

ИММУНОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 615.32:582.739:615.375

EDN: QIIGXJ

doi: 10.17072/1994-9952-2025-3-313-321



**Исследование иммуотропных свойств сухих экстрактов
клевера и цикория на фоне иммуносупрессии**

**А. А. Синеговец¹, И. В. Михайлова¹, А. И. Смолягин¹, Ю. В. Филиппова¹,
Н. А. Кузьмичева¹**

¹ Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, Оренбург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ангелина Анатольевна Синеговец, a.a.sinegovets@yandex.ru

Аннотация. Проведена оценка влияния сухих экстрактов травы *Cichorium intybus* L. и травы *Trifolium pratense* L. на показатели клеточного и гуморального иммунитета, а также выраженности их антиоксидантных свойств при экспериментальной иммуносупрессии, вызванной метотрексатом. Врожденный иммунитет оценивали посредством определения активности перитонеальных макрофагов, адаптивный иммунитет – в реакциях антителообразования, гемагглютинации и гиперчувствительности замедленного типа при иммуносупрессивном воздействии метотрексата. Интенсивность процессов свободно-радикального окисления оценивали по активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы), и по концентрации продуктов перекисного окисления (тиобарбитуровой кислоты-активных продуктов и диеновых конъюгатов). Установлено, что на фоне иммуносупрессии сухие экстракты цикория и клевера способствовали восстановлению параметров врожденного иммунитета (фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов) и адаптивного иммунитета (реакции антителообразования, гемагглютинации и гиперчувствительности замедленного типа), активации антиоксидантных ферментов и снижению уровня продуктов перекисного окисления. Влияние сухих экстрактов травы *Cichorium intybus* L. и травы *Trifolium pratense* L. сопоставимо действию препарата сравнения иммунала, а в условиях иммуносупрессивного действия метотрексата фитосубстанции приводили изученные параметры иммунной системы в пределы показателей интактной группы мышей. Данные фитопрепараты могут быть рассмотрены в качестве иммуномодулирующих растительных средств.

Ключевые слова: цикорий обыкновенный, клевер луговой, метотрексат, врожденный и адаптивный иммунитет, супероксиддисмутаза, каталаза, тиобарбитуровой кислоты активные продукты, диеновые конъюгаты

Для цитирования: Исследование иммуотропных свойств сухих экстрактов клевера и цикория на фоне иммуносупрессии / А. А. Синеговец, И. В. Михайлова, А. И. Смолягин, Ю. В. Филиппова, Н. А. Кузьмичева // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2025. Вып. 3. С. 313–321. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-3-313-321>.

IMMUNOLOGY

Original article

**Study of immunotropic properties of dry extracts of clover and
chicory against the background of immunosuppression**

**A. A. Sinegovets¹, I. V. Mikhailova¹, A. I. Smolyagin¹, Yu. V. Filippova¹,
N. A. Kuzmicheva¹**

¹ Orenburg state medical university of the Ministry of Health, Orenburg, Russia

Corresponding author: Angelina A. Sinegovets, a.a.sinegovets@yandex.ru

Abstract. The effect of dry extracts of the herb *Cichorium intybus* L. and the herb *Trifolium pratense* L. was evaluated. Effects on cellular and humoral immunity, as well as the severity of their antioxidant properties in experimental immunosuppression caused by methotrexate. Innate immunity was assessed by measuring the activity of peritoneal macrophages, while adaptive immunity was evaluated through antibody formation, hemagglutination, and delayed-type hypersensitivity reactions under methotrexate-induced immunosuppressive conditions. The intensity of free radical oxidation processes was evaluated by the activity of antioxidant enzymes (su-

peroxide dismutase and catalase) and the concentration of lipid peroxidation products (thiobarbituric acid–reactive substances and diene conjugates). It was found that under immunosuppression, dry extracts of chicory and clover contributed to the restoration of innate immunity parameters (phagocytic activity of peritoneal macrophages) and adaptive immunity (antibody formation, hemagglutination, and delayed-type hypersensitivity reactions), activation of antioxidant enzymes, and reduction in lipid peroxidation products. The effects of dry extracts of *Cichorium intybus* L. and *Trifolium pratense* L. were comparable to those of the reference drug Immunal. Under methotrexate-induced immunosuppression, the phytosubstances restored the studied immune system parameters to levels observed in the intact mouse group. These phytopreparations may be considered as plant-based immunomodulatory agents.

Keywords: common chicory, meadow clover, methotrexate, innate and adaptive immunity, superoxide dismutase, catalase, thiobarbituric acid–reactive substances, diene conjugates

For citation: Sinegovets A. A., Mikhailova I. V., Smolyagin A. I., Filippova Yu. V., Kuzmicheva N. A. [Study of immunotropic properties of dry extracts of clover and chicory against the background of immunosuppression]. *Bulletin of Perm University. Biology.* Iss. 3 (2025): pp. 313–321. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2025-3-313-321>.

Введение

В настоящее время для коррекции иммунодефицитных состояний идет активный поиск новых средств как синтетического, так и природного происхождения, действующих на основные компоненты иммунной системы, причем особенно перспективным является использование средств природного происхождения. Следует отметить, что многочисленные исследования последних лет демонстрируют, что в основе развития различных заболеваний лежит одно и то же явление, заключающееся в повреждении клеточных оболочек и структур внутри клетки свободными радикалами кислорода [Лушак, 2007]. В данном контексте перспективными являются лекарственные средства, содержащие фенольные соединения, включающие флавоноиды, фенольные кислоты, кумарины, танины и др. [Масная и др., 2013]. Данные соединения проявляя низкую токсичность, оказывают антиоксидантное действие и модифицирующее влияние на структуру биологических мембран лимфоцитов, обеспечивая усиление их пролиферативного потенциала и функции [Зверев и др., 2017].

Среди природных источников фенольных соединений особый интерес представляют клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) и цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.), широко распространенные на территории Российской Федерации [Кароматов, Абдулхаков, 2016]. Благодаря богатому комплексу биологически активных веществ (БАВ) данные лекарственные растения оказывают широкий терапевтический спектр фармакологических эффектов, таких как антиоксидантный, антирадикальный, гиполипидемический, антисклеротический, противоопухолевый, противовоспалительный, ранозаживляющий, антимикробный, антиаллергический и другие [Новиков и др., 2010; Сайбель и др., 2016]. В связи с этим актуальным является оценка иммунопротекторного и антиоксидантного действия сухих экстрактов клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) и цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) в отношении параметров врожденного и адаптивного иммунитета при метотрексат-индуцированной иммуносупрессии.

Цель исследования – оценка влияния сухих экстрактов травы *Cichorium intybus* L. и травы *Trifolium pratense* L. на показатели клеточного и гуморального иммунитета, а также выраженности их антиоксидантных свойств при экспериментальной иммуносупрессии, вызванной метотрексатом.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовались сухие экстракты, полученные методом перколяции с применением этилового спирта, цикория травы (СЭЦТ) [Патент РФ № 2828665] и клевера травы (СЭКТ) [Патент РФ № 2803502].

Экспериментальные исследования были выполнены на 307 половозрелых беспородных белых мыш-сах-самцах массой 25–30 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами обращения с лабораторными животными, установленными Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых в научных целях, а также Федеральным законом от 27.12.2018 г. № 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» (ред. от 27.12.2019). Действие исследуемых экстрактов было изучено на модели иммуносупрессии, индуцированной цитостатиком метотрексатом (МТХ) («Сандоз», Словения; лекарственная форма – раствор для инъекций) [Железнова, 2010]. СЭЦТ, СЭКТ и препарат сравнения «Иммунал» мыши получали через 1 ч, 24 ч и 48 ч после введения МТХ. Экспериментальные мыши были разделены на 8 групп: 1 группа – интактные мыши, получавшие воду очищенную; 2 группа – мыши, получавшие препарат сравнения «Иммунал» (ИММ) в дозировке 240 мг/кг, 3 группа – мыши, получавшие СЭЦТ в дозировке 50 мг/кг; 4 груп-

па – мыши, получавшие СЭКТ в дозировке 50 мг/кг; 5 группа – мыши, получавшие МТХ в дозировке 10 мг/кг; 6 группа – мыши, получавшие МТХ в дозировке 10 мг/кг и ИММ в дозировке 240 мг/кг; 7 группа – мыши, получавшие МТХ в дозировке 10 мг/кг и СЭЦТ в дозировке 50 мг/кг; 8 группа – мыши, получавшие МТХ в дозировке 10 мг/кг и СЭКТ в дозировке 50 мг/кг.

Изучение особенностей формирования клеточного иммунитета проводили на модели локальной реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к эритроцитам барана (ЭБ). Для этого животным каждой группы проводили иммунизацию путем внутрибрюшинного введения 10% взвеси ЭБ. Через 4 суток после иммунизации вводили разрешающую дозу ЭБ в подошвенную поверхность стопы, в другую стопу вводили физиологический раствор. Тестирование реакции проводили через 24 ч путем измерения толщины стоп опытной и контрольной лапок [Волчегорский и др., 2000]. Гуморальный иммунный ответ исследовали путем определения прямых антителообразующих клеток (АОК) в селезенке иммунизированных животных по методу [Jerne, Nordin, 1963]. Результаты выражали в показателях, характеризующих относительное АОК на 1 млн спленоцитов и их абсолютное содержание на всю селезенку. Определение титра антител к ЭБ осуществляли с помощью реакции геммаглютинации (РГА). Для этого сыворотку крови животных инактивировали при 56°C и затем раститровывали изотоническим раствором хлорида натрия. После раститровки в каждую лунку вносили 2.5% раствор ЭБ и инкубировали в термостате 1 ч при температуре 37°C. После окончания инкубации учитывали результаты РГА по характеру осадка эритроцитов. Полученные титры антител переводили в десятичные логарифмы [Волчегорский и др., 2000]. Количество лейкоцитов определяли в камере Горяева, лейкоформулу периферической крови изучали в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза, подсчитывая в каждом мазке не менее 200 клеток, определение фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов проводили по методике [Волчегорский и др., 2000] посредством расчета фагоцитарного показателя (ФП) и фагоцитарного индекса (ФИ).

Определение концентрации тиобарбитуровой кислоты-активных продуктов (ТБКАП) было основано на образовании продуктами перекисного окисления липидов с тиобарбитуровой кислотой окрашенного комплекса (розовый), экстрагируемого бутанолом. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 535 и 570 нм («Агат-Мед», Россия). Установление содержания диеновых конъюгатов (ДК) осуществляли спектрофотометрическим методом при длине волны 233 нм [Горина, 2019]. Об активности каталазы судили по способности преобразовывать субстрат (пероксид водорода) в реакции с солями молибдена. Интенсивность развивающейся окраски измеряли на спектрофотометре УФ-1200 («Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd», Китай) при длине волны 410 нм [Королюк и др., 1988]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по скорости аутоокисления адреналина в адренохром в щелочной среде. Скорость окисления адреналина оценивали по кинетике изменения оптической плотности при длине волны 347 нм [Сирота, 1999].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета Statistica 10 (StatSoft, USA), включая методы параметрического (критерий Стьюдента) и непараметрического (критерий Манна-Уитни) анализов. Результаты представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиль), а также в виде среднеарифметического значения ($M \pm m$).

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенного эксперимента было выявлено, что использование СЭЦТ, СЭКТ, ИММ и цитостатика МТХ не вызывало гибели подопытных животных, что указывает на безопасность исследуемых средств. Исследование числа лейкоцитов и лейкоформулы у мышей всех групп не выявило достоверных отличий подавляющего большинства показателей по отношению к параметрам интактных мышей. Установлено только снижение уровня лейкоцитов и лимфоцитов ($4.0 \cdot 10^9 \pm 0.42$ и $51.14 \pm 5.9\%$) у мышей, получавших МТХ по сравнению с контролем ($7.2 \cdot 10^9 \pm 0.46$ и $81.5 \pm 2.21\%$).

Для оценки врожденного иммунитета было изучено влияние исследуемых веществ на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов (табл. 1). По сравнению с интактной группой животных было установлено, что ИММ, СЭЦТ и СЭКТ не изменяли фагоцитарный показатель и фагоцитарный индекс, тогда как в группе МТХ отмечалось достоверное снижение фагоцитарного показателя и фагоцитарного индекса. При совместном введении МТХ с ИММ, МТХ с СЭЦТ и МТХ с СЭКТ отмечалось достоверное повышение фагоцитарных показателей по сравнению с их уровнем у мышей, которым вводился только МТХ, кроме того, фагоцитарные показатели в данных группах были близки к параметрам интактных мышей. Таким образом, полученные результаты подтверждают иммунокорректирующие свойства сухих экстрактов клевера и цикория при совместном влиянии цитостатика по отношению одного из главных параметров врожденного иммунитета – фагоцитоза.

Результаты влияния фитоэкстрактов на клеточный и гуморальный иммунитет выявили, что по отношению к показателям контрольной группы введение иммунала увеличивало титр антител к ЭБ на 30%, относительное количество АОК на 24%, а применение СЭЦТ и СЭКТ значимо не изменяло исследуемые параметры (табл. 2).

Таблица 1

Влияние сухих экстрактов клевера и цикория на фагоцитарные показатели мышей при метотрексат-индуцированной иммуносупрессии
[Effect of dried extracts of clover and chicory on phagocytic parameters of mice with methotrexate-induced immunosuppression]

№ группы	Группа	n	Фагоцитарный показатель, %	Фагоцитарный индекс
1	ИНТ	12	31 [29; 36]	8.3 [7.3; 8.8]
2	ИММ	10	32 [27; 40]	8.0 [6.6; 8.5]
3	СЭЦТ	11	30 [26; 39]	7.3 [6.6; 8.4]
4	СЭКТ	11	32 [30; 33]	7.7 [7.0; 8.0]
5	МТХ	11	26* [25.5; 27.0]	5.9* [5.0; 6.5]
6	МТХ+ИММ	13	33^ [29; 37]	7.0^ [6.7; 7.4]
7	МТХ+СЭЦТ	11	30 [27; 32]	7.2^ [6.6; 8.7]
8	МТХ+СЭКТ	11	34^ [33; 35]	7.5^ [6.3; 8.0]

Примечание: здесь и в следующих таблицах: различия достоверны при $p \leq 0.05$: * – по сравнению с животными 1 группы; # – по сравнению с животными 2 группы; ^ – по сравнению с животными 5 группы.

Таблица 2

Влияние сухих экстрактов клевера и цикория на параметры клеточного и гуморального иммунитета при метотрексат-индуцированной иммуносупрессии
[The effect of dried extracts of clover and chicory on the parameters of cellular and humoral immunity in methotrexate-induced immunosuppression]

№ группы	Группа	Индекс реакции ГЗТ, %	Титр антител, lg	Число АОК на 10^6 спленоцитов	Абсолютное число АОК на селезенку
1	ИНТ	32 [30; 34] n=15	1.51 [1.51; 2.20] n=8	149 [130; 171] n=8	28583 [17471; 32503] n=8
2	ИММ	35 [29; 53] n=13	1.96 [1.51; 2.40] n=8	185 [162; 199] n=8	29214 [24936; 33066] n=8
3	СЭЦТ	36 [33; 43] n=13	1.96 [1.59; 2.10] n=8	163 [135; 175] n=8	28501 [24283; 32726] n=8
4	СЭКТ	35 [21; 53] n=13	1.82 [1.51; 2.10] n=8	152# [145; 164] n=8	30316 [27675; 32055] n=8
5	МТХ	18*# [17; 23] n=13	0.6 [0.6; 2.10] n=8	124# [104; 140] n=8	18968# [15933; 23774] n=8
6	МТХ+ИММ	25 [15; 43] n=13	0.90# [0.90; 1.82] n=8	136# [121; 146] n=8	22184# [18241; 24459] n=8
7	МТХ+СЭЦТ	27 [17; 45] n=13	1.20 [0.98; 1.43] n=8	127 [100; 144] n=8	23800 [22634; 26522] n=8
8	МТХ+СЭКТ	46*^ [37; 50] n=12	1.67 [1.50; 2.03] n=8	168 [155; 188] n=8	25485 [22652; 28706] n=8

Воздействие цитостатика МТХ приводило по сравнению с интактной группой животных к достоверному снижению индекса реакции ГЗТ, титра антител к ЭБ в 2.5 раза, относительного содержания АОК в 1.2 раза и абсолютного количества АОК на селезенку в 1.5 раза. Одновременное воздействие иммунала и МТХ приводило к достоверному снижению титра антител к ЭБ, относительного и абсолютного содержания АОК и уменьшению индекса реакции ГЗТ в 1.4 раза у мышей 6 группы (МТХ+ИММ) по сравнению с животными 2 группы (ИММ). Вместе с тем, использование иммунала совместно с МТХ (6 группа) уменьшало отрицательные сдвиги исследуемых показателей по сравнению с группой мышей, получавших только МТХ (5 группа).

Аналогичные тенденции изменений изучаемых параметров у мышей наблюдались при введении МТХ и СЭЦТ (7 группа), МТХ и СЭКТ (8 группа). Так при введении СЭЦТ и МТХ отмечалось снижение индекса ГЗТ, относительного и абсолютного количества АОК у мышей 7 группы по сравнению с животными 3 группы. Использование СЭЦТ совместно с МТХ (7 группа) уменьшало отрицательные сдвиги исследуемых показателей по сравнению с группой животных, получавших только МТХ (5 группа). При применении СЭКТ на фоне иммуносупрессии сохранялись те же тенденции изменений исследуемых параметров, как и при использовании СЭЦТ+МТХ.

Таким образом, при введении МТХ совместно с иммуналом, СЭЦТ и СЭКТ наблюдались односторонние сдвиги показателей клеточного и гуморального иммунитета, свидетельствующие об иммунокорректирующем действии данных препаратов на фоне иммуносупрессии, вызванной МТХ.

Для выяснения механизмов воздействия СЭЦТ и СЭКТ на фоне иммуносупрессии мышей, вызванной МТХ, была проведена оценка выраженности антиоксидантной активности изучаемых экстрактов через определение концентрации продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови и активности ферментов антиоксидантной защиты. Установлено отсутствие значимых различий содержания ТБКАП и ДК у мышей при введении иммунала, СЭЦТ и СЭКТ (табл. 3).

Таблица 3

Влияние фитоэкстрактов клевера и цикория на интенсивность образования ТБКАП и ДК в сыворотке мышей при метотрексат-индуцированной иммуносупрессии
[Effect of clover and chicory phytoextracts on the intensity of TBCAP and DC formation in mouse serum during methotrexate-induced immunosuppression]

№ группы	Группа	n	ТБКАП, мкмоль/л	ДК, мкмоль/мл
1	ИНТ	6	4.92 [4.62; 5.03]	4.44 [3.39; 5.44]
2	ИММ	6	5.64 [5.18; 6.56]	4.54 [4.25; 5.78]
3	СЭЦТ	6	4.31 [3.79; 4.82]	4.48 [4.33; 4.23]
4	СЭКТ	6	4.18 [4.10; 4.74]	3.39 [3.10; 3.10]
5	МТХ	6	8.54* [7.82; 9.22]	8.74* [8.00; 9.48]
6	МТХ+ИММ	6	5.13^ [4.72; 5.69]	3.46^ [2.81; 4.69]
7	МТХ+СЭЦТ	6	5.01^ [4.51; 5.21]	3.43^ [2.96; 3.90]
8	МТХ+СЭКТ	6	4.74^ [4.41; 5.69]	3.28^ [2.92; 4.11]

Напротив, при введении мышам МТХ достоверно были увеличены концентрации ТБКАП и ДК в сыворотке крови. В то же время, применение ИММ, СЭЦТ и СЭКТ на фоне МТХ значимо снижало концентрации ТБКАП и ДК, что свидетельствовало о наличии у исследуемых фитосубстанций антиоксидантных свойств.

Для дальнейшего анализа выраженности антиоксидантных свойств изучаемых фитоэкстрактов на данной модели была исследована активность антиоксидантных ферментов. Полученные результаты показали отсутствие существенного влияния СЭЦТ, СЭКТ и ИММ на активность каталазы и СОД, по сравнению с параметрами интактной группы мышей (табл. 4).

Таблица 4

Влияние фитоэкстрактов клевера и цикория на активность каталазы и супероксиддисмутазы у мышей при метотрексат-индуцированной иммуносупрессии
[Effect of clover and chicory phytoextracts on catalase and superoxide dismutase activity in mice with methotrexate-induced immunosuppression]

№ группы	Группа	n	Каталаза, мкат/л	Супероксиддисмутаза, усл ед/г Нб
1	ИНТ	6	0.14 [0.11; 0.18]	55 [49; 62]
2	ИММ	6	0.18 [0.09; 0.30]	55 [40; 69]
3	СЭЦТ	6	0.20 [0.18; 0.22]	57 [37; 59]
4	СЭКТ	6	0.13 [0.07; 0.27]	49 [45; 58]
5	МТХ	6	0.04* [0.03; 0.05]	26* [25; 30]
6	МТХ+ИММ	6	0.19^ [0.13; 0.20]	48 [35; 54]
7	МТХ+СЭЦТ	6	0.19^ [0.07; 0.20]	56^ [44; 59]
8	МТХ+СЭКТ	6	0.18^ [0.16; 0.20]	55^ [46; 64]

В то же время выявлено достоверное снижение активности данных ферментов у мышей при введении МТХ. При совместном введении экспериментальным животным СЭЦТ, СЭКТ и ИММ на фоне влияния МТХ отмечалось значимое повышение уровня каталазы и СОД по сравнению с параметрами животных, получавших только МТХ, что говорит о способности фитоэкстрактов снижать негативное действие иммуносупрессора.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования влияния СЭЦТ и СЭКТ на клеточный и гуморальный иммунитет, а также их антиоксидантных свойств было установлено, что данные фитосубстанции в условиях иммуносупрессии, индуцированной МТХ, способствуют восстановлению таких параметров, как индекс реакции ГЗТ, титр антител и количество АОК, фагоцитарный индекс и фагоцитарный показатель до значений, сопоставимых с уровнем интактной группы животных, а также повышают активность антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы и снижают концентрации продуктов перекисного окисления липидов (ТБКАП и ДК). Установленное уменьшение развития интенсивности реак-

ции ГЗТ при воздействии МТХ, может быть обусловлено тем, что формирование ГЗТ это тимусзависимый процесс и при влиянии цитостатика происходит уменьшение регуляторного влияния тимуса [Михайлова, 2014]. Как было показано нами ранее в условиях влияния МТХ имела место гипоплазия вилочковой железы, выражающаяся в снижении массы тимуса и количества тимоцитов [Михайлова и др., 2023]. Изменение гуморального иммунного ответа (уменьшение числа АОК в селезенке и титра антител), установленное у мышей, получавших МТХ, в ответ на Т-зависимый антиген, может быть связано с недостаточностью со стороны Т-хелперов, что в условиях Т-клеточного дефицита представляется весьма вероятным [Михайлова и др., 2024]. Иммуотропные эффекты изучаемых экстрактов клевера и цикория могут быть обусловлены тем, что фитопрепараты способны оказывать непосредственное воздействие на биомембраны клеток, влиять на их структурное состояние, повышать стабильность клеточных мембран, изменять их селективную проницаемость в отношении многих субстанций, оказывать влияние на активность клеточных ферментов [Зиновьев, 2003].

Эффективность действия СЭЦТ и СЭКТ может быть обусловлена совокупным влиянием БАВ, среди которых, вероятнее всего, ведущая роль принадлежит фенольным соединениям, механизм действия которых связан с выраженной антиоксидантной активностью. Многочисленные исследования, проведенные в основном *in vitro*, показывают, что фенольные соединения, в том числе флавоноиды, могут быть отнесены к неферментным антиоксидантам, способным прямо или косвенно ослаблять, или предупреждать клеточные повреждения, вызываемые свободными радикалами [Murphy, 2011]. При этом большое значение в механизме антиоксидантного действия флавоноидов имеет хелатирование металлов переменной валентности. Флавоноиды легко связывают ионы таких переходных металлов, как железо и медь, которые, инициируя перекисное окисление, способствуют образованию свободных радикалов. По мнению многих исследователей, хелатирование металлов является наиболее эффективным путем подавления процессов перекисного окисления флавоноидами [Шур, Шур, Самотруева, 2019]. Индуцируемый ионами переменной валентности оксидативный стресс ведет к массивному повреждению белков, липидов и особенно ядер клеток, где молекулы ДНК координатно связаны с различными переходными металлами [Halliwell, Gutteridge, 2015, Нотова, Маршинская, 2023]. Исходя из вышеизложенного, связывание переходных металлов, главным образом железа и меди, катализирующих образование свободных радикалов и за счет этого инициирующих оксидативный стресс, представляет собой важную антиоксидантную стратегию [Космачевская, 2024, Быкова, 2015].

Таким образом, особенностью антиоксидантного действия флавоноидов является их комплексный характер, не ограничивающийся повышением уровня антиоксидантных механизмов или нейтрализацией возникающих в результате свободнорадикального окисления токсичных соединений. Это действие осуществляется на разных уровнях, с включением разных структур, в том числе не связанных с прямым антиоксидантным действием.

Анализ полученных экспериментальных результатов позволяет сделать вывод о том, что СЭЦТ и СЭКТ могут быть использованы для дальнейшего изучения в качестве потенциальных лекарственных средств, обладающих иммуномодулирующими ресурсами. Установленные эффекты дают основания рассматривать данные фитосубстанции в качестве перспективных средств растительного происхождения, способных оказывать корректирующее влияние на функциональное состояние иммунной системы, что, в свою очередь, открывает возможности для их применения не только в составе комплексной терапии, направленной на восстановление иммунологической реактивности организма, но и в профилактических целях при различных формах иммунодефицитных состояний.

Список источников

1. Быкова А.А. Прогностическое значение динамики показателей оксидативного стресса у пациентов с острым коронарным синдромом: дис. ... канд. мед. наук. М., 2015. 124 с. URL: <https://www.dissercat.com/content/prognosticheskoe-znachenie-dinamiki-pokazatelei-oksidativnogo-stressa-u-patsientov-s-ostryim-> (дата обращения: 28.08.2025).
2. Волчегорский И.А. и др. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск: Изд-во ЧГПУ, 2000. 167 с. EDN: MLPRZJ.
3. Горина Е.И. Воздействие бигуанидиновых производных на антиоксидантный статус крыс при гипергликемии, индуцированной стрептозоцином и протамин-сульфатом: дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, 2019. 177 с. URL: <https://www.dissercat.com/content/vozdeistvie-biguanidinovykh-proizvodnykh-na-antioksidantnyi-status-krys-pri-giperqlikemii> (дата обращения: 28.08.2025).
4. Железнова А.Д. Экспериментальное обоснование применения милиацина для коррекции иммуносупрессии, индуцированной метотрексатом: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Пермь, 2010. 22 с. URL: <https://search.rsl.ru/ru/record/01004611099> (дата обращения: 28.08.2025).
5. Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты // Бюллетень медицинской науки. 2017. № 1(5). С. 20–27. DOI: 10.31684/2541-8475.2017.1(5).20-27. EDN: ZQJAIL.

6. Зиновьев А.И. Роль адаптогенов в коррекции иммунной системы и критерии оценки их качества // Практическая фитотерапия. 2003. № 1. С. 13–17.
7. Кароматов И.Д., Абдулхаков И.У. Клевер луговой применение в медицине (обзор литературы) // Биология и интегративная медицина. 2016. № 5. С. 95–100. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/klever-lugovoy-primenenie-v-medsine-obzor-literatury> (дата обращения: 30.01.2024). EDN: XGVEYB.
8. Королюк М.А. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19. EDN: ZTCAGW.
9. Космачевская О.В. и др. Образование дополнительных металлсвязывающих центров в белках в стрессовых условиях // Успехи биологической химии. 2024. Т. 64. С. 349–396. URL: https://www.fbras.ru/wp-content/uploads/2024/02/10-Kosmachevskaya_et_al.pdf (дата обращения: 28.09.2025).
10. Лущак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма // Биохимия. 2007. Т. 72, вып. 8. С. 995–1017. URL: <https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/2007/72-08-0995/> (дата обращения: 24.08.2025). EDN: IBPPSR.
11. Масная Н.В. и др. Влияние полифенольных соединений, выделенных из *Carthamus tinctorius* и *Calendula officinalis* L., на функциональную активность иммунокомпетентных клеток в условиях цито-статической иммуносупрессии // Бюллетень сибирской медицины. 2013. Т. 12, № 3. С. 41–51. EDN: QZDKQT.
12. Михайлова И.В. Иммунологические аспекты комбинированного воздействия бихромата калия и бензола на организм (экспериментальное исследование): дис. ... д-ра биол. наук. Челябинск, 2014. 192 с.
13. Михайлова И.В. и др. Оценка иммунорегуляторных свойств сухого экстракта травы *Cichorium intybus* L. в системах *in vitro* и *in vivo* // Цитокины и воспаление. 2023. Т. 20, № 1. С. 25–31. DOI: 10.17816/CI2023231-4. EDN: HXJSZM. URL: <https://cijournal.ru/1684-7849/article/view/623749> (дата обращения: 28.08.2025).
14. Михайлова И.В. и др. Оценка иммуномодулирующего действия сухого экстракта травы *Trifolium pratense* L. // Вестник Биомедицина и Социология. 2024. Т. 9, № 2. С. 44–51. DOI: 10.26787/nydha-2618-8783-2024-9-2-44-51. EDN: ONVPRG.
15. Новиков О.О. и др. Изучение флавоноидного состава цветков клевера лугового // Научные ведомости. Сер. Естественные науки. 2010. № 21(92). С. 113–117. EDN: NDAVHP.
16. Нотова С.В., Маршинская О.В., Казакова Т.В. Роль микроэлементов в антиоксидантной системе защиты организма // Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106, № 1. С. 156–166. DOI: 10.33284/2658-3135-106-1-156. EDN: UQJMBN.
17. Патент № 2828665 Российская Федерация, МПК А61К 36/48 А61Р 37/02 А61Р 39/06 В01Д 11/02. Способ получения средства, обладающего антиоксидантной и иммуномодулирующей активностью, на основе травы *Trifolium pratense* L.: №2023131553 : заявл. 28.11.2023 : опубл. 15.10.2024 / Михайлова И.В., Иванова Е.В., Синеговец А.А., Смолягин А.И., Кузьмичева Н.А.; заявитель ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Минздрава РФ. 9 с.: ил. EDN: WXOJFJ.
18. Патент № 2803502 Российская Федерация, МПК А61К 36/28, А61Р 37/02, А61Р 39/06, В01Д 11/02. Способ получения средства, обладающего антиоксидантной и иммуномодулирующей активностью. №2022131332; заявл. 29.11.2022 : опубл. 14.09.2023 / Михайлова И.В., Иванова Е.В., Смолягин А.И., Бондаренко А.А., Синеговец А.А., Кузьмичева Н.А., Филиппова Ю.В., Воронкова И.П., Винокурова Н.В.; заявитель ФГБОУ ВО «ОрГМУ» Минздрава РФ. 10 с.: ил. EDN: JUCAXW.
19. Сайбель О.Л. и др. Изучение динамики накопления фенольных соединений в траве цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) // Медицинский вестник Башкортостана. 2016. Т. 11, № 5 (65). С. 80–83. EDN: XDZDQT.
20. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы медицинской химии. 1999. Т. 45, № 3. С. 263–272. EDN: SYRLBX.
21. Шур Ю.В., Шур В.Ю., Савотруева М.А. Некоторые механизмы иммунотропного и адаптогенного действия фитопрепаратов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019. Т. 17, № 4. С. 19–29. DOI: 10.7816/RCF17419-29.
22. Free Radicals in Biology and Medicine / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, eds. 5-th ed. Oxford; New York: Oxford University Press, 2015. 951 p.
23. Jerne N.K., Nordin A.A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells // Science. 1963. Vol. 140, № 3565. P. 405. DOI: 10.1126/science.140.3565.405.
24. Murphy M.P. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species // Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2011. Vol. 13. P. 1–12. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4445605/> (дата обращения: 28.08.2025).

References

1. Bykova A.A. *Prognostičeskoe značenie dinamiki pokazatelej oksidativnogo stressa u pacientov s ostrym koronarnym sindromom*. Diss. kand. med. nauk [Prognostic value of oxidative stress dynamics in patients with acute coronary syndrome. Cand. Diss.]. Moscow, 2015. 124 p. (In Russ.). Available at: <https://www.dissercat.com/content/prognosticheskoe-znachenie-dinamiki-pokazatelei-oksidativnogo-stressa-u-patsientov-s-ostrym-> (accessed 28.08.2025).
2. Volchegorskiy I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Tseylikman V.E. *Eksperimental'noe modelirovanie i laboratornaya ocenka adaptivnykh reaktsiy organizma* [Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions of the organism]. Chelyabinsk, ChGPU Publ., 2000. 167 p. (In Russ.). EDN: MLPRZJ.
3. Gorina E.I. *Vozdejstvie biguanidinovykh proizvodnykh na antioksidantnyy status krysa pri giperglikemii, inducirovannoy streptozotocinom i protamin-sulfatom*. Diss. kand. med. nauk [Effect of biguanidine derivatives on the antioxidant status of rats with streptozotocin- and protamine sulfate-induced hyperglycemia. Cand. Diss.]. Voronezh, 2019. 177 p. (In Russ.). Available at: <https://www.dissercat.com/content/vozdetsvie-biguanidinovykh-proizvodnykh-na-antioksidantnyi-status-krysa-pri-giperglikemii> (дата обращения: 28.08.2025).
4. Zheleznova A.D. *Eksperimental'noe obosnovanie primeneniya miliatsina dlja korrektsii immunosupressii, induzirovannoy metotreksatom*. Avtoref. diss. kand. med. nauk [Experimental substantiation of the use of milia-cin for the correction of methotrexate-induced immunosuppression. Abstract Cand. Diss.]. Perm, 2010. 22 p. (In Russ.). Available at: <https://search.rsl.ru/ru/record/01004611099> (дата обращения: 28.08.2025).
5. Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M. [Flavonoids as promising natural antioxidants]. *Bulleten' medicinskoj nauki*, No. 1(5) (2017): pp. 20-27. (In Russ.). DOI: 10.31684/2541-8475.2017.1(5).20-27. EDN: ZQJAIL.
6. Zinov'ev A.I. [The role of adaptogens in immune system correction and criteria for evaluating their quality]. *Praktičeskaja fitoterapija*, No. 1 (2003): pp. 13-17. (In Russ.).
7. Karomatov I.D., Abdulkhaqov I.U. [Red clover use in medicine (literature review)]. *Biologija i integrativnaja medicina*, No. 5 (2016): pp. 95-100. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/klever-lugovoy-primenenie-v-meditsine-obzor-literatury> (accessed 30.01.2024). (In Russ.). EDN: XGVEYB.
8. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. [Method for determination of catalase activity]. *Laboratornoe delo*, No. 1 (1988): pp. 16-19. (In Russ.). EDN: ZTCAGW.
9. Kosmachevskaya O.V. et al. [Formation of additional metal-binding centers in proteins under stressful conditions]. *Uspechi biologičeskoj chimii*. V. 64 (2024): pp. 349-396. Available at: https://www.fbras.ru/wp-content/uploads/2024/02/10-Kosmachevskaya_et_al.pdf (accessed 28.09.2025). (In Russ.).
10. Lushchak V.I. [Free radical oxidation of proteins and its relationship to the functional state of the organism]. *Biokhimiya*, V. 72, iss. 8 (2007): pp. 995-1017. Available at: <https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/2007/72-08-0995/> (accessed 24.08.2025). (In Russ.). EDN: IBPPSR.
11. Masnaya N.V., Isaykina N.V., Sherstoboev E.Yu., Kalinkina G.I. [Effect of polyphenolic compounds isolated from *Carthamus tinctorius* and *Calendula officinalis* L. on the functional activity of immunocompetent cells under cytostatic immunosuppression]. *Bulleten' sibirskoj mediciny*, V. 12, No. 3 (2013): pp. 41-51. (In Russ.). EDN: QZDKQT.
12. Mikhaylova I.V. *Immunologičeskie aspekty kombinirovannogo vozdejstviya bichromata kalija i benzola na organizm (eksperimental'noe issledovanie)*. Diss. d-ra. biol. nauk [Immunological aspects of combined exposure to potassium dichromate and benzene on the organism (experimental study). Dis. dokt. biol. nauk]. Chelyabinsk, 2014. 192 p. (In Russ.).
13. Mikhaylova I.V., Ivanova E.V., Smolyagin A.I., Bondarenko A.I., Sinegovets A.A., Bondarenko T.A., Bekpergenova A.V. [Evaluation of immunoregulatory properties of dry extract of *Cichorium intybus* L. herb in vitro and in vivo systems]. *Citokiny i vospalenie*. V. 20, No. 1 (2023): pp. 25-31. (In Russ.). DOI: 10.17816/CI2023231-4. EDN: HXJSZM. Available at: <https://cijournal.ru/1684-7849/article/view/623749> (accessed 28.08.2025).
14. Mikhaylova I.V., Sinegovets A.A., Smolyagin A.I., Kuzmicheva N.A., Pavlenko M.A. [Evaluation of immunomodulatory effect of dry extract of *Trifolium pratense* L. herb]. *Vestnik Biomedicina i Sociologija*. V. 9, No. 2 (2024): pp. 44-51. (In Russ.). DOI: 10.26787/nydha-2618-8783-2024-9-2-44-51. EDN: ONVPRG.
15. Novikov O.O., Pisarev D.I., Sorokopudov V.N. et al. [Study of flavonoid composition of *Trifolium pratense* flowers]. *Naučnye vedomosti. Serija Estestvennye nauki*. No. 21(98) (2010): pp. 113-117. (In Russ.). EDN: NDAVHP.
16. Notova S.V., Marshinskaya O.V., Kazakova T.V. [Role of microelements in the antioxidant defense system]. *Životnovodstvo i kormoprodukcija*, V. 106, No.1 (2023): 156-166. (In Russ.). DOI: 10.33284/2658-3135-106-1-156. EDN: UQJMBH.
17. Patent RU № 2828665. *Sposob polučeniya sredstva, obladajuščego antioksidantnoj i immunomodulirujuščej aktivnost'ju, na osnove travy Trifolium pratense L.* [Method for obtaining a remedy with antioxidant and immunomodulatory activity based on *Trifolium pratense* L. herb]. No. 2023131553; appl. 28.11.2023; publ.

15.10.2024 / Mikhaylova I.V., Ivanova E.V., Sinegovets A.A., Smolyagin A.I., Kuzmicheva N.A.; applicant FSBEI HE "OrSMU" Ministry of Health of the Russian Federation. 9 p.: ill. (In Russ.).

18. Patent RU № 2803502. *Sposob polucheniya sredstva, obladayushchego antioksidantnoy i immunomoduliruyushchej aktivnost'yu* [Method for obtaining a remedy with antioxidant and immunomodulatory activity]. No. 2022131332; appl. 29.11.2022; publ. 14.09.2023 / Mikhaylova I.V., Ivanova E.V., Smolyagin A.I., Bondarenko A.A., Sinegovets A.A., Kuzmicheva N.A., Filippova Yu.V., Voronkova I.P., Vinokurova N.V.; applicant FSBEI HE "OrSMU" Ministry of Health of the Russian Federation. 10 p.: ill. (In Russ.).

19. Saybel' O.L., Dargaeva T.D., Fadeev N.B., Dul V.N. [Study of accumulation dynamics of phenolic compounds in the herb of *Cichorium intybus* L.]. *Medicinskij vestnik Baškortostana*, V. 11, No. 5(65) (2016): pp. 80–83. (In Russ.). EDN: XDZDQT.

20. Sirota T.V. [A new approach in studying adrenaline autooxidation and its use for measuring superoxide dismutase activity]. *Voprosy medicinskoj chimii*. V. 45, No. 3 (1999): pp. 263–272. (In Russ.). EDN: SYRLBX.

21. Shur Yu.V., Shur V.Yu., Samotrujeva M.A. [Some mechanisms of immunotropic and adaptogenic effects of phytopreparations]. *Obzory po kliničeskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii*. V. 17, No. 4 (2019): pp. 19–29. (In Russ.). DOI: 10.7816/RCF17419-29.

22. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (Eds.) *Free Radicals in Biology and Medicine*. 5th ed. Oxford, New York, Oxford University Press, 2015. 951 p.

23. Jerne N.K., Nordin A.A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. *Science*. V. 140, No. 3565 (1963): p. 405. DOI: 10.1126/science.140.3565.405.

24. Murphy M.P. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. V. 13 (2011): pp. 1–12. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4445605/> (accessed 28.08.2025).

Статья поступила в редакцию 02.09.2025; одобрена после рецензирования 12.09.2025; принята к публикации 18.09.2025.

The article was submitted 02.09.2025; approved after reviewing 12.09.2025; accepted for publication 18.09.2025.

Информация об авторах

Ангелина Анатольевна Синеговец – a.a.sinegovets@yandex.ru, ассистент кафедры фармацевтической химии;

Ирина Валерьевна Михайлова – michaylova74@yandex.ru, д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой фармацевтической химии;

Александр Иванович Смолягин – a.i.smolyagin@mail.ru, д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры клинической лабораторной и функциональной диагностики;

Юлия Владимировна Филиппова – yuliaf78@mail.ru, канд. мед. наук, доцент кафедры фармацевтической химии;

Наталья Александровна Кузьмичева – natalie-vip@list.ru, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии.

Information about the authors

Angelina A. Sinegovets – a.a.sinegovets@yandex.ru, Assistant of the Department of Pharmaceutical Chemistry;

Irina V. Mikhailova – michaylova74@yandex.ru, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry;

Alexandr I. Smolyagin – a.i.smolyagin@mail.ru, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Clinical Laboratory and Functional Diagnostics;

Yulia V. Filippova – yuliaf78@mail.ru, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry;

Natalia A. Kuzmicheva – natalie-vip@list.ru, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Chemistry.

Вклад авторов:

Синеговец А. А. – развитие методологии; получение и обработка результатов; написание исходного текста.

Михайлова И. В. – научное руководство; концепция исследования.

Смолягин А. И. – итоговые выводы.

Филиппова Ю. В. – доработка текста.

Кузьмичева Н. А. – статистическая обработка материала.

Contribution of the authors:

Sinegovets A. A. – development of methodology; obtaining and processing results; writing the original text.

Mikhailova I. V. – scientific supervision; research concept.

Smolyagin A. I. – final conclusions.

Filippova Yu. V. – text revision.

Kuzmicheva N. A. – statistical processing of the material.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.