska	28°C; późne popołudnie, słoneczny, bezwietrzny dzień	Mały ruch samochodowy, sąsiedztwo Zakładu Zagospodarowania Odpadami
MAHE2 MARA2	Poznań, pobocze przy ulicy Żeromskiego	20°C; słoneczny, bezwietrzny dzień	Duży ruch samochodowy
MAHE3	Ostrowąs, przydroże	25°C; popołudnie, słoneczny, bezwietrzny dzień	Mały ruch samochodowy
MAHE4	Koneck, przydroże	25°C; popołudnie, słoneczny, bezwietrzny dzień	Duży ruch samochodowy, sąsiedztwo Zakładu Przetwórstwa Warzywno-Owocowego

w stosunku do zawartości w próbce związków fenolowych reagujących z powyższymi odczynnikami. Pomiar absorbancji wykonano przy długości fali $\lambda = 760 \text{ nm}$ (32).

Oznaczanie kwasów fenolowych przeprowadzono metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem odczynnika Arnova, kwasu solnego (18 g/l) i wodorotlenku sodu (40 g/l) na podstawie monografii *Taraxaci radix*. Metoda oparta jest na proporcjonalnym wzroście natężenia barwy roztworu w stosunku do zawartości w próbce kwasów fenolowych. Pomiar absorbancji wykonuje się przy długości fali $\lambda = 490 \text{ nm}$ (11).

Do obliczenia procentowej zawartości kwasów fenolowych w badanych próbach w przeliczeniu na kwas kawowy skorzystano ze wzoru:

$$X (\%) = (A * 1,7544) / m$$

gdzie:

A – absorbancja roztworu,
m – odważka surowca w g.

Oznaczenie ilościowe flawonoidów przeprowadzono metodą kolorymetryczną Christa-Müllera z wykorzystaniem chlorku glinu, na podstawie monografii *Leonuri cardiaca* herba. Na wstępie przeprowadzono hydrolizę kwasową flawonoidów do aglikonów, dobrze rozpuszczalnych w octanie etylu. Natężenie barwy roztworu po podaniu chlorku glinu jest proporcjonalne do zawartości w próbce flawonoidów.

Pomiaru absorbancji dokonano przy długości fali $\lambda = 425 \text{ nm}$ (19).

Do obliczenia zawartości flawonoidów w badanych próbach w przeliczeniu na hiperozyd korzystano ze wzoru:

$$X (\%) = (A * 1,25) / m$$

gdzie:

A – absorbancja przy $\lambda = 425 \text{ nm}$,
m – masa naważki w g.

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej badanych wyciągów roślinnych przeprowadzono według zmodyfikowanej metody Branda-Williamsa i wsp., z wykorzystaniem rodnika 2,2-difenylo-1-pikrylo-hydrazylowego (DPPH). W metodzie tej wykorzystuje się zdolność badanych wyciągów do wygaszania rodnika DPPH.

Spadek ilości DPPH po zastosowaniu przeciwutleniacza (AH) zaobserwowano na podstawie pomiaru absorbancji, przy długości fali $\lambda = 515 \text{ nm}$, którego dokonano po 30 minutach od dodania roztworu rodnika DPPH do badanych wyciągów (33).

Zdolność do redukowania rodnika DPPH przez badane wyciągi wodne obliczono na podstawie wzoru:

$$Aa = (A0 - Ai / A0) * 100\%$$

gdzie:

Aa – aktywność antyoksydacyjna (%),
A0 – średnia absorbancja rodnika DPPH,
Ai – średnia absorbancja roztworu badanego.

Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono parametr IC_{50} , który definiowany jest jako stężenie badanego wyciągu potrzebne do obniżenia o 50% stężenia początkowego rodnika DPPH (34).

Wyniki i dyskusja

W nostrzyku żółtym zidentyfikowano liczne związki z grup: kumaryn, flawonoidów, kwasów fenolowych i saponin. Natomiast niewiele jest badań dotyczących związków obecnych w nostrzyku białym, znikome są też dane na temat oznaczeń ilościowych związków obecnych w obu gatunkach. W tabeli 3 przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości sumy polifenoli, kwasów fenolowych, flawonoidów i aktywności antyoksydacyjnej, wyrażonej parametrem IC_{50} , odchylenia standardowe pojedynczych wyników (SD) i współczynniki zmienności (Wz).

Miliauskas i wsp. (35) oznaczyli sumę polifenoli (metoda z odczynnikiem Folina-Ciocalteu) oraz zawartość flawonoidów (metoda opisana w Farmakopei Rosyjskiej) i flawonoli (metoda Yermakova) w 12 wyciągach roślinnych z gatunków zebranych z obszarów centralnej i wschodniej Europy. Do badań wykorzystali też wyciąg metanolowy z zieleńca nostrzyka żółtego, zebranego z rośliny podczas kwitnienia. Wyniki oznaczeń wykazały, że zawartość polifenoli w zieleńcu nostrzyka w przeliczeniu na kwas galusowy wynosiła 0,43%, a flawonoidów i flawonoli w przeliczeniu na rutynę, odpowiednio 0,1 i 0,01%. Zbadali także aktywność

antyoksydacyjną ekstraktów: metanolowego, octanu etylu i acetonowego (metoda z rodnikiem DPPH). Najwyższą zdolnością do wygaszania rodnika DPPH charakteryzował się wyciąg metanolowy z nostrzyka (75,9%), wyciąg acetonowy i octanu etylu miały znikomą aktywność antyoksydacyjną, która wynosiła kolejno 7,6 i 8,1%. Ilościowe oznaczanie sumy polifenoli w zieleńcu oraz korzeniu badanych gatunków wykonano metodą kolorymetryczną z odczynnikiem Folina-Ciocalteu (32).

W naszych badaniach, zawartość sumy polifenoli obliczono na podstawie krzywej wzorcowej w przeliczeniu na kwas kawowy. Analizując wyniki badań dla *Meliloti officinalis herba*, najwyższą zawartość polifenoli stwierdzono w próbce MOHE4 (2,438%), a najniższą (1,579%) w handlowym surowcu (próbka MOHEH). W korzeniu nostrzyka żółtego MORA1 zawartość sumy polifenoli wynosiła 0,450%. W *Meliloti alba herba* najwyższą zawartość polifenoli oznaczono w próbce MAHE1 (3,540%), podczas, gdy w korzeniu (próbka MARA2) – 0,362%.

Najwyższą zawartość kwasów fenolowych (w %) w przeliczeniu na kwas kawowy oznaczono w próbce MAHE1 (0,90%), a najniższą (0,361%) w próbce MOHEH, czyli w handlowym zieleńcu nostrzyka żółtego.

Najwyższą zawartość flawonoidów w zieleńcu nostrzyka żółtego stwierdzono w próbce MOHE3 (0,975%), a najniższą (0,441%) w handlowym surowcu (próbka MOHEH).

Tab. 3. Średnie zawartości oznaczonych parametrów z błędami pomiarowymi

Nazwa próbki	Polifenole			Kwasy fenolowe			Flawonoidy			IC_{50}
	śred.	SD	Wz	śred.	SD	Wz	śred.	SD	Wz	
MOHE1	2,167	0,078	3,6	0,617	0,022	3,6	0,821	0,009	1,1	–
MORA1	0,450	0,013	2,9	–	–	–	–	–	–	–
MOHE2	2,101	0,055	2,6	0,766	0,029	3,8	0,748	0,004	0,5	–
MOHE3	2,111	0,052	2,5	0,732	0,021	2,9	0,975	0,017	1,8	–
MOHE4	2,438	0,099	4,1	0,753	0,021	2,8	0,966	0,017	1,7	4,35
MOHEH	1,579	0,051	3,2	0,361	0,022	6,0	0,441	0,010	2,4	8,54
MAHE1	3,540	0,117	3,3	0,900	0,023	2,6	0,982	0,012	1,3	–
MAHE2	2,880	0,041	1,4	0,646	0,015	2,3	0,801	0,014	1,8	–
MARA2	0,362	0,015	4,0	–	–	–	–	–	–	–
MAHE3	2,765	0,037	1,4	0,720	0,013	1,8	1,192	0,012	1,0	–
MAHE4	3,010	0,036	1,2	0,761	0,026	3,4	1,089	0,017	1,5	5,31

Wyniki oznaczenia ilościowego dla nostrzyka białego wskazują na najwyższą zawartość flawonoidów w próbce MAHE3 (1,192%).

Ostatnim etapem badań było oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej dla wyciągów wodnych z ziela nostrzyka żółtego (MOHE4), nostrzyka białego (MAHE4) oraz handlowego ziela nostrzyka żółtego (MOHEH). Do tego celu zastosowano zmodyfikowaną metodę spektrofotometryczną Branda-Williamsa. Dla ułatwienia interpretacji wyników obliczono parametr IC_{50} , który definiowany jest jako stężenie wyciągu potrzebne do obniżenia początkowego stężenia DPPH o 50%. Im niższa wartość IC_{50} , tym wyższa aktywność antyoksydacyjna. Wyniki badań wykazały, że IC_{50} dla wyciągu z nostrzyka żółtego wynosiło 4,35 mg/ml, dla wyciągu z ziela nostrzyka białego – 5,31 mg/ml, natomiast dla wyciągu z handlowego ziela nostrzyka żółtego – 8,54 mg/ml.

Wnioski

Wyższą zawartością sumy polifenoli, a także kwasów fenolowych i flawonoidów odznaczał się nostrzyk biały.

Ponad 4,5-krotnie wyższą zawartość sumy polifenoli stwierdzono w wyciągu z ziela nostrzyka żółtego niż z korzenia, a prawie 8-krotnie wyższą w wyciągu z ziela nostrzyka białego w porównaniu z zawartością polifenoli w jego korzeniu.

Wyższa aktywność antyoksydacyjna i wyższa zawartość polifenoli w wyciągach z ziela nostrzyka żółtego i białego, zbieranych ze stanowisk naturalnych w porównaniu z próbką handlową, może wynikać z większego udziału kwiatów (do badań wykorzystano wyłącznie kwitnące szczyty pędów).

Wyższa aktywność antyoksydacyjna, przy niższej zawartości polifenoli ziela nostrzyka żółtego w porównaniu z zielem nostrzyka białego, wynika prawdopodobnie z obecności innych składników o właściwościach przeciwutleniających.

Piśmiennictwo

- Burrows GE, Tyril RJ. Toxic plants of North America. Wiley-Blackwell 2013; 582-6.
- Stevenson GA. An agronomic and taxonomic review of the genus *Melilotus* Mill. Can J Plant Sci 1969; 49(1):1-20.
- Özbek F, Özbek MU, Ekici M. Morphological, anatomical, pollen and seed morphological properties of *Melilotus bicolor* Boiss. & Balansa (*Fabaceae*) endemic in Turkey. Austr J Crop Sci 2014; 8(4):543-9.
- Rogers ME, Colmer TD, Frost K i wsp. Diversity in the genus *Melilotus* for tolerance to salinity and waterlogging. Plant Soil 2008; 304:89-101.
- Zhao L, Tao JY, Zhang SL i wsp. N-butanol extract from *Melilotus suaveolens* Ledeb. Affects pro- and anti-inflammatory cytokines and mediators. Evid Based Complement Altern Med 2010; 7(1):97-106.
- Conn JS, Beattie KL, Shephard MA i wsp. Alaska *Melilotus* invasions: Distribution, origin and susceptibility of plant communities. Arctic Antarctic Alpine Res 2008; 40(2):298-308.
- Seidemann J. World Spice Plants: Economic Usage, Botany, Taxonomy. Springer 2005; 221-3.
- Wolf JJ, Baetty SW, Seastedt TR. Soil characteristics of Rocky Mountain National Park grass lands invaded by *Melilotus officinalis* and *M. alba*. J Biogeogr 2004; 31:415-24.
- Szafer W, Kulczyński S, Pawłowski B. Rośliny polskie. PWN, Warszawa 1976.
- Mirek Z, Piękoś-Mirkowa H, Zając A i wsp. Krytyczna lista roślin naczyniowych Polski. Instytut Botaniczny PAN im. Władysława Szafera w Krakowie, 1995.
- Farmakopea Polska Wydanie VI, Pol. Tow. Farm., Warszawa 2002.
- Zhao L, Tao JY, Zhang SL i wsp. Inner anti-inflammatory mechanism of petroleum ether extract from *Melilotus suaveolens* Ledeb. Inflammation 2007; 30(6):213-23.
- Asres K, Gibbons S, Hana E i wsp. Anti-inflammatory activity of extracts and a saponin isolated from *Melilotus elegans*. Pharmazie 2005; 60(4):310-2.
- EMA (European Medicines Agency). Committee on herbal medicinal products. *Melilotus officinalis* (L.) Lam., herba, 2008.
- Witkowska-Banaszczak E, Szymański M, Działakiewicz Ł i wsp. Ziele nostrzyka – działanie, zastosowanie, stan badań. Post Fitoter 2016; 17(2):91-6.
- Sowa P, Jarecki W, Dżugan M. Nostrzyk (*Melilotus*) – zapomniana roślina o dużym znaczeniu gospodarczym. Zeszyty Probl Postw Nauk Roln 2018; 593:73-85.
- Bradley P. (Ed.) British Herbal Compendium. Companion to the British Herbal Pharmacopoeia Vol. 2. BHMA; 1992; 270-5.
- Bubenchikova VN, Drozdova IL. HPLC analysis of phenolic compounds in Yellow Sweet-Clover. Pharm Chem J 2004; 38(4):195-6.
- Farmakopea Polska Wyd IX, Tom I. 2011. Pol. Tow. Farm., Warszawa 2011.
- Fleming T. (Ed.) PDR For Herbal Medicines (4 Ed.). Thomson, 2000; 744-5.
- Davies EG, Ashton WM. Coumarin and related compounds of *Anthoxanthum puelii* and *Melilotus alba* and dicoumarol formation in spoiled sweet vernal and sweet clover hay. J Sci Food Agric 1964; 15(11):733-8.
- Khatoun R, Saba N, Zahoor A i wsp. Melilotoester, a new melilotic ester from *Melilotus alba*. Nat Prod Commun 2012; 1(1):61-2.
- Anwer MS, Mohtasheem M, Azhar I i wsp. Chemical constituents from *Melilotus officinalis*. J Basic Appl Sci 2008; 4(2):89-94.
- Hanganu D, Vlase Z, Olah N. LC/MS analysis of isoflavones from *Fabaceae* species extracts. Farmacia 2010; 58(2):177-83.
- Maławska I. (red.) Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji. Poznań 2005.

26. Miyase T, Ohtsubo A, Veno A i wsp. Studies on the pterocarpans from *Melilotus alba* Desr. Chem Pharm Bull 1982; 30(6):1986-91.
27. Nicollier GE, Thomson AC. Phytotoxic compounds from *Melilotus alba* (white sweet clover) and isolation and identification of two new flavonoids. J Agric Food Chem 1982; 30(4):760-4.
28. Hirakawa T, Okawa M, Kinjo J i wsp. A New oleanane glucuronide obtained from the aerial parts of *Melilotus officinalis*. Chem Pharm Bull 2000; 48(2):286-7.
29. Khodakov GV, Akimor YA, Shashkov AS i wsp. Triterpene and steroid glycosides of the Melilot genus and their genins I. Melilotosides A, B and C from the roots of *Melilotus albus*. Chem Nat Comp 1994; 30(6):704-8.
30. Shashkov AS, Khodakov GV, Akimor YA i wsp. Triterpene and steroid glycosides of the genus *Melilotus* and their genins. II. Melilotoside D from the roots of *Melilotus albus*. Chem Nat Comp 1994; 30(6):709-12.
31. Krzakowa M, Grzywacz E. Phenolic compounds pattern in sweet clover (*Melilotus officinalis*) vs white clover (*M. alba*) revealed by 2 DTLC (two-dimensional thin layer chromatography) and its taxonomic significance. Herba Pol 2010; 56(3):53-62.
32. Gonzalez de Mejia E, Soo Song Y, Ramirez-Marez MV. Effect of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Tea on topoisomerase inhibition and oral carcinoma cell proliferation. J Agric Food Chem 2005; 53:1966-73.
33. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel – Wissenschaft Technol 1995; 28:25-30.
34. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J Sci Technol 2004; 26(2):211-9.
35. Miliauskasa G, Venskutonisa PR, van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem 2004; 85(2):231-7.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 05.11.2020

zaakceptowano/accepted: 10.12.2020

Adres/address:

*dr n. rol. Marcin Szymański

Centrum Zaawansowanych Technologii UAM

ul. Uniwersytetu Poznańskiego 10, 61-614 Poznań

e-mail: marcin.szymanski@amu.edu.pl