

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-85-90](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-85-90)
УДК 615.32



Оригинальная статья / Research article

Разработка параметров стандартизации травы культивируемого вида манжетка мягкая (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.)

В. Д. Бояршинов✉, Е. В. Зорина

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Бояршинов Виталий Дмитриевич. E-mail: vitaly.boyarshinov@yandex.ru

ORCID: В. Д. Бояршинов – <https://orcid.org/0000-0002-8605-0847>; Е. В. Зорина – <https://orcid.org/0000-0002-7401-8196>.

Статья поступила: 14.10.2022

Статья принята в печать: 09.12.2022

Статья опубликована: 27.12.2022

Резюме

Введение. Для внедрения в фармацевтическую практику предлагается трава манжетки с целью получения экстрактов, обладающих различными видами фармакологической активности. Для расширения сырьевой базы манжеток предложено использовать культивируемое растение с высокой биомассой – манжетку мягкую (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.). Трава манжетки мягкой по качественным и количественным характеристикам химического состава сопоставима с образцами сырья дикорастущих манжеток. Наличие хемотаксономических особенностей обуславливает необходимость подготовки нормативной документации для внедрения данного растения в качестве источника лекарственного сырья.

Цель. Цель исследования разработка методики оценки основной группы БАВ и количественного определения флавоноидов в траве манжетки мягкой.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали образцы травы манжетки мягкой, заготовленной от культивируемых на территории Пермского края растений. Хроматографические параметры подлинности сырья определяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Для разработки параметров количественного определения суммы флавоноидов в траве манжетки мягкой осуществляли модификацию методики предложенной для травы манжетки.

Результаты и обсуждение. При проведении хроматографического исследования в траве манжетки мягкой идентифицированы цинарозид, рутин, кверцетин. К маркерным веществам травы манжетки мягкой отнесён цинарозид. В качестве оптимальной хроматографической системы выбрана этилацетат:уксусная кислота (85:15). Проведена модификация и валидация методики количественного определения флавоноидов в траве манжетки. Обоснована смена экстрагента, размера частиц, времени и кратности экстракции для проведения пробоподготовки и использование цинарозида в качестве стандартного вещества. Установлены оптимальные условия реакции комплексообразования с алюминия хлоридом.

Заключение. Для определения подлинности травы манжетки мягкой предложено использовать идентификацию цинарозида методом ТСХ. Модифицированная методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчёте на цинарозид для травы манжетки мягкой, воспроизводима, правильна и может быть использована для стандартизации. При апробации методики на образцах сырья, заготовленных в Пермском крае, установлен диапазон значений содержания флавоноидов 3,14–4,84 %, со средним уровнем варибельности.

Ключевые слова: манжетка мягкая, *Alchemilla mollis*, тонкослойная хроматография (ТСХ), спектрофотометрия, флавоноиды, цинарозид

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

Вклад авторов. Авторы провели планирование исследования, сбор данных, анализ литературы, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка рукописи осуществлено авторами в равной степени.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 год.

Для цитирования: Бояршинов В. Д., Зорина Е. В. Разработка параметров стандартизации травы культивируемого вида манжетка мягкая (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2022;11(4-1):85–90. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-85-90](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-85-90)

Development of Quality Control Parameters for Standardization of Herb of the Cultivated Plant *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.

Vitaly D. Boyarshinov✉, Elena V. Zorina

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Vitaly D. Boyarshinov. E-mail: vitaly.boyarshinov@yandex.ru

ORCID: Vitaly D. Boyarshinov – <https://orcid.org/0000-0002-8605-0847>; Elena V. Zorina – <https://orcid.org/0000-0002-7401-8196>.

Received: 14.10.2022

Revised: 09.12.2022

Published: 27.12.2022

© Бояршинов В. Д., Зорина Е. В., 2022

© Boyarshinov V. D., Zorina E. V., 2022

Abstract

Introduction. *Alchemilla* herb is proposed for introduction into pharmaceutical practice, for obtaining extracts with various pharmacological activity. To expand, resource base of *Alchemilla* it has been proposed to use a high biomass cultivated plant – *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. In terms of qualitative and quantitative characteristics of the chemical composition *Alchemilla mollis* herb is comparable to the samples of raw materials of wild-growing *Alchemilla*. The presence of chemotaxonomic features necessitates the preparation of regulatory documentation for the introduction of this plant as a source of medicinal raw materials.

Aim. Development of a methodology for assessing the main group of biologically active substances and the quantitative determination of flavonoids in *Alchemilla mollis* herb.

Materials and methods. As objects of study, we used *Alchemilla mollis* herb harvested from plants cultivated in the Perm Krai. The chromatographic parameters of raw material authenticity were determined by thin layer chromatography (TLC). To develop the parameters for the quantitative determination of flavonoids in *Alchemilla mollis* herb, a modification of the method proposed for *Alchemilla* herb was carried out.

Results and discussion. During chromatographic study of *Alchemilla mollis* herb were identified cinaroside, rutin, and quercetin. Cynaroside was referred to the marker substances. Ethyl acetate:acetic acid (85:15) was chosen as the optimal chromatographic system. A modification and validation of the method for the quantitative determination of flavonoids in *Alchemilla* herb was carried out. The change of the extractant, particle size, time and frequency of extraction for sample preparation and the optimal use of cynaroside as a standard substance are substantiated. The optimal conditions for the reaction of complex formation with aluminum chloride are established.

Conclusion. To determine the authenticity of *Alchemilla mollis* herb, it was proposed to use the identification of cynaroside by TLC. The modified method for the quantitative determination of flavonoids in terms of cynaroside for the *Alchemilla mollis* herb, reproducible, correct and can be used for standardization. When testing the methodology on samples of raw materials harvested in the Perm region, a range of values for the content of flavonoids was 3.14–4.84 %, with an average level of variability.

Keywords: *Alchemilla mollis*, thin layer chromatography (TLC), spectrophotometry, flavonoids, cynaroside

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. The authors carried out the planning of the study, data collection, literature analysis, analysis and interpretation of the obtained data, preparation of the manuscript were carried out by the authors equally.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2022.

For citation: Boyarshinov V. D., Zorina E. V. Development of quality control parameters for standardization of herb of the cultivated plant *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. *Drug development & registration*. 2022;11(4–1):85–90. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-85-90](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-85-90)

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для внедрения в фармацевтическую практику предлагается трава манжетки обыкновенной (*Alchemilla vulgaris* L. s. l) сем Розоцветные (*Rosaceae*). Водные экстракты, получаемые из данного вида сырья, проявляют гипогликемическую и гиполипидемическую [1], иммуномодулирующую [2], нейтропротекторную [3] активности. Для спиртовых экстрактов травы манжетки выявлены противомикробный [4, 5] и гемореологический [6], гепатопротекторный [7], дерматопротективный [8, 9] эффекты. Согласно данным литературы преобладающими группами биологически активных веществ (БАВ) в траве манжетки являются флавоноиды производные лютеолина и кверцетина [10, 11].

Стандартизацию травы манжетки предлагают проводить по содержанию различных групп БАВ. В качестве химических маркеров для стандартизации (идентификации) сырья предложены рутин, гиперозид, галловая и кофейная кислоты, агримониин, пролин, оксилезин [6]. Для количественного анализа предложены методики определения флавоноидов

дифференциальной спектрофотометрией с использованием в качестве стандартного образца рутина [12], цинарозида [13], кверцетина [14]. В работе Ж. С. Лесовой с соавторами [15] предложена методика оценки содержания флавоноидов как суммы 7-О-гликозидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид и 3-О-гликозидов в пересчете на кверцетин. В Европейской фармакопее нормируется содержание дубильных веществ в пересчете на пирогаллол, которые определяют в реакции с фосфорно-вольфрамовым реактивом.

Для расширения сырьевой базы манжеток предложено использовать культивируемое растение с высокой биомассой – манжетку мягкую (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.) [16]. Трава, полученная от данного микровида, по качественным и количественным характеристикам химического состава сопоставима с образцами сырья дикорастущих манжеток, при наличии хемотаксономической особенности в большем накоплении дубильных веществ [17].

Для дальнейшего внедрения данного растения в качестве источника сырья для получения лекарственных средств необходима подготовка нормативной документации, в которой определены требования к

подлинности, качеству и содержанию действующих веществ.

Цель исследования разработка методики оценки основной группы БАВ и количественного определения флавоноидов в траве манжетки мягкой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали образцы травы манжетки мягкой, заготовленной от культивируемых на территории Пермского края растений (участок 1 – Пермский район, 7 км от п. Кукуштан; участок 2 – г. Пермь, питомник ФГБОУ ВО Пермский ГАТУ, участок 3 – Пермский район, д. Кулики) в период 2021 по 2022 года. Растительное сырье собирали в период массового цветения, высушивали воздушно-теневым способом согласно правилам заготовки травы манжетки обыкновенной [12]. Все реактивы и растворители были использованы марки х.ч. и ч.д.а. (АО «ВЕКТОН», Россия). Спектрофотометрические определения проводили на приборе СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Хроматографические параметры подлинности сырья определяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Разделение проводили на пластинках Sorbfil (ПТСХ-П-А) (ООО «ИМИД», Россия). Для выбора оптимальной хроматографической системы были апробированы следующие: муравьиная кислота:вода:этилацетат (8:8:84), этилацетат:уксусная кислота (85:15), бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:2). Детектирование проводили путем оценки хроматограмм в видимом и УФ-свете (254 нм и 365 нм) до и после обработки 2%-м раствором алюминия хлорида. В качестве стандартов использовали аутентичные образцы рутина, кверцетина, цинарозида, лютеолина (содержание 98,0 %, Dr. Ehrenstorfer GmbH, Германия, 80212) в виде 0,05%-х спиртовых растворов.

Для разработки параметров количественного содержания флавоноидов в траве манжетки мягкой осуществляли модификацию методики предложенной для травы манжетки [12], использовали стандартный раствор цинарозида 0,05 %.

Валидацию методик осуществляли согласно ОФС.1.1.0012.15. Влажность определяли в соответствии с ОФС.1.5.3.0007.15. Статистическую обработку осуществляли в соответствии с ОФС.1.1.0013.15.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения параметров подлинности сырья проведено ТСХ исследование в трех хроматографических системах со значениями полярности (P) 4,97–6,02, выбранных в соответствии с алгоритмом, предложенным в работе [18]. Во всех апробируемых хроматографических системах в водных и спиртовых извлечениях травы манжетки мягкой идентифицирован цинарозид. В исследуемых извлечениях травы манжетки мягкой рутин идентифицировали в системе этилацетат:уксусная кислота (85:15). В спиртовых

извлечениях при использовании систем муравьиная кислота:вода:этилацетат (8:8:84) и этилацетат:уксусная кислота (85:15) идентифицирован кверцетин. На основании полученных данных к веществу маркеру травы манжетки мягкой отнесен цинарозид. В качестве хроматографической системы целесообразно использовать этилацетат:уксусная кислота (85:15), так как в данной системе происходит наилучшее разделение гликозидных форм флавоноидов травы манжетки мягкой, что обеспечивает специфичность определения цинарозида. Дополнительными преимуществами данной системы является двухкомпонентность и наименьшее время хроматографирования.

Для извлечения флавоноидов травы манжетки мягкой возможно использование в качестве экстрагента воду очищенную или спирт этиловый 95 %.

Методика определения основных групп БАВ в траве манжетки мягкой. На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на полимерной подложке размером 10 × 10 см наносят 10 мкл испытуемого раствора и рядом 5 мкл раствора СО цинарозида. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 60 мин смесью растворителей этилацетат:уксусная кислота (85:15) и хроматографируют восходящим способом. После прохождения фронтом растворителей не менее 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Пластинку обрабатывают алюминия хлорида спиртовым раствором 2 %, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 3–5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме раствора СО цинарозида должна обнаруживаться зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета. На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: одна зона адсорбции с флуоресценцией желтого или коричневого цвета на уровне зоны СО цинарозида; две зоны адсорбции с флуоресценцией желтого или желто-коричневого цвета ниже зоны цинарозида, зона адсорбции с флуоресценцией желтого цвета выше зоны цинарозида; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Как уже было отмечено, преобладающей группой фенольных соединений в сырье являются флавоноиды, для количественного определения которых предлагается использовать методику дифференциальной спектрофотометрии.

В результате изучения УФ-спектров поглощения водных и спиртовых извлечений из травы манжетки мягкой установлено, что в области характерной для поглощения флавоноидов отсутствуют выраженные максимумы, вследствие чего использование прямой спектрофотометрии для оценки качества сырья не представляется возможным. При реакции извлечений с алюминия хлоридом наблюдали четко выражен

ный максимум, который зависел от вида экстрагента и его концентрации.

Согласно литературным данным [10, 11] и результатам качественного анализа в траве манжетки мягкой сумма флавоноидов представлена гликозидами и агликонами. Вследствие различной растворимости форм флавоноидов в воде и органических растворителях, проведено исследование по выбору экстрагента, который максимально полно извлекал бы сумму этих соединений. Извлечение флавоноидов осуществляли водой очищенной, спиртом этиловым в концентрации 50, 70, 80 и 95 %, результаты определения оптической плотности представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты спектрофотометрии извлечений травы манжетки мягкой

Table 1. The results of spectrophotometry of extracts of *Alchemilla mollis* herb

Экстрагент Extracting agent	Среднее значение Mean	
	Максимум поглощения (λ), нм Absorption maximum (λ), nm	Оптической плотности (A) Absorbance (A)
Вода Water	398 ± 1	0,43 ± 0,01
Спирт этиловый 50 % Ethyl alcohol 50 %	398 ± 0	0,32 ± 0,02* ¹
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol 70 %	398 ± 0	0,37 ± 0,01* ^{1,2}
Спирт этиловый 80 % Ethyl alcohol 80 %	403 ± 3	0,25 ± 0,07* ^{1,3}
Спирт этиловый 95 % Ethyl alcohol 95 %	399 ± 7	0,11 ± 0,02* ^{1,2,3,4}

Примечание. *¹ $p < 0,05$ в сравнении со значениями извлечения, экстрагент вода; *² $p < 0,05$ в сравнении со значениями извлечения, экстрагент спирт этиловый 50 %; *³ $p < 0,05$ в сравнении со значениями извлечения, экстрагент спирт этиловый 70 %; *⁴ $p < 0,05$ в сравнении со значениями извлечения, экстрагент спирт этиловый 80 %.

Note. *¹ $p < 0,05$ compared to recovery values, extractant water; *² $p < 0,05$ compared to recovery values, extractant ethyl alcohol 50 %; *³ $p < 0,05$ compared to recovery values, extractant ethyl alcohol 70 %; *⁴ $p < 0,05$ compared to recovery values, extractant ethyl alcohol 80 %.

Преимущество экстрагента определяли по наибольшему значению оптической плотности в максимуме поглощения. Водные извлечения показали наибольшие значения оптической плотности и стабильный максимум поглощения.

Дифференциальный спектр комплекса флавоноидов водного извлечения с алюминия хлоридом характеризовался четко выраженным максимумом при длине волны 398 ± 1 нм. Дифференциальные кривые комплексов флавоноидов и СО цинарозида с алюминия хлоридом совпадали по конфигурации и максимуму поглощения (рисунок 1).

Следует отметить, что трава манжетки мягкой густо опушена и при сильном измельчении фрагменты листовых пластинок комковались за счет смыкания волосков. Вследствие чего требовались дополнительные исследования по выбору размера частиц

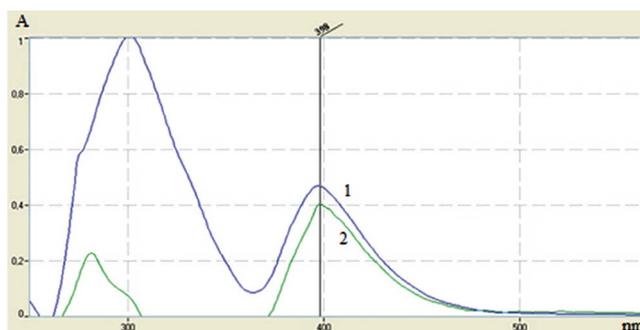


Рисунок 1. Спектры поглощения комплексов флавоноидов с алюминия хлорида:

1 – водного извлечения травы манжетки мягкой; 2 – цинарозида

Figure 1. Absorption spectra of flavonoid complexes with aluminum chloride

1 – aqueous extract of *Alchemilla mollis* herb; 2 – cynaroside

для максимального извлечения флавоноидов. Установлено, что при измельчении сырья до размера частиц от 0,5 до 1,0 мм средняя оптическая плотность составляет 0,4407 ± 0,0118, при размере частиц от 1,0 до 2,0 мм средняя оптическая плотность составляет 0,5387 ± 0,0025. По-видимому, «комки» сырья плохо смачиваются экстрагентом, что приводит к меньшему выходу флавоноидов.

Результаты модификации методики по параметрам размер частиц и экстрагент свидетельствуют о необходимости определения оптимальных параметров экстракции. Извлечения, полученные при однократной экстракции в течение одного часа (0,43 ± 0,01), при двукратной экстракции по 45 минут (0,38 ± 0,06) и при трехкратной экстракции по 30 минут (0,43 ± 0,02), не имели статистически значимых различий в оптической плотности. В целях сокращения затрат при использовании методики, считаем рациональным однократное извлечение в течение одного часа.

При определении условий протекания реакции комплексообразования с алюминия хлоридом наибольшие значения оптической плотности наблюдали при соотношении объемов извлечения и реактива 1:2, что определяет его оптимальность. При сравнении оптических плотностей продуктов реакций, протекающих в воде (0,6044 ± 0,0080) и 95%-м этаноле (0,4041 ± 0,0093, $p < 0,05$) установлено, оптимальным растворителем является вода. Стабильность оптической плотности наступала через 30 минут с момента получения комплекса и сохранялась в течение 2 часов.

Валидацию методики проводили по показателям специфичность, линейность, правильность, прецизионность. Селективность методики обусловлена тем, что реакция комплексообразования с алюминия хлоридом является специфичной для флавоноидов за счет батохромного сдвига спектра продукта реакции, позволяющего отделить их от группы сопутствующих веществ фенольной природы. Использование в ка-

честве раствора сравнения извлечение без реактива при измерении оптической плотности исключает влияние окрашенных, а также других соединений, содержащихся в растительном сырье.

Линейная зависимость между величинами оптической плотности и содержанием флавоноидов в извлечениях из травы манжетки описывается уравнением:

$$Y = 2,2 \times X + 0,2; r = 0,998 (p = 0,00012),$$

что свидетельствует о соблюдении линейной зависимости в интервале 50–150 % от номинального значения определяемой величины.

Оценку правильности осуществляли методом модельных смесей. Для уравнения линейной зависимости между экспериментально найденными и расчетными величинами тангенс угла наклона прямой равнялся единице, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки.

Метрологические характеристики представлены в таблице 2, ошибка единичного определения составила 2,38 %.

Таблица 2. Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в траве манжетки мягкой

Table 2. Metrological characteristics of the method of quantitative determination of flavonoids in *Alchemilla mollis* herb

n	f	\bar{x}	S ²	S	P, %	t _{p,n}	Δx	ε, %
6	5	2,52	0,00319	0,05648	95	2,57	0,06	2,38

При определении внутрилабораторной прецизионности в семи повторностях, величина относительного стандартного отклонения RSD = 2,21 %. Полученные результаты подтверждают прецизионность методики.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве манжетки мягкой. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья (размер частиц мене 2 мм) помещали в коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 100 мл воды очищенной и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут. Горячее извлечение фильтровали через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. После охлаждения объем извлечения доводили до метки растворителем. Реакцию комплексообразования осуществляли следующим образом: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл полученного извлечения, прибавляли 2 мл 2%-го раствора алюминия хлорида в 95%-м этиловом спирте, 1 каплю разведенной уксусной кислоты и доводили объем раствора до метки водой очищенной. Через 40 минут измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре. Для получения раствора сравнения: 1 мл извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 1 каплю разведенной уксусной кислоты и доводили объем раствора водой, очищенной до метки.

Апробация методики количественного определения флавоноидов проведена на образцах травы манжетки мягкой, культивируемой на опытных участках в Пермском крае (таблица 3).

Таблица 3. Содержание флавоноидов в траве манжетки мягкой

Table 3. The content of flavonoids in *Alchemilla mollis* herb

Место и период заготовки Place and period of harvesting	Содержание флавоноидов, % Flavonoid content, %
Участок 1, 2021 г. Field 1, 2021 year	4,10 ± 0,09
Участок 2, 2021 г. Field 2, 2021 year	4,84 ± 0,06
Участок 3, 2021 г. Field 3, 2021 year	4,55 ± 0,08
Участок 1, 2022 г. Field 1, 2022 year	4,50 ± 0,06
Участок 2, 2022 г. Field 2, 2022 year	3,14 ± 0,06

Сумма флавоноидов для исследуемых образцов варьирует от 3,14 до 4,84 % (в пересчете на цинарозид). Содержание флавоноидов в культуре манжетки мягкой характеризуется средней вариабельностью (коэффициент вариации 14 %), в отличие от дикорастущих видов [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для определения подлинности травы манжетки мягкой предложено использовать идентификацию цинарозида в качестве маркерного вещества методом ТСХ. Модифицированная методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид для травы манжетки мягкой, воспроизводима, правильна и может быть использована для стандартизации. При апробации методики на образцах сырья, заготовленных в Пермском крае, установлен диапазон значений содержания флавоноидов 3,14–4,84 %.

ЛИТЕРАТУРА

- Юшкова Т. А., Зорина Е. В., Белоногова В. Д. Оценка антидиабетической активности экстракта травы *Alchemilla vulgaris*. *Дневник казанской медицинской школы*. 2017;III(XVII):49–53.
- Юшков В. В., Зорина Е. В., Юшкова Т. А. Оценка иммуностропной активности настоя травы манжетки. *Российский иммунологический журнал*. 2014;8(17)3:755–757.
- Шилова И. В., Сулов Н. И., Самылина И. А., Баева В. М., Лазарева Н. Б., Мазин Е. В. Нейропротекторные свойства настоя манжетки обыкновенной. *Химико-фармацевтический журнал*. 2019;53(11):37–41. DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-11-37-41.
- Мазуркова Н. А., Проценко М. А., Филиппова Е. И., Кукушкина Т. А., Высочина Г. И., Лобанова И. Е., Мазурков О. Ю., Шишкина Л. Н., Агафонов А. П. Исследование противовирусной активности экспериментальных образцов препаратов, полученных из травы и корней *Alchemilla vulgaris* L. в отношении вирусов осповакцины и оспы мышей. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(4):9–15. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-4-9-15
- Boroja T., Mihailović V., Katanić J., Pan S. P., Nikles S., Imbimbo P., Monti D. M., Stanković N., Stanković M. S., Bauer R. The biological activities of roots and aerial parts of *Alchemilla vulga-*

- ris L. *South African Journal of Botany*. 2018;116:175–184. DOI: 10.1016/j.sajb.2018.03.007
- Лобанова И. Е., Высочина Г. И., Мазуркова Н. А., Кукушкина Т. А., Филиппова Е. И. Виды рода *Alchemilla* L. (Rosaceae): химический состав, биологическая активность, использование в медицине (обзор). *Химия растительного сырья*. 2019;1:5–22. DOI: 10.14258/jcprpm.2019014032.
 - Jurić T., Katanić Stanković J. S., Rosic G., Selakovic D., Joksimović J., Mišić D., Stanković V. D., Mihailović V. Protective effects of *Alchemilla vulgaris* L. extracts against cisplatin-induced toxicological alterations in rats. *South African Journal of Botany*. 2020;128:141–151. DOI: 10.1016/j.sajb.2019.09.010.
 - Hwang E., Ngo H., Seo S. A., Park B., Zhang M., Yi T. H. Protective effect of dietary *Alchemilla mollis* on UVB-irradiated premature skin aging through regulation of transcription factor NFATc1 and Nrf2/ARE pathways. *Phytomedicine*. 2018;39:125–136. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.12.025.
 - Tasić-Kostov M., Arsić I., Pavlović D., Stojanović S., Najman S., Naumović S., Tadić V. Towards a modern approach to traditional use: in vitro and in vivo evaluation of *Alchemilla vulgaris* L. gel wound healing potential. *Journal of ethnopharmacology*. 2019;238:111789. DOI: 10.1016/j.jep.2019.03.016.
 - Dos Santos Szewczyk K., Pietrzak W., Klimek K., Grzywa-Celińska A., Celiński R., Gogacz M. LC-ESI-MS/MS Identification of Biologically Active Phenolics in Different Extracts of *Alchemilla acutiloba* Opiz. *Molecules*. 2022;27(3):621. DOI: 10.3390/molecules27030621.
 - Mandrone M., Coqueiro A., Poli F., Antognoni F., Choi Y. H. Identification of a Collagenase-Inhibiting Flavonoid from *Alchemilla vulgaris* Using NMR-Based Metabolomics. *Planta medica*. 2018;84(12–13):941–946. DOI: 10.1055/a-0630-2079.
 - Зорина Е. В. Фармакогностическое изучение видов рода *Alchemilla* L. Пермского края. Дис. ... канд. фарм. наук. Пермь. 2009. Доступно по: <https://www.dissercat.com/content/farmakognosticheskoe-izuchenie-vidov-roda-alchemilla-l-permskogo-kraja> Ссылка активна на 14.09.2022.
 - Андреева В. Ю., Калинкина Г. И. Разработка методики количественного определения флавоноидов в манжетке обыкновенной *Alchemilla vulgaris* L. S. L. *Химия растительного сырья*. 2000;1:85–88.
 - Stanilova M., Gorgorov R., Trendafilova A., Nikolova M., Vitkova A. Influence of nutrient medium composition on in vitro growth, polyphenolic content and antioxidant activity of *Alchemilla mollis*. *Natural Product Communications*. 2012;7:1–6.
 - Лесовая Ж. С., Писарев Д. И., Новиков О. О., Романова Т. А. Разработка методики количественного определения флавоноидов в траве манжетки обыкновенной *Alchemilla vulgaris* L. S. L. *Актуальные проблемы медицины*. 2010;22(93):145–149.
 - Зорина Е. В., Бояршинов В. Д. Первичная интродукция манжетки мягкой *Alchemilla mollis*. *Вестник ПГФА*. 2018;22:143–144.
 - Бояршинов В. Д., Зорина Е. В. Сравнительный анализ химического состава травы культивируемого вида манжетка мягкая (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.) и дикорастущего манжетка обыкновенная (*Alchemilla vulgaris* L.s.l.). *Химия растительного сырья*. 2022;1:115–122. DOI: 10.14258/jcprpm.20220110291.
 - Тринеева О. В. Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного сырья методом ТСХ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(2):69–79. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-69-79.
 - Shilova I. V., Suslov N. I., Mazin E. V., Samylyna I. A., Baeva V. M., Lazareva N. B. Neuroprotective properties of common lady's mantle infusion. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;53(11):1059–1062. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-11-37-41.
 - Mazurkova N. A., Protsenko M. A., Filippova E. I., Kukushkina T. A., Vysochina G. I., Lobanova I. E., Mazurkov O. Yu., Shishkina L. N., Agafonov A. P. Investigation of the Antiviral Activity of Experimental Samples Obtained from the Grass and Roots of *Alchemilla vulgaris* L. Against Vaccinia Virus and Ectromelia Virus. *Drug development & registration*. 2019;8(4):9–15. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-4-9-15.
 - Boroja T., Mihailović V., Katanić J., Pan S. P., Nikles S., Imbimbo P., Monti D. M., Stanković N., Stanković M. S., Bauer R. The biological activities of roots and aerial parts of *Alchemilla vulgaris* L. *South African Journal of Botany*. 2018;116:175–184. DOI: 10.1016/j.sajb.2018.03.007
 - Lobanova I. E., Vysochina G. I., Mazurkova N. A., Kukushkina T. A., Filippova T. I. Species of the genus *Alchemilla* L. (Rosaceae): chemical composition, biological activity and use in medicine (review). *Chemistry of plant raw material*. 2019;1:15–22. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprpm.2019014032.
 - Jurić T., Katanić Stanković J. S., Rosic G., Selakovic D., Joksimović J., Mišić D., Stanković V. D., Mihailović V. Protective effects of *Alchemilla vulgaris* L. extracts against cisplatin-induced toxicological alterations in rats. *South African Journal of Botany*. 2020;128:141–151. DOI: 10.1016/j.sajb.2019.09.010.
 - Hwang E., Ngo H., Seo S. A., Park B., Zhang M., Yi T. H. Protective effect of dietary *Alchemilla mollis* on UVB-irradiated premature skin aging through regulation of transcription factor NFATc1 and Nrf2/ARE pathways. *Phytomedicine*. 2018;39:125–136. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.12.025.
 - Tasić-Kostov M., Arsić I., Pavlović D., Stojanović S., Najman S., Naumović S., Tadić V. Towards a modern approach to traditional use: in vitro and in vivo evaluation of *Alchemilla vulgaris* L. gel wound healing potential. *Journal of ethnopharmacology*. 2019;238:111789. DOI: 10.1016/j.jep.2019.03.016.
 - Dos Santos Szewczyk K., Pietrzak W., Klimek K., Grzywa-Celińska A., Celiński R., Gogacz M. LC-ESI-MS/MS Identification of Biologically Active Phenolics in Different Extracts of *Alchemilla acutiloba* Opiz. *Molecules*. 2022;27(3):621. DOI: 10.3390/molecules27030621.
 - Mandrone M., Coqueiro A., Poli F., Antognoni F., Choi Y. H. Identification of a Collagenase-Inhibiting Flavonoid from *Alchemilla vulgaris* Using NMR-Based Metabolomics. *Planta medica*. 2018;84(12–13):941–946. DOI: 10.1055/a-0630-2079.
 - Zorina E. V. Pharmacognostic study of species of the genus *Alchemilla* L. Perm region. [Dissertation]. Perm. 2009. Available at: <https://www.dissercat.com/content/farmakognosticheskoe-izuchenie-vidov-roda-alchemilla-l-permskogo-kraja> Accessed: 14.09.2022. (In Russ.)
 - Andreyeva V. Yu., Kalinkina G. I. Development of a method for the quantitative determination of flavonoids in *Alchemilla vulgaris* L. S. L. *Chemistry of plant raw material*. 2000;1:85–88. (In Russ.)
 - Stanilova M., Gorgorov R., Trendafilova A., Nikolova M., Vitkova A. Influence of nutrient medium composition on in vitro growth, polyphenolic content and antioxidant activity of *Alchemilla mollis*. *Natural Product Communications*. 2012;7:1–6.
 - Lesovaya Zh. S., Pisarev D. I., Novikov O. O., Romanova T. A. Development of a method for the quantitative determination of flavonoids in the common herb *Alchemilla vulgaris* L. S. L. *Challenges in modern medicine*. 2010;22(93):145–149. (In Russ.)
 - Zorina E. V., Boyarshinov V. D. Primary introduction of *Alchemilla mollis*. *Vestnik PGFA*. 2018;22:143–144. (In Russ.)
 - Boiarshinov V. D., Zorina E. V. Comparative analysis of the chemical composition of herb cultivated *Alchemilla mollis* and wild-growing *Alchemilla vulgaris*. *Chemistry of plant raw material*. 2022;1:115–122. DOI: 10.14258/jcprpm.20220110291. (In Russ.)
 - Trineeva O. V. Development of theoretical approaches to determination of the main groups of biologically active substances of medicinal plant raw materials by TLC method. *Drug development & registration*. 2021;10(2):69–79. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-69-79. (In Russ.)

REFERENCES

- Yushkova T. A., Zorina E. V., Belonogova V. D. Evaluation of the antidiabetic activity of the extract of *Alchemilla vulgaris* herb. *Dnevnik kazanskoj meditsinskoj shkoly*. 2017;III(XVII):49–53. (In Russ.)
- Yushkov V. V., Zorina E. V., Yushkova T. A. Evaluation of the immunotropic activity of the infusion of the cuff herb. *Russian journal of immunology*. 2014;8(17)3:755–757. (In Russ.)