

10. Synthesis and biological evaluation of the new 1,3-dimethylxanthine derivatives with thiazolidine-4-one scaffold / S. Constantin [et al.] // Chem Central J. – 2017. – Vol. 11, № 12.
11. Синтез и биологическая активность этиловых эфиров 2-[8-арилметилденгидразино-3-метил-7-(1-оксотетанил-3)ксантинил-1]уксусных кислот / К.Г. Гуревич [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2020. – Т. 54, №3. – С. 37-44.
12. Синтез и изучение влияния на систему гемостаза солей 2-[3-метил-1-пропилксантинил-8-тио]уксусных кислот, содержащих тиазановый цикл / Ф.А. Халиуллин [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – Т. 11, №5. – С. 140-144.
13. Синтез и антиагрегационная активность 2-[3-метил-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты, содержащих тиазановый цикл / Ф.А. Халиуллин [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2018. – Т. 52, №1. – С. 29-32.
14. Соли [3-метил-1-н-пропил-7-(1,1-диоксотетанил-3)ксантинил-8-тио]уксусной кислоты, проявляющие проагрегантную активность / Ф.Х. Камиллов [и др.] // Патент РФ № 2459825. 2012 г. Бюл. № 24.
15. Синтез и антидепрессивные свойства гидразидов 2-[3-метил-7-(тетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты / Л.А. Валеева [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2016. – Т. 55, №6. – С. 8-11.
16. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. XIV.

REFERENCES

1. The register of medicines in Russia. URL: https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_308.htm (reference date: 03.06.2020).
2. FDA U.S. Food&Drug. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-add-drug-treat-episodes-adults-parkinsons-disease> (reference date: 03.06.2020).
3. Influence of inflammatory disorders on pharmacokinetics of lisofylline in rats: implications for studies in humans / A. Świerczek [et al.] // Xenobiotica. – 2019. – Vol. 49, № 10. – P. 1209-1220/
4. Analgesic and anti-inflammatory activity of 7-substituted purine-2,6-diones / M. Zygmunt [et al.] // Pharmacol. Rep. – 2014. – Vol. 66. – P. 996-1002.
5. Antidepressant- and anxiolytic-like activity of 7-phenylpiperazinylalkyl-1,3-dimethyl-purine-2,6-dione derivatives with diversified 5-HT_{1A} receptor functional profile / Anna Partyka [et al.] // Bioorganic & Med Chem. – 2015. – Vol. 23. – P. 212-221.
6. Arylpiperazinylalkyl derivatives of 8-amino-1,3-dimethylpurine-2,6-dione as novel multitarget 5-HT/D receptor agents with potential antipsychotic activity / G. Chłoń-Rzepa [et al.] // J Enzyme Inhib Med Chem. – 2016. – Vol. 31, № 6. – P. 1048-1062.
7. Baetta, R. Pharmacology of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors. Similarities and Differences / R. Baetta, A. Corsini // Drugs. – 2011. – Vol. 71, № 11. – P. 1441-1467.
8. Havale, S. H. Medicinal chemistry approaches to the inhibition of dipeptidyl peptidase-4 for the treatment of type 2 diabetes / S. H. Havale, P. Manojit // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2009. – Vol. 17. – P. 1783-1802.
9. Bhat V.B. Antioxidant and Radical Scavenging Properties of 8-Oxo Derivatives of Xanthine Drugs Pentoxifylline and Lisofylline / V.B. Bhat, K.M. Madyastha // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2001. – Vol. 288, № 5. – P. 1212-1217.
10. Synthesis and biological evaluation of the new 1,3-dimethylxanthine derivatives with thiazolidine-4-one scaffold / S. Constantin [et al.] // Chem Central J. – 2017. – Vol. 11, № 12.
11. Синтез и биологическая активность этиловых эфиров 2-[8-арилметилденгидразино-3-метил-7-(1-оксотетанил-3)ксантинил-1]уксусных кислот / К.Г. Гуревич [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2020. – Т. 54, №3. – С. 37-44.
12. Синтез и изучение влияния на систему гемостаза солей 2-[3-метил-1-пропилксантинил-8-тио]уксусных кислот, содержащих тиазановый цикл / Ф.А. Халиуллин [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – Т. 11, № 5. – С. 140-144.
13. Синтез и антиагрегационная активность 2-[3-метил-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты, содержащих тиазановый цикл / Ф.А. Халиуллин [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2018. – Т. 52, № 1. – С. 29-32.
14. Соли [3-метил-1-н-пропил-7-(1,1-диоксотетанил-3)ксантинил-8-тио]уксусной кислоты, проявляющие проагрегантную активность / Ф.Х. Камиллов [и др.] // Патент РФ № 2459825. 2012 г. Бюл. № 24.
15. Синтез и антидепрессивные свойства гидразидов 2-[3-метил-7-(тетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты / Л.А. Валеева [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2016. – Т. 55, № 6. – С. 8-11.
16. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. XIV.

УДК 615.322

© А.Р. Ахметьянова, Р.Р. Шакирова, Н.В. Кудашкина, 2020

А.Р. Ахметьянова, Р.Р. Шакирова, Н.В. Кудашкина ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В СБОРЕ, ОБЛАДАЮЩЕМ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Уфа*

Валидация фармакопейных методов анализа проводится на этапе разработки нормативной документации на новые лекарственные средства с целью подтверждения обоснованности выбора метода для определения показателей качества лекарственного средства.

Целью исследований явилась валидация разработанной методики количественного определения флавоноидов в пересчете на лютеолин в сборе, обладающем гипогликемической активностью.

Материал и методы: объектом исследования явился растительный сбор, обладающий гипогликемической активностью, разработанный на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ МЗ РФ. Количественное определение проводили спектрофотометрическим методом с использованием комплексобразующего компонента. Были подобраны оптимальные условия для спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин и проведена валидация предложенной методики.

Результаты исследований показали правильность, линейность и прецизионность разработанной методики спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин.

Выводы: разработанная методика может быть использована для стандартизации сбора, обладающего гипогликемической активностью.

Ключевые слова: валидация, лекарственное растительное сырье, лютеолин, флавоноиды, сахарный диабет.

A.R. Ahmet'yanova, R.R. Shakirova, N.V. Kudashkina
**VALIDATION OF THE METHODOLOGY FOR THE QUANTITATIVE
 DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN A HERBAL COLLECTION
 WITH HYPOGLYCEMIC ACTIVITY**

Validation of pharmacopoeial methods is carried out at the stage of development of normative documentation for new medicines. It's aim is to confirm the validity of the method for determining the indicators and quality standards of pharmaceutical products.

The aim of the research was to validate the developed methodology for the quantitative determination of luteolin in plant composition with hypoglycemic activity.

Material and methods: the object of the study was plant composition with hypoglycemic activity developed at the Department of pharmacognosy with the course of botany and fundamentals of phytotherapy of the BSMU. Quantitative determination was carried out by the spectrophotometric method using a complexing component. We selected optimal conditions for the method of spectrophotometric quantification of luteolin, and then the proposed method was validated.

The results of the studies showed the linearity, repeatability and precision of the developed method of spectrophotometric quantification of luteolin.

Conclusions: the developed method can be used to standardize the plant composition with hypoglycemic activity.

Key words: validation, medicinal plant raw materials, luteolin, flavonoids, diabetes mellitus.

Сахарный диабет – группа эндокринных заболеваний человека, в основе которых лежит абсолютная или относительная инсулиновая недостаточность. Наиболее распространенным является сахарный диабет второго типа, развивающийся вследствие относительной недостаточности инсулина. Клетки организма теряют способность эффективно воспринимать глюкозу из-за снижения чувствительности к гормону, что приводит к множественному нарушению обмена веществ и влечет за собой тяжелые последствия. При терапии диабета второго типа большое внимание уделяют комплексному подходу, включающему медикаментозное лечение, ведение здорового образа жизни, а также фитотерапию. Фитотерапия эффективна на начальных стадиях заболевания, имеет хорошую переносимость и низкую частоту побочных эффектов, по сравнению с синтетическими препаратами.

В Государственный реестр лекарственных средств России входит три средства растительного происхождения, обладающие гипогликемическим действием: сбор «Арфазетин», сбор-порошок «Арфазетин-ЭК»; а также сбор «Арфазетин-Э» [4]. Данные сборы включают в себя такие виды сырья, как корневища и корни элеутерококка колючего, корни аралии маньчжурской, что ограничивает прием данных сборов у людей с гипертензией, продолжительное время и во второй половине дня. На современном этапе является целесообразным расширение ассортимента лекарственных средств растительного происхождения, обладающих гипогликемическим действием.

Для внедрения нового лекарственного средства растительного происхождения в медицинскую практику необходимы определение показателей, характеризующих его качество, а также разработка и валидация методик его стандартизации.

На кафедре фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО

БГМУ МЗ РФ был разработан сбор, обладающий гипогликемической активностью, включающий в себя 7 видов сырья, произрастающего на территории Республики Башкортостан, и разрешенных к применению [6].

Согласно литературным данным компоненты сбора содержат в своем составе соединения фенольной структуры, полисахариды, витамины, терпеноиды и др., из которых доказанным гипогликемическим эффектом обладают флавоноиды [5,10-15,17,19-21]. Флавоноиды способны образовывать пептидные комплексы с белками-мишенями, в результате чего наблюдаются изменения активности ферментных систем, клеточных рецепторов, разрушаются белковые агрегаты, что влияет на функциональную деятельность клеток организма [18]. Флавоноиды проявляют антиоксидантное и панкреатопротекторное действия, облегчают поступление глюкозы в клетки тканей организма, способствуют ускорению выведения глюкозы из организма [9,16].

В связи с вышесказанным одним из показателей качества разработанного сбора нами было выбрано количественное содержание флавоноидов [7].

Целью исследования явилось проведение валидации разработанной методики количественного определения флавоноидов в сборе, обладающем гипогликемической активностью.

Материал и методы

Объектом исследования явился сбор, состоящий из 7 видов лекарственного растительного сырья, разрешенного к применению в официальной медицине: брусники обыкновенной листья (*Vaccinii vitis-idaeae folia*) (ФС.2.5.0063.18), земляники лесной листья (*Fragariae vescae folia*) (ФС.2.5.0016.15), крапивы двудомной листья (*Urticae dioicae folia*) (ФС.2.5.0019.15), подорожника большого листья (*Plantaginis majoris folia*) (ФС.2.5.0032.15), одуванчика лекарственного корни (*Taraxaci*

officinalis radices) (ФС.2.5.0086.18), створки плодов фасоли (*Phaseoli vulgaris valvae fructus*) (ФС 42-2942-93), тысячелистника обыкновенного трава (*Achilleae millefolii herba*) (ФС.2.5.0101.18).

Сбор готовили в соответствии со статьей ОФС.1.4.1.0020.15 «Сборы» [2]. Каждый вид сырья измельчали по отдельности, отсеивая пыль сквозь сито с диаметром отверстий 0,18 мм. Компоненты, входящие в состав сбора, взвешивали по отдельности и в равных весовых долях перемешивали до получения равномерной смеси.

Спектрофотометрические исследования проводились на спектрофотометре Shimadzu UV-1800.

В качестве базовой методики нами была использована методика количественного определения флавоноидов в пересчете на лютеолин, описанная в ФС.2.5.0012.15 «Душицы обыкновенной трава» [3], которая была нами модифицирована для исследуемого сбора.

Исследования по подбору оптимальных условий экстракции проводили с использованием математического планирования факторного эксперимента. Алгоритм составляли методом полностью рандомизированного блочного планирования позволяющего оценить зависимость одного фактора от другого [6].

Валидацию модифицированной методики проводили в соответствии с ОФС 1.1.0012.15 ГФ 14 изд. по характеристикам линейность, правильность и прецизионность [1]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Excel.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований по разработке методики количественного определения флавоноидов необходимо было провести УФ-спектральный анализ извлечений из сбора. Нами был проведен сравнительный анализ УФ-спектров водно-этанольного 70% и водного извлечений из исследуемого сбора и растворов стандартных образцов флавоноидов, идентифицированных ранее в сборе методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) (рутина, лютеолина, кверцетина) [7] с добавлением комплексобразующего компонента (2% спиртовой раствор алюминия хлорида) в диапазоне 250-450 нм. На кривой поглощения водно-этанольного извлечения из сбора максимум

наблюдали при 403 нм, а на кривой поглощения водного извлечения – при 394,95 нм. Данные максимумы являются наиболее близкими к максимуму поглощения комплекса лютеолина с алюминия хлоридом (398 нм) (рис. 1).

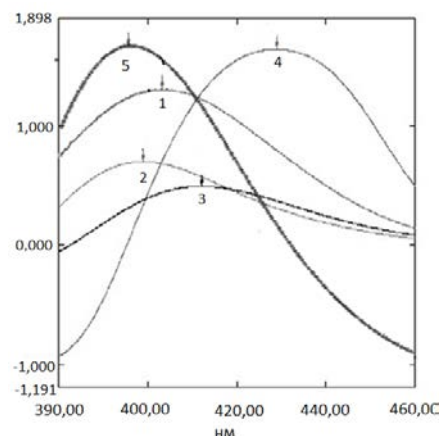


Рис. 1. УФ-спектры водно-этанольного извлечения из сбора (1), СО лютеолина (2), СО рутина (3), СО кверцетина (4), водного извлечения из сбора (5)

Таким образом, дальнейшее определение суммы флавоноидов в исследуемом сборе мы проводили в пересчете на лютеолин.

В ходе модификации методики количественного определения флавоноидов в пересчете на лютеолин [3] нами были подобраны оптимальные условия экстракции. Для этого был использован метод полностью рандомизированного блочного планирования. Управляемыми технологическими факторами при подборе условий явились размер частиц сырья (1 мм, 2 мм, 3 мм), вид экстрагента (вода, водно-этанольный раствор 30%, 70%, 90%) и кратность экстракции.

При использовании в качестве экстрагента воды и водно-этанольного раствора 30% в полученных образцах извлечений из сбора наблюдали выпадения осадка полисахаридов, мешающего проведению спектрофотометрии.

В связи с этим дальнейшие исследования проводили, используя в качестве экстрагента водно-этанольные растворы 70% и 90% (табл. 1,2).

При статистической обработке полученных результатов с использованием критерия Фишера, установлено, что оптимальным является двукратная экстракция водно-этанольным раствором 70% навески сырья, измельченного до 2 мм (табл. 3, 4, 5).

Таблица 1

Результаты определения зависимости выхода флавоноидов от степени измельчения и вида экстрагента

Размер частиц, мм	Экстрагент	
	Водно-этанольный раствор 70%	Водно-этанольный раствор 90%
1	0,59±0,04%	0,40±0,06%
2	0,60±0,04%	0,34±0,11%
3	0,50±0,07%	0,25±0,02%

Таблица 2

Зависимость выхода флавоноидов от кратности экстракции	
Кратность экстракции	Содержание флавоноидов, в пересчете на лютеолин, %
1	0,60±0,04
2	0,82±0,06
3	0,86±0,01

Таблица 3

Сравнение среднего результата при подборе условий (вид экстрагента)							
Водно-этанольный раствор 70%/90%	F	F (P,f)	f	S _p	T	T (P,f)	Статистическая значимость различий
при размере частиц 1 мм	2	9,01	7	0,05	3,80	2,31	значимы
при размере частиц 2 мм	2	9,01	7	0,04	6,50	2,31	значимы
при размере частиц 3 мм	49	9,01	4	0,03	8,33	2,78	значимы

Таблица 4

Сравнение среднего результата при подборе условий (степень измельченности)							
Размер частиц, мм	F	F (P,f)	f	S _p	T	T (P,f)	Статистическая значимость различий
1/2	1	4,39	10	0,02	0,50	2,23	не значимы
1/3	2,45	4,39	10	0,03	3,00	2,23	значимы
2/3	2,45	4,39	10	0,03	3,33	2,23	значимы

Таблица 5

Сравнение среднего результата при подборе условий (кратность экстракции)							
Кратность экстракции	F	F (P,f)	f	S _p	T	T (P,f)	Статистическая значимость различий
1/2	7	5,05	5	0,05	4,61	2,45	значимы
2/3	28	5,05	5	0,05	0,82	2,45	не значимы

Далее нами была проведена валидация модифицированной методики количественно-го определения флавоноидов.

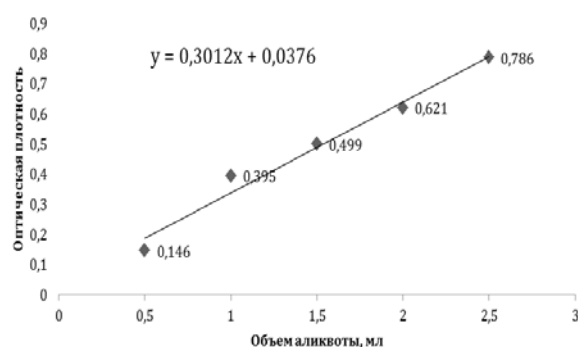


Рис. 2. График зависимости величины показателя поглощения от объема аликвоты

Проверку линейности методики проводили на 5 уровнях концентрации. Для этого исследуемый раствор для измерения погло-

щения готовили с добавлением аликвоты от 0,5 до 2,5 мл с шагом в 0,5 мл (рис. 2).

Параметры линейной регрессии были рассчитаны в программе Excel. Согласно полученным результатам коэффициент корреляции составил 0,977, т.е. он является близким к единице и свидетельствует о линейной зависимости полученных результатов.

Правильность методики устанавливали методом добавок – присоединением в исследуемый раствор известного количества определяемого вещества – лютеолина. Валидируемая методика считается правильной, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних фактических результатов. Полученные результаты показали правильность валидируемой методики. Значения ожидаемых результатов лежат внутри доверительных интервалов фактических результатов (табл. 6).

Таблица 6

Оценка правильности методики определения флавоноидов в сборе			
Содержание флавоноидов, в пересчете на лютеолин в исследуемом растворе, мг/мл	Количество добавленного лютеолина, мг/мл	Ожидаемый результат (истинное значение), мг/мл	Фактический результат, мг/мл
8,2	0,5	8,7	8,7±0,6
	1	9,2	8,9±0,4
	1,5	9,7	9,9±0,6

Прецизионность исследовалась в трех вариантах: повторяемость (сходимость), внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность, межлабораторная прецизионность (воспроизводимость). Критерием приемлемости являлась относительная погрешность среднего результата, значения которой не должна превышать 10%.

Повторяемость оценивалась по независимым результатам исследований, проводимых одним исполнителем в одинаковых условиях одной лаборатории с использованием того же оборудования, одного и того же набора реактивов в пределах короткого промежутка времени (табл. 7).

Определение внутрилабораторной прецизионности проводили два аналитика в 3-х повторностях (табл. 8). Межлабораторная

прецизионность (воспроизводимость) оценивалась в двух разных лабораториях. Полученные результаты представлены в табл. 9.

Таблица 7

Оценка повторяемости методики определения флавоноидов в сборе

№ серии	X, %	X _{ср} , %	S	ΔX _{ср}	ε _{ср} , %
1	0,79	0,83	0,03	0,03	3,61
2	0,82				
3	0,85				
4	0,81				
5	0,84				
6	0,87				

Таблица 8

Оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения флавоноидов в сборе

Повторность	Аналитик	X, %	X _{ср}	S	ΔX _{ср}	ε _{ср} , %
1	1	0,88	0,85	0,08	0,08	9,8
2	1	0,83				
3	1	0,84				
1	2	0,88				
2	2	0,85				
3	2	0,84				

Таблица 9

Оценка межлабораторной прецизионности методики определения флавоноидов в сборе

Повторность	Лаборатория	X, %	X _{ср}	S	ΔX _{ср}	ε _{ср} , %
1	1	0,80	0,82	0,03	0,04	4,36
2	1	0,79				
3	1	0,86				
1	2	0,78				
2	2	0,85				
3	2	0,84				

Полученные результаты показали, что относительная погрешность среднего результата ни в одном случае не превышала 10%, что свидетельствует о повторяемости и внутрилабораторной и межлабораторной прецизионности методики.

Таким образом, результаты эксперимен-

та доказывают линейный характер, правильность и прецизионность разработанной методики спектрофотометрического определения флавоноидов в пересчете на лютеолин, а соответственно и возможность использования данной методики для стандартизации исследуемого сбора.

Сведения об авторах статьи:

Ахметьянова Альфия Рамильевна – ведущий специалист-эксперт отдела контроля деятельности медицинских организаций ТО Росздравнадзора по РБ. Адрес: 450076, г. Уфа, ул. Аксакова, 62. E-mail: a-alfia@yandex.ru.

Шакирова Рената Ринатовна – к.фарм.н., доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: farenata@yandex.ru.

Кудашкина Наталья Владимировна – д.фарм.н., профессор, завкафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации // МЗ РФ – 14-е изд. – М., 2018. – Т. 1. – 1814 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации // МЗ РФ – 14-е изд. – М., 2018. – Т. 2. – 1451 с.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации // МЗ РФ – 14-е изд. – М., 2018. – Т. 4. – 1845 с.
4. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс] / Министерство здравоохранения и социального развития РФ - URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. - Загл. с экрана.
5. Калинкина, Г.И. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты. Учебное пособие. Часть I / Г.И. Калинкина, Н.В. Тихонов, Е.Н. Сальникова – Томск: Изд. СибГМУ, 2004. – 116 с.
6. Патент РФ № 2666398 13.10.2017 Сбор, обладающий гипогликемической активностью // Патент России № 2666398. 2018. Бюл. № 25. / Ю.Ф. Глухов, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Файзуллина, А.Р. Ахметьянова.
7. Файзуллина, Р.Р. Фитохимическое изучение растительной композиции, обладающей гипогликемическим действием / Р.Р. Файзуллина, Н.В. Кудашкина, А.Р. Ахметьянова // Традиционная медицина. – 2015. – №4 (43). – С. 60-62.
8. Хикс Ч. Основные принципы планирования эксперимента / Ч. Хикс: пер. с англ. – М.: Мир, 1967. – 399 с.
9. Чекина, Н.А. Сахарный диабет: возможности терапии с использованием средств растительного происхождения / Н.А. Чекина, С.А. Чукаев, С.М. Николаев // Вестник Бурятского госуниверситета. – 2010 – № 12. – С.71-78.
10. Antioxidant activity and verbascoside content in extracts from two uninvestigated endemic *Plantago* spp / S. Gonçalves, T. Grevenstuck, N. Martins, A. Romano // Industrial Crops and Products. – 2015. – Vol. 65. – P. 198-202.
11. Antioxidant capacity and antioxidants of Strawberry, Blackberry, and Raspberry leaves / L. Buřičová, M. Andjelkovic, A. Čermáková [et al.] // Czech Journal of Food Sciences. – 2011. – Vol. 29, №. 2. – P. 181-189.
12. Antioxidant properties of *Taraxacum officinale* leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice / D. Colle, L.P. Arantes, P. Gubert [et al.] // Journal of medicinal food. – 2012. – Vol. 15, №. 6. – P. 549-556.
13. Barrett, M.L. A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (*Phaseolus vulgaris*): a review of clinical studies on weight loss and glycemic control / M.L. Barrett, J.K. Udani // Nutrition journal. – 2011. – Vol. 10, №. 1. – P. 24.

14. Cardiovascular effects in vitro of aqueous extract of wild strawberry (*Fragaria vesca*, L.) leaves / I. Mudnic, D. Modun, I. Brizic [et al.] // *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. – 2009. – Vol. 16, № 5. – P. 462-469.
15. Gonçalves, S. The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae) / S. Gonçalves, A. Romano // *Industrial Crops and Products*. – 2016. – Vol. 83. – P. 213-226.
16. Hajiaghaalipour, F. Modulation of glucose transporter protein by dietary flavonoids in Type 2 Diabetes mellitus / F. Hajiaghaalipour, M. Khalilpourfarshbafi, A. Arya // *International Journal of Biological Sciences*. – 2015. – Vol. 11. – P. 508-524.
17. In vitro effects of *Plantago* major extract, aucubin, and baicalin on *Candida albicans* biofilm formation, metabolic activity, and cell surface hydrophobicity / K.P. Shirley, L.J. Windsor, G.J. Eckert, R.L. Gregory // *Journal of Prostodontics*. – 2017. – Vol. 26, № 6. – P. 508-515.
18. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis / S. Quideau [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2011. – Vol. 50, № 3. – P. 586-621.
19. Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection / D. Orčić, M. Francisković, K. Bekvalac [et al.] // *Food chemistry*. – 2014. – Vol. 143. – P. 48-53.
20. Yildirim, A.B. Effects of regeneration enhancers on micropropagation of *Fragaria vesca* L. and phenolic content comparison of field-grown and in vitro-grown plant materials by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) / A.B. Yildirim, A.U. Turker // *Scientia Horticulturae*. – 2014. – № 169. – P. 169-178.
21. α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source / P.M. Sales, P.M. Souza, L.A. Simeoni [et al.] // *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. – 2012. – Vol. 15, № 1. – P. 141-183.

REFERENCES

1. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii // MZ RF – 14th ed. – M., 2018. – T. 1 –1814 p. (in Russ)
2. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii // MZ RF – 14th ed. – M., 2018. – T. 2 –1451 p. (in Russ)
3. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii // MZ RF – 14 th ed. – M., 2018. – T. 4 –1845 p. (in Russ)
4. Gosudarstvennyi reestr lekarstvennykh sredstv [Elektronnyi resurs] / Ministerstvo zdravookhraneniya i sotsial'nogo razvitiya RF - URL: http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx.-Zagl.s_ekrana (In Russ).
5. Kalinkina, G.I. *Lekarstvennye rasteniya, syr'e i fitopreparaty. Uchebnoe posobie. Chast' I* / G.I. Kalinkina, N.V. Tikhonov, E.N. Sal'nikova – Tomsk: Izd. SibGMU, 2004. – 116 p. (In Russ).
6. Patent RF № 2666398 13.10.2017 Sbor, obladayushchij gipoglikemicheskoy aktivnost'yu // Patent Rossii № 2666398. 2018. Byul. № 25. / YU.F. Gluhov, N.V. Kudashkina, R.R. Faizullina, A.R. Ahmetyanova (in Russ)
7. Faizullina R.R. Phytochemical study of plant compositions with hypoglycemic action / R.R. Faizullina, N.V. Kudashkina, A.R. Akhmetyanova // «Traditsionnaya meditsina». - 2015. - №4 (43). - P. 60-62. (in Russ)
8. Hicks Ch. Fundamental concepts in the design of experiments / Ch. Hicks // Transl. from English. – M.: Mir, 1967. - 399 p. (in Russ)
9. Chekina N.A. Diabetes mellitus: possibilities of pharmacotherapy using plant remedies / N.A. Chekina, S.A. Chukaev, S.M. Nikolaev // *Vestnik Buryatskogo Gosuniversiteta*. – 2010 – № 12 – P.71 – 78. (In Russ);
10. Antioxidant activity and verbascoside content in extracts from two uninvestigated endemic *Plantago* spp / S. Gonçalves, T. Grevenstuck, N. Martins, A. Romano // *Industrial Crops and Products*. – 2015. – Vol. 65. – P. 198-202. (In Eng., doi: 10.1016/j.indcrop.2014.12.011).
11. Antioxidant capacity and antioxidants of Strawberry, Blackberry, and Raspberry leaves / L. Buřicová, M. Andjelkovic, A. Čermáková [et al.] // *Czech Journal of Food Sciences*. – 2011. – Vol. 29, № 2. – P. 181-189. (In Eng., doi:10.17221/300/2010-cjfs)
12. Antioxidant properties of *Taraxacum officinale* leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice / D. Colle, L.P. Arantes, P. Gubert [et al.] // *Journal of medicinal food*. – 2012. – Vol. 15, № 6. – P. 549-556. (In Eng., doi:10.1089/jmf.2011.0282)
13. Barrett, M.L. A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (*Phaseolus vulgaris*): a review of clinical studies on weight loss and glycemic control / M.L. Barrett, J.K. Udani // *Nutrition journal*. – 2011. – Vol. 10, № 1. – P. 24. (In Eng., doi:10.1186/1475-2891-10-24)
14. Cardiovascular effects in vitro of aqueous extract of wild strawberry (*Fragaria vesca*, L.) leaves / I. Mudnic, D. Modun, I. Brizic [et al.] // *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. – 2009. – Vol. 16, № 5. – P. 462-469. (In Eng., doi:10.1016/j.phymed.2008.11.004)
15. Gonçalves, S. The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae) / S. Gonçalves, A. Romano // *Industrial Crops and Products*. – 2016. – Vol. 83. – P. 213-226. (In Eng., doi:10.1016/j.indcrop.2015.12.038)
16. Hajiaghaalipour, F. Modulation of glucose transporter protein by dietary flavonoids in Type 2 Diabetes mellitus / F. Hajiaghaalipour, M. Khalilpourfarshbafi, A. Arya // *International Journal of Biological Sciences*. – 2015. – Vol. 11. – P. 508-524. (In Eng., doi: 10.7150/ijbs.11241);
17. In vitro effects of *Plantago* major extract, aucubin, and baicalin on *Candida albicans* biofilm formation, metabolic activity, and cell surface hydrophobicity / K.P. Shirley, L.J. Windsor, G.J. Eckert, R.L. Gregory // *Journal of Prostodontics*. – 2017. – Vol. 26, № 6. – P. 508-515. (In Eng., doi:10.1111/jopr.12411)
18. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis / S. Quideau [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition*. – 2011. – Vol. 50, № 3. – P. 586-621. (In Eng., doi:10.1002/anie.201000044).
19. Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection / D. Orčić, M. Francisković, K. Bekvalac [et al.] // *Food chemistry*. – 2014. – Vol. 143. – P. 48-53. (In Eng., doi:10.1016/j.foodchem.2013.07.097)
20. Yildirim, A.B. Effects of regeneration enhancers on micropropagation of *Fragaria vesca* L. and phenolic content comparison of field-grown and in vitro-grown plant materials by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) / A.B. Yildirim, A.U. Turker // *Scientia Horticulturae*. – 2014. – № 169. – P. 169-178. (In Eng., doi:10.1016/j.scienta.2014.01.038)
21. α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source / P.M. Sales, P.M. Souza, L.A. Simeoni [et al.] // *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. – 2012. – Vol. 15, № 1. – P. 141-183. (In Eng., doi:10.18433/J35S3K)