УДК 615.322.099:616.152 DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-7-17

Изучение острой токсичности извлечений из травы тимьяна Маршалла и их влияния на биохимические показатели крови

А.Ю. Каретникова, А.С. Шереметьева, Н.А. Дурнова

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского», Саратов, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Поиск новых фармакологических средств обосновывается потребностью в препаратах, обладающих высокой эффективностью наряду с малой токсичностью. Особый интерес представляют вещества с минимальными побочными эффектами, к которым относятся средства растительного происхождения. Необходимым этапом доклинической разработки новых лекарственных средств является оценка их безопасности, в частности, исследование токсичности.

Цель. Определить уровень токсичности извлечений тимьяна Маршалла и изучить их влияние на биохимические показатели крови мышей при многократном введении.

Материалы и методы. Токсичность извлечений тимьяна Маршалла определяли с помощью пробит-анализа. Эксперимент проведен на 24 мышах-самках: три опытные группы и контрольная (интактные). Опытным группам однократно внутрибрюшинно вводили извлечения тимьяна Маршалла в дозах 1000, 3000, 5000 мг/кг (в пересчете на густой экстракт). Изучение влияния извлечений тимьяна Маршалла на биохимические показатели крови проведено на 24 мышах-самцах: три опытные группы и контрольная (интактные). Опытные группы в течение 21 сут эксперимента ежедневно внутрижелудочно получали питьевую воду, спиртовое и водное извлечения тимьяна Маршалла в дозе 100 мг/кг. Определяли содержание в образцах крови глюкозы, холестерина, мочевины, общего билирубина, креатинина, общего белка, альбумина, аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ).

Результаты. По классификации токсичности химических веществ спиртовое извлечение тимьяна Маршалла относится к малотоксичным веществам. Введение водного извлечения тимьяна Маршалла приводило к достоверному снижению уровня глюкозы, альбуминов, общего билирубина и мочевины, а также снижению активности АЛТ. Содержание холестерина, общего белка, креатинина, а также активность ЩФ и ЛДГ достоверно не отличались от показателей контрольной группы. При введении спиртового извлечения тимьяна Маршалла наблюдалось увеличение содержания общего белка и активности АЛТ, АСТ, ЩФ и снижение уровня общего билирубина и мочевины по сравнению с контрольной группой. Содержание глюкозы, холестерина, альбуминов, креатинина и активность ЛДГ оставались в пределах значений контрольной группы.

Заключение. Результаты проведенного исследования не выявили существенных изменений в биохимических показателях крови мышей при введении извлечений тимьяна Маршалла, что подтверждает безопасность применения извлечений из данного вида растительного сырья.

Ключевые слова: *Thymus marschallianus* Willd., тимьян, извлечение, биохимические показатели.

Образец цитирования: Каретникова А.Ю., Шереметьева А.С., Дурнова Н.А. Изучение острой токсичности извлечений из травы тимьяна Маршалла и их влияния на биохимические показатели крови // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(2):7–17. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-7-17

Study of the acute toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and analysis of blood biochemical parameters under their influence

A.Yu. Karetnikova, A.S. Sheremetyeva, N.A. Durnova

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

ABSTRACT

Introduction. The search for new pharmacological agents is justified by the need for drugs with high efficiency along with low toxicity. The substances with minimal side effects, which include herbal remedies, are of particular interest.

Поступила в редакцию 07.10.2021
Прошла рецензирование 14.12.2021
Принята к публикации 15.01.2022

Автор, ответственный за переписку
Шереметьева Анна Сергеевна: ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России. 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112.
E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Received 07.10.2021
Revised 14.12.2021
Accepted 15.01.2022

Corresponding author
Anna S. Sheremetyeva: Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, 112, Bolshaya Kazachia str., Saratov, 410012, Russia.
E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

The assessment of safety, and study of toxicity of new medicines in particular, is a necessary stage of their preclinical development.
Aim. To determine the toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and study their effect on the biochemical parameters of the blood of mice with repeated administration.
Materials and methods. The toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts was determined by probit analysis. The experiment was carried out on 24 female mice: three experimental groups and a control group (intact). The animals of experimental groups got a single intraperitoneal injection with *Thymus marschallianus* Willd. extracts at doses of 1000, 3000, 5000 mg/kg (in terms of thick extract) respectfully. The study of the effect of *Thymus marschallianus* Willd. extracts on blood biochemical parameters was carried out on 24 male mice: three experimental groups and a control group (intact). The experimental groups received drinking water, ethanol and aqueous extracts of *Thymys marschallianus* Willd. intragastrically at a dose of 100 mg/kg daily for 21 days of the experiment. The content of glucose, cholesterol, urea, total bilirubin, creatinine, total protein, albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) in blood samples was determined.
Results. According to the classification of toxicity of chemicals, an ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd. belongs to low-toxic substances. The administration of an aqueous extract of *Thymus marschallianus* Willd. led to a significant decrease in glucose, albumin, total bilirubin and urea, as well as a decrease in ALT activity. The content of cholesterol, total protein, creatinine, as well as the activity of ALP and LDH did not significantly differ from the indicators of the control group. With the administration of an ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd., there was an increase in the total protein content and activity of ALT, AST, ALP and a decrease in the level of total bilirubin and urea compared with the control group. The content of glucose, cholesterol, albumin, creatinine and LDH activity remained within the control group values.
Conclusion. The results of the study did not reveal significant changes in the biochemical parameters of the blood of mice with the administration of *Thymus marschallianus* Willd. extracts, which confirms the safety of the use of extracts from this type of plant raw materials.
Keywords: *Thymus marschallianus* Willd., thyme, extract, biochemical parameters.

Citation example: Karetnikova A.Yu., Sheremetyeva A.S., Durnova N.A. Study of the acute toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and analysis of biochemical blood parameters under their influence. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(2):7–17. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-2-7-17

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых фармакологических веществ, в том числе и растительного происхождения, обосновывается потребностью в препаратах, обладающих высокой эффективностью наряду с малой токсичностью [1, 2]. Однако при изучении биологически активных веществ, содержащихся в растительном сырье, может выявляться их токсический эффект [3]. Необходимым этапом доклинической разработки новых лекарственных средств является оценка их безопасности, в частности, исследование острой токсичности и определение переносимых, токсических и летальных доз [4]. У водных и спиртовых извлечений травы тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) выявлены антимикробные, отхаркивающие, противовоспалительные, антиоксидантные и другие свойства [5, 6], которые обусловливает богатый химический состав растительного сырья (эфирное масло, фенольные и тритерпеновые соединения, полисахаридные комплексы, минеральные элементы, аминокислоты, карбоновые кислоты) [5, 7]. Однако эксперименты по определению острой токсичности были проведены только для водных

INTRODUCTION

The search for new pharmacological substances, including those of plant origin, is justified by the need for drugs with high efficiency along with low toxicity [1, 2]. However, when studying biologically active substances contained in plant raw materials, their toxic effect can be detected [3]. A necessary stage in the preclinical development of new drugs is the assessment of their safety, in particular, the study of acute toxicity and the determination of tolerated, toxic and lethal doses [4]. In water and alcohol extracts of *Thymus marschallianus* Willd. antimicrobial, expectorant, anti-inflammatory, antioxidant and other properties have been identified [5, 6], which are determined by the rich chemical composition of vegetable raw materials (essential oil, phenolic and triterpene compounds, polysaccharide complexes, mineral elements, amino acids, carboxylic acids) [5, 7]. However, experiments to determine an acute toxicity were carried out only for aqueous extracts (infusions) of *Thymus marschallianus* Willd. herb in the concentration range of 2000–5000 mg/kg (animal deaths were not noted during the entire observation period) [5]. No data

извлечений (настоев) из травы тимьяна Маршалла в диапазоне концентраций 2000–5000 мг/кг (гибели животных в течение всего периода наблюдения не отмечали) [5]. Для спиртовых извлечений из травы тимьяна Маршалла данных об острой токсичности ранее получено не было.

Параметры, установленные в результате изучения острой токсичности, не позволяют оценить длительное влияние потенциальных фармакологических веществ на организм. Оценить такое влияние возможно, в частности, по изменению биохимических показателей крови, при этом такие эксперименты позволяют оценивать общее физиологическое состояние организма и характер возможных токсических эффектов при повторном введении исследуемых веществ. Изучение влияния водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на биохимические параметры крови ранее не проводилось.

Определение уровня токсичности в остром эксперименте и исследование влияния на биохимические показатели крови извлечений из травы тимьяна Маршалла позволит оценить их безопасность.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить уровень токсичности извлечений тимьяна Маршалла и изучить их влияние на биохимические показатели крови мышей при многократном введении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты *in vivo* были проведены в соответствии с Женевской конвенцией (International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals) (Geneva, 1990), Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным (2000 г.), а также рекомендациями комитета по этике Саратовского государственного медицинского университета им. Разумовского (протокол № 4 от 1 декабря 2020 г.). Экспериментальные исследования проведены на беспородных белых мышах (масса 30–40 г, возраст 2–3 мес). Животные содержались в виварии при постоянной температуре (23–25 °С) и влажности воздуха, со свободным доступом к воде и пище.

Перед проведением эксперимента по изучению биохимических параметров крови определяли острую токсичность спиртового извлечения из травы тимьяна Маршалла с целью сравнения результатов с данными, полученными Ю.А. Старчак [5] для настоя. Эксперимент по изучению острой токсичности проведен на 24 мышах-самках (подробная схема эксперимента приведена в [4]). Животные были разделены на

on acute toxicity has been previously obtained for alcohol extracts of *Thymus marschallianus* Willd. herb.

The parameters established as a result of the study of acute toxicity do not allow us to assess the long-term effect of potential pharmacological substances on the body. It is possible to assess such an effect, in particular, by changing the biochemical parameters of the blood, while such experiments allow us to assess the general physiological state of the body and the nature of possible toxic effects with repeated administration of the substances under study. The effect of aqueous and alcoholic extracts of *Thymus marschallianus* Willd. on the biochemical parameters of blood has not been studied previously.

Determining the toxicity level in an acute experiment and studying the effect on the blood biochemical parameters of the *Thymus marschallianus* Willd. herb extracts will allow to assess their safety.

AIM OF THE RESEARCH

To determine the level of toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and to study their effect on the blood biochemical parameters of mice with repeated administration.

MATERIALS AND METHODS

The *in vivo* experiments were conducted in accordance with the Geneva Convention (International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals) (Geneva, 1990), the Helsinki Declaration on Humane Treatment of Animals (2000), as well as the recommendations of the Ethics Committee of the Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky (Protocol No. 4 of December 1, 2020). Experimental studies were conducted on white outbred mice (weight 30–40 g, age 2–3 months). The animals were kept in a vivarium at a constant temperature (23–25°C) and humidity, with free access to water and food.

Before conducting an experiment to study the biochemical parameters of blood, the acute toxicity of ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd. herb was determined in order to compare the results with the data obtained by Yu.A. Starchak [5] for the infusion. An experiment to study acute toxicity was conducted on 24 female mice (a detailed scheme of the experiment is given in [4]). The animals were divided into 4 groups (6 individuals each): control (intact animals) and 3 experimental (receiving ethanol extract of *Thymus marschallianus* Willd.). Toxicity parameters were determined using probit analysis by the V.B. Prozorovsky method [8].

4 группы (по 6 особей в каждой): контрольную (интактные животные) и 3 опытные (получавшие спиртовое извлечение тимьяна Маршалла). Параметры токсичности определяли с помощью пробит-анализа методом В.Б. Прозоровского [8]. Извлечения тимьяна вводили животным однократно внутрибрюшинно в дозах 1000, 3000, 5000 мг/кг (в пересчете на густой экстракт) в объеме 1.0 мл на 40 г массы тела. На протяжении следующих двух недель проводили контроль состояния лабораторных животных, в первые сутки исследования он осуществлялся непрерывно. После введения исследуемых извлечений отмечали особенности поведения мышей, интенсивность и характер двигательной активности, нарушения координации движений.

Исследование биохимических параметров крови проведено на 24 мышах-самцах. Животные были разделены на 4 группы – контрольную и три опытные (по 6 особей в каждой). Опытные группы в течение 21 сут эксперимента ежедневно внутрижелудочно получали питьевую воду (1-я опытная группа), водное извлечение тимьяна Маршалла (2-я опытная группа) и спиртовое извлечение тимьяна Маршалла (3-я опытная группа) в дозе 100 мг/кг (для исследования выбрана указанная доза, так как ранее извлечения в данной дозировке показали антимикробную [6] и противоопухолевую активность [9]). Контрольная группа воздействию не подвергалась.

Объектом исследования послужила измельченная трава тимьяна Маршалла, собранная в окрестностях г. Саратова в июне-июле 2020 г. в фазе цветения. Определение вида проводилось по ключу В.Н. Гладковой и Ю.Л. Меницкого [10] и подтверждено ведущим специалистом по флоре Саратовской области – д-ром биол. наук, профессором М.А. Березуцким. Сырье сушили в сухом, хорошо проветриваемом месте, затем измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

Извлечения из указанного растительного материала были приготовлены двумя способами: первый – согласно требованиям Государственной фармакопеи (ГФ) XIV изд-я, ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» (экстрагент – вода) [11], а затем полученное извлечение упаривали до состояния густого экстракта; второй – согласно запатентованной методике: двукратную экстракцию проводили 95% этиловым спиртом, упаривали и очищали хлороформом, затем полученную водную фракцию снова упаривали до состояния густого экстракта [12]). Доведение водных и спиртовых извлечений до состояния густого экс-

Thymus marschallianus Willd. extracts were administered to animals once intraperitoneally at doses of 1000, 3000, 5000 mg/kg (in terms of thick extract) in a volume of 1.0 ml per 40 g of body weight. Over the next two weeks, the condition of laboratory animals was monitored, and on the first day of the study it was carried out continuously. After administration of the studied extracts, the peculiarities of mouse behavior, intensity and type of motor activity, and movement coordination disorders were noted.

The study of blood biochemical parameters was carried out on 24 male mice. The animals were divided into 4 groups – a control group and three experimental ones (6 individuals each). During 21 days of the experiment, the animals of the experimental groups on a daily basis received intragastrically drinking water (1st experimental group), aqueous *Thymus marschallianus* Willd. extract (2nd experimental group), and ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd. (3rd experimental group) at a dose of 100 mg/ kg (the indicated dose was chosen for the study, since earlier, the extraction have shown an antimicrobial [6] and antitumor activity at this dosage [9]). The control group was not exposed.

The object of the study was crushed Marshall thyme herb collected in the vicinity of Saratov in June-July 2020 at the flowering phase. The identification of the species was carried out according to the key of V.N. Gladkova and Yu.L. Menitsky [10] and confirmed by the leading specialist in the flora of the Saratov region – Doctor of Biological Sciences, Professor M.A. Berezutsky. The raw materials were dried in a dry, well-ventilated place, then crushed to particles passing through a sieve with holes of 2 mm in size.

Extracts from the specified plant material were prepared in two ways: the first – according to the requirements of the State Pharmacopoeia (SPh) of the XIV edition, GP (General Monograph) 1.4.1.0018.15 Infusions and Decoctions (extractant – water) [11], and then the resulting extraction was evaporated to the state of a thick extract; the second – according to a patented technique: a twofold extraction was carried out with 95% ethyl alcohol, after evaporation and purification with chloroform, the resulting aqueous fraction was again evaporated to the state of a thick extract [12]. Bringing water and alcohol extracts to the state of a thick extract made it possible to obtain the residue of the target products with a known mass and to further determine their exact concentration, and calculate the exact dosage for each animal in the experiment.

тракта позволило получить остаток целевых продуктов с известной массой и в дальнейшем определять их точную концентрацию и рассчитывать точную дозировку для каждого животного в эксперименте.

Во время проведения указанного эксперимента для изучения одного из эндофенотипов депрессии выполняли тест «подвешивание за хвост». Животных из эксперимента выводили на 21-е сутки путем внутрибрюшинного введения комбинации золетила (Virbac, Франция) и ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 0.1 мг/кг. Забор крови проводили пункцией из правых отделов сердца. В качестве антикоагулянта использовался 0.2% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Полученную кровь центрифугировали со скоростью 3000 об./мин в течение 20 мин (центрифуга СМ-6) для получения плазмы, которую в дальнейшем подвергали фотометрическому анализу на полуавтоматическом анализаторе Vitalon-400 (Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd., Китай) с использованием стандартных наборов реактивов (Витал Диагностикс СПб, Россия).

При исследовании определяли содержание в образцах следующих метаболитов: глюкозы, холестерина, мочевины, общего билирубина, креатинина, общего белка, альбумина. Также производилась оценка концентрации в плазме таких ферментов, как аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), щелочная фосфатаза (ЩФ).

На основе полученных результатов оценивали белково-синтезирующую функцию печени (общий белок, альбумины), нарушения функционального состояния печени (АСТ, АЛТ, ЩФ, уровень общего билирубина, холестерина), сердца (АСТ, ЛДГ), почек (уровень креатинина, мочевины), состояние углеводного обмена (уровень глюкозы).

Обработка полученных данных осуществлялась при помощи прикладных статистических программ Statistica 12 (StatSoft Inc., США). Для всех показателей определяли медиану и квартили (25-й и 75-й). Для оценки значимости различий применяли *U*-критерий Манна – Уитни. Значимым считали результаты при значении $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании токсичности спиртового извлечения тимьяна Маршалла в дозе 1000 мг/кг не отмечали признаков острого отравления. С увеличением дозы (3000 и 5000 мг/кг) снижения двигательной активности, увеличения частоты дыхательных движений не наблюдали, гибели животных зарегистрировано не было. На

During this experiment, the tail suspension test was performed to study one of the endophenotypes of depression. Animals were taken out of the experiment on the 21st day by intraperitoneal administration of a combination of Zoletil (Virbac, France) and Xylanite (Nita-Farm, Russia) at a dose of 0.1 mg/ kg. Blood sampling was carried out by puncture from the right heart. A 0.2% sodium citrate solution in the ratio of 9:1 was used as an anticoagulant. The resulting blood was centrifuged at a speed of 3000 rpm for 20 min (CM-6 centrifuge) to produce plasma, which has subsequently underwent a photometric analysis on a semi-automatic Vitalon-400 analyzer (Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd., China) using standard reagent kits (Vital Diagnostics SPb, Russia).

During the study, the content of the following metabolites in the samples was determined: glucose, cholesterol, urea, total bilirubin, creatinine, total protein, albumin. Plasma concentrations of such enzymes as aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) were also evaluated.

Based on the results obtained, the function of protein synthesis of the liver (total protein, albumins), disorders of the functional state of the liver (AST, ALT, alkaline phosphatase, total bilirubin, cholesterol), heart (AST, LDH), kidneys (creatinine, urea), the state of carbohydrate metabolism (glucose level) were evaluated.

The data obtained were processed using Statistica 12 (StatSoft Inc., USA) statistical software applications. Median and quartiles (25th and 75th) were determined for all parameters. The Mann-Whitney *U*-test was used to assess the significance of the differences. The results were considered significant at a value of $p < 0.05$.

RESULTS

When studying the toxicity of ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd. at a dose of 1000 mg/kg, no signs of acute poisoning were noted. With an increase in the dose (up to 3000 and 5000 mg/ kg), a decrease in motor activity, an increase of respiratory rate were not observed, no animal deaths were recorded. On the 2nd day, the animals had no signs of intoxication. The half-lethal dose (LD50) was not established in the experiment, since the administration of the maximum dose used (5000 mg/kg) for ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd. herb did not cause death of animals. According to the toxicity classification of chemicals (GOST 12.1.007-76), the studied ethanol extraction

2-е сутки признаков интоксикации у животных отмечено не было. Полулетальная доза (LD_{50}) в эксперименте не установлена, так как введение максимальной дозы, использованной в эксперименте (5000 мг/кг) для спиртового извлечения из травы тимьяна Маршалла, не вызвало гибели животных. Исследуемое спиртовое извлечение относится по классификации токсичности химических веществ (ГОСТ 12.1.007-76) к IV классу токсичности (малотоксичные вещества).

При изучении биохимических показателей крови было установлено, что у первой опытной группы, получавшей питьевую воду, отмечали достоверный рост активности трансаминаз – АЛТ и АСТ превышали контрольные значения у животных контрольной группы почти в два раза (табл. 1). Также наблюдали статистически значимое увеличение активности щелочной фосфатазы на 32.6 % и лактатдегидрогеназы на 35.2 %. Содержание общего белка достоверно снижалось на 18.9 %. Уровень креатинина, общего билирубина, альбумина оставался в пределах значений группы контроля. Была отмечена тенденция к снижению содержания мочевины (на 40.4 %), глюкозы (на 18 %) и холестерина (на 27.3 %).

У второй опытной группы, получавшей водное извлечение тимьяна Маршалла, наблюдали достоверное снижение уровня глюкозы по сравнению с контролем, первой и третьей опытными группами на 33, 18.3 и 35.3 % соответственно. Было установлено достоверное снижение уровня альбуминов по сравнению с контролем на 5.5 %, по отношению к первой и третьей опытным группам достоверных изменений не отмечалось. Содержание общего билирубина достоверно снижалось по сравнению с контролем (на 47.6 %) и первой опытной группой (на 47.6 %), по отношению к третьей имелась тенденция к снижению (на 19.3 %). Содержание мочевины достоверно снижалось по сравнению с контролем (на 54.2 %), по отношению к первой (на 23.1 %) и третьей (на 5.5 %) опытным группам отмечалось недостоверное снижение показателей. Активность АЛТ по сравнению с исследуемыми группами изменялась следующим образом: по сравнению с контролем статистически значимо увеличивалась на 19.9 %, по отношению к первой и третьей опытной группе снижалась недостоверно. Активность АСТ недостоверно увеличивалась по сравнению с контролем на 38.6 % и снижалась на 28 и 52.5 % соответственно по отношению к первой и третьей опытной группе. Активность щелочной фосфатазы по сравнению с контролем имела тенденцию к незначительному повышению на 3.4 %, по

belongs to the IV toxicity class (low-toxic substances).

When evaluating the biochemical parameters of blood, it was found that in the first experimental group receiving drinking water, there was a significant increase in the activity of transaminases – ALT and AST exceeded the control values in animals of the control group by almost two times (Table 1). A statistically significant increase in the activity of alkaline phosphatase by 32.6% and lactate dehydrogenase by 35.2% was also observed. The total protein content significantly decreased by 18.9%. The level of creatinine, total bilirubin, and albumin remained within the control group values. There was a tendency to decrease in the content of urea (by 40.4%), glucose (by 18%) and cholesterol (by 27.3%).

In the second experimental group, which received an aqueous extraction of *Thymus marschallianus* Willd., a significant decrease in the glucose level was observed as compared to the control, first and third experimental groups by 33, 18.3 and 35.3%, respectively. A significant decrease in the level of albumins compared to the control by 5.5% was found, no significant changes were observed in relation to the first and third experimental groups. The content of total bilirubin significantly decreased in comparison with the control (by 47.6%) and the first experimental group (by 47.6%), there was a tendency to decrease in relation to the third group (by 19.3%). The urea content significantly decreased in comparison with the control (by 54.2%); in relation to the first (by 23.1%) and the third (by 5.5%) experimental groups, an insignificant decrease was noted. The ALT activity has changed as follows: in comparison with the control, it increased significantly by 19.9%, as compared to the first and third experimental groups, it decreased insignificatly. The AST activity increased insignificantly by 38.6% compared to the control, and decreased by 28 and 52.5%, respectively, in relation to the first and third experimental groups. The activity of alkaline phosphatase in comparison with the control tended to slightly increase by 3.4%, in relation to the first and third experimental groups, this parameter significantly decreased by 22 and 26.7%, respectively. The LDH activity tended to increase by 6.8% compared to the control, and significantly decreased by 21% compared to the first group, decreased insignificatly by 9.2% in relation to the third group. The cholesterol level tended to decrease in relation to all study groups (by 33.3, 8.3 and 14.8%). The total protein content tended to decrease compared to the control (by 12.2%) and third experimental group (by 44.9%),

Таблица 1. Биохимические показатели крови мышей при многократном введении извлечений тимьяна Маршалла
Table 1. Biochemical blood parameters of mice with repeated administration of *Thymus marschallianus* Willd. extracts

Показатель Parameter	**Контрольная группа Control group**	**Первая опытная группа (вода) 1st experimental group (water)**	**Вторая опытная группа (водное извлечение тимьяна, 100 мг/кг) 2nd experimental group (*Thymus marschallianus* Willd. water extract, 100 mg/kg)**	**Третья опытная группа (спиртовое извлечение тимьяна, 100 мг/кг) 3rd experimental group (*Thymus marschallianus* Willd. ethanol extract, 100 mg/kg)**
Глюкоза (ммоль/л) Glucose (mmol/l)	4.48 (3.49; 7.32)	3.67 (3.29; 4.50) p_1 = 0.172974	3.0 (2.85; 3.22) p_1 = 0.001920 p_2 = 0.044952 p_3 = 0.044952	4.06 (3.97; 4.37) p_1 = 0.663629 p_2 = 0.376804
Холестерин (ммоль/л) Cholesterine (mmol/l)	1.32 (0.76; 1.59)	0.96 (0.84; 1.0) p_1 = 0.111414	0.88 (0.73; 1.12) p_1 = 0.111414 p_2 = 0.748348 p_3 = 0.422528	1.01 (0.87; 1.20) p_1 = 0.369593 p_2 = 0.422528
Альбумин (г/л) Albumin (g/l)	17.75 (15.47; 18.76)	17.74 (14.84; 21.96) p_1 = 0.424284	16.77 (11.17; 18.43) p_1 = 0.000034 p_2 = 0.283977 p_3 = 0.688920	17.59 (12.95; 20.44) p_1 = 0.369593 p_2 = 0.720985
Общий белок (г/л) Total protein (g/l)	35.55 (26.77; 38.07)	28.84 (27.46; 31.23) p_1 = 0.022225	31.23 (26.44; 52.94) p_1 = 0.839446 p_2 = 0.575173 p_3 = 0.297953	45.27 (42.54; 52.61) p_1 = 0.000572 p_2 = 0.005075
АЛТ (ЕД/л) ALT (U/l)	12.53 (9.31; 13.51)	23.17 (14.58; 30.20) p_1 = 0.000237	15.03 (14.49; 17.47) p_1 = 0.002161 p_2 = 0.174736 p_3 = 0.100413	21.97 (17.37; 22.45) p_1 = 0.000093 p_2 = 0.688920
АСТ (ЕД/л) AST (U/l)	49.19 (37.28; 70.26)	94.67 (73.35; 182.85) p_1 = 0.000882	68.18 (61.76; 73.63) p_1 = 0.067251 p_2 = 0.017672 p_3 = 0.014851	103.96 (90.04; 125.47) p_1 = 0.000093 p_2 = 0.714393
Щелочная фосфатаза (ЕД/л) Alkaline phosphatase (U/l)	34.85 (30.79; 36.37)	46.21 (40.48; 59.07) p_1 = 0.000502	36.02 (32.03; 38.43) p_1 = 0.369593 p_2 = 0.0184167 p_3 = 0.0202411	49.09 (39.12; 70.62) p_1 = 0.000572 p_2 = 0.830324
ЛДГ (ЕД/л) LDH (U/l)	367.47 (263.108; 509.13)	496.95 (442.92; 1050.36) p_1 = 0.002908	392.58 (338.34; 398.77) p_1 = 0.884126 p_2 = 0.012419 p_3 = 0.133615	432.46 (389.27; 537.57) p_1 = 0.200859 p_2 = 0.173486
Общий билирубин (мкмоль/л) Total bilirubin (μmol/l)	20.23 (15.63; 20.36)	20.25 (20.06; 20.97) p_1 = 0.005880	10.61 (8.68; 13.02) p_1 = 0.000080 p_2 = 0.004846 p_3 = 0.089270	13.15 (11.57; 14.28) p_1 = 0.000560 p_2 = 0.044576
Мочевина (ммоль/л) Urea (μmol/l)	5.15 (3.46; 5.22)	3.07 (2.67; 3.50) p_1 = 0.060413	2.36 (1.78; 2.74) p_1 = 0.000641 p_2 = 0.066193 p_3 = 0.900865	2.49 (1.7; 2.7) p_1 = 0.021217 p_2 = 0.294802
Креатинин (мкмоль/л) Kreatinine (μmol/l)	64.88 (44.84; 77.49)	64.48 (42.07; 74.36) p_1 = 0.839168	52.24 (41.07; 60.87) p_1 = 0.258990 p_2 = 0.688404 p_3 = 1	51.56 (49.61; 53.43) p_1 = 0.664182 p_2 = 0.809855

Примечание. Данные представлены как медиана, верхний и нижний квартили; p_1 – по сравнению с контрольной группой, p_2 – по сравнению с первой опытной группой, p_3 – по сравнению с третьей опытной группой.
Note. The data is presented as median, upper and lower quartiles; p_1 – compared to the control group, p_2 – compared to the 1st experimental group, p_3 – compared to the 3rd experimental group.

отношению к первой и третьей опытным группам указанный показатель достоверно снижался на 22 и 26.7 % соответственно. Активность ЛДГ имела тенденцию к увеличению на 6.8 % по сравнению с контролем, достоверно снижалась на 21 % по сравнению с первой группой, по отношению к третьей группе снижалась недостоверно на 9.2 %. Концентрация холестерина имела тенденцию к снижению по отношению ко всем исследуемым группам (на 33.3, 8.3 и 14.8 %). Содержание общего белка имело тенденцию к снижению по сравнению с контролем (на 12.2 %) и третьей опытной группой (на 44.9 %) и незначительно превышало показатели второй опытной группы (на 8.3 %). Концентрация креатинина имела тенденцию к снижению по сравнению с контролем (на 19.5 %) и первой опытной группой (на 18.9 %), по отношению к третьей наблюдалось незначительное увеличение (на 1.3 %).

У третьей опытной группы, получавшей спиртовое извлечение тимьяна Маршалла, содержание общего белка достоверно увеличивалось по сравнению с контролем и первой опытной группой на 27.3 и 56.7 % соответственно. Уровень альбумина оставался в пределах значений группы контроля и первой опытной группы. Активность АЛТ статистически значимо увеличивалась по сравнению с контролем на 75 %, по отношению к первой опытной имелась тенденция к снижению на 5.17 %. Активность АСТ и ЩФ достоверно увеличивалась на 111.3 и 40.9 % соответственно по сравнению с контролем, по отношению к первой группе имелась тенденция к увеличению показателей на 9.8 и 6.2 % соответственно. Отмечали достоверное снижение содержания общего билирубина на 34.9 и 35.1 % по сравнению с контролем и первой группой. Содержание мочевины статистически значимо снижалось по отношению к контрольной группе на 51.6 %, по сравнению с первой группой показатель имел тенденцию к снижению на 18.9 %. Отмечена тенденция к снижению уровня глюкозы (на 9.4 %), холестерина (на 33.3 %) по сравнению с контрольной группой, по отношению к первой опытной показатели незначительно увеличились – на 10.6 и 5.2 % соответственно. Активность ЛДГ изменялась недостоверно по сравнению с исследуемыми группами: значения увеличились по сравнению с контролем на 17.7 % и снизились на 12.9 % по отношению к первой опытной группе. Содержание креатинина достоверно не отличалось от показателей контроля и первой опытной группы, но имело тенденцию к снижению (на 20.5 и 20.04 % соответственно).

and slightly exceeded the parameters of the second experimental group (by 8.3%). Creatinine level tended to decrease in comparison with the control (by 19.5%) and first experimental group (by 18.9%), a slight increase (by 1.3%) was observed in relation to the third.

In the third experimental group receiving ethanol extraction of *Thymus marschallianus* Willd., the total protein content significantly increased compared to the control and first experimental group by 27.3 and 56.7%, respectively. The albumin level remained within the values of the control and first experimental group. The ALT activity increased significantly by 75% compared to the control, there was a tendency to decrease by 5.17% in relation to the first experimental one. The activity of AST and ALP significantly increased by 111.3 and 40.9%, respectively, compared with the control, in relation to the first group there was a tendency to increase by 9.8 and 6.2%, respectively. There was a significant decrease in the total bilirubin content by 34.9 and 35.1% compared to the control and first group. The urea content decreased statistically significantly in relation to the control group by 51.6%; compared with the first group, the parameter tended to decrease by 18.9%. There was a tendency to decrease in glucose (by 9.4%), cholesterol (by 33.3%) levels compared to the control group; in relation to the first experimental group, the parameters increased slightly – by 10.6 and 5.2%, respectively. LDH activity changed insignificantly as compared to the study groups: the values increased by 17.7% compared to the control, and decreased by 12.9% compared to the first experimental group. The creatinine content did not significantly differ from the parameters of the control and first experimental group, but tended to decrease (by 20.5 and 20.04%, respectively).

DISCUSSION

Earlier, Yu.A. Starchak [5] carried out a toxicity determination for infusions of *Thymus* sp. plants in the concentration range of 2000, 3000, 4000 and 5000 mg/kg on mice of both sexes with 6 animals in a group by a single intraperitoneal injection. The administration of all the studied doses did not lead to the death of animals. It should be noted that the infusion at a dose of 5000 mg/kg during the first hours caused a decrease in appetite, lethargy, accelerated breathing, and inactivity in animals. But then the mice of the experimental groups behaved in the same way as the mice of the control group, which were injected with water in an equivalent volume. In the study of acute toxicity of ethanol extraction from *Thymus marschallianus* Willd.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее Ю.А. Старчак [5] было проведено определение токсичности для настоев растений рода тимьян в диапазоне концентраций 2000, 3000, 4000 и 5000 мг/кг на мышах обоего пола по 6 животных в группе путем однократного внутрибрюшинного введения. Введение всех исследованных доз не приводило к гибели животных. Следует отметить, что настой в дозе 5000 мг/кг в течение первых часов вызывал у животных снижение аппетита, вялость, учащение дыхания, гиподинамию. Но затем мыши опытных групп вели себя так же, как и мыши контрольной группы, которым вводили воду в эквивалентном объеме. При исследовании острой токсичности спиртового извлечения из травы тимьяна Маршалла признаков интоксикации у животных всех групп (получавших извлечения в дозах 1000, 3000 и 5000 мг/кг) отмечено не было. Экспериментально установлено, что исследуемое спиртовое извлечение так же, как и настои [5], по классификации токсичности химических веществ относится к малотоксичным веществам.

При оценке биохимических показателей крови у животных второй опытной группы, получавшей водное извлечение тимьяна Маршалла, нами отмечено снижение уровня глюкозы, что согласуется с предыдущими исследованиями, которые показали гипогликемическую эффективность полифенольных соединений [13].

Содержание общего белка и альбумина оставалось в пределах значений контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии нарушений биосинтетической функции печени. Значимых отклонений в активности АСТ, АЛТ, ЛДГ, ЩФ, общего билирубина и холестерина установлено не было, что говорит об отсутствии нарушений в функциональном состоянии печени и сердца. Содержание креатинина и мочевины также находилось в пределах нормы, что позволяет говорить об отсутствии функциональных изменений со стороны почек.

При анализе биохимических показателей крови у животных третьей опытной группы, получавшей спиртовое извлечение тимьяна Маршалла, наблюдали повышение активности ферментов, локализованных преимущественно в печени (АЛТ, АСТ, ЩФ). Это может быть результатом повышения проницаемости клеточных мембран под действием данного извлечения, при этом белково-синтезирующая функция печени не нарушалась – содержание альбумина оставалось в пределах контроля. Уровень мочевины и креатинина находился в пределах нормы, что

herb, there were no signs of intoxication in animals of all groups (which received extracts at doses of 1000, 3000 and 5000 mg/kg). It has been experimentally established that the studied ethanol extraction, as well as infusions [5], according to the classification of toxicity of chemicals, belong to low-toxic substances.

When assessing the biochemical parameters of blood in animals of the second experimental group, which received an aqueous extract of *Thymus marschallianus* Willd., we noted a decrease in glucose levels, which is consistent with previous studies that showed the hypoglycemic efficacy of polyphenolic compounds [13].

The content of total protein and albumin remained within the values of the control group, which indicates the absence of impairments of the biosynthetic function of the liver. There were no significant deviations in the activity of AST, ALT, LDH, ALP, total bilirubin and cholesterol levels, which indicates the absence of disorders in the functional state of the liver and heart. The levels of creatinine and urea were also within the reference range, which suggests the absence of functional changes on the part of the kidneys.

When analyzing the blood biochemical parameters in animals of the third experimental group receiving the ethanol extract of *Thymys marschallianus* Willd., an increase in the activity of enzymes localized mainly in the liver (ALT, AST, ALP) was observed. This may be the result of an increase in the permeability of cell membranes under the action of this extraction, while the function of protein synthesis of the liver was not impaired – the albumin content remained within the control. The levels of urea and creatinine were within the reference range, which indicates the absence of kidney disorders. The rest of biochemical parameters did not show noticeable deviations compared to the control group of animals.

CONCLUSION

The study allows us to draw the following conclusions:

1. An ethanol extraction from the *Thymus marschallianus* Willd. at doses of 1000, 3000 and 5000 mg/kg according to the classification of toxicity of chemicals (GOST 12.1.007-76) belongs to the IV class of toxicity (low-toxic substances).

2. The administration of an aqueous extract of *Thymus marschallianus* Willd. at a dose of 100 mg/kg led to a significant decrease in glucose, albumin, total bilirubin and urea levels, as well as a decrease in ALT activity. The content of cholesterol, total protein, creatinine, as well as the activity of ALP and

говорит об отсутствии нарушений со стороны почек. Остальные биохимические параметры не обнаружили заметных отклонений по сравнению с контрольной группой животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Спиртовое извлечение тимьяна Маршалла в дозах 1000, 3000 и 5000 мг/кг по классификации токсичности химических веществ (ГОСТ 12.1.007-76) относится к IV классу токсичности (малотоксичные вещества).

2. Введение водного извлечения тимьяна Маршалла в дозе 100 мг/кг приводило к достоверному снижению уровня глюкозы, альбуминов, общего билирубина и мочевины, а также снижению активности АЛТ. Содержание холестерина, общего белка, креатинина, а также активность ЩФ и ЛДГ достоверно не отличались от показателей контрольной группы.

3. Ведение спиртового извлечения тимьяна Маршалла приводило к увеличению содержания общего белка и активности АЛТ, АСТ, ЩФ и снижению уровня общего билирубина и мочевины по сравнению с контрольной группой. Содержание глюкозы, холестерина, альбуминов, креатинина и активность ЛДГ оставались в пределах значений контрольной группы.

Результаты проведенного исследования не выявили существенных изменений в биохимических показателях крови мышей при введении водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла, что на биохимическом уровне подтверждает безопасность применения извлечений из данного вида растительного сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахтаева Н.З., Датхаев У.М., Гемеджиева Н.Г. и др. Изучение растений рода мордовник (*Echinops* L.) как перспективных источников биологически активных веществ // Вестн. Казахского Нац. мед. ун-та. 2014;5:96–99.
2. Казанчева О.Д., Герасименко А.С. Методология поиска новых биологически активных фармакологических веществ с рецепторной активностью // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2016;8-4:522–525.
3. Кан М.У., Шашурин М.М., Журавская А.Н. Биологическая и токсикологическая активность водно-спиртовых экстрактов из ряда хвойных растений Якутии // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2021;26(1):136–144. DOI: 10.31242/2618-9712-2021-26-1-13.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Н.Д. Бунятян,

LDH did not significantly differ from the parameters of the control group.

3. The administration of an ethanol extract of *Thymus marschallianus* Willd. led to an increase in the total protein content and activity of ALT, AST, ALP, and to a decrease in the levels of total bilirubin and urea compared with the control group. The content of glucose, cholesterol, albumin, creatinine and LDH activity remained within the control group values.

The results of the study did not reveal significant changes in the blood biochemical parameters of mice with the administration of aqueous and ethanol extracts of *Thymus marschallianus* Willd., which at the biochemical level confirms the safety of the use of extracts from this type of plant raw materials.

Acknowledgments. We express our gratitude to the leading specialist in the flora of the Saratov region, Dr. Sci. (Biol.), Prof. Mikhail Alexandrovich Berezutsky for the species identification of *Thymus marschallianus* Willd. herbarium specimens.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Благодарности. Выражаем благодарность ведущему специалисту по флоре Саратовской области, д-ру биол. наук, проф. Михаилу Александровичу Березуцкому за видовое определение гербарных экземпляров *Thymus marschallianus* Willd.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Akhtaeva N.Z., Datkhaev U.M., Gemedzhieva N.G. et al. Study plants of the genus *Echinops* L. as a promising source of biologically active substances. *Bulletin of the Asfendyarov Kazakh National Medical University*, 2014;5:96–99. (In Russ.)
2. Kazancheva O.D., Gerasimenko A.S. Search methodology of the new biologically active pharmaceutical substances with receptor activity. *Int. J. Applied and Fundamental Research*. 2016;8-4:522–525. (In Russ.)
3. Kan M.U., Shashurin M.M., Zhuravskaya A.N. Biological and toxicological activity of aqueous-alcoholic extracts from a number of conifers of Yakutia. *Arctic and Subarctic Natural Resources*. 2021;26(1):136–144. DOI: 10.31242/2618-9712-2021-26-1-13. (In Russ.)
4. Bunyatyan N.D, Vasiliev A.N., Verstakova O.L. et al. (2012). *Guidelines for the Preclinical Studies of Medicines*. Moscow. 944 p. (In Russ.)

А.Н. Васильев, О.Л. Верстакова и др.; отв. ред. А.Н. Миронов. М., 2012. 944 с.
5. Старчак Ю.А. Фармакогностическое изучение растений рода тимьян (Thymus L.) как перспективного источника получения фитопрепаратов: дис. … д-ра фармацевт. наук. Курск, 2016. 472 с.
6. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Райкова С.В. Исследование антимикробной активности водно-спиртового экстракта тимьяна Маршалла // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: сб. тр. Седьмой науч. конф. с междунар. участием. М., 2019. С. 509–514.
7. Sevastre-Berghian A.C., Ielciu I., Mitre A.O. et al. Targeting oxidative stress reduction and inhibition of HDAC1, MECP2, and NF-kB pathways in rats with experimentally induced hyperglycemia by administration of *Thymus marshallianus* Willd. extracts // Front. Pharmacol. 2020;11:581470. DOI: 10.3389/fphar.2020.581470.
8. Коросов А.В., Калинкина Н.М. Количественные методы экологической токсикологии: учеб.-метод. пособие. Петрозаводск: Петрозаводск гос. ун-т, 2003. 52 с.
9. Шереметьева А.С., Напшева А.М., Дурнова Н.А. Противоопухолевая активность *in vivo* водного и спиртового экстрактов *Thymus marschallianus* Willd. // Фармация и фармакология. 2021;9(6):476–484. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-476-484.
10. Гладкова В.Н., Меницкий Ю.Л. Род Тимьян – Thymus L. // Флора европейской части СССР: в 11 т. / под ред. А.А. Федорова. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1978. Т. 3 (ред. Ю.Л. Мечицкий). С. 191–204.
11. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд-е. М., 2018. Т. 2. С. 1962–1967.
12. Полуконова Н.В., Наволокин Н.А., Дурнова Н.А., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б. Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью: Патент РФ на изобретение RU 2482863C1. Опубл.: 27.05.2013. Бюл. № 15.
13. Chen J., Mangelinckx S., Adams A. et al. Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications / Nat. Prod. Commun. 2015;10(1):187–200. DOI: 10.1177/1934578X1501000140.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Каретникова Алена Юрьевна – студентка 5-го курса ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. ORCID: 000-0002-8043-3142.

Шереметьева Анна Сергеевна – старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. ORCID: 0000-0002-0022-8318.

Дурнова Наталья Анатольевна – д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. ORCID: 0000-0003-4628-9519.

5. Starchak Yu.A. (2016). *Pharmacognostic study of the Thymus L. genus plants as a promising source of phytopreparations*. Cand. Sci. (Pharmaceut.) Thesis. Kursk. 472 p. (In Russ.)
6. Sheremetyeva A.S., Durnova N.A., Raikova S.V. (2019). *Research of antimicrobial activity water-ethanol extract of Thymus Marschallianus*. Current Trends in the Development of Health-Saving Technologies: Collection of papers, 7th Sci. Conf. Moscow. P. 509–514. (In Russ.)
7. Sevastre-Berghian A.C., Ielciu I., Mitre A.O. et al. Targeting oxidative stress reduction and inhibition of HDAC1, MECP2, and NF-kB pathways in rats with experimentally induced hyperglycemia by administration of *Thymus marshallianus* Willd. extracts. *Front. Pharmacol.* 2020;11:581470. DOI: 10.3389/fphar.2020.581470.
8. Korosov A.V., Kalinkina N.M. (2003). *Quantitative Methods of Environmental Toxicology*. Petrozavodsk. 52 p. (In Russ.)
9. Sheremetyewa A.S., Napsheva A.M., Durnova N.A. Antitumor activity *in vivo* of aqueous and alcoholic extracts of *Thymus marschallianus* Willd. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):476–484. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-476-484. (In Russ.)
10. Gladkova V.N., Menitsky Yu.L. (1978). *Thymus* L. genus. In *Flora of the European Part of the USSR*. Saint-Petersburg, Vol. 3. P. 191–204. (In Russ.)
11. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. XIV ed. (2018). Moscow, Vol. 2. Pp. 1962–1967. (In Russ.)
12. Polukonova N.V., Navolokin N.A., Durnova N.A., Maslyakova G.N., Bucharskaya A.B. Method for preparing dry extract of herbal raw material possessing biological activity: RF Patent No. 2482863C1. Published: 27.05.2013. Bull. No. 15. (In Russ.)
13. Chen J., Mangelinckx S., Adams A. et al. Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications. *Nat. Prod. Commun.* 2015;10(1):187–200. DOI: 10.1177/1934578X1501000140.

ABOUT THE AUTHORS

Alena Yu. Karetnikova – Five-year Student, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Saratov, Russia. ORCID: 000-0002-8043-3142.

Anna S. Sheremetyeva – Senior Lecturer, Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. ORCID: 0000-0002-0022-8318.

Natalya A. Durnova – Dr. Sci. (Biol.), Prof., Head, Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. ORCID: 0000-0003-4628-9519.