

ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННОСТИ И ИММУНОТОКСИЧНОСТИ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО (*VITIS VINIFERA* L.) ЛИСТЬЕВ КРАСНЫХ ЭКСТРАКТА СУХОГО В ОПЫТАХ *IN VIVO*

В.В. Бортникова

к.б.н., вед. науч. сотрудник, отдел токсикологии,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: bortnikova.v@yandex.ru

Л.В. Крепкова

к.б.н., зав. отделом токсикологии,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: krepkova2011@yandex.ru

А.Н. Бабенко

к.б.н., вед. науч. сотрудник, отдел токсикологии,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: alexandra.mogileva@gmail.com

М.В. Боровкова

ст. науч. сотрудник, отдел токсикологии,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: borovkova_65@mail.ru

О.С. Кузина

ст. науч. сотрудник, отдел токсикологии,
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)
E-mail: oskt@list.ru

Проведена комплексная оценка влияния винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) листьев красных экстракта сухого на иммунную систему экспериментальных животных на этапе проведения доклинических исследований. Эксперименты выполнены на морских свинках альбиносах и мышах линии *CBA* и *BALB/c*. Изучена аллергенность в тестах общей системной анафилаксии (анафилактический шок) и активной кожной анафилаксии, а также в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Выполнена оценка состояния Т-клеточного иммунитета по тесту индукции в реакции ГЗТ на мышах линии *CBA* и гуморального иммунитета по тесту генерации антителообразующих клеток в селезенке методом локального гемолиза в модификации Cunningham и титру геммагглютининов в реакции геммагглютинации в сыворотке крови, поставленной в микротитраторе Такачи. Показано, что исследуемый экстракт в испытанных дозах 10 и 100 мг/кг и схемах сенсibilизации не вызывал реакции общей анафилаксии (анафилактический шок) и активной кожной анафилаксии, проведенной на морских свинках-альбиносах. Винограда листьев красных экстракт сухой, введенный с ПАФ, не потенцировал воспаление в реакции ГЗТ у мышей линии *BALB/c*. Установлено, что исследуемый экстракт оказывал стимулирующее дозозависимое действие на первичный гуморальный иммунный ответ мышей линии *CBA* и не влиял на эффекторы клеточного звена иммунитета экспериментальных животных.

Ключевые слова: *Vitis vinifera* L., экстракт сухой, аллергенность, иммунотоксичность.

Для цитирования: Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Бабенко А.Н., Боровкова М.В., Кузина О.С. Оценка аллергенности и иммунотоксичности винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) листьев красных экстракта сухого в опытах *in vivo*. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019; 22(4): 47–52. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-04-08>

Вещества природного происхождения с иммуномодулирующей активностью широко применяются в лечении многих заболеваний. Они используются в качестве превентивных противоопухолевых веществ, усиливающих реакции иммунной системы, а также клеток-эффекторов против опухолей. Иммуномодуляторы приобрели большой интерес как недорогие и менее токсичные лекарственные средства по сравнению с синтетиче-

скими химиотерапевтическими препаратами. Их можно использовать профилактически в монотерапии, а также в комбинации с другими терапевтическими средствами.

Одним из перспективных объектов с указанной активностью является виноград культурный (*Vitis vinifera* L.), который содержит значительное количество полифенолов (антоцианов, флавоноидов, производных стилибена).

В плодах винограда найдено пять основных антоцианидинов (цианидин, пеонидин, дельфинидин, петунидин и мальвидин). Эти соединения обладают антиоксидантной, противомикробной и антиканцерогенной активностью, оказывают защитное действие на сердечно-сосудистую систему человека и используются в пищевой и фармацевтической промышленности [1, 2].

Полифенолы *V. vinifera*, находящиеся в листьях растения, проявляют антиоксидантную, антибактериальную, противоопухолевую, противовоспалительную, гипохолестеринемическую и антидиабетическую активность, а также гепато-, кардио- и нейропротекторные свойства. Полифенолы, стимулируя образование кортикостероидов корой надпочечников, оказывают противовоспалительное действие, а путём снижения образования гистамина обеспечивают противоаллергические свойства. Они обладают защитным эффектом в терапии метаболического синдрома, сочетающего гипертонию, диабет, гиперлипидемию, а также сердечно-сосудистые заболевания и инсульт [1, 2].

Наиболее изученным полифенольным соединением является ресвератрол – мощный антиоксидант с противовоспалительными свойствами; он используется в качестве химиопреventивного противоракового средства, обладает антипролиферативным действием при лейкемии, ингибирует канцерогенез и ангиогенез. Ресвератрол увеличивает общее количество нормальных гемопоэтических стволовых клеток костного мозга (HSC) в опытах *in vivo*, ингибирует радиационно-индуцированное повреждение лимфоцитов крови мышей от радиационного воздействия. Установлено, что системное введение ресвератрола снижает агрегацию тромбоцитов, индуцированную у кроликов гиперхолестеринемической диетой; уменьшает площадь атеросклероза и размер тромба, вызванного лазерным повреждением эндотелия у мышей с гиперхолестеринемией. Ресвератрол – эффективный ингибитор активности циклооксигеназы в опытах *in vivo*, значительно снижает как острый, так и химически индуцированный отек при воспалении. Ресвератрол усиливает ответ иммунной системы мышей на модели кожной сенсibilизации 2,4-динитрофторбензолом и предотвращает иммуносупрессию, вызванную этанолом. Кроме того, ресвератрол защищает мышей от инфекции вирусом простого герпеса 1 (HSV1) и HSV2 [3–6].

На протяжении ряда лет в ФГБНУ ВИЛАР проводилась научно-исследовательская работа по

созданию лекарственного препарата на основе винограда культурного листьев красных, в результате которой получен экстракт сухой (ВКЛКЭС). Определен химический состав экстракта, который представлен веществами фенольной природы (флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, танины) и ресвератролом; ВКЛКЭС стандартизирован по сумме фенольных соединений в пересчете на рутин, содержание которого не менее 6%. [7, 8]. На основе указанного экстракта создано новое лекарственное средство для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности в виде готовых лекарственных форм – капсул 0,180 г для приема внутрь и лечебного крема 3% для местного применения [9, 10].

Цель работы – комплексная оценка влияния винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) листьев красных экстракта сухого на иммунную систему экспериментальных животных на этапе проведения доклинических исследований.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на морских свинках альбиносах (самцы, масса тела 350–400 г), мышцах линии *CBA* и *BALB/c* (самцы, масса тела 18–20 г), полученных из питомника филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА (Московская обл.) и ФГБНУ ВИЛАР. Содержание, кормление и уход за животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Европейская конвенция, Стасбург, 1986) [11]. Протокол эксперимента одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

Выбор методов при изучении аллергенности и иммунотоксичности ВКЛКЭС определен требованиями, изложенными в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.) [12] и международной практикой изучения иммунотоксичности.

В основе выбора доз для данного эксперимента лежала рекомендуемая терапевтическая доза ≈ 10 мг/кг. На основании этого в данном исследовании морским свинкам альбиносам, мышцам линии *CBA* и *BALB/c* (самцы) исследуемый экстракт вводили в дозах 10 и 100 мг/кг (соответственно суточная и 10-кратная суточная терапевтическая дозы) в виде 1%-ного и 10%-ного водных растворов, приготовленных *ex tempore*. Контрольные животные получали эквивалентные объемы воды для инъекций.

Аллергенность ВКЛКЭС оценена в следующих тестах: способность индуцировать анафилактический шок, вызывать активную кожную анафилактическую реакцию и реакцию гиперчувствительности замедленного типа. В тесте реакции общей анафилаксии (анафилактический шок) морских свинок-альбиносов контрольной ($n=8$) и двух опытных групп ($n=16$) сенсibilизировали согласно схеме: первая инъекция подкожно, две последующие внутримышечно в область бедра с интервалом одни сутки. На 21-й день после начала сенсibilизации опытным животным внутривенно вводили разрешающую дозу ВКЛКЭС, равную суммарной сенсibilизирующей, а контрольным – воду для инъекций, после чего регистрировали развитие системной анафилактической реакции. Учет интенсивности проявления анафилактического шока проводили в индексах по Weigle [3].

В тесте активной кожной анафилаксии, проведенной на морских свинках-альбиносах ($n=24$), сенсibilизированным животным (согласно указанной выше схеме) на 21-й день от начала сенсibilизации внутривенно вводили 0,5 мл 1%-ного раствора красителя синего Эванса. Через 20 мин после этого в предварительно выстриженный участок кожи вводили исследуемый ВКЛКЭС в двукратном разведении в объеме 50 мкл внутривожно. Для контроля реакции тому же животному в другой выстриженный участок кожи вводили 50 мкл воды для инъекций. Через 30 мин всех животных подвергали эвтаназии в CO_2 -камере и на внутренней стороне кожи, в месте введения ВКЛКЭС и воды (контроль $n=8$), определяли размер (диаметр) синих пятен.

Способность ВКЛКЭС стимулировать реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) изучали на мышах линии *BALB/c*, из которых были созданы две экспериментальные группы по 10 животных в каждой: I группа – контроль, полный адьювант Фрейнда (ПАФ) с раствором Хенкса в соотношении 1:1; II группа – опыт, ВКЛКЭС в дозе, эквивалентной 10 мМ раствору в ПАФ, в соотношении 1:1. Оценку реакции ГЗТ проводили через 24 ч после разрешающей инъекции ВКЛКЭС путем измерения величины отека лапок при взвешивании «контрольной» и «опытной» лапок с последующим расчетом индекса реакции (ИР) по формуле: $ИР = P_o - P_k / P_k \cdot 100$, где P_o – масса опытной лапки; P_k – масса контрольной лапки.

Изучение иммуноотоксичности ВКЛКЭС на гуморальный иммунитет оценивали по тесту гене-

рации антителообразующих клеток (АОК) в селезенке и титру гемагглютининов в сыворотке крови у мышей, иммунизированных внутрибрюшинным введением эритроцитов барана (ЭБ) в оптимальной иммуногенной дозе 5×10^7 клеток на мыш. На 5-е сутки после иммунизации животных декапировали и в суспензии клеток селезенки определяли число АОК методом локального гемолиза в модификации Cunningham [13], а в сыворотке крови – титр гемагглютининов в реакции гемагглютинации, поставленной в микротитраторе Такачи, который выражали величиной $\log_2 T$.

Действие ВКЛКЭС на состояние Т-клеточного иммунитета исследовали по тесту индукции ГЗТ на мышах линии *СВА*. Для постановки реакции ГЗТ мышам I–V групп ($n=50$) иммунизировали подкожным введением в межлопаточную область эритроцитов барана в дозе (2×10^8) клеток на мыш. Мышам II и III групп за сутки до иммунизации ЭБ (день «-1») внутрибрюшинно вводили ВКЛКЭС в дозах 10 и 100 мг/кг. Мышам IV и V групп вводили ВКЛКЭС в тех же дозах внутрибрюшинно через 24 ч после инъекции антигена (ЭБ, день «+1»). Контрольные мыши (I группа) получали внутрибрюшинно соответствующее количество воды по схеме (ЭБ, день «+1»). На 5-е сутки после иммунизации все животные получали субплантарно в левую заднюю лапку разрешающую инъекцию ЭБ в дозе 7×10^8 клеток на мыш в объеме 50 мкл (опытная лапка). В подушечку контрлатеральной лапки (контрольная лапка) вводили 50 мкл воды.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с применением *t*-критерия Стьюдента. Достоверность различий с контролем считали при $p < 0,05$. Статистические данные обрабатывали с помощью программы Statistica version 10 [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сенсibilизация морских свинок-альбиносов ВКЛКЭС в дозах 10 и 100 мг/кг с последующим внутривенным введением разрешающей дозы исследуемого экстракта на 21-й день после начала сенсibilизации не вызывала у животных реакции общей системной анафилаксии. Анафилактический индекс у морских свинок опытных групп не имел статистически достоверных различий с контролем. Реакция общей системной анафилаксии – отрицательная. Ниже приведен индекс по Weigle реакции

анафилактического шока у морских свинок альбиносов, сенсibilизированных ВКЛКЭС ($M \pm m$):

Контроль, вода для инъекций ($n=8$) $0,95 \pm 0,2$
 ВКЛКЭС, доза 10 мг/кг ($n=8$) $1,40 \pm 0,3$
 ВКЛКЭС, доза 100 мг/кг ($n=8$) $1,13 \pm 0,4$

В тесте реакции активной кожной анафилаксии после внутрикожного введения разрешающей инъекции раствора ВКЛКЭС у животных опытных и контрольной групп диаметр окрашенного пятна статистически значимо не различался и находился в пределах $4,9 \pm 0,5$ мм (контроль) и $5,4 \pm 0,4$ и $5,8 \pm 0,6$ мм (опыт).

При изучении влияния ВКЛКЭС на реакцию ГЗТ показано, что индекс реакции у мышей, сенсibilизированных ВКЛКЭС, составил $0,45 \pm 0,04$ и не имел статистически достоверных различий с соответствующим показателем в контрольной группе – $0,39 \pm 0,05$.

Таким образом, при изучении потенциальных аллергизирующих свойств винограда культурного листьев красных экстракта сухого в экспериментах на разных видах лабораторных животных не

выявлены статистически значимые различия в результатах между контрольной и опытными группами. Винограда культурного листьев красных экстракта сухой в диапазоне испытанных доз и схем сенсibilизации не вызывал реакции общей анафилаксии (анафилактический шок) и активной кожной анафилаксии, проведенных на морских свинках-альбиносах.

Винограда культурного листьев красных экстракта сухой, введенный с ПАФ, не потенцировал воспаления в реакции гиперчувствительности замедленного типа у мышей линии *BALB/c*.

При исследовании влияния ВКЛКЭС на процессы формирования Т-зависимого гуморального иммунитета было установлено его стимулирующее влияние на Т-зависимый иммунный ответ мышей линии *СВА*. Наиболее выраженный эффект наблюдали в группе животных, получавших ВКЛКЭС в дозе 100 мг/кг, в которой отмечено увеличение количества АОК в селезенке и титра гемагглютининов в сыворотке крови более чем в 3 раза по сравнению с контролем (таблица).

Таблица. Показатели гуморального звена иммунитета мышей линии СВА при 5-дневном внутрижелудочном введении ВКЛКЭС ($M \pm m$)

Группа животных	Абсолютное число АОК на одну селезенку	Количество АОК на 10^6 спленоцитов	Обратный титр гемагглютининов, $\log_2 T$
Контроль, вода для инъекций ($n=10$)	11520 ± 1440	80 ± 7	$32,1 \pm 4,4$
ВКЛКЭС, 10 мг/кг ($n=10$)	$24228 \pm 227^*$	$227 \pm 23^*$	$61,4 \pm 5,8^*$
ВКЛКЭС, 100 мг/кг ($n=10$)	$32580 \pm 3060^*$	$714 \pm 97^*$	$90,1 \pm 14,7^*$

Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы животных, $p < 0,05$.

При исследовании влияния ВКЛКЭС на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что однократное введение ВКЛКЭС в дозах 10 и 100 мг/кг статистически значимо не изменяло индекс реакции ГЗТ у мышей линии *СВА* при различных схемах опыта, следовательно, ВКЛКЭС не влиял на эффекторы клеточного иммунитета мышей. Ниже приведен индекс реакции ГЗТ мышей линии *СВА*, получавших ВКЛКЭС ($M \pm m$):

Контроль, вода, день «+1» ($n=10$) $35,8 \pm 3,4$
 ВКЛКЭС, 10 мг/кг, день «-1» ($n=10$) $33,4 \pm 2,6$
 ВКЛКЭС, 100 мг/кг, день «-1» ($n=10$) $39,1 \pm 2,7$
 ВКЛКЭС, 10 мг/кг, день «+1» ($n=10$) $36,3 \pm 2,5$
 ВКЛКЭС, 100 мг/кг, день «+1» ($n=10$) $38,5 \pm 5,7$

Таким образом, при оценке влияния ВКЛКЭС на иммунореактивность интактных животных

впервые показано, что ВКЛКЭС в изученных дозах 10 и 100 мг/кг усиливал процессы накопления антителообразующих клеток в селезенке и выработку антител при формировании первичного иммунного ответа. Наиболее выраженный эффект наблюдали в дозе 100 мг/кг. В механизме иммуностимулирующего действия ВКЛКЭС, по-видимому, важное место занимало усиление пролиферативной способности Т- и В-лимфоцитов, усиление функциональной активности их различных популяций, что в конечном итоге приводило к повышению способности иммунной системы подопытных животных адекватно реагировать на антигенный стимул. Иммуностимулирующее действие ВКЛКЭС, по-видимому, связано с наличием в его составе

полифенольных соединений, в частности ресвератрола.

Отсутствие аллергенности, а также сочетание иммуностимулирующего действия ВКЛКЭС с наличием противовоспалительных, антиоксидантных свойств и способности активировать эритропоэз, установленных в ранее проведенных экспериментальных исследованиях, является дополнительным преимуществом ВКЛКЭС, на основе которого разработано новое лекарственное средство, предназначенное для профилактики и лечения хронической венозной недостаточности.

ВЫВОДЫ

1. Винограда культурного листьев красных экстракта сухой не индуцирует аллергические реакции и по своей природе не является потенциальным аллергеном.
2. Винограда культурного листьев красных экстракта сухой стимулирует гуморальное звено иммунитета экспериментальных животных.
3. Винограда культурного листьев красных экстракта сухой не влияет на клеточный иммунитет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Под. ред. Е.И. Маевского. Пушино: Synchronbook. 2013. 310 с.
2. Барабой В.А. Фенольные соединения виноградной лозы: структура, антиоксидантная активность, применение // *Biotechnologia Acta*. 2009. Т. 2. № 2. С. 67–69.
3. Моисеева А.М., Железняк Н.В., Генералова А.Г., Моисеев Д.В. Фитоалексин ресвератрол: методы определения, механизмы действия, перспективы клинического применения // *Вестник фармации*. 2012. № 1(55). С. 63–73.
4. Johnson W.D., Morrissey R.L., Osborne A.L., Kapetanovic I., Crowell J.A., Muzzio M., McCormick D.L. Subchronic oral

- toxicity and cardiovascular safety pharmacology studies of resveratrol, a naturally occurring polyphenol with cancer preventive activity // *Food Chem Toxicol*. 2011. V. 49. № 12. P. 3319–3327.
5. Shima A Ibrahim Abdelmonym Mohamed, Ibrahim Jantan, Md. Areeful Haque. Naturally occurring immunomodulators with antitumor activity: An insight on their mechanisms of action/ *International Immunopharmacology*. 2017. № 50. P. 291–304.
 6. Электронный ресурс: <https://lifebio.wiki/ресвератрол>.
 7. Дул В.Н., Даргаева Т.Д., Копытько Я.Ф., Сокольская Т.А. Изучение состава фенольных веществ красных листьев винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) методом ВЭЖХ // *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2014. №3. С. 33–36.
 8. Дул В.Н., Даргаева Т.Д., Сайбель О.Л. Разработка методик контроля качества сухого экстракта красных листьев винограда культурного // Сб. тр. 2-й науч.-практ. конф. аспирантов и мол. уч. «Молодые ученые и Фармация XXI века». 2014. С. 72–75.
 9. Бабенко А.Н., Кузина О.С., Бортникова В.В., Дмитриева О.П., Крепкова Л.В., Джавахян М.А. Экспериментальное токсикологическое изучение крема, созданного на основе экстракта сухого винограда листьев красных // *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2016. № 4(14). С. 23–27.
 10. Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Кузина О.С., Боровкова М.В., Джавахян М.А. Доклиническое изучение безопасности капсул, созданных на основе винограда листьев красных экстракта сухого // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018. № 11. С. 45–50.
 11. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург. 1986.
 12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. М.: Гриф и К. 2012. С. 50–79.
 13. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // *Nature*. 1965. Sep. 4. № 207(5001). P. 1106–1107.
 14. Лакин Г.Ф. Биометрия. М. 1990. 350 с.

Поступила 14 марта 2019 г.

IN VIVO INVESTGATION OF ALLERGENIC AND IMMUNOTOXICITY PROPERTIES OF REDLEAVES EXTRACT ISOLATED FROM *VITIS VINIFERA* L.

© Authors, 2019

V.V. Bortnikova

Ph.D. (Biol.), Leading Research Scientist, Department of Toxicology, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)
E-mail: bortnikova.v@yandex.ru

L.V. Krepkova

Ph.D. (Biol.), Head of Toxicology Department, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)
E-mail: krepkova2011@yandex.ru

A.N. Babenko

Ph.D. (Pharm.), Ph.D. (Biol.), Leading Research Scientist, Department of Toxicology, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)
E-mail: alexandra.mogileva@gmail.com

M.V. Borovkova

Senior Research Scientist, Toxicology Department, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)
E-mail: borovkova_65@mail.ru

O.S. Kuzina

Senior Research Scientist, Toxicology Department, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)
E-mail: oskt@list.ru

Purpose: complex assessment of the influence of grape culture (*Vitis vinifera* L.) leaves of red extract of dry on the immune system of experimental animals at the stage of preclinical studies.

Methods: experiments were performed on albinos males guinea pigs (body weight 350-400 g), CBA and BALB/c males mice (body weight 18-20 g). Allergenicity was studied in tests of general systemic anaphylaxis (anaphylactic shock) and active skin anaphylaxis, as well as in delayed hypersensitivity reaction (HRT). Humoral immunity was assessed by the test of the generation of antibody-forming cells in the spleen by the method of local hemolysis in the modification Cunningham and the titer of hemagglutinins in the reaction of hemagglutination in the serum raised in microtitration Takachi. The state of T-cell immunity was investigated by induction test in the reaction HRT of CBA mice.

Results: it was shown that the studied extract in the tested doses of 10 and 100 mg/kg and sensitization schemes did not cause a reaction of general anaphylaxis (anaphylactic shock) and active skin anaphylaxis carried out on albino guinea pigs. Grape leaf red extract dry, introduced with PAF, did not potentiate inflammation in the reaction HRT of BALB/c mice in the study of immunotoxic properties, it was found that the studied extract showed a stimulating dose-dependent effect on the primary humoral immune response and had no effect on the effectors of the cellular immunity of experimental animals.

Conclusions: studies have shown that the grape leaf red extract dry did not have a sensitizing effect. The stimulating effect of the studied extract on T - dependent immune response of CBA mice was revealed.

Key words: *Vitis vinifera*, grape red leaf extract dry, allergenicity, immunotoxicity.

For citation: Bortnikova V.V., Krepkova L.V., Babenko A.N., Borovkova M.V., Kuzina O.S. *In vivo* investigation of allergenic and immunotoxicity properties of redleaves extract isolated from *Vitis vinifera* L. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(4):47–52. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-04-08>

REFERENCES

1. Tarahovskij Yu.S., Kim YU.A., Abdrasilov B.S., Muzafarov E.N. Flavonoidy: biohimiya, biofizika, medicina / Pod. red. E.I. Maevskogo. Pushchino: Sunchrobook. 2013. 310 c.
2. Baraboj V.A. Fenol'nye soedineniya vinogradnoj lozy: struktura, antioksidantnaya aktivnost', primeneniye // Biotechnologia Acta. 2009. T. 2. № 2. S. 67–69.
3. Moiseeva A.M., Zheleznyak N.V., Generalova A.G., Moiseev D.V. Fitoaleksin resveratrol: metody opredeleniya, mekhanizmy dejstviya, perspektivy klinicheskogo primeneniya // Vestnik farmacii. 2012. № 1(55). S. 63–73.
4. Johnson W.D., Morrissey R.L., Osborne A.L., Kapetanovic I., Crowell J.A., Muzzio M., McCormick D.L. Subchronic oral toxicity and cardiovascular safety pharmacology studies of resveratrol, a naturally occurring polyphenol with cancer preventive activity // Food Chem Toxicol. 2011. V. 49. № 12. P. 3319–3327.
5. Shima Ibrahim Abdelmonym Mohamed, Ibrahim Jantan, Md. Areeful Haque. Naturally occurring immunomodulators with antitumor activity: An insight on their mechanisms of action/ International Immunopharmacology. 2017. № 50. P. 291–304.
6. Ehektronnyj resurs: [https:// lifebio.wiki>resveratrol](https://lifebio.wiki/resveratrol).
7. Dul V.N., Dargaeva T.D., Kopyt'ko YA.F., Sokol'skaya T.A. Izuchenie sostava fenol'nyh veshchestv krasnyh list'ev vinograda kul'turnogo (*Vitis vinifera* L.) metodom VEZHKKH // Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennyh sredstv. 2014. №3. S. 33–36.
8. Dul V.N., Dargaeva T.D., Sajbel' O.L. Razrabotka metodik kontrolya kachestva suhogo ehkstrakta krasnyh list'ev vinograda kul'turnogo // Sb. tr. 2-j nauch.-prakt. konf. aspir. i mol. uch. «Molodye uchenye i Farmaciya XXI veka». 2014. S. 72–75.
9. Babenko A.N., Kuzina O.S., Bortnikova V.V., Dmitrieva O.P., Krepkova L.V., Dzhavahyan M.A. Ekhspperimental'noe toksikologicheskoe izuchenie krema, sozdannogo na osnove ehkstrakta suhogo vinograda list'ev krasnyh // Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennyh sredstv. 2016. № 4(14). S. 23–27.
10. Krepkova L.V., Bortnikova V.V., Kuzina O.S., Borovkova M.V., Dzhavahyan M.A. Doklinicheskoe izuchenie bezopasnosti kapsul, sozdannyh na osnove vinograda list'ev krasnyh ehkstrakta suhogo // Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii. 2018. № 11. S. 45–50.
11. Evropejskaya konvenciya o zashchite pozvonochnyh zhivotnyh, ispol'zuemyh dlya ehksperimentov ili v inyh nauchnyh celyah. Strasburg. 1986.
12. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Ch. I. M.: Grif i K. 2012. S. 50–79.
13. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // Nature. 1965. Sep. 4. № 207(5001). P. 1106–1107.
14. Lakin G.F. Biometriya. M. 1990. 350 s.