

УДК: 615.322:616-07

ВЛИЯНИЕ НАСТОЯ ЦВЕТКОВ БЕССМЕРТНИКА ПЕСЧАНОГО НА ДЕГРАНУЛЯЦИЮ ТУЧНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

Н.В. Корожан

Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»,

210023, Республика Беларусь, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27

E-mail: natallia_karazhan@tut.by

Цветки бессмертника песчаного являются лекарственным растительным сырьем с высоким содержанием флавоноидов (2,5–5,0%). Так как вещества данной группы биологически активных соединений часто обладают противоаллергической активностью, то цветки бессмертника песчаного являются потенциальным противоаллергическим средством. **Цель исследования** – изучить противоаллергическую активность настоя цветков бессмертника песчаного на модели дегрануляции тучных клеток *in vitro*. **Материалы и методы.** Настой цветков бессмертника песчаного получали согласно требованиям Государственной фармакопеи Республики Беларусь. Тучные клетки получали из брюшной полости беспородных мышей-самцов массой 20–25 г. Опытных животных делили на три группы по 5 особей в каждой. Интактная группа в течение 14 дней не подвергалась никаким манипуляциям. Исследуемую группу сенсибилизировали аллергеном эпидермальным из шерсти кошки. Группу «плацебо» подвергали тем же манипуляциям, что и исследуемую группу, используя для сенсибилизации фосфатный забуференный физиологический раствор pH 7,4. **Результаты и обсуждение.** Добавление к тучным клеткам интактной группы и группы «плацебо» настоя цветков бессмертника песчаного не влияло на процент дегрануляции тучных клеток ($p > 0,05$), что свидетельствовало об отсутствии гиперчувствительности у животных к компонентам исследуемого лекарственного средства. В присутствии настоя цветков бессмертника песчаного процент дегрануляции тучных клеток исследуемой группы снижался по сравнению с процентом дегрануляции тучных клеток в присутствии аллергена с $23,6 \pm 2,1\%$ до $8,1–16,2\%$ ($p < 0,05$). Полуэффективная концентрация настоя цветков бессмертника песчаного составила $1,33 \pm 0,04$ мг/мл. Стабилизирующее действие на тучные клетки настоя цветков бессмертника песчаного было статистически значимо ниже стабилизирующего действия настоя травы череды трехраздельной. **Заключение.** Настой цветков бессмертника песчаного в дозах 5, 10 и 20 мг/мл оказывал выраженное дозозависимое стабилизирующее действие на тучные клетки мышей-самцов *in vitro*. Тем не менее, стабилизирующее действие на тучные клетки настоя цветков бессмертника песчаного было менее выраженным, чем стабилизирующее действие настоя травы череды трехраздельной.

Ключевые слова: цветки бессмертника песчаного, настой, дегрануляция тучных клеток

THE INFLUENCE OF *HELICHRYSUM ARENARIUM* FLOWERS INFUSION ON MAST CELLS DEGRANULATION *IN VITRO*

N.V. Karazhan

Educational Establishment “Vitebsk State Order of Peoples’ Friendship Medical University”,

27, Frunze av., Vitebsk, Republic of Belarus, 210023

E-mail: natallia_karazhan@tut.by

Helichrysum arenarium flowers are medical plant raw materials with a high concentration of flavonoids (2.5–5.0%). As compounds of this group of biologically active substances often possess antiallergic activity, *Helichrysum arenarium* flowers are a potential antiallergic medicine. **The aim** is to study an antiallergic activity of *Helichrysum arenarium* flowers infusion on the model of mast cells degranulation *in vitro*. **Materials and methods.** *Helichrysum arenarium* flowers infusion was made in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. Mast cells were obtained from the abdominal cavity of inbred mice weighing 20–25 g. Experimental animals

Для цитирования:

Корожан Н.В.

ВЛИЯНИЕ НАСТОЯ ЦВЕТКОВ БЕССМЕРТНИКА
ПЕСЧАНОГО НА ДЕГРАНУЛЯЦИЮ
ТУЧНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*.

Фармация и фармакология. 2018;6(1):63-72.

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-1-63-72

© Корожан Н.В., 2018

For citation:

Karazhan N.V.

THE INFLUENCE OF *HELICHRYSUM ARENARIUM*
FLOWERS INFUSION ON MAST CELLS
DEGRANULATION *IN VITRO*.

Pharmacy & Pharmacology. 2018;6(1):63-72. (In Russ.)

DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-1-63-72

were divided into three groups of 5 individuals in each. The intact group was not subjected to any manipulation for 14 days. The test group was sensitized with the epidermal allergen from the cat's fur. The placebo group was subjected to the same manipulations as the test group, by phosphate buffered saline pH 7.4 for sensitization instead of the allergen. **Results and discussion.** The addition of *Helichrysum arenarium* flowers infusion to the mast cells of the intact group and the placebo group did not affect the percentage of the mast cells degranulation ($p > 0.05$), indicating that the animals of the intact group and the placebo group did not have a hypersensitivity to the components of the medicine under investigation. In the presence of *Helichrysum arenarium* flowers the percentage of the mast cells degranulation of the test group decreased in comparison with the percentage of the mast cells degranulation in the presence of the allergen from 23.6±2.1% to 8.1–16.2% ($p < 0.05$). Semi-effective concentration of *Helichrysum arenarium* flowers infusion was 1.33±0.04 mg / ml. The stabilizing effect on the mast cells degranulation of the *Helichrysum arenarium* flowers infusion was statistically significantly lower than the stabilizing effect of the *Bidens tripartita* herb infusion. **Conclusion.** *Helichrysum arenarium* flowers infusion has a pronounced dose-dependent stabilizing effect on the mast cells of male mice *in vitro*. Nevertheless, the stabilizing effect of *Helichrysum arenarium* flowers infusion on the mast cells was less pronounced than the stabilizing effect of *Bidens tripartita* herb infusion.

Keywords: *Helichrysum arenarium* flowers, infusion, mast cells degranulation

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время одним из приоритетных направлений в изучении лекарственных растений является поиск новых видов фармакологической активности уже применяемого лекарственного растительного сырья. Последние несколько лет особый интерес в данном аспекте представляют цветки бессмертника песчаного, которые издавна используются как холеретическое средство. Кроме того, данный вид лекарственного растительного сырья может рассматриваться как потенциальное гепатопротекторное средство, что показано на модели антиоксидантной активности микросомальной доли печени крыс, H_2O_2/OH^- -системе, системе β -каротен-линолевая кислота и со свободными радикалами DPPH [1-3]. В дозе 50 мг/кг экстракт цветков бессмертника песчаного снижал аутоиммунную интоксикацию и перекисное окисление липидов [4, 5]. Также установлено, что экстракт из цветков бессмертника песчаного ингибировал повышение уровня глюкозы в крови у мышей, нагруженных сахарозой [6]. Для различных лекарственных форм и флавоноидов данного лекарственного растительного сырья установлена бактериостатическая активность в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* и *Moraxella catarrhalis* (минимальная ингибирующая концентрация 0,62; 1,25 и 0,15 мг/мл соответственно), а также в отношении *Mycobacterium tuberculosis* через изменения в структуре β -субъединицы РНК-полимеразы и инактивацию каталазы-пероксидазы [7-9]. Пероральное ведение экстракта бессмертника песчаного замедляло темпы роста опухоли по сравнению с группой сравнения, начиная с девятого дня эксперимента [10].

Цветки бессмертника песчаного содержат халконы, главным из которых является изосалипурпозид, флавоны, флавонолы и фенолкарбоновые кислоты [11-14]. Данный вид лекарственного растительного сырья, заготовленный на территории Республики Беларусь, содержит 2,5–5,0% суммы флавоноидов [15]. Являясь богатым источником данной группы биологически активных веществ, цветки бессмертника песчаного могут представлять интерес как возможное средство с противоаллергической активностью,

часто отмечаемой для лекарственного растительного сырья – источника флавоноидов [16–20].

ЦЕЛЬЮ РАБОТЫ являлось изучение противоаллергической активности настоя цветков бессмертника песчаного на модели дегрануляции тучных клеток *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Объект исследования.

Объектом исследования являлись цветки бессмертника песчаного, заготовленные в местах естественного произрастания в окрестностях г. Витебска. Настой цветков бессмертника песчаного получали согласно требованиям, изложенным в общей статье «Настои, отвары, чай» Государственной фармакопеи Республики Беларусь. Полученный настой упаривали. Сухой остаток растворяли в воде *P*, объем которой рассчитывали, исходя из исследуемых доз. Выбор доз осуществляли, исходя из литературных данных о противоаллергической активности других видов лекарственного растительного сырья [21].

Изучение противоаллергической активности in vitro.

Противоаллергическую активность изучали на модели дегрануляции тучных клеток *in vitro*. Тучные клетки получали из брюшной полости беспородных мышей-самцов массой 20–25 г. Животные содержались в виварии ВГМУ в соответствии с требованиями, установленными Постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь №131 от 1 октября 2006 года «Об утверждении Санитарных правил и норм 2.1.2.12-18-2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)». В работе соблюдены требования гуманного обращения с экспериментальными животными. Постановка экспериментального исследования с использованием лабораторных животных соответствовала рекомендациям Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, Директиве Совета Европейского Экономического Союза, FELASA Working Group Report, Надлежащей лабораторной практики Республики Беларусь.

Опытных животных делили на интактную, исследуемую группу и группу «плацебо» по 5 особей

в каждой. Исследуемую группу сенсibilизировали внутрибрюшинным введением аллергена эпидермального из шерсти кошки («Биомед имени И.И. Мечникова», Российская Федерация, серия 2561212, дата выпуска – декабрь 2012). В первый и третий день эксперимента животным вводили 50 PNU аллергена, в пятый и седьмой – 100 PNU. Группе «плацебо» в эквивалентном объеме вводили фосфатный забуференный физиологический раствор pH 7,4. Животные интактной группы не подвергались никаким манипуляциям.

Забор тучных клеток осуществляли через 7 дней с момента последней инъекции животным исследуемой группы и группы «плацебо» или спустя 14 дней введения в эксперимент интактной группы. Для этого животным после дислокации шейных позвонков в брюшную полость вводили 10 мл, подогретого до 37°C, фосфатного забуференного физиологического раствора pH 7,4 и в течение 1–2 минут массировали брюшную стенку. Промывную жидкость из брюшной полости переносили в пробирку с гепарином (20 ед/мл) и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 минут. Из осадка клеток получали суспензию, содержащую $1,0 \cdot 10^5$ клеток/мл. Из, полученной от каждого животного, суспензии тучных клеток формировали контрольные и исследуемые пробы. К контрольным пробам добавляли фосфатный забуференный физиологический раствор pH 7,4 или 10 PNU аллергена. К исследуемым пробам интактной группы и группы «плацебо» добавляли 20, 10 и 5 мг/мл растворенного сухого остатка настоя цветков бессмертника песчаного и фосфатный забуференный физиоло-

гический раствор pH 7,4, к исследуемой группе – 20, 10 и 5 мг/мл растворенного сухого остатка настоя цветков бессмертника песчаного и 10 PNU аллергена. Пробирки инкубировали в термостате при 37°C в течение 15 мин. Для окраски тучных клеток добавляли раствор 1 г/л толуидинового синего и инкубировали в термостате при 37 °C в течение 20 мин. Считали, что у животных присутствует гиперчувствительность к аллергену эпидермальному из шерсти кошки, если процент дегрануляции тучных клеток составлял не менее чем 15% [22].

В качестве лекарственного средства сравнения использовали настой травы череды трехраздельной в дозах, равных дозам настоя цветков бессмертника песчаного.

Статистическая обработка результатов.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 10.0 Advanced. Полученные данные приводили в виде $\bar{x}_{cp} \pm \Delta_x$, где \bar{x}_{cp} – среднее значение не менее пяти параллельных измерений, Δ_x – полуширина доверительного интервала. Так как результаты соответствовали нормальному распределению по критерию Шапиро-Уилка ($p > 0,05$), то для сравнения независимых групп использовали критерий Стьюдента ($t(p, v)$) при $p = 0,05$, как рекомендовано Государственной фармакопеей Республики Беларусь.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Базовый уровень дегрануляции тучных клеток в присутствии фосфатного забуференного физиологического раствора pH 7,4 у мышей-самцов интактной группы составлял $8,0 \pm 1,1\%$ (табл. 1).

Таблица 1 – Процент дегрануляции тучных клеток интактной группы и группы «плацебо»

Группа	% дегрануляции тучных клеток		
	Контроль с фосфатным забуференным физиологическим раствором pH 7,4	Контроль с аллергеном (10 PNU)	Настой цветков бессмертника песчаного 20 мг/мл и фосфатный забуференный физиологический раствор pH 7,4
Интактная	$8,0 \pm 1,1$	$10,6 \pm 1,4$	$8,0 \pm 1,6$
«Плацебо»	$11,2 \pm 1,6$	$10,4 \pm 1,4$	$9,6 \pm 1,7$

В присутствии аллергена процент дегрануляции тучных клеток был выше базового уровня ($p < 0,05$). Однако процент дегрануляции тучных клеток составлял менее чем 15%, что свидетельствовало об отсутствии у животных интактной группы гиперчувствительности по отношению к используемому аллергену. Добавление к тучным клеткам интактной группы настоя цветков бессмертника песчаного не влияло на процент дегрануляции тучных клеток ($p > 0,05$), что свидетельствовало об отсутствии гиперчувствительности у животных к компонентам исследуемого лекарственного средства.

Базовый уровень дегрануляции тучных клеток у мышей-самцов группы «плацебо» составлял $11,2 \pm 1,6\%$ и был выше базового уровня дегрануляции тучных клеток интактной группы ($p < 0,05$), что обусловлено стрессовым воздействием манипуляций, проводимых с животными. Процент дегрануляции

тучных клеток в присутствии аллергена или настоя цветков бессмертника песчаного по сравнению с базовым уровнем дегрануляции тучных клеток группы «плацебо» не отличался ($p > 0,05$), что свидетельствовало об отсутствии гиперчувствительности у животных группы «плацебо» к аллергену и компонентам исследуемого лекарственного средства.

Базовый уровень дегрануляции тучных клеток в исследуемой группе составлял $11,8 \pm 2,0\%$ и был выше базового уровня дегрануляции тучных клеток в интактной группе ($p < 0,05$), но не отличался от базового уровня дегрануляции тучных клеток в группе «плацебо» ($p > 0,05$). В присутствии аллергена процент дегрануляции тучных клеток исследуемой группы возрос более чем на 10%, до $23,6 \pm 2,1\%$ ($p < 0,05$), что свидетельствовало о наличии гиперчувствительности у животных данной группы к аллергену (рис. 1).

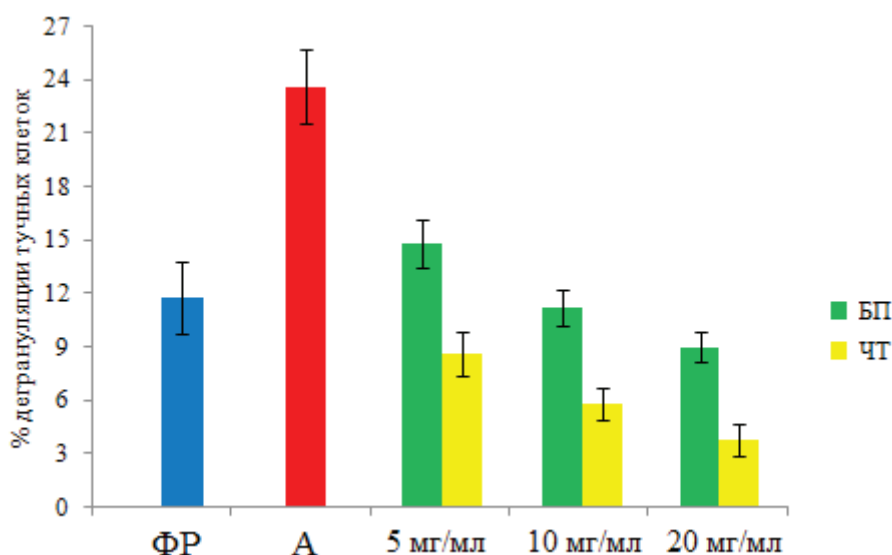


Рисунок 1 – Процент дегрануляции тучных клеток исследуемой группы:
ФР – в присутствии фосфатного забуференного физиологического раствора рН 7,4,
А – в присутствии аллергена, 5, 10, 20 мг/мл – в присутствии указанной дозы настоя
цветков бессмертника песчаного (БП) или травы череды трехраздельной (ЧТ) и аллергена

При добавлении к тучным клеткам исследуемой группы в присутствии аллергена настоя цветков бессмертника песчаного отмечается дозозависимое снижение процента дегрануляции тучных клеток по сравнению с процентом дегрануляции тучных клеток в контрольных пробах в присутствии аллергена ($p < 0,05$): с $23,6 \pm 2,1\%$ дегрануляция тучных клеток снижалась до $8,1-16,2\%$. В присутствии аллергена и настоя цветков бессмертника песчаного в дозе 5 и 10 мг/мл процент дегрануляции тучных клеток не отличался от базового уровня дегрануляции тучных клеток исследуемой группы ($p > 0,05$). В присутствии аллергена и этого лекарственного средства в дозе 20 мг/мл процент дегрануляции тучных клеток был ниже базового

уровня дегрануляции тучных клеток исследуемой группы ($p < 0,05$), но выше базового уровня дегрануляции тучных клеток интактной группы ($p < 0,05$).

Так как влияние настоя цветков бессмертника песчаного на дегрануляцию тучных клеток носило дозозависимый характер, были построены графики зависимости «эффект-доза» и рассчитаны уравнения регрессии (табл. 2). Полуэффективную концентрацию (ED_{50}) настоя цветков бессмертника песчаного рассчитывали, подставляя в уравнение регрессии эффект, равный половине максимально возможного. Рассчитанная таким образом полуэффективная концентрация настоя цветков бессмертника песчаного составила $1,33 \pm 0,04$ мг/мл.

Таблица 2 – Уравнения регрессии, коэффициенты корреляции и концентрации настоев
цветков бессмертника песчаного и травы череды трехраздельной

	Настой цветков бессмертника песчаного	Настой травы череды трехраздельной
Уравнение регрессии	$y = -4,18x + 21,30$	$y = -3,46x + 14,04$
Коэффициент корреляции	0,9809	0,9908
Концентрация, мг/мл*	$1,33 \pm 0,04$	$1,25 \pm 0,03^{**}$

Примечание: * для настоя цветков бессмертника песчаного – полуэффективная концентрация, для травы череды трехраздельной – концентрация, создающая эффект, равный эффекту полуэффективной концентрации цветков бессмертника песчаного; ** - статистически значимо отличается от полуэффективной концентрации цветков бессмертника песчаного ($p < 0,05$)

В настоящее время самым известным видом лекарственного растительного сырья с изученной противоаллергической активностью, доступным на территории Республики Беларусь, является трава череды трехраздельной [23, 24]. Настой данного вида лекарственного растительного сырья был использован как лекарственное средство сравнения для настоя цветков бессмертника песчаного. Выбор также

обусловлен тем, что у обоих видов лекарственного растительного сырья главной группой биологически активных веществ являются флавоноиды – флавонолы и халконы [15, 25].

Было установлено, что процент дегрануляции тучных клеток исследуемой группы в присутствии настоя травы череды трехраздельной был ниже ($p < 0,05$) процента дегрануляции тучных клеток в присутствии

настоя цветков бессмертника песчаного в таких же дозах. Снижение процента дегрануляции тучных клеток в присутствии максимальной исследуемой дозы настоя цветков бессмертника песчаного (20 мг/мл) было эквивалентно снижению процента дегрануляции тучных клеток в присутствии настоя травы череды трехраздельной в дозе 5 мг/мл ($p>0,05$). Процент дегрануляции тучных клеток исследуемой группы в присутствии всех доз настоя травы череды трехраздельной был ниже ($p<0,05$) базового уровня дегрануляции тучных клеток в исследуемой группе, а в дозе 10 и 20 мг/мл – еще и базового уровня дегрануляции тучных клеток интактной группы и группы плацебо. Процент дегрануляции тучных клеток исследуемой группы в присутствии настоя травы череды трехраздельной в дозе 5 мг/мл не отличался от базового уровня дегрануляции тучных клеток интактной группы ($p>0,05$).

Рассчитанная по уравнению регрессии концентрация настоя травы череды трехраздельной, создающая эффект, равный эффекту полуэффективной концентрации настоя цветков бессмертника песчаного, составила $1,25\pm 0,03$ мг/мл. Данная концентрация настоя травы череды трехраздельной была значимо ниже полуэффективной концентрации настоя цвет-

ков бессмертника песчаного ($p<0,05$), что свидетельствовало о том, что стабилизирующее действие на дегрануляцию тучных клеток настоя цветков бессмертника песчаного было менее выраженным, чем стабилизирующее действие настоя травы череды трехраздельной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, настоем цветков бессмертника песчаного оказывает выраженное дозозависимое стабилизирующее действие на тучные клетки мышей-самцов *in vitro*. В присутствии настоя цветков бессмертника песчаного отмечается снижение процента дегрануляции тучных клеток с $23,6\pm 2,1\%$ до $8,1-16,2\%$. Полуэффективная концентрация настоя цветков бессмертника песчаного составила $1,33\pm 0,04$ мг/мл. Тем не менее, стабилизирующее действие на тучные клетки настоя цветков бессмертника песчаного было менее выраженным, чем стабилизирующее действие настоя травы череды трехраздельной.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность В.В. Янченко за предоставленный для исследований аллерген эпидермальный из шерсти кошки и Я.В. Тарасенко за техническую помощь в выполнении исследования.

INTRODUCTION. Currently, one of the priority areas in the study of medicinal plants is the search for new types of pharmacological activity of medicinal plant raw materials which are already in use. In terms of this over the past few years, a special interest in this aspect has been expressed to *Helichrysum arenarium* flowers, which have been used as a choleric agent. Besides, this kind of medicinal plant raw material can be considered as a potential hepatoprotective agent, what was shown on the model of the antioxidant activity of rat's liver microsomal lobe, $H_2O_2/OH\cdot$ -system, the system of β -caroten-linoleic acid and with free radicals DPPH \cdot [1–3]. *Helichrysum arenarium* flowers extract in the dosage of 50 mg / ml decreased autoimmune intoxication and lipids peroxidation [4, 5]. It was also found out that *Helichrysum arenarium* flowers extract inhibited the increase of glucose level in blood of sucrose-laden mice [6]. The bacteriostatic activity against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis* (minimal inhibiting concentration is 0.62, 1.25 and 0.15 mg/ml respectively), and against *Mycobacterium tuberculosis* was established for various medicinal forms and flavonoids of this medicinal plant raw material, through the change in the structure of β -subunit of RNA-polymerase and inactivation of catalase peroxydase [7–9]. Oral administration of *Helichrysum arenarium* flowers extract was slowed the growth rate of the tumor compared with the comparison group starting from 9th day of the experiment [10].

Helichrysum arenarium flowers contain chalcones, the main of which is isosalipurposide, flavones, flavonols and phenolcarboxylic acids [11–14]. This type of medicinal plant raw material harvested in the territory of the Republic of Belarus contains 2.5–5.0% of the amount

of flavonoids [15]. Being a rich source of biologically active substances of this group, *Helichrysum arenarium* flowers are interesting as a possible medicine with the antiallergic activity, often noted for medicinal plant raw materials which are sources of flavonoids [16–20].

THE AIM OF THE WORK is to study the antiallergic activity of *Helichrysum arenarium* flowers infusion on the model of the mast cells degranulation *in vitro*.

MATERIALS AND METHODS.

The object of the study

The object of the study was *Helichrysum arenarium* flowers, harvested in places of natural growth in the vicinity of Vitebsk. *Helichrysum arenarium* flowers infusion was obtained according to the requirements stated in the general article “Infusions, decoctions, teas” according to the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. The infusion was evaporated. Dry residue was solved in water *P*, its volume was calculated proceeding from the investigated doses. The choice of doses realized proceeding from the literature data about antiallergic activity of other kinds of medicinal plant raw materials [21].

The study of antiallergic activity in vitro

Antiallergic activity was studied on the model of the mast cells degranulation *in vitro*. Mast cells were obtained from the abdominal cavity of inbred mice weighing 20–25 g. The animals were kept in the VSMU vivarium in accordance with the requirements, established by the Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus No131 of 1st October 2006 “About the approval of sanitary rules and regulations 2.1.2.12-18-2006 “Arrangement, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums). In the study, the requirements of humane treatment of experimental animals were kept to. The experimental study using

laboratory animals met the recommendations of the Convention of Europe Council on the protection of vertebrates used for experimental and other scientific purposes, the Directive of the European Economic Union Council, the FELASA Working Group Report, the Good Laboratory Practice of the Republic of Belarus.

Experimental animals were divided into 3 groups – intact, test group and placebo - with 5 individuals in each. The test group was sensitized with intrabrush introduction of the epidermal allergen from the cat's fur (Biomed I.I. Mechnikov, Russian Federation, batch 2561212, the date of production – December 2012). On the 1st and 3rd days of the experiment 50 PNU allergens were injected to the animals, on the 5th and 7th – 100 PNU ones. The placebo group was given an equivalent volume of phosphate buffered saline pH 7. 4 animals of the intact group were not subjected to any manipulation.

The mast cells from the animals of the test group and the placebo group were collected on the 7th day after the last injection, whereas the collection of mast cells from the intact group was done after a 14-day period of the experiment. For this purpose, after the dislocation of the cervical vertebrae, 10 ml of phosphate buffered saline pH 7.4 warmed up to 37° C were injected into the abdominal cavity of animals and the abdominal wall was massaged for 1–2 minutes. The wash liquid from the abdominal cavity was transferred to the test tube with heparin (20 U/ml) and was centrifuged at 1000 rpm for 10 minutes. A suspension which contained $1.0 \cdot 10^5$ cells/ml was prepared from the cell pellet. Control and test samples were formed from the mast cell suspension obtained from each animal. Phosphate buffered saline pH 7.4 or 10 PNU

of the allergen was added to the control samples. 20, 10 and 5 mg/ml of the dissolved dry residue of *Helichrysum arenarium* flowers infusion and phosphate buffered saline pH 7.4 were added to the test samples of the intact group and the placebo group; 20, 10 and 5 mg/ml of dissolved dry residue *Helichrysum arenarium* flowers infusion and 10 PNU of the allergen were added to the test samples of the test group. The tubes were incubated in the thermostat at 37°C for 15 minutes. A solution of 1 g / 1 toluidine blue was added to color the mast cells and the samples were incubated in a thermostat at 37°C for 20 min. The animals were considered to have a hypersensitivity to the epidermal allergen from the cat's fur, if the percentage of mast cells degranulation in its presence was increased by no less than 15% [22].

As a herbal medicine of comparison, *Bidens tripartita* herb infusion was used in the doses equal to the doses of *Helichrysum arenarium* flowers infusion.

Statistical processing was carried out using the program Statistica 10.0 Advanced. The obtained data were presented in the form $x_{av} \pm \Delta x$, where x_{av} is the mean value of at least five parallel measurements, and Δx is the half-width of the confidence interval. Since the results conformed to the normal distribution by Shapiro-Wilk test ($p > 0.05$), the Student's test ($t(p, v)$) was used for comparison of independent groups at $p = 0.05$, as it was recommended by the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus.

RESULTS AND DISCUSSION. The basal level of mast cells degranulation in the presence of phosphate buffered saline pH 7.4 in male mice of the intact group was $8.0 \pm 1.1\%$ (Table 1).

Table 1 – The percentage of mast cells degranulation of intact group and placebo group

Group	Mast cells degranulation, %		
	Control samples with phosphate buffered saline pH 7.4	Control samples with the allergen (10 PNU)	Helichrysum arenarium flowers infusion
Intact	8.0 ± 1.1	10.6 ± 1.4	8.0 ± 1.6
Placebo	11.2 ± 1.6	10.4 ± 1.4	9.6 ± 1.7

In the presence of the allergen, the percentage of the mast cells degranulation was higher than the basal level ($p < 0.05$). However, the percentage of the mast cells degranulation less than 15% indicated that the animals of the intact group had no hypersensitivity to the used allergen. The addition of *Helichrysum arenarium* flowers infusion to the mast cells did not affect the percentage of the mast cells degranulation ($p > 0.05$), which indicated the absence of hypersensitivity in animals to the components of the study medicine.

The basal level of mast cells degranulation in male mice of the placebo group was $11.2 \pm 1.6\%$ and it was higher than the basal level of mast cells degranulation of

the intact group ($p < 0.05$), that had been caused by the stressful effects of animal manipulation. The percentage of mast cells degranulation in the presence of the allergen or *Helichrysum arenarium* flowers infusion was not different from the basal level of mast cells degranulation of the placebo group ($p > 0.05$), indicating that the animals of the placebo group did not have a hypersensitivity to the allergen and the components of the study medicine.

The basal level of mast cells degranulation in the test group was $11.8 \pm 2.0\%$ and was higher than the basal level of mast cells degranulation in the intact group ($p < 0.05$), but did not differ from the basal level of mast cells degranulation in the placebo group ($p > 0.05$) (Figure 1).

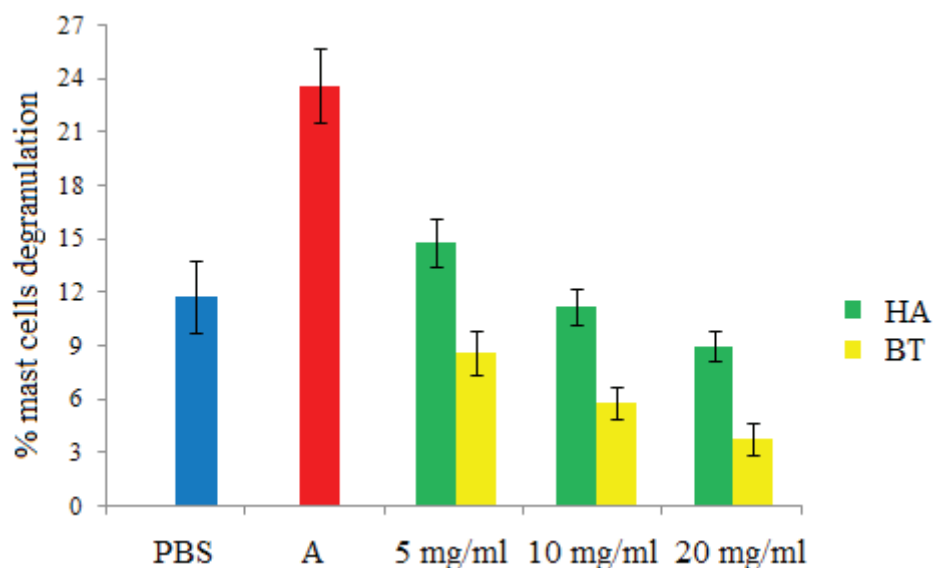


Figure 1 – The percentage of mast cells degranulation of the test group: PBS – in the presence of phosphate buffered saline pH 7,4 P, A – in the presence of the allergen, 5, 10 and 20 mg/ml – in the presence of indicated dose of *Helichrysum arenarium* flowers infusion (HA) or *Bidens tripartita* herb infusion (BT) and the allergen

When *Helichrysum arenarium* flowers infusion was added to the mast cells of the test group in the presence of the allergen, it was noted that there was a dose-dependent decrease in the percentage of the mast cells degranulation in comparison with the percentage of mast cells degranulation in the presence of the allergen ($p < 0.05$): mast cells degranulation decreased from $23.6 \pm 2.1\%$ to 8.1 – 16.2% . In the presence of the allergen and *Helichrysum arenarium* flowers infusion at the dose of 5 and 10 mg/ml, the percentage of the mast cells degranulation did not differ from the basal level of the mast cells degranulation of the test group ($p > 0.05$). In the presence of the allergen and this medicine at the dose of 20 mg/ml, the percentage of mast cells degranulation was

lower than the basal level of the mast cells degranulation of the test group ($p < 0.05$), but it was higher than the basal level of the mast cells degranulation of the intact group ($p < 0, 05$).

As the influence of *Helichrysum arenarium* flowers infusion on the mast cells degranulation had dose-dependent relation, dependence graphs “effect-dose” were built and regression equations were calculated (Table 2). The semi-effective concentration (ED_{50}) of *Helichrysum arenarium* flowers infusion was calculated to substitute the effect equal to the half of maximal possible effect in the regression equation. The semi-effective concentration of *Helichrysum arenarium* flowers infusion was calculated as 1.33 ± 0.04 mg/ml.

Table 2 – The regression equations, correlation coefficients and concentrations of *Helichrysum arenarium* flowers infusion and *Bidens tripartita* herb infusion

	<i>Helichrysum arenarium</i> flowers infusion	<i>Bidens tripartita</i> herb infusion
Regression equation	$y = -4.18x + 21.30$	$y = -3.46x + 14.04$
Correlation coefficient	0.9809	0.9908
Concentration, mg/ml*	1.33 ± 0.04	$1.25 \pm 0.03^{**}$

Note: * for *Helichrysum arenarium* flowers infusion – semi-effective concentration, for *Bidens tripartita* herb infusion – the concentration, which has the effect equal to the effect of semi-effective concentration of *Helichrysum arenarium* flowers; ** – differ statistically significant from semi-effective concentration of the *Helichrysum arenarium* flowers infusion ($p < 0.05$)

Currently, *Bidens tripartita* herb being available in the territory of the Republic of Belarus is the most famous type of medicinal plant raw materials with the studied antiallergic activity [23, 24]. The infusion of this kind of medicinal plant raw materials was used in comparison with herbal medicine for *Helichrysum arenarium* flowers infusion. The choice of this comparison herbal medicine was also due to the fact that in both types of medicinal plant raw materials the main group of biologically active substances are flavonoids – flavonols and chalcones [15, 25].

It was found out that the percentage of mast cells degranulation of the test group in the presence of *Bidens tripartita* herb was lower ($p < 0.05$) than the percentage of mast cells degranulation in the presence of *Helichrysum arenarium* flowers infusion in the same doses. The decrease of the percentage of the mast cells degranulation in the presence of the maximum tested dose of *Helichrysum arenarium* flowers infusion – 20 mg/ml – was equivalent to a decrease of the percentage of the mast cells degranulation in the presence of *Bidens*

tripartita herb at the dose of 5 mg/ml ($p > 0.05$). The percentage of the mast cells degranulation in the test group in the presence of all doses of *Bidens tripartita* herb was lower ($p < 0.05$) than the basal level of the mast cells degranulation in the test group, and at the dose of 10 and 20 mg/ml – also the basal level of the mast cells degranulation in the intact group and in the placebo group. The percentage of the mast cells degranulation of the test group in the presence of *Bidens tripartita* herb infusion at the dose of 5 mg/ml did not differ from the basal level of the mast cells degranulation in the intact group ($p > 0.05$).

Calculated by the regression equation, the concentration of *Bidens tripartita* herb infusion, creating an effect equal to the effect of a semi-effective concentration of *Helichrysum arenarium* flowers infusion, was 1.25 ± 0.03 mg/ml. This concentration of *Bidens tripartita* herb infusion was significantly lower than the semi-effective concentration of *Helichrysum arenarium*

flowers infusion ($p < 0.05$). That indicated the stabilizing effect on the mast cells degranulation of *Helichrysum arenarium* flowers infusion was less pronounced than the stabilizing effect of *Bidens tripartita* herb infusion.

CONCLUSION. Thus, the *Helichrysum arenarium* flowers infusion had a pronounced dose-dependent stabilizing effect on the mast cells degranulation in mice-male *in vitro*. In the presence of *Helichrysum arenarium* flowers infusion, the mast cells degranulation was reduced from $23.6 \pm 2.1\%$ to $8.1\text{--}16.2\%$. Semi-effective concentration of *Helichrysum arenarium* flowers infusion was 1.33 ± 0.04 mg/ml. Nevertheless, the stabilizing effect on mast cells degranulation of *Helichrysum arenarium* flowers infusion was less pronounced than the stabilizing effect of *Bidens tripartita* herb infusion.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is grateful to V.V. Yanchenko for the epidermal allergen from the cat's fur and Ya.V. Tarasenko for technical assistance in carrying out the research.

Библиографический список

1. Czinner E., Hagymási K., Blázovics A., Kéry A., Szoke E., Lemberkovics E. The in vitro effect of Helichrysum flos on microsomal lipid peroxidation // J. Ethnopharmacol. 2001. No. 1 (77). P. 31–35. DOI: 10.1016/S0378-8741(01)00258-6
2. Czinner E., Hagymási K., Blázovics A., Kéry A., Szöke E., Lemberkovics E. In vitro antioxidant properties of Helichrysum arenarium (L.) Moench // Journal of Ethnopharmacology. 2000. No. 3 (73). P. 437–443. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00304-4
3. Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A., Sokmen A. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four Helichrysum species from Turkey // Food Chemistry. 2005. No. 90 (4). P. 685–689. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.04.030
4. Курчатова М.Н., Ларина А.С., Андреева Н.В. Влияние экстракта бессмертника песчаного на аутоинтоксикацию в плазме крови крыс // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2015. №5 (5). С. 819.
5. Ивличев А.В., Мудрак Д.А., Наволокин Н.А., Афанасьева Г.А., Тычина С.А., Корчаков М.О., Полуконова Н.В., Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н. Активность перекисного окисления липидов при пероральном введении флавоноидсодержащего экстракта бессмертника песчаного на фоне перевиваемого рака печени РС-1 // Российский биотерапевтический журнал. 2016. №1 (15). С. 42–43.
6. Moricawa T., Ninomiya K., Akaki J., Kakihara N., Kuramoto H., Matsumoto Y., Hayakawa T., Muraoka O., Wang L.-B., Wu L.-J., Nakamura S., Yoshikawa M., Matsuda H. dipeptidyl peptidase-iv inhibitory activity of dimeric dihydrochalcone glycosides from flowers of Helichrysum arenarium // Journal of Natural Medicines. 2015. Vol. 69. Is. 4. P. 494–506. DOI: 10.1007/s11418-015-0914-8
7. Skvortsova V.V., Navolokin N.A., Polukonova N.V., Manaenkova E.V., Pankratova L.É., Kurchatova M.A., Masliakova G.N., Durnova N.A. Antituberculous in vitro activity of Helichrysum arenarium extract // Eksp Klin Farmakol. 2015. Vol. 78. Is. 2. P. 30–33.
8. Gradinaru A.C., Sillion M., Trifan A., Miron A., Aprotosoae A.C. HELICHRYSUM ARENARIUM SUBSP. ARENARIUM: PHENOLIC COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST LOWER RESPIRATORY TRACT PATHOGENS // Nat Prod Res. 2014. Vol. 28. Is. 22. P. 2076–2080. DOI: 10.1080/14786419.2014.924931
9. Скворцова В.В., Наволокин Н.А., Полуконова Н.В., Манаенкова Е.В., Панкратова Л.Э., Курчатова М.А., Маслякова Г.Н., Дурнова Н.А. Противотуберкулезная активность экстракта бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*) in vitro // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. №2 (78). С. 30–33.
10. Наволокин Н.А., Мудрак Д.А., Полуконова Н.В., Тычина С.А., Канаева Т.В., Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н. Антикахектическая и противоопухолевая активность флавоноидсодержащего экстракта бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*) при пероральном введении крысам с перевитой саркомой-45 // Злокачественные опухоли. 2016. №1 (21). С. 329–330.
11. Bryksa-Godzisz M., Węglarz Z., Przybył J. Phenolic compounds in yellow everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench) growing wild in the middle part of the bug river valley // Herba Polonica. 2006. No. 4 (52). P. 26–31.
12. Литвиненко В.И., Попова Т.П., Попова Н.В., Георгиевский В.П. К вопросу об изосалипурпозиде-стандарте в контроле сырья и фитопрепаратов из бессмертника песчаного // Фармаком. 2016. №3. С. 23–27.
13. Куркина А.В. Исследование компонентного состава цветков *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. // Химия растительного сырья. 2011. №2. С. 113–116.
14. Subukcu B. Helichrysum species as choleric and chologogue crude extract // Acta Pharmaceutica Turcica. 2002. No. 44. P. 145–150.

15. Тарасенко Я.В., Корожан Н.В. Содержание флавоноидов в цветках бессмертника песчаного // «Актуальные вопросы современной медицины и фармации»: материалы 69-ой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых / ВГМУ. Витебск, 2017. С. 680–681.
16. Park H.H., Lee S., Son H.Y., Park S.B., Kim M.-S., Choi E.J., Singh T.S.K., Ha J.H., Lee M.G., Kim J.E., Hyun M.C., Kwon T.K., Kim Y.H., Kim S.H. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells // Archives of Pharmacal Research. 2008. Vol. 31. Is. 1. P. 1303–1311. DOI: 10.1007/s12272-001-2110-5
17. Mastuda H., Morikawa T., Ueda K., Managi H., Yoshikawa M. Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen-induced degranulation, TNF-A and IL-4 production from RBL-2H3 cells // Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2002. Vol. 10 (10). P. 3123–3128. DOI: 10.1016/S0968-0896(02)00227-4
18. Tanaka T., Higa S., Hirano T., Kotani M., Matsumoto M., Fujita A., Kawase I. Flavonoids as potential anti-allergic substances // Current Medicinal Chemistry - Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents. 2003. Vol. 2. Is. 1. P. 57–65. DOI: 10.2174/1568014033355790
19. Kawai M., Hirano T., Higa S., Arimitsu J., Maruta M., Kuwahara Y., Ohkawara T., Hagihara K., Yamadori T., Shima J., Ogata A., Kawase I., Tanaka T. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances // Allergology International. 2007. Vol. 56. Is. 2. P. 113–123. DOI: 10.2332/allergolint.R-06-135
20. Kimata M., Inagaki N., Nagai H. Effects of luteolin and other flavonoids on IgE-mediated allergic reactions // Planta Med. 2000. Vol. 66. Is. 1. P. 25–29. DOI: 10.1055/s-2000-11107
21. Dai Y., Hou L.-F., Chan Y.-P., Cheng L., But P.P.-H. Inhibition of immediate allergic reactions by ethanol extract from plumbago zeylanica stems // Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2004. Vol. 27. Is. 3. P. 429–432. DOI: 10.1248/bpb.27.429
22. Выхристенко Л.Р., Новиков Д.К., Янченко В.В. Исследование безопасности и эффективности пероральных низкодозовых аллерговакцин для лечения бронхиальной астмы // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2011. №2. С. 70–80.
23. Суяров А.А., Жапаров О.К., Хатамов Х.М. Оценка противоаллергической эффективности суммы флавоноидов, выделенной из череды трехраздельной в разных дозах при экспериментальной кожной аллергии // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика. 2014. № 1. С. 48–52.
24. Корожан Н.В., Бузук Г.Н. Стабилизирующее действие на мембраны тучных клеток травы череды трехраздельной и травы череды олиственной // Вестник Витебск. гос. мед. ун-та. 2015. № 1. С. 136–143.
25. Корожан Н.В., Бузук Г.Н. Сравнительный анализ компонентного состава спиртовых извлечений из травы видов череды методом жидкостной хроматографии // Вестник фармации. 2013. № 4. С. 49–56.

References

1. Czinner E, Hagymási K, Blázovics A, Kéry A, Szöke E, Lemberkovics E. The in vitro effect of Helichrysi flos on microsomal lipid peroxidation. J. Ethnopharmacol. 2001;1(77):31–5. DOI: 10.1016/S0378-8741(01)00258-6
2. Czinner E, Hagymási K, Blázovics A, Kéry A, Szöke E, Lemberkovics E. In vitro antioxidant properties of Helichrysum arenarium (L.) Moench. J. Ethnopharmacology. 2000;3(73):437–43. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00304-4
3. Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Sokmen A. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four Helichrysum species from Turkey. Food Chemistry. 2005;90(4):685–9. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.04.030
4. Kurchatova MN, Larina AS, Andreeva NV. Vliyanie ekstrakta bessmertnika peschanogo na autointoksikaciyu v plazme krvi krysa [Influence of the extract of Helichrysum arenarium extract on autointoxication in the rats blood plasma]. Bulletin of Medical Internet Conferences. 2015;5(5):819. Russian.
5. Ivlichev AV, Mudrak DA, Navolokin NA, Afanasyeva GA, Tychina SA, Korchakov MO, Polukonova NV, Bucharskaya AB, Maslyakova GN. Aktivnost' perekisnogo okisleniya lipidov pri peroral'nom vvedenii flavonoid-soderzhashchego ekstrakta bessmertnika peschanogo na fone perevivaemogo raka pecheni RS-1 [Activity of lipides peroxidation at oral usage of flavonoid-containing Helichrysum arenarium extract on the background of the liver-carcinated cancer RS-1]. Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal. 2016;1(15):42–3. Russian.
6. Moricawa T, Ninomiya K, Akaki J, Kakihara N, Kuramoto H, Matsumoto Y, Hayakawa T, Muraoka O, Wang L-B, Wu L-J, Nakamura S, Yoshikawa M, Matsuda H. Dipeptidyl Peptidase-IV inhibitory activity of dimeric dihydrochalcone glycosides from flowers of Helichrysum arenarium. J. Natural Medicines. 2015;69(4):494–506. DOI: 10.1007/s11418-015-0914-8
7. Skvortsova VV, Navolokin NA, Polukonova NV, Manaenkova EV, Pankratova LE, Kurchatova MA, Maslyakova GN, Durnova NA. Antituberculous in vitro activity of Helichrysum arenarium extract. Eksp Klin Farmakol. 2015;78(2):30–3.
8. Gradinaru AC, Silion M, Trifan A, Miron A, Aprotosoia AC. Helichrysum arenarium subsp. arenarium: phenolic composition and antibacterial activity against lower respiratory tract pathogens. Nat Prod Res. 2014;28(22):2076–80. DOI: 10.1080/14786419.2014.924931
9. Skvortsova VV, Navolokin NA, Polukonova NV, Manaenkova EV, Pankratova LE, Kurchatova MN, Maslyakova GN, Durnova NA. Protivotuberkuleznaya aktivnost' ekstrakta bessmertnika peschanogo (Helichrysum arenarium) in vitro [Antituberculous in vitro activity of Helichrysum arenarium Extract]. Experimental and Clinical Pharmacology. 2015;2(78):30–3. Russian.
10. Navolokin NA, Mudrak DA, Polukonova NV, Tychina SA, Kanayeva TV, Bucharskaya AB, Maslyakova GN. Antikaheksicheskaya i protivoopuholevaya aktivnost' flavonoid-soderzhashchego ekstrakta bessmertnika peschanogo (Helichrysum arenarium) pri peroral'nom vvedenii krysam s perevitoy sarkomoy-45 [Anticaxoxic and an-

- titumoric activity of flavonide-containing *Helichrysum arenarium* extract in parametric introduction to rats with sarcom-45 insertion] // Malignant tumours. 2016;1(21):329–30. Russian.
11. Bryksa-Godzisz M, Węglarz Z, Przybył J. Phenolic compounds in yellow everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench) growing wild in the middle part of the bug river valley. *Herba Polonica*. 2006;4(52):26–31.
 12. Lityvenko VI, Popova TP, Popova NV, Georgievsky VP. K voprosu ob izosalipurpozide-standarte v kontrole syr'ya i fitopreparatov iz bessmertnika peschanogo [To the question of the isosalipurposid-standard in the control of raw material and phytopreparates from the *Helichrysum arenarium*]. *Journal 'Pharmacom'*. 2016;3:23–7. Russian.
 13. Kurkina AV. Issledovanie komponentnogo sostava cvetkov *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. [Investigation of component composition of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench flowers]. *Chemistry of plant raw materials*. 2011;2:113–6. Russian.
 14. Cubukcu B. *Helichrysum* species as choleric and chologogue crude extract. *Acta Pharmaceutica Turcica*. 2002;44:145–50.
 15. Tarasenko YaV, Karazhan NV. Soderzhanie flavonoidov v cvetkah bessmertnika peschanogo [Contents of flavonides in *Helichrysum arenarium* flowers]. Aktual'nye voprosy sovremennoj mediciny i farmacii»: materialy 69-oj itogovoj nauchno-prakticheskoj konferencii studentov i molodyh uchenyh / VSMU. Vitebsk, 2017:680–1. Russian.
 16. Park HH, Lee S, Son HY, Park SB, Kim MS, Choi EJ, Singh TS, Ha JH, Lee MG, Kim JE, Hyun MC, Kwon TK, Kim YH, Kim SH. Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of Pharmacol Research*. 2008;31(10):1303–11. DOI: 10.1007/s12272-001-2110-5
 17. Mastuda H, Morikawa T, Ueda K, Managi H, Yoshikawa M. Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen-induced degranulation, TNF-A and IL-4 production from RBL-2H3 cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 01 Oct 2002;10(10):3123–8. DOI: 10.1016/S0968-0896(02)00227-4
 18. Tanaka T, Higa S, Hirano T, Kotani M, Matsumoto M, Fujita A, Kawase I. Flavonoids as potential anti-allergic substances. *Current Medicinal Chemistry – Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents*. 2003;2(1):57–65. DOI: 10.2174/1568014033355790
 19. Kawai M, Hirano T, Higa S, Arimitsu J, Maruta M, Kuwahara Y, Ohkawara T, Hagihara K, Yamadori T, Shima J, Ogata A, Kawase I, Tanaka T. Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. *Allergology International*. 2007;56(2):113–23. DOI: 10.2332/allergolint.R-06-135
 20. Kimata M, Inagaki N, Nagai H. Effects of luteolin and other flavonoids on IgE-mediated allergic reactions. *Planta Med*. 2000;66(1):25–9. DOI: 10.1055/s-2000-11107
 21. Dai Y, Hou LF, Chan YP, Cheng L, But PPH. Inhibition of immediate allergic reactions by ethanol extract from *Plumbago zeylanica* stems. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2004;27(3):429–32. DOI: 10.1248/bpb.27.429
 22. Vykhrystsenka LR, Novikov DK, Yanchanka UV. Issledovanie bezopasnosti i effektivnosti peroral'nyh nizkodozovyh allergovakcin dlya lecheniya bronhial'noj astmy [Study the safety and efficacy of oral low dose allergovaccines for the treatment of bronchial asthma]. *International Journal of Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2011;2:70–80. Russian.
 23. Suyarov AA, Japorov OK, Hatamov HM. Ocenka protivooallergicheskoy effektivnosti summy flavonoidov, vydelennoj iz cheredy trekhrazdel'noj v raznyh dozah pri eksperimental'noj kozhnoj allergii [The estimation anti-allergic efficiency of the amount flavonoidov, chosen from *Bidens tripartita* in different dose under experimental skin allergy]. *Fiziologiya i patologiya immunnoj sistemy. Immunofarmakogenomika*. 2014;1:48–52. Russian.
 24. Karazhan NV, Buzuk GN. Stabiliziruyushchee dejstvie na membrany tuchnyh kletok travy cheredy trekhrazdel'noj i travy cheredy olistvennoj [Stabilizing action on the membranes of mast cells of *Bidens tripartita* herb and *Bidens frondosa* herb]. *Vestnik farmacii*. 2015;1:136–43. Russian.
 25. Karazhan NV, Buzuk GN. Sravnitel'nyj analiz komponentnogo sostava spirtovyh izvlechenij iz travy vidov cheredy metodom zhidkostnoj hromatografii [The comparative analysis of components composition of the spirit extracts from *Bidens* species herb by liquid chromatography method]. *Vestnik farmacii*. 2013;4:49–56. Russian.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Корожан Наталья Валерьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом ФПК и ПК УО ВГМУ. Область научных интересов: разработка методик стандартизации и обоснование критериев качества лекарственного растительного сырья; доклиническая оценка безопасности и фармакологической активности лекарственного растительного сырья. ORCID: 0000-0003-1924-717X. E-mail: natallia_karazhan@tut.by.

Karazhan Natallia Valer'euna – PhD (Pharmacy), associate professor of the department of pharmacognosy with the course of the FAS and R of the EE VSMU. Research interests: development of standardization techniques and rationale of quality criteria for herbal medicinal raw materials; preclinical evaluation of the safety and pharmacological activity of medicinal plant raw materials. ORCID: 0000-0003-1924-717X. E-mail: natallia_karazhan@tut.by.

Поступила в редакцию: 18.11.2017
Отправлена на доработку: 08.12.2017
Принята к печати: 10.02.2018

Received: 18.11.2017
Sent back for revision: 08.12.2017
Accepted for publication: 10.02.2018