

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco634190>

Перспективы использования растительного сырья клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) в фармацевтической практике

Е.Д. Кубасова¹, И.А. Крылов¹, Р.В. Кубасов¹, А.Е. Суханов¹, Д.В. Незговоров¹, А.П. Коробицын¹, В.С. Грошилин², А.В. Сафроненко², Т.Г. Дергоусова², С.М. Грошилин², С.Н. Линченко³

¹ Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия;

² Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия;

³ Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Перспективными направлениями в фармацевтической практике становятся создание и регистрация оригинальных лекарственных средств на основе растительного сырья. Клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) с давних времён использовался в народной медицине благодаря содержанию большого количества биологически активных веществ, обладающих лечебными свойствами. Он произрастает на больших площадях, экстракты просты в процедуре извлечения из растительного сырья и имеют определённую экономическую привлекательность. В этой связи соединения, извлечённые из клевера лугового, можно рассматривать в качестве потенциальных предшественников для разработки новых перспективных фармацевтических препаратов.

Цель. Оценить перспективы использования в фармацевтической практике биологически активных веществ, извлечённых из растительного сырья клевера лугового.

Материал и методы. Проанализированы научные публикации из базы данных биомедицинских исследований PubMed, использована методика систематического обзора. Глубина поиска — 50 лет. Первоначально по ключевым словам определены 1194 статьи, из которых выделена 41 публикация, максимально приближенная к тематике исследования.

Результаты. Клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) — широко распространённое многолетнее травянистое растение, относится к фармакопейной группе. Полученные из растительного сырья извлечения обладают широким спектром биологической активности. Наибольшую долю среди них составляют изофлавоны, флавоноиды, сапонины, кловамиды и фенольные кислоты. Изофлавоны обладают фитоэстрогенным эффектом, в этой связи они с успехом используются в лечении заболеваний репродуктивной системы. Кроме того, доказаны их противовоспалительные и репаративные свойства; они могут использоваться для профилактики и восстановления метаболических расстройств. Флавоноиды, сапонины, кловамиды и фенольные кислоты обладают антиоксидантным и антиагрегантным эффектами.

Заключение. Среди извлекаемых из клевера лугового биологически активных веществ наибольшее применение в фармакологической практике найдено для изофлавонов. В то же время существует ряд других потенциально эффективных соединений с известными лечебными свойствами. Требуется их дальнейшее изучение с целью создания новых оригинальных лекарственных средств.

Ключевые слова: клевер луговой; биологически активные вещества; фармацевтическое производство.

Как цитировать:

Кубасова Е.Д., Крылов И.А., Кубасов Р.В., Суханов А.Е., Незговоров Д.В., Коробицын А.П., Грошилин В.С., Сафроненко А.В., Дергоусова Т.Г., Грошилин С.М., Линченко С.Н. Перспективы использования растительного сырья клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) в фармацевтической практике // Экология человека. 2024. Т. 31, № 3. С. 179–190. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco634190>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco634190>

Pharmaceutical potential of red clover (*Trifolium pratense* L.)

Elena D. Kubasova¹, Iliya A. Krylov¹, Roman V. Kubasov¹, Anton E. Sukhanov¹,
Dmitry V. Nezgovorov¹, Alexey P. Korobitsyn¹, Vitaly S. Groshilin², Andrey V. Safronenko²,
Tatyana G. Dergousova², Sergey M. Groshilin², Sergey N. Linchenko³

¹ Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia;

² Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

³ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The development and approval of plant-derived branded drugs have emerged as promising areas in the pharmaceutical industry. Red clover (*Trifolium pratense* L.) has historically been used in folk medicine as a source of biologically active substances with medicinal properties. Red clover is a widely abundant and easily extractable plant, offering a high cost-efficiency. Therefore, red clover extracts may reasonably be proposed as a potential source for the development of new promising pharmaceuticals.

AIM: To evaluate the pharmaceutical potential of biologically active extracts of red clover.

MATERIAL AND METHODS: The study involved a systematic review of scientific literature sourced from the PubMed biomedical database. A review of the literature was conducted over a 50-year period. The preliminary keyword-based search yielded 1,194 articles. Of these, 41 publications were selected for further analysis, as they were deemed to be the most relevant to the subject matter of the study.

RESULTS: Red clover (*Trifolium pratense* L.) is a widespread, perennial officinal herb. Herbal extracts have been demonstrated to have a wide range of biological activities. The majority of these compounds are isoflavones, flavonoids, saponins, clovamides, and phenolic acids. Isoflavones are phytoestrogens that have demonstrated efficacy in the treatment of female reproductive system diseases. Moreover, scientific studies have evidenced their anti-inflammatory and reparative potential, along with efficacy in the prevention and treatment of metabolic disorders. Flavonoids, saponins, clovamides, and phenolic acids have been documented to produce antioxidant and antiplatelet effects.

CONCLUSION: Among biologically active extracts of red clover, isoflavones have been identified as the most promising for pharmacological applications. Furthermore, there are other compounds with a well-documented therapeutic potential that require further investigation to develop novel branded drugs.

Keywords: red clover; biologically active substances; drug manufacturing.

To cite this article:

Kubasova ED, Krylov IA, Kubasov RV, Sukhanov AE, Nezgovorov DV, Korobitsyn AP, Groshilin VS, Safronenko AV, Dergousova TG, Groshilin SM, Linchenko SN. Pharmaceutical potential of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Ekologiya cheloveka* (Human Ecology). 2024;31(3):179–190.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco634190>

Received: 10.12.2023

Accepted: 20.09.2024

Published online: 27.09.2024

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco634190>

草木资源红三叶草 (*Trifolium pratense* L.) 在药学实践中的应用前景

Elena D. Kubasova¹, Iliya A. Krylov¹, Roman V. Kubasov¹, Anton E. Sukhanov¹,
Dmitry V. Nezgovorov¹, Alexey P. Korobitsyn¹, Vitaly S. Groshilin²,
Andrey V. Safronenko², Tatyana G. Dergousova², Sergey M. Groshilin², Sergey N. Linchenko³

¹ Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia;

² Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

³ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

摘要

背景。在药学实践中，基于植物资源开发和注册原创药物成为前景广阔的发展方向。红三叶草 (*Trifolium pratense* L.) 自古以来因其含有大量具有治疗作用的生物活性物质而被广泛应用于民间医学。该植物分布广泛，提取过程简便，具有一定的经济吸引力。因此，从红三叶草中提取的化合物可作为开发新型药物的潜在前体。

研究目的。评估从红三叶草植物资源中提取的生物活性物质在药学实践中的应用前景。

材料和方法。分析了来自 PubMed 生物医学研究数据库的科学文献，采用系统综述方法，搜索范围为过去 50 年。根据关键词初步筛选出 1194 篇文章，其中 41 篇与研究主题高度相关的文献被选中。

结果。红三叶草 (*Trifolium pratense* L.) 是一种广泛分布的多年生草本植物，属于药典类植物。其植物资源提取物具有广泛的生物活性，主要成分包括异黄酮、黄酮类化合物、皂苷、三叶草酰胺和酚酸。异黄酮具有植物雌激素效应，因而在治疗生殖系统疾病中被广泛应用。此外，其抗炎和修复特性已被证实，可用于预防和恢复代谢紊乱。黄酮类、皂苷、三叶草酰胺和酚酸具有抗氧化和抗聚集作用。

结论。在红三叶草中提取的生物活性物质中，异黄酮在药学实践中的应用最为广泛。同时，红三叶草中还含有许多具有已知治疗功效的潜在活性化合物，需进一步研究以开发新型原创药物。

关键词：红三叶草；生物活性物质；药物生产。

引用本文：

Kubasova ED, Krylov IA, Kubasov RV, Sukhanov AE, Nezgovorov DV, Korobitsyn AP, Groshilin VS, Safronenko AV, Dergousova TG, Groshilin SM, Linchenko SN. 草木资源红三叶草 (*Trifolium pratense* L.) 在药学实践中的应用前景. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2024;31(3):179–190.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco634190>

收到: 10.12.2023

接受: 20.09.2024

发布日期: 27.09.2024

ОБОСНОВАНИЕ

Применение лекарственных растений сопровождало историю развития человечества с самого начала. Длительное время лекарственные травы использовали в чистом виде. Со временем разрабатывали способы обнаружения и выделения биологически активных соединений, которые позволили более эффективно применять лекарственные растения для лечения различных заболеваний [1, 2].

В настоящее время извлечение активных веществ, обладающих терапевтическими свойствами, из сырья лекарственных растений и последующее производство лекарственных препаратов является перспективным направлением в фармации и фармакологии. В ряде случаев эта технология может являться даже более предпочтительной по сравнению с производством полусинтетических и синтетических лекарственных средств. Это связано с появлением и дальнейшим усилением резистентности многих заболеваний к имеющемуся лекарственному арсеналу. Кроме того, производство лекарственных препаратов из натурального сырья в некоторых случаях имеет экономическую выгоду [3, 4].

Согласно прогнозам международных экспертов, потребность в натуральных лекарственных средствах постоянно увеличивается. На сегодняшний день в мире насчитывается около 21 тыс. видов лекарственных растений, из которых не менее половины активно изучаются на предмет фармакологических свойств с перспективой дальнейшего использования в фармацевтической промышленности [5, 6]. К числу этих растений относится клевер луговой.

Цель исследования. Систематический обзор перспектив использования в фармацевтической практике биологически активных веществ, извлечённых из растительного сырья клевера лугового.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведён систематический обзорный анализ литературы по ScR-методологии (scoping review). Для описания стратегии поиска использовали рекомендации для систематических обзоров и метаанализов Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA). Использовали базы данных PubMed и eLibrary; поиск производили по ключевым словам «meadow clover», «*Trifolium Pratense* L.» («клевер луговой»), «biologically active substances» («биологически активные вещества»), «pharmaceutical production» («фармацевтическое производство»).

Критерии включения в обзор: соответствие дизайну научных исследований (экспериментальные, фундаментальные), проведённых *in vivo* или *in vitro*; нарративные, систематические обзоры и подробные аннотации статей с наличием результатов исследования. В обзор не включали публикации, не индексируемые в профильных

реферативных базах данных. Отсутствие описанных результатов в свободном доступе являлось критерием исключения публикации из анализа на этапе скрининга, поскольку это не позволяло дать корректную интерпретацию данных, что можно отнести к одному из ограничений нашего обзора. Во всех найденных исследованиях изучили библиографию с целью выявления дополнительных, не обнаруженных ранее публикаций. Глубина поиска составила 50 лет. Дата последнего поискового запроса — июнь 2024 г. Всего идентифицировано 1194 статьи, отвечающих поисковому запросу. После скрининга в соответствии с критериями включения и исключения для анализа отобрали 41 публикацию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клевера, растения рода *Trifolium*, издавна использовались в традиционной медицине. Некоторые виды клеверов употреблялись в качестве отхаркивающих, антисептических средств. Имеются упоминания о применении этого растения для анальгезии при лечении ревматических болей [7]. В последние годы наблюдается огромный интерес к клеверам как к ценному источнику биоактивных соединений, используемых для разработки нутрицевтиков, диетических добавок и растительных лекарственных средств. Наиболее известный из видов *Trifolium* — красный клевер. Он применяется в народной медицине при заболеваниях нервной и репродуктивной систем, заболеваниях лёгких, таких как пневмония и туберкулёз. Цветки растения используются наружно как ранозаживляющее средство [8].

Клевер луговой, или красный клевер (*Trifolium pratense* L.) — многолетнее травянистое растение рода *Trifolium* семейства бобовых (*Fabaceae*). Он относится к группе фармакопейных растений, содержит широкий спектр биологически активных веществ. Несмотря на это, биологическая активность его фитокомпонентов изучена недостаточно.

Клевер луговой содержит комплекс таких биологически активных компонентов, как изофлавоны, флавоноиды, сапонины, кловамиды, фенольные кислоты, цианогенные глюкозиды (лотауралин) и глюкозид малонаты [9]. Основную долю среди изофлавонов, содержащихся в растении, составляют биоханин А и формонетин [10]. Кроме того, клевер красный содержит гликозиды генинов. Эти соединения, гидролизуясь, метаболизируются в организме до дайдзеина и генистеина. К настоящему времени установлена химическая структура этих соединений [11].

В листьях клевера лугового преимущественно обнаруживаются соединения изофлавонов: дайдзеин, генистеин, пратенсен, прунетин, псевдобаптигенин, каликозин, метилоробол, афрормозин, тексазин, ирилин В и ирилон. Помимо них, в больших количествах присутствуют флавоноиды: кверцетин, кемпферол, лютеолин, апигенин. Одновременно указанный вид клевера содержит фенольные

кислоты: кофейную, розмариновую и хлорогеновую [11]. Имеются сведения, что многие виды *Trifolium*, в том числе и клевер луговой, являются альтернативным источником питательных веществ с достаточным уровнем липидов (до 8,6%), белков (до 45,4%) и углеводов (до 47,0%). В то же время в клевере луговом выявлены высокое содержание биоэлементов (кальция, железа и селена) и низкий уровень токсичных металлов — мышьяка, кадмия и свинца [12]. В настоях и отварах, помимо биоханина А и формононетина, обнаружены изофлавоновые глюкозиды — ононин и сиссотрин [13].

Благодаря наличию комплекса биоактивных компонентов в растительном сырье клевера лугового растение может быть использовано в качестве нативной субстанции при получении биологически активной добавки в дополнение к терапии лекарственными средствами.

Содержание фитоэстрогенных веществ изофлавонов в клевере позволяет рассматривать его сырье как перспективное для разработки препаратов с возможностью применения в дополнительных или альтернативных методах заместительной гормональной терапии при гинекологических расстройствах (в период менопаузы, предменструального синдрома, при синдроме поликистозных яичников), а также при нарушении репродуктивной функции у мужчин.

Эстрогенный эффект клевера лугового связан с наличием в растительном сырье изофлавонов (дайдзеина, дигидроформононетина, дигидрогенистеина и дигидродайдзеина), которые образуют прочную связь с рецепторами эстрогена. Фитоэстрогены имеют похожую структуру эндогенного 17β -эстрогена и связываются с теми же эстрогеновыми рецепторами — ER α и ER β . Именно поэтому растение с успехом используется при симптомах в постменопаузальном периоде (приливы), сердечно-сосудистых заболеваний, рака груди и остеопороза [14]. Доказана эффективность воздействия веществ, содержащихся в красном клевере, на эстрогенный статус при приеме препарата в течение 90 дней в суточной дозе 80 мг. При приеме в меньшей дневной дозе (40 мг) значимых эффектов не наблюдали. Таким образом, принимаемая доза должна соответствовать объёму не менее 80 мг/день. Наибольший эффект был достигнут при лечении приливов у женщин в период менопаузы [15]. Следует отметить, что лучший результат при применении препаратов из клевера лугового в уменьшении менопаузальных приливов получен при приеме в течение 3–4 мес. При этом полученные результаты могут сохраняться более полугода [16].

Имеются сведения, что биологически активные вещества, полученные из красного клевера, обладают антиоксидантными, противоопухолевыми свойствами, противовоспалительной активностью, снижают высокий уровень холестерина [9]. Соответственно, они могут применяться в качестве антидиабетического средства и средства против старения [17]. Растительные компоненты, извлечённые из клевера, в фармацевтической промышленности могут быть представлены в различных формах. Показано,

что водно-спиртовые экстракты клевера лугового обладают ранозаживляющей активностью. Это может быть связано с комбинированным эффектом изофлавонов (генистеина, формононетина, дайдзеина и биоханина А), присутствующих в экстракте растения [18]. В исследовании иранских учёных рассмотрено ранозаживляющее действие мягкой лекарственной формы — мази, содержащей водно-этанольный экстракт клевера лугового. В эксперименте на крысах Wistar на раны, полученные при иссечении кожи на всю толщину, наносили мази с содержанием экстрактов клевера лугового 1,5, 3,0 и 6,0%. Во всех экспериментальных группах, в сравнении с контрольной, наблюдали увеличение выработки коллагена, толщины эпидермиса, распределения фибробластов и коэффициента сокращения раны. Ускоренное заживление ран происходит за счёт повышения экспрессии регулятора апоптоза Bcl-2, снижения уровней маркеров p53 и Bax, способствуя образованию новых кровеносных сосудов и переходу к пролиферативной фазе заживления [19]. Экстракты клевера могут рассматриваться при разработке лекарственных форм для наружного применения при лечении дермальных патологий (угрей, экземы, псориаза и сыпи). Их эффективность обусловлена высоким содержанием антиоксидантных соединений, которые отвечают за устойчивость кожи, а также за замедление процесса старения путём поддержания уровня эстрогена [20].

Противоопухолевые эффекты фитоэстрогеновых соединений изофлавонов клевера лугового представляют интерес в разработке растительных препаратов для профилактики и в качестве дополнения к лечению онкологических заболеваний [21–23].

В исследовании *in vitro* экстракт клевера в дозировке 250 мкг, помещённый на хорион-аллантоисную мембрану оплодотворенных куриных яиц, показал значимое ингибирование ангиогенеза. Такое действие может быть оправданным при лечении злокачественных новообразований и для замедления процессов метастазирования вдоль стенок кровеносных сосудов с возможностью их переноса с током крови по всему организму. При этом наблюдали подавление экспрессии генов и уровней мРНК белков, таких как IL-8, матриксная металлопротеиназа 13, ингибин В А, фоллистатин и фибронектин. Полагают, что генистеин клевера повышает выработку эндогенных ингибиторов ангиогенеза (плазминогена-1, эндостатина, ангиостатина и тромбоспондина-1). Антиангиогенная активность неметилированных изофлавонов дайдзеина и генистеина несколько выше, чем у метилированных соединений формононетина и биоханина А. Такие результаты показывают, что экстракт клевера лугового может быть дополнительно предложен в качестве химиопрофилактического средства [11].

Изучение эффективности экстракта клевера лугового при лечении рака молочной железы показало положительные результаты: отмечали аутофагическую гибель раковых клеток и апоптоз. Жизнеспособность клеток

зависела от дозы и времени применения растительного экстракта. Сочетание тамоксифена, препарата для лечения раннего и прогрессирующего рака молочной железы, и растительного экстракта клевера лугового демонстрировало синергетическое цитотоксическое действие на клеточные линии рака молочной железы (MCF-7 и MDA-MB-231), что свидетельствует о возможности комплексного подхода при терапии онкологического заболевания молочной железы [24]. Наилучший антиопухолевый эффект достигался при применении ростков клевера лугового после молочно-кислой ферментации, в них содержалось большое количество формонетина и биоханина А и их гликозидов. Показано, что сродство указанных соединений к связыванию изоформы эстрадиола ER β подавляет пролиферацию и миграцию раковых клеток [23].

Проявление противоракового эффекта при использовании растительных компонентов клевера лугового также наблюдали при лечении глиобластомы, что в перспективе может рассматриваться в качестве альтернативного подхода в онкотерапии или как вспомогательное средство. В эксперименте обнаружены снижение пролиферации клеток глиобластомы C6, увеличение количества апоптотических клеток, а также значимые морфологические изменения в клетках с увеличением доз экстрактов клевера лугового [22].

Отмечают, что изофлавоны клевера лугового оказывают действие на липидный обмен веществ. Механизм действия изофлавонов клевера описывается структурным сходством с эндогенным 17- β -эстрадиолом при проявлении своих биологических эффектов посредством активации эстрогеновых рецепторов (ER) — с более высоким сродством к ER- β по сравнению с ER- α , который опосредует метаболизм холестерина. Экстракт красного клевера и изофлавоны генистеин и биоханин А могут регулировать липидный обмен без посредничества эстрогеновых рецепторов, а также увеличивать экспрессию альфа PPAR и активировать AMPK, что приводит к повышению активности генов, участвующих в метаболизме липопротеинов [25, 26]. В эксперименте на самках крыс Sprague Dawley через 3 недели после овариэктомии при пероральном введении в течение четырёх дней экстракта красного клевера в дневной дозе 450 мг/кг доказали многочисленные геномные и негеномные эффекты, которые влияют на метаболизм липидов, на широкий спектр клеточных функций, включая метаболические действия, регуляцию клеточного цикла и антиоксидантную активность. Так, при введении экстракта клевера наблюдали значительное снижение концентрации липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в крови с одновременным увеличением триглицеридов и неизменным уровнем общего холестерина и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП). Приём экстракта клевера повлиял на уровни транскрипции многих новых эстроген-, неэстрогенчувствительных генов. Анализ обратной транскрипции с ПЦР в реальном времени

подтвердил, что экстракт красного клевера регулирует гены, участвующие в метаболизме липидов и механизмах антиоксидантной защиты. Протеомное изучение также подтвердило потенциал экстракта красного клевера для модуляции метаболизма липидов [27].

Антидиабетический эффект растительных экстрактов клевера лугового также заслужил внимание исследователей. Так, в эксперименте на животных показано, что водный экстракт из цветков клевера лугового оказал влияние на резистентность к инсулину и экспрессию сиртуина 1 (*SIRT1*) у крыс с диабетом 2-го типа, вызванного приёмом пищи с высоким содержанием жиров и низкой дозой стрептозотоцина. Введение экстракта в рацион животных показало снижение гипергликемии и улучшение чувствительности к инсулину, а также снижение образования гликированного гемоглобина и улучшение уровня гликогена в печени. Гистопатологическое исследование выявило защитный эффект экстракта в ткани поджелудочной железы от повреждений, вызванных гипергликемией. Лечение увеличило экспрессию *SIRT1* в ткани поджелудочной железы [28]. В работе китайских учёных также показан потенциал использования водного экстракта клевера лугового, содержащего полисахариды, в качестве гипогликемического агента. Методом горячей экстракции в течение 95 мин выделены полисахариды, в составе которых находились моносахариды глюкоза, галактоза, арабиноза и галактуроновая кислота. Определена способность полисахаридов в концентрации 10 мг/мл ингибировать α -глюкозидазу [9].

В последние годы возрастает научный интерес к изучению нарушений репродуктивной функции у больных с сахарным диабетом, при этом отмечают, что среди мужчин такое осложнение является достаточно распространённым. Иранские исследователи провели изучение влияния растительных компонентов клевера лугового на уровень тестостерона, характеристики спермы и морфологии тканей тестикул. В эксперименте у самцов крыс Wistar смоделировали диабет путём внутривенной инъекции стрептозотоцина. Затем крысы получали экстракт клевера лугового. При этом наблюдали значительную подвижность, увеличение количества и жизнеспособность сперматозоидов и повышение уровня тестостерона по сравнению с контрольной группой. Кроме того, экстракт клевера лугового уменьшил разрушение ткани яичек, вызванное диабетом [24].

Противовоспалительный потенциал экстракта листьев клевера лугового подтверждён в эксперименте на модели воспаления, вызванного каррагинаном. Пероральное введение 40% этанольного экстракта клевера в дозах 50, 100 и 200 мг/кг массы тела животного подавляло отёк лапы, вызванный каррагинаном, дозозависимым образом. Потенциальное противовоспалительное действие доказано также в эксперименте *in vitro* на макрофагальных клетках RAW264.7 путём подавления активации путей NF- κ B и MAPK [29]. Авторы полагают, что уменьшение

воспаления и окислительного стресса связано с содержанием антоцианов в клевере луговом [30].

Известно, что фитоэстрогенные соединения клевера лугового (биоханин А, формонетин, генистеин) характеризуются мощными нейропротекторными свойствами при различных нейродегенеративных расстройствах [31]. Такие соединения, выделенные из растительного сырья клевера, могут быть рекомендованы в качестве диетических добавок для предупреждения рисков нейродегенеративных процессов в мозге и при проявлении признаков болезней Паркинсона и Альцгеймера. Так, экстракты, содержащие изофлавоны, демонстрировали активацию антиоксидантного ответа, опосредованного транскрипционным фактором Nrf2 в астроцитах через механизм, включающий ингибирование системы убиквитин-протеасома с одновременным снижением дефицита митохондриального дыхания [32].

В доклинических исследованиях выявлено, что изофлавоны, взаимодействуя с эстрогенными рецепторами, модулируют молекулярные сигнальные пути нервной системы [31]. Нейропротекторная эффективность изофлавонов гинестина, дайдзеина, биоханина А и формонетина клевера лугового изучена итальянскими исследователями, которые продемонстрировали жизнеспособность нейронов при воздействии перекиси водорода на клеточные культуры нейронов коры головного мозга человека HCN 1-А. Суточная предварительная обработка экстрактом изофлавонов в концентрациях 0,5, 1,0 и 2,0 мкг/мл значительно увеличила выживаемость клеток, что подтверждается колориметрическим тестом оценки метаболической активности клеток, и не допустила морфологического нарушения, вызванного окислительным стрессом. Такие результаты подразумевают, что нейропротекторный эффект экстракта изофлавонов клевера может быть частично связан с его антиоксидантной активностью. В то же время результаты исследований показали, что экстракт изофлавонов не способствует росту отростков корковых нейронов [33].

Антиоксидантная активность биоактивных веществ клевера лугового объясняется наличием высокого содержания летучих соединений (терпенов) в эфирном масле (β -мирцен, p -цимен, лимонен, тетрагидроионен) [14], а также содержанием фитоэстрогена (генистеина) в экстрактах из листьев растения [10] и изофлавона (формонетина) [34].

В исследовании на мышах с удалёнными яичниками, наряду с эстрогенным эффектом формонетина, показано его выраженное антиоксидантное действие, которое оценивали по увеличению содержания супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и снижению уровня малонового диальдегида [35]. В эксперименте на животных и на моделях *in vitro* обнаруживались и антиоксидантные свойства генистеина, которые определялись в основном в тонком кишечнике и коже. В то же время содержащиеся фенольные соединения в экстрактах клевера лугового также демонстрируют высокую антиоксидантную активность

при инфаркте миокарда, атеросклерозе, процессах старения и рака и могут предотвращать их, поскольку такие соединения действуют как поглотители промежуточных пероксильных и алкоксильных радикалов. Хелатирующие агенты в растительном сырье для ионов металлов имеют также большое значение при инициации радикальных реакций. Стоит отметить, что дополнительное гликозилирование соединений флавоноидов приводит к снижению антиоксидантного действия [10].

Оценено антиоксидантное действие фенольных соединений клевера лугового на тромбоциты крови и гемостаз *in vitro*. Суспензии тромбоцитов инкубировали с фенольной фракцией клевера лугового с последующим добавлением пероксинитрита для индукции окислительного стресса. В присутствии растительного экстракта клевера выявлено снижение пероксинитрит-опосредованных модификаций белков и перекисного окисления липидов в тромбоцитах, что свидетельствует о перспективе использования растительного компонента для защиты от повреждения тромбоцитов, вызванного окислительным стрессом [36]. Антиоксидантный и антиагрегантный эффект экстракта клевера может быть связан с наличием в нем кловамида. Измерения адгезии и агрегации тромбоцитов показали, что соединения обладают умеренными антиагрегантными свойствами (до 20% ингибирования адгезии тромбоцитов) при концентрациях 1–5 мкг/мл. При этом кловамид и экстракты клевера не проявляли цитотоксичности по отношению к тромбоцитам крови или мононуклеарам периферической крови [37].

Таким образом, основными биологически активными веществами в клевере луговом являются изофлавоноиды, встречающиеся в растениях как производные изофлавона и обладающие фитоэстрогенным действием. Наиболее значимые изофлавоны клевера лугового — формонетин и биоханин А, обладающие фармакологическими эффектами.

Биоактивный компонент формонетин обладает многочисленными фармакологическими свойствами. Кроме антиоксидантного эффекта, соединение характеризуется противовоспалительным, противомикробным, противоопухолевым, нейропротекторным, вазорелаксантным и кардиопротекторным действиями. Фармакологический потенциал формонетина в части противоопухолевой активности определён в отношении рака молочной железы, толстой кишки, глиомы, остеосаркомы, надпочечников, носоглотки, простаты, мочевого пузыря, лёгких, шейки матки и множественной миеломы. Это соединение выступает в качестве защитного компонента при прогрессировании рака путём индукции апоптоза, остановки клеточного цикла и остановки метастазирования посредством нацеливания на различные пути, которые, как правило, модулируются при нескольких видах рака. Определено, что он блокирует функции циклинзависимых киназ и других регуляторных белков клеточного цикла, тем самым вызывая остановку клеточного цикла в фазе G0 или G1.

Одновременно соединение обладает способностью ингибировать или блокировать рост раковых клеток через внутреннее или внешние пути апоптоза [34].

Изофлавоноид биоханин А, выделенный из листьев и стеблей клевера лугового, также может рассматриваться в качестве перспективного соединения для разработки лекарственных средств, так как имеет разнообразные биоактивные эффекты, обладая противоопухолевыми, химиопрофилактическими, противодиабетическими, антибактериальными, противовоспалительными, нейропротекторными, гепатопротекторными, остеопротекторными и кардиопротекторными свойствами [38]. При этом имеются некоторые ограничения для проведения клинических испытаний, а именно низкая биодоступность этого соединения при пероральном приёме из-за его малой растворимости, обширного метаболизма и быстрого выведения из организма, а также недостаточной оценки его безопасности [39]. При наружном применении биоханин А может выступать в качестве соединения-кандидата отбеливающего средства при лечении нарушений гиперпигментации кожи. Ингибирующее действие биоханина А на меланогенез подтверждено *in vitro* на культивируемых клетках меланомы и *in vivo* на мышах. Указанное соединение дозозависимо ингибировало меланогенез, клеточную активность тирозиназы в клетках В16. Нанесение крема, содержащего 2% биоханина А, 2 раза в день на кожу мышей также увеличивало значение индекса отбеливания кожи после применения в течение первой недели лечения, это увеличение наблюдали на протяжении ещё двух недель [40].

Биоактивный компонент клевера лугового ирилон может быть применён в качестве фитоэстрогена. Обнаружено, что он усиливает действие прогестерона в линиях клеток эндометрия и яичников и может обеспечить улучшение при таких заболеваниях, как фибромиома и эндометриоз [41].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведённого анализа научной литературы по вопросу возможного применения растительного сырья клевера лугового в фармацевтической практике можно отметить следующее: в подавляющем большинстве случаев публикации посвящены фармакологическому действию изофлавоноидов клевера как основного действующего соединения, обладающего широким спектром влияния на системы организма. Экстракты на основе

компонентов клевера лугового могут применяться в комплексной терапии сахарного диабета и его осложнений, онкологических заболеваний, симптомов менопаузы и гинекологических расстройств, а также при предупреждении нейродегенеративных расстройств, коррекции нарушений в липидном и углеводном обмене. В то же время заслуживают внимания другие потенциально эффективные соединения (флавоноиды, сапонины, кловамиды и фенольные кислоты). Отдельно стоит отметить терапевтический потенциал использования водно-этанольных экстрактов клевера лугового при разработке мягких лекарственных форм ранозаживляющего действия, в том числе в контексте множественных кожных патологий.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Е.Д. Кубасова — разработка идеи исследования, анализ данных, утверждение текста статьи; И.А. Крылов, Р.В. Кубасов, А.Е. Суханов, Д.В. Незговоров — научный анализ, интерпретация результатов, написание статьи; А.П. Коробицын, В.С. Грошилин, А.В. Сафроненко, Т.Г. Дергусова, С.М. Грошилин, С.Н. Линченко — сбор материалов для исследования, написание статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. E.D. Kubasova — design of the research idea, data analysis, approval of the text of the article; I.A. Krylov, R.V. Kubasov, A.E. Sukhanov, D.V. Nezgovorov — scientific analysis, interpretation of the results, writing the article; A.P. Korobitsyn, V.S. Groshilin, A.V. Safronenko, T.G. Dergusova, S.M. Groshilin, S.N. Linchenko — collection of materials for research, writing the article. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

Funding source. This study was not supported by external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Marrelli M. Medicinal plants // Plants (Basel). 2021. Vol. 10, N 7. P. 1355. doi: 10.3390/plants10071355
- Šantić Ž., Pravić N., Bevanda M., Galić K. The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine // Psychiatr Danub. 2017. Vol. 29, Suppl 4. P. 787–792.
- Les F., Cásedas G., López V. Bioactivity of medicinal plants and extracts // Biology (Basel). 2021. Vol. 10, N 7. P. 634. doi: 10.3390/biology10070634
- Silveira D., Boylan F. Medicinal plants: advances in phytochemistry and ethnobotany // Plants (Basel). 2023. Vol. 12, N 8. P. 1682. doi: 10.3390/plants12081682

5. Rogozea L. Medicinal plants usage in our days // *Am J Ther.* 2018. Vol. 25, N 4. P. e487–e488. doi: 10.1097/MJT.0000000000000795
6. van Galen E. Traditional herbal medicines worldwide, from reappraisal to assessment in Europe // *J Ethnopharmacol.* 2014. Vol. 158, Pt B. P. 498–502. doi: 10.1016/j.jep.2014.07.013
7. Sabudak T., Guler N. *Trifolium L.* — a review on its phytochemical and pharmacological profile // *Phytother Res.* 2009. Vol. 23, N 3. P. 439–446. doi: 10.1002/ptr.2709
8. Kolodziejczyk-Czepas J. *Trifolium* species-derived substances and extracts-biological activity and prospects for medicinal applications // *J Ethnopharmacol.* 2012. Vol. 143, N 1. P. 14–23. doi: 10.1016/j.jep.2012.06.048
9. Zhang H., Zhao J., Shang H., et al. Extraction, purification, hypoglycemic and antioxidant activities of red clover (*Trifolium pratense* L.) polysaccharides // *Int J Biol Macromol.* 2020. Vol. 148. P. 750–760. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.194
10. Kaurinovic B., Popovic M., Vlasisavljevic S., et al. Antioxidant profile of *Trifolium pratense* L // *Molecules.* 2012. Vol. 17, N 9. P. 11156–11172. doi: 10.3390/molecules170911156
11. Krenn L., Paper D.H. Inhibition of angiogenesis and inflammation by an extract of red clover (*Trifolium pratense* L.) // *Phytomedicine.* 2009. Vol. 16, N 12. P. 1083–1088. doi: 10.1016/j.phymed.2009.05.017
12. Gounden T., Moodley R., Jonnalagadda S.B. Elemental analysis and nutritional value of edible *Trifolium* (clover) species // *J Environ Sci Health B.* 2018. Vol. 53, N 8. P. 487–492. doi: 10.1080/03601234.2018.1462923
13. Malca-Garcia G.R., Zagal D., Graham J., et al. Dynamics of the isoflavone metabolome of traditional preparations of *Trifolium pratense* L // *J Ethnopharmacol.* 2019. Vol. 238. P. 111865. doi: 10.1016/j.jep.2019.111865
14. Vlasisavljevic S., Kaurinovic B., Popovic M., et al. *Trifolium pratense* L. as a potential natural antioxidant // *Molecules.* 2014. Vol. 19, N 1. P. 713–725. doi: 10.3390/molecules19010713
15. Myers S.P., Vigar V. Effects of a standardised extract of *Trifolium pratense* (Promensil) at a dosage of 80 mg in the treatment of menopausal hot flushes: a systematic review and meta-analysis // *Phytomedicine.* 2017. Vol. 24. P. 141–147. doi: 10.1016/j.phymed.2016.12.003
16. Gartoulla P., Han M.M. Red clover extract for alleviating hot flushes in postmenopausal women: a meta-analysis // *Maturitas.* 2014. Vol. 79, N 1. P. 58–64. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.06.018
17. Kolodziejczyk-Czepas J., Wachowicz B., Moniuszko-Szajwaj B., et al. Antioxidative effects of extracts from *Trifolium* species on blood platelets exposed to oxidative stress // *J Physiol Biochem.* 2013. Vol. 69, N 4. P. 879–887. doi: 10.1007/s13105-013-0264-5
18. Renda G., Yalçın F.N., Nemutlu E., et al. Comparative assessment of dermal wound healing potentials of various *Trifolium L.* extracts and determination of their isoflavone contents as potential active ingredients // *J Ethnopharmacol.* 2013. Vol. 148, N 2. P. 423–432. doi: 10.1016/j.jep.2013.04.031
19. Manzoureh R., Farahpour M.R. Topical administration of hydroethanolic extract of *Trifolium pratense* (red clover) accelerates wound healing by apoptosis and re-epithelialization // *Biotech Histochem.* 2021. Vol. 96, N 4. P. 276–286. doi: 10.1080/10520295.2020.1797875
20. Antonescu Mintas A.I., Miere Groza F., Fritea L., et al. Perspectives on the combined effects of *ocimum basilicum* and *trifolium pratense* extracts in terms of phytochemical profile and pharmacological effects // *Plants (Basel).* 2021. Vol. 10, N 7. P. 1390. doi: 10.3390/plants10071390
21. Khazaei M.R., Pazhouhi M. Antiproliferative effect of *Trifolium Pratense* L. extract in human breast cancer cells // *Nutr Cancer.* 2019. Vol. 71, N 1. P. 128–140. doi: 10.1080/01635581.2018.1521443
22. Tanrıverdi G., Abdulova A., Çölgeçen H., et al. Investigation of apoptotic and antiproliferative effects of Turkish natural tetraploids *Trifolium pratense* L. extract on C6 glioblastoma cells via light and electron microscopy // *Ultrastruct Pathol.* 2023. Vol. 47, N 3. P. 160–171. doi: 10.1080/01913123.2023.2184893
23. Zakłos-Szyda M., Budryn G. The effects of *Trifolium pratense* L. Sprouts' phenolic compounds on cell growth and migration of MDA-MB-231, MCF-7 and HUVEC cells // *Nutrients.* 2020. Vol. 12, N 1. P. 257. doi: 10.3390/nu12010257
24. Khazaei M.R., Gravandi E., Ghanbari E., et al. *Trifolium pratense* extract increases testosterone and improves sperm characteristics and antioxidant status in diabetic rats // *Biotech Histochem.* 2022. Vol. 97, N 8. P. 576–583. doi: 10.1080/10520295.2022.2039766
25. Błaszczuk A., Barańska A., Kanadys W., et al. Role of phytoestrogen-rich bioactive substances (*Linum usitatissimum* L., *Glycine max* L., *Trifolium pratense* L.) in cardiovascular disease prevention in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis // *Nutrients.* 2022. Vol. 14, N 12. P. 2467. doi: 10.3390/nu14122467
26. Quah Y., Park N.H., Lee E.B., et al. *Trifolium pratense* ethanolic extract alters the gut microbiota composition and regulates serum lipid profile in the ovariectomized rats // *BMC Complement Med Ther.* 2022. Vol. 22, N 1. P. 5. doi: 10.1186/s12906-021-03486-w
27. Pakalapati G., Li L., Gretz N., et al. Influence of red clover (*Trifolium pratense*) isoflavones on gene and protein expression profiles in liver of ovariectomized rats // *Phytomedicine.* 2009. Vol. 16, N 9. P. 845–855. doi: 10.1016/j.phymed.2009.03.003
28. Oza M.J., Kulkarni Y.A. *Trifolium pratense* (red clover) improve SIRT1 expression and glycogen content in high fat diet-streptozotocin induced type 2 diabetes in rats // *Chem Biodivers.* 2020. Vol. 17, N 4. P. e2000019. doi: 10.1002/cbdv.202000019
29. Lee S.A., Park B.R., Moon S.M., et al. Anti-inflammatory potential of *Trifolium pratense* L. leaf extract in LPS-stimulated RAW264.7 cells and in a rat model of carrageenan-induced inflammation // *Arch Physiol Biochem.* 2020. Vol. 126, N 1. P. 74–81. doi: 10.1080/13813455.2018.1493607
30. Lee S.G., Brownmiller C.R., Lee S.O., Kang H.W. Anti-inflammatory and antioxidant effects of anthocyanins of *Trifolium pratense* (red clover) in lipopolysaccharide-stimulated RAW-267.4 macrophages // *Nutrients.* 2020. Vol. 12, N 4. P. 1089. doi: 10.3390/nu12041089
31. Al-Shami A.S., Essawy A.E., Elkader H.E. Molecular mechanisms underlying the potential neuroprotective effects of *Trifolium pratense* and its phytoestrogen-isoflavones in neurodegenerative disorders // *Phytother Res.* 2023. Vol. 37, N 6. P. 2693–2737. doi: 10.1002/ptr.7870
32. de Rus Jacquet A., Ambaw A., Tambe M.A., et al. Neuroprotective mechanisms of red clover and soy isoflavones in Parkinson's disease models // *Food Funct.* 2021. Vol. 12, N 23. P. 11987–12007. doi: 10.1039/d1fo00007a

33. Occhiuto F., Palumbo D.R., Samperi S., et al. The isoflavones mixture from *Trifolium pratense* L. protects HCN 1-A neurons from oxidative stress // *Phytother Res.* 2009. Vol. 23, N 2. P. 192–196. doi: 10.1002/ptr.2584
34. Jiang D., Rasul A., Batool R., et al. Potential anticancer properties and mechanisms of action of Formononetin // *Biomed Res Int.* 2019. Vol. 2019. P. 5854315. doi: 10.1155/2019/5854315
35. Mu H., Bai Y.H., Wang S.T., et al. Research on antioxidant effects and estrogenic effects of formononetin from *Trifolium pratense* (red clover) // *Phytomedicine.* 2009. Vol. 16, N 4. P. 314–319. doi: 10.1016/j.phymed.2008.07.005
36. Kolodziejczyk-Czepas J. *Trifolium* species — the latest findings on chemical profile, ethnomedicinal use and pharmacological properties // *J Pharm Pharmacol.* 2016. Vol. 68, N 7. P. 845–861. doi: 10.1111/jphp.12568
37. Kolodziejczyk-Czepas J., Krzyżanowska-Kowalczyk J., Sieradzka M., et al. Clovamide and clovamide-rich extracts of three *Trifolium* species as antioxidants and moderate antiplatelet agents *in vitro* // *Phytochemistry.* 2017. Vol. 143. P. 54–63. doi: 10.1016/j.phytochem.2017.07.011
38. Yan J., Qiu P., Zhang X., et al. Biochanin A from chinese medicine: an isoflavone with diverse pharmacological properties // *Am J Chin Med.* 2021. Vol. 49, N 7. P. 1623–1643. doi: 10.1142/S0192415X21500750
39. Fokialakis N., Alexi X., Aligiannis N., et al. Ester and carbamate ester derivatives of Biochanin A: synthesis and *in vitro* evaluation of estrogenic and antiproliferative activities // *Bioorg Med Chem.* 2012. Vol. 20, N 9. P. 2962–2970. doi: 10.1016/j.bmc.2012.03.012
40. Lin V.C., Ding H.Y., Tsai P.C., et al. *In vitro* and *in vivo* melanogenesis inhibition by biochanin A from *Trifolium pratense* // *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011. Vol. 75, N 5. P. 914–918. doi: 10.1271/bbb.100878
41. Lee J.H., Dean M., Austin J.R., et al. Irlone from red clover (*Trifolium pratense*) potentiates progesterone signaling // *J Nat Prod.* 2018. Vol. 81, N 9. P. 1962–1967. doi: 10.1021/acs.jnatprod.8b00131

REFERENCES

1. Marrelli M. Medicinal plants. *Plants (Basel).* 2021;10(7):1355. doi: 10.3390/plants10071355
2. Šantić Ž, Pravdić N, Bevanda M, Galić K. The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine. *Psychiatr Danub.* 2017;29(Suppl 4):787–792.
3. Les F, Cásedas G, López V. Bioactivity of medicinal plants and extracts. *Biology (Basel).* 2021;10(7):634. doi: 10.3390/biology10070634
4. Silveira D, Boylan F. Medicinal plants: advances in phytochemistry and ethnobotany. *Plants (Basel).* 2023;12(8):1682. doi: 10.3390/plants12081682
5. Rogozea L. Medicinal plants usage in our days. *Am J Ther.* 2018;25(4):e487–e488. doi: 10.1097/MJT.0000000000000795
6. van Galen E. Traditional herbal medicines worldwide, from reappraisal to assessment in Europe. *J Ethnopharmacol.* 2014;158 Pt B:498–502. doi: 10.1016/j.jep.2014.07.013
7. Sabudak T, Guler N. *Trifolium* L. — a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Phytother Res.* 2009;23(3):439–446. doi: 10.1002/ptr.2709
8. Kolodziejczyk-Czepas J. *Trifolium* species-derived substances and extracts-biological activity and prospects for medicinal applications. *J Ethnopharmacol.* 2012;143(1):14–23. doi: 10.1016/j.jep.2012.06.048
9. Zhang H, Zhao J, Shang H, et al. Extraction, purification, hypoglycemic and antioxidant activities of red clover (*Trifolium pratense* L.) polysaccharides. *Int J Biol Macromol.* 2020;148:750–760. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.194
10. Kaurinovic B, Popovic M, Vlasisavljevic S, et al. Antioxidant profile of *Trifolium pratense* L. *Molecules.* 2012;17(9):11156–11172. doi: 10.3390/molecules170911156
11. Krenn L, Paper DH. Inhibition of angiogenesis and inflammation by an extract of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Phytomedicine.* 2009;16(12):1083–1088. doi: 10.1016/j.phymed.2009.05.017
12. Gounden T, Moodley R, Jonnalagadda SB. Elemental analysis and nutritional value of edible *Trifolium* (clover) species. *J Environ Sci Health B.* 2018;53(8):487–492. doi: 10.1080/03601234.2018.1462923
13. Malca-Garcia GR, Zagal D, Graham J, et al. Dynamics of the isoflavone metabolome of traditional preparations of *Trifolium pratense* L. *J Ethnopharmacol.* 2019;238:111865. doi: 10.1016/j.jep.2019.111865
14. Vlasisavljevic S, Kaurinovic B, Popovic M, et al. *Trifolium pratense* L. as a potential natural antioxidant. *Molecules.* 2014;19(1):713–725. doi: 10.3390/molecules19010713
15. Myers SP, Vigar V. Effects of a standardised extract of *Trifolium pratense* (Promensil) at a dosage of 80mg in the treatment of menopausal hot flushes: A systematic review and meta-analysis. *Phytomedicine.* 2017;24:141–147. doi: 10.1016/j.phymed.2016.12.003
16. Gartoulla P, Han MM. Red clover extract for alleviating hot flushes in postmenopausal women: a meta-analysis. *Maturitas.* 2014;79(1):58–64. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.06.018
17. Kolodziejczyk-Czepas J, Wachowicz B, Moniuszko-Szajwaj B, et al. Antioxidative effects of extracts from *Trifolium* species on blood platelets exposed to oxidative stress. *J Physiol Biochem.* 2013;69(4):879–887. doi: 10.1007/s13105-013-0264-5
18. Renda G, Yalçın FN, Nemutlu E, et al. Comparative assessment of dermal wound healing potentials of various *Trifolium* L. extracts and determination of their isoflavone contents as potential active ingredients. *J Ethnopharmacol.* 2013;148(2):423–432. doi: 10.1016/j.jep.2013.04.031
19. Manzoureh R, Farahpour MR. Topical administration of hydroethanolic extract of *Trifolium pratense* (red clover) accelerates wound healing by apoptosis and re-epithelialization. *Biotech Histochem.* 2021;96(4):276–286. doi: 10.1080/10520295.2020.1797875
20. Antonescu Mintas AI, Miere Groza F, Fritea L, et al. Perspectives on the combined effects of *ocimum basilicum* and *trifolium pratense* extracts in terms of phytochemical profile and pharmacological effects. *Plants (Basel).* 2021;10(7):1390. doi: 10.3390/plants10071390
21. Khazaei MR, Pazhouhi M. Antiproliferative effect of *Trifolium Pratense* L. extract in human breast cancer cells. *Nutr Cancer.* 2019;71(1):128–140. doi: 10.1080/01635581.2018.1521443

22. Tanrıverdi G, Abdulova A, Çölgeçen H, et al. Investigation of apoptotic and antiproliferative effects of Turkish natural tetraploids *Trifolium pratense* L. extract on C6 glioblastoma cells via light and electron microscopy. *Ultrastruct Pathol.* 2023;47(3):160–171. doi: 10.1080/01913123.2023.2184893
23. Zakłós-Szyda M, Budryn G. The effects of *Trifolium pratense* L. Sprouts' phenolic compounds on cell growth and migration of MDA-MB-231, MCF-7 and HUVEC cells. *Nutrients.* 2020;12(1):257. doi: 10.3390/nu12010257
24. Khazaei MR, Gravandi E, Ghanbari E, et al. *Trifolium pratense* extract increases testosterone and improves sperm characteristics and antioxidant status in diabetic rats. *Biotech Histochem.* 2022;97(8):576–583. doi: 10.1080/10520295.2022.2039766
25. Błaszczyk A, Barańska A, Kanadys W, et al. Role of phytoestrogen-rich bioactive substances (*Linum usitatissimum* L., *Glycine max* L., *Trifolium pratense* L.) in cardiovascular disease prevention in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2022;14(12):2467. doi: 10.3390/nu14122467
26. Quah Y, Park NH, Lee EB, et al. *Trifolium pratense* ethanolic extract alters the gut microbiota composition and regulates serum lipid profile in the ovariectomized rats. *BMC Complement Med Ther.* 2022;22(1):5. doi: 10.1186/s12906-021-03486-w
27. Pakalapati G, Li L, Gretz N, et al. Influence of red clover (*Trifolium pratense*) isoflavones on gene and protein expression profiles in liver of ovariectomized rats. *Phytotherapy.* 2009;16(9):845–855. doi: 10.1016/j.phymed.2009.03.003
28. Oza MJ, Kulkarni YA. *Trifolium pratense* (red clover) improve SIRT1 expression and glycogen content in high fat diet-streptozotocin induced type 2 diabetes in rats. *Chem Biodivers.* 2020;17(4):e2000019. doi: 10.1002/cbdv.202000019
29. Lee SA, Park BR, Moon SM, et al. Anti-inflammatory potential of *Trifolium pratense* L. leaf extract in LPS-stimulated RAW264.7 cells and in a rat model of carrageenan-induced inflammation. *Arch Physiol Biochem.* 2020;126(1):74–81. doi: 10.1080/13813455.2018.1493607
30. Lee SG, Brownmiller CR, Lee SO, Kang HW. Anti-inflammatory and antioxidant effects of anthocyanins of *Trifolium pratense* (red clover) in lipopolysaccharide-stimulated RAW-267.4 macrophages. *Nutrients.* 2020;12(4):1089. doi: 10.3390/nu12041089
31. Al-Shami AS, Essawy AE, Elkader HE. Molecular mechanisms underlying the potential neuroprotective effects of *Trifolium pratense* and its phytoestrogen-isoflavones in neurodegenerative disorders. *Phytother Res.* 2023;37(6):2693–2737. doi: 10.1002/ptr.7870
32. de Rus Jacquet A, Ambaw A, Tambe MA, et al. Neuroprotective mechanisms of red clover and soy isoflavones in Parkinson's disease models. *Food Funct.* 2021;12(23):11987–12007. doi: 10.1039/d1fo00007a
33. Occhiuto F, Palumbo DR, Samperi S, et al. The isoflavones mixture from *Trifolium pratense* L. protects HCN 1-A neurons from oxidative stress. *Phytother Res.* 2009;23(2):192–196. doi: 10.1002/ptr.2584
34. Jiang D, Rasul A, Batool R, et al. Potential anticancer properties and mechanisms of action of Formononetin. *Biomed Res Int.* 2019;2019:5854315. doi: 10.1155/2019/5854315
35. Mu H, Bai YH, Wang ST, et al. Research on antioxidant effects and estrogenic effects of formononetin from *Trifolium pratense* (red clover). *Phytotherapy.* 2009;16(4):314–319. doi: 10.1016/j.phymed.2008.07.005
36. Kolodziejczyk-Czepas J. *Trifolium* species — the latest findings on chemical profile, ethnomedicinal use and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol.* 2016;68(7):845–861. doi: 10.1111/jphp.12568
37. Kolodziejczyk-Czepas J, Krzyżanowska-Kowalczyk J, Sieradzka M, et al. Clovamide and clovamide-rich extracts of three *Trifolium* species as antioxidants and moderate antiplatelet agents *in vitro*. *Phytochemistry.* 2017;143:54–63. doi: 10.1016/j.phytochem.2017.07.011
38. Yan J, Qiu P, Zhang X, et al. Biochanin A from chinese medicine: an isoflavone with diverse pharmacological properties. *Am J Chin Med.* 2021;49(7):1623–1643. doi: 10.1142/S0192415X21500750
39. Fokialakis N, Alexi X, Aliannis N, et al. Ester and carbamate ester derivatives of Biochanin A: synthesis and *in vitro* evaluation of estrogenic and antiproliferative activities. *Bioorg Med Chem.* 2012;20(9):2962–2970. doi: 10.1016/j.bmc.2012.03.012
40. Lin VC, Ding HY, Tsai PC, et al. *In vitro* and *in vivo* melanogenesis inhibition by biochanin A from *Trifolium pratense*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011;75(5):914–918. doi: 10.1271/bbb.100878
41. Lee JH, Dean M, Austin JR, et al. Irlone from red clover (*Trifolium pratense*) potentiates progesterone signaling. *J Nat Prod.* 2018;81(9):1962–1967. doi: 10.1021/acs.jnatprod.8b00131

ОБ АВТОРАХ

***Кубасова Елена Дмитриевна**, канд. биол. наук, доцент;
адрес: 163069, Россия, Архангельск, пр. Троицкий, 51;
ORCID: 0000-0001-9683-7814;
eLibrary SPIN: 7684-8140;
e-mail: lapkino2001@mail.ru

Крылов Илья Альбертович, д-р мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0003-3042-4229;
eLibrary SPIN: 1297-5590;
e-mail: krylov.ilya@mail.ru

AUTHORS' INFO

***Elena D. Kubasova**, Cand. Sci. (Biology), Assistant Professor;
address: 51 Troitskiy Ave., Arkhangelsk, 163069, Russia;
ORCID: 0000-0001-9683-7814;
eLibrary SPIN: 7684-8140;
e-mail: lapkino2001@mail.ru

Iliya A. Krylov, MD, Dr. Sci. (Medicine), Assistant Professor;
ORCID: 0000-0003-3042-4229;
eLibrary SPIN: 1297-5590;
e-mail: krylov.ilya@mail.ru

Кубасов Роман Викторович, канд. биол. наук, доцент;
ORCID: 0000-0003-1698-6479;
eLibrary SPIN: 8780-4464;
e-mail: romanas2001@mail.ru

Суханов Антон Евгеньевич, канд. мед. наук, доцент;
ORCID: 0000-0002-6214-307X;
eLibrary SPIN: 7111-5243;
e-mail: docpharmanton@hotmail.com

Незгоров Дмитрий Викторович, канд. биол. наук, доцент;
ORCID: 0000-0002-4909-5325;
eLibrary SPIN: 1417-1144;
e-mail: konan192@mail.ru

Коробицын Алексей Петрович, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0003-4078-4850;
eLibrary SPIN: 4097-5036;
e-mail: alkor@mail.ru

Грошили Виталий Сергеевич, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0001-9927-8798;
eLibrary SPIN: 8717-0391;
e-mail: groshilin@yandex.ru

Сафроненко Андрей Владимирович, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0003-4625-6186;
eLibrary SPIN: 3448-9574;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Дергоусова Татьяна Григорьевна, канд. фармацевт. наук,
доцент;
ORCID: 0000-0001-6334-1169;
eLibrary SPIN: 9900-8949;
e-mail: Tatyana-701@yandex.ru

Грошили Сергей Михайлович, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0003-2782-7094;
eLibrary SPIN: 3980-0099;
e-mail: 9185546646@rambler.ru

Линченко Сергей Николаевич, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0001-8345-0645;
eLibrary SPIN: 1681-3350;
e-mail: s_linchenko@mail.ru

Roman V. Kubasov, Cand. Sci. (Biology), Assistant Professor;
ORCID: 0000-0003-1698-6479;
eLibrary SPIN: 8780-4464;
e-mail: romanas2001@mail.ru

Anton E. Sukhanov, MD, Cand. Sci. (Medicine), Assistant Professor;
ORCID: 0000-0002-6214-307X;
eLibrary SPIN: 7111-5243;
e-mail: docpharmanton@hotmail.com

Dmitry V. Nezgovorov, Cand. Sci. (Biology), Assistant Professor;
ORCID: 0000-0002-4909-5325;
eLibrary SPIN: 1417-1144;
e-mail: konan192@mail.ru

Alexey P. Korobitsyn, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0003-4078-4850;
eLibrary SPIN: 4097-5036;
e-mail: alkor@mail.ru

Vitaly S. Groshilin, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0001-9927-8798;
eLibrary SPIN: 8717-0391;
e-mail: groshilin@yandex.ru

Andrey V. Safronenko, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0003-4625-6186;
eLibrary SPIN: 3448-9574;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Tatyana G. Dergousova, Cand. Sci. (Pharmacy), Assistant
Professor;
ORCID: 0000-0001-6334-1169;
eLibrary SPIN: 9900-8949;
e-mail: Tatyana-701@yandex.ru

Sergey M. Groshilin, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0003-2782-7094;
eLibrary SPIN: 3980-0099;
e-mail: 9185546646@rambler.ru

Sergey N. Linchenko, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0001-8345-0645;
eLibrary SPIN: 1681-3350;
e-mail: s_linchenko@mail.ru

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author