

Оценка влияния экстрактов *Cassia fistula* L. на интенсивность мышечных сокращений с использованием *ex vivo* модели

©2022. К. Р. Ранадив¹, Н. В. Джагтап², П. Н. Джагтап³, В. В. Перельгин⁴, М. В. Жариков⁴, И. В. Змитрович⁵, Г. Д. Санджай⁶

¹Кафедра ботаники, Колледж Аннасахеб Магар Махавидьялая, Хадапсар, Индия

²Кафедра химии, Колледж Уэгхира, Сасвад, Индия

³Кафедра фармакологии, Фармацевтический колледж SGRS P.D.E.A., Сасвад, Индия

⁴Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия

⁵Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁶Кафедра химии, Колледж искусств, торговли и науки, Ваголи, Пуна, Индия

Автор, ответственный за переписку: Ранадив Киран, ranadive.kiran@gmail.com

АННОТАЦИЯ. Кассия дудчатая (*Cassia fistula* L.) – растение из семейства бобовых (*Fabaceae*), издавна используемое в традиционной медицине. Целью настоящего исследования является оценка воздействия экстрактов растительного сырья *Cassia fistula* L. в виде специальных химических растворов определенной концентрации на гладкую мускулатуру кишечника животного.

Дизайн эксперимента предполагал идентификацию растительного сырья, его сушку, измельчение, экстрагирование растворимых фракций, очистку водного, эфирного и этанолового экстрактов и их испытание на тканях подвздошной кишки курицы домашней, извлеченных *ex vivo*.

Далее определялась реакция экспериментальной ткани на воздействие экстрактов и контрольных релакс-стимуляторов.

Для исследований отбирался материал кур вида *Gallus gallus* L. (*Gallus gallus domesticus* L.) (курица индийская, или банкивская, или домашняя).

Было показано, что эфирный, этаноловый и водный экстракты плодов *Cassia fistula* L. проявляли в целом высокую релаксирующую активность в сравнении с контрольными релакс-стимуляторами, экстракты листьев проявляли более скромную релаксирующую активность, подобная ситуация наблюдалась в ходе тестирования экстрактов молодых побегов, причем водные экстракты показали еще более скромные результаты, в то время как спиртовой и этаноловый экстракты молодых побегов проявили себя лучше, чем соответствующие экстракты листьев, а наиболее скромные результаты с точки зрения дозы, достаточной для физиологического ответа, продемонстрировали экстракты корней.

Проведенная первичная оценка активности экстрактов *Cassia fistula* L. позволяет выделить в качестве наиболее перспективных для дальнейшего химического изучения пулы веществ, концентрирующихся в этаноловом экстракте плодов, проявляющем минимальную эффективную дозу, в эфирных экстрактах плодов и коры, демонстрирующих наименьшее время реакции и в водных экстрактах молодых побегов и коры, демонстрирующих наивысший процент приращения активности в сравнении с контролем.

В ходе исследования мы получили качественные и количественные результаты по сокращению гладкой мускулатуры в тканях подвздошной кишки курицы, что позволило нам оценить эффект воздействия водных экстрактов материалов *Cassia fistula* L. и определить прогноз фармакологического профиля лекарственного средства.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кассия дудчатая (*Cassia fistula* L.); биологически активные вещества; лекарственные средства; растительное сырье; водные экстракты растения; подвздошная кишка курицы домашней; традиционная медицина; камера для изолированных тканей

СОКРАЩЕНИЯ:

ВНС – вегетативная нервная система; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; КИТ – камера для изолированных тканей; Collad. – Л.Т.Ф. Колладон (Louis Théodore Frederic Colladon, 1792–1862); DC. – О. П. Декандоль (Augustin Pyramus de Candolle, 1778–1841); G. Don – Дж. Дон (George Don, 1798–1856); Kunth – К. С. Кунт (Carl Sigismund Kunth, 1788–1850); L. – К. Линней (Carl Linnaeus, 1707–1778); Pers. – Х. Г. Персон (Christiaan Hendrik Persoon, 1761–1836); Roxb. – У. Роксбург (William Roxburgh, 1751–1815); Willd. – К. Л. Вильденов (Carl Ludwig von Willdenow, 1765–1812); БАВ – биологически активные вещества.

ВВЕДЕНИЕ

Кассия дудчатая (*Cassia fistula* L.) – растение из семейства бобовых (Fabaceae) [1], издавна используемое в традиционной медицине [2–7]. Это растение известно достаточно давно, вследствие чего в ботанической литературе накопилось множество его синонимов (*Bactrylobium fistula* Willd., *Cassia bonplandiana* DC., *C. excelsa* Kunth, *C. fistuloides* Collad., *C. rhombifolia* Roxb., *Cathartocarpus excelsus* G. Don, *C. fistula* Pers., *C. fistuloides* (Collad.) G. Don, *C. rhombifolius* G. Don).

Этот вид произрастает в Индии, но культивируется во многих тропических и субтропических странах. Он растет в теплое и сухое климате, на хорошо дренированных почвах и встречается в субтропических лиственных лесах. Дерево родом из Индии, но культивируется на многих тропических и субтропических территориях таких, как Австралия, Ангола, Андамские о-ва, Антигуа-Барбуда, Аргентина, Бангладеш, Барбадос, Белиз, Бразилия, Бруней, Бутан, Венесуэла, Восточный Тимор, Вьетнам, Гавайи, Гаити, Гайана, Гваделупа, Гватемала, Гренада, Джава, Доминикана, Зимбабве, Индия, Индонезия, Ирак, Иран, Каймановы о-ва, Калимантан, Камбоджа, Кения, Китай, Колумбия, Коста-Рика, Куба, Лаккадивские о-ва, Лаос, Малави, Малайзия, Малайзия, Малый Зондский о-в, Мальдивы, Мартиника, Мексика, Молуккские о-ва, Мьянма, Непал, Никарагуа, Ниуэ, Пакистан, Панама, Папуа-Новая Гвинея, Перу, Пуэрто-Рико, Родригес, Рюкю Ис, Сев. Марианские о-ва, Сейшелы, Сент-Винсент, Сент-Люсия, Сингапур, Соединенные Штаты, Сулавеси, Суматра, Суринам, Таиланд, Тайвань, Танзания, Тонга, Уганда, Фиджи, Филиппины, Французская Гвиана, Шри-Ланка, Эль Сальвадор, Эфиопия, Южная Африка [8].

Cassia fistula L. – это дерево средних размеров, до 15 м высотой, без шипов; крона у него разреженная и небольшая; листья очередные, парноперистые, 15–40 см длиной, с осью 10–30 см, без желез, с голым черешком до 10 см длиной. Цвет листочков темно-зеленый с блестящей верхней стороной и непрозрачной матовой нижней. Цветение идет с весны до лета. Цветки с желтыми лепестками, линейными или хвостатыми прицветниками, поникающие, от 3 до 5 см диаметром с тонкими цветоножками длиной 6 см; образуют свисающие пазушные не очень разветвленные грозди длиной от 20 до 40 см; каждая гроздь несет от 15 до 60 цветков. Плод – боб цилиндрической формы, свисающий и неопушенный, 20–60 см длиной и 2 см шириной, на концах закругленный, при созревании темно-коричневого или черного цвета. Созревание плодов происходит медленно, с декабря по март. Каждая бобовая культура может содержать не менее 40 и не более 100 семян. Семена обратно-яйцевидные или эллипсоидальные, длиной от 7 до 10 мм, шириной от 6 до 7 мм, гладкие, красновато-коричневые, окружены сладковатой слизью темного цвета и плотной консистенции [9,10].

Лекарственные средства из цветов, плодов и семян этого растения обладают выраженным антифунгальным, антиоксидантным, антимикробным, противовоспалительным, противоопухолевым, гепатопротекторным и гипогликемическим действием [11, 12]. Лекарственное сырье *Cassia fistula* L. используется в народной медицине при опухолях кишечника, желез внутренней секреции,

горла, печени, при ожогах, запорах, судорогах, диарее, дизурии, эпилепсии, проказе, кожно-венерических заболеваниях [13,14,15].

Целью настоящего исследования является оценка воздействия экстрактов растительного сырья *Cassia fistula* L. в виде растворов определенной концентрации на ткани подвздошной кишки курицы для выявления их физиологической активности.

Дизайн эксперимента предполагал идентификацию растительного сырья, его сушку, измельчение, экстрагирование растворимых фракций, очистку водного, эфирного и этанолового экстрактов и их испытание на тканях подвздошной кишки курицы домашней, извлеченных *ex vivo*.

Далее определялась реакция экспериментальной ткани на воздействие экстрактов и контрольных релаксаторов.

Для исследований отбирался материал кур вида *Gallus gallus* L. (курица индийская, банкивская, или домашняя). Далее в тексте мы будем использовать такой синоним названия этого вида кур как *Gallus gallus domesticus* L.

Экспериментальные исследования проводились на животных, предварительно одобренных Институциональным комитетом по этике животных (Ref: SGRS/IAEC/05-2017-2018).

В ходе исследования мы получили качественные и количественные результаты по сокращению гладкой мускулатуры в тканях подвздошной кишки курицы, что позволило нам оценить эффект воздействия водных экстрактов материалов *Cassia fistula* L. и определить прогноз фармакологического профиля лекарственного средства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительное сырье

Растительное сырье *Cassia fistula* L. собирали в нескольких районах округа Пуна (Тамини, Мулши, Кантонмент-Борд, Пашан, Чандани, Чоук, Тамини Гат) в разные сезоны года. Идентификация проведена на кафедре ботаники научно-исследовательского института Агаркар (ARI), г. Пуна. Различные части растения были собраны в отдельные полиэтиленовые пакеты. Сбор производился следующим образом: кору срезали с помощью ножа и молоточка; листья всех размеров отделяли от стебля; плоды отбирали полностью созревшими и неповрежденными.

Сушка растительного сырья

Сушку сырья проводили сначала естественным путем на воздухе в тени, а затем на солнце. После этой первичной обработки сушку проводили с использованием инфракрасной лампы непрерывно в течение 7–8 дней. Затем полностью высушенные образцы измельчались в порошок с помощью миксера или ступки с пестиком.

Измельчение растительного сырья

Размер частиц высушенных листьев уменьшали сначала путем ручного измельчения, а затем помещали их в ступку с пестиком для измельчения в мелкий порошок. Плоды сразу измельчали в ступке. Перед измельчением в мелкий порошок семена, присутствующие в плодах, были отделены (поскольку экстракты семян не использовались в эксперименте). Размер частиц коры уменьшали

с помощью строительного раствора и пестика. Высушенные молодые побеги сначала измельчали с помощью ступки и пестика, а затем – с помощью миксера.

Измельченный порошок разных частей растений был расфасован для хранения в отдельные пластиковые контейнеры с маркировкой, содержащей данные о месте сбора и температуре высушивания.

Взвешивание проб для экстракции

Экстракцию проводили в колбах, содержащих 250 мл экстрагирующего вещества. Навеска измельченных листьев составляла 15 г, плодов – 50 г, коры – 40 г, молодые побеги – 27 г. Навески вышеуказанных проб в дальнейшем использовали для проведения экстракции.

Экстракция

Экстракция производилась с использованием экстрактора Сокслета с использованием различных растворителей (диэтиловый эфир, этанол и вода), которые собирали в химический стакан на 250 мл [16, 17].

Разделение и очистка

Полученные этаноловые, водные и эфирные экстракты из проб различных частей *Cassia fistula* L. очищали путем выпаривания растворителей досуха в течение 40–45 мин на водяной бане при температуре 100 °С с получением очищенных порошков [17].

Опыты в камере для изолированных тканей (КИТ)

Изолированный *ex vivo* препарат куриной подвздошной кишки уже долгое время используется в Индии для испытания биологически активных веществ. Его преимуществом является отсутствие ущерба для жизни экспериментальных животных [18]. Этот метод позволяет выявить ответы, обеспечиваемые множеством различных рецепторов на воздействие различных экстрактов.

Ткани и органы, помещаемые в КИТ, насыщались кислородом с помощью карбогена и хранились в растворе Рингера с молочной кислотой. Исследуемые препараты вводились непосредственно в камеру при температуре 37 °С. Время контакта выдержано в соответствии со стандартными протоколами. Соблюдался пятиминутный временной цикл, т.е. 30 с записи базовой линии, 90 с контакта (отклик на препарат) и последующих трех промываний с интервалом в 1 мин [19, 20].

КИТ снабжена собственным датчиком и устройством точного позиционирования для быстрого выполнения регулировки и измерения на основе аналого-цифрового преобразователя. Извлечение сигналов и запись входных данных проводились в режиме реального времени. Полученные данные обрабатывались и анализировались. При анализе результатов оценивалась динамика показателей сократительной активности сегментов кишки по сравнению с фоновыми значениями.

На основании ответов тканей на воздействие экстрактов были построены кривые «доза – ответ», позволившие первично оценить активность экстрактов и определить его фармакологический профиль.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения нервно-мышечной (гладкая мускулатура) стимуляции экстрактами *Cassia fistula* L. использовали ткани подвздошной кишки курицы. В КИТ вносились растворы (объем – 250 мл) различных экстрактов и контрольных релакс-стимуляторов нервно-мышечных контактов (кофеин, диазепам) и измерялось приращение длины помещенного в КИТ сегмента кишечника при вызванном БАВ расслаблении гладкой мускулатуры.

Ответы нервно-мышечной ткани варьировали в зависимости от дозы препарата (табл. 1) и времени экспонирования (рис. 1). При этом экстракты сырья, полученного из различных частей растения, также демонстрировали различную биологическую активность. Эфирный, этаноловый и водный экстракты плодов проявляли в целом высокую релаксирующую активность в сравнении с контрольными релакс-стимуляторами – их достаточная для физиологического ответа доза варьировала от 28 мл (этаноловый экстракт) до 165 мл (водный экстракт), в то время как минимальная для физиологического ответа доза кофеина составляла 155 мл, а диазепам – 75 мл. Экстракты листьев проявляли более скромную релаксирующую активность в сравнении с контрольными стимуляторами (пределы варьирования эффективной дозы составили 58–232 мл), причем водные экстракты уже проигрывали в активности контрольным стимуляторам (доза варьировала от 225 до 232 мл). Подобная ситуация наблюдалась в ходе тестирования экстрактов молодых побегов, причем водные экстракты показали еще более скромные результаты (эффективная доза варьировала в пределах 325–330 мл), в то время как спиртовой и этаноловый экстракты молодых побегов проявили себя лучше, чем соответствующие экстракты листьев и пределы варьирования эффективной дозы ограничены здесь отметками 62–102 мл. Наиболее скромные результаты с точки зрения дозы, достаточной для физиологического ответа, продемонстрировали экстракты корней: эффективная доза водных экстрактов варьировала в пределах 315–329 мл, этаноловый – 254–277 мл, а эфирного – 76–82 мл. Наилучший результат в отношении эффективной дозы показал этаноловый экстракт плодов *Cassia fistula* L. (25–31 мл).

Реакция экспериментальной ткани на воздействие экстрактов и контрольных релакс-стимуляторов проявлялась не мгновенно, а по прошествии определенного времени (рис. 1), обычно в пределах 1–4 ч. При этом наилучшие результаты (т.е. наименьшее время реакции) проявили опять эфирные экстракты плодов и коры, под воздействием которых физиологический ответ был получен менее, чем за 1 ч. Этаноловые экстракты плодов, листьев, побегов и коры, хотя имеют меньшую эффективную дозу (табл. 1), демонстрируют довольно существенное время экспонирования, превышающее таковое, демонстрируемое контрольными препаратами – кофеином и диазепамом.

Пожалуй, более существенным, чем эффективная доза и время экспонирования, является сила физиологического ответа. На рис. 2 показан протокол эксперимента, позволяющий оценить величину удлинения сегмента кишечника в ответ на воздействие как контрольных релакс-стимуляторов, так и тестируемых экстрактов *Cassia fistula* L.

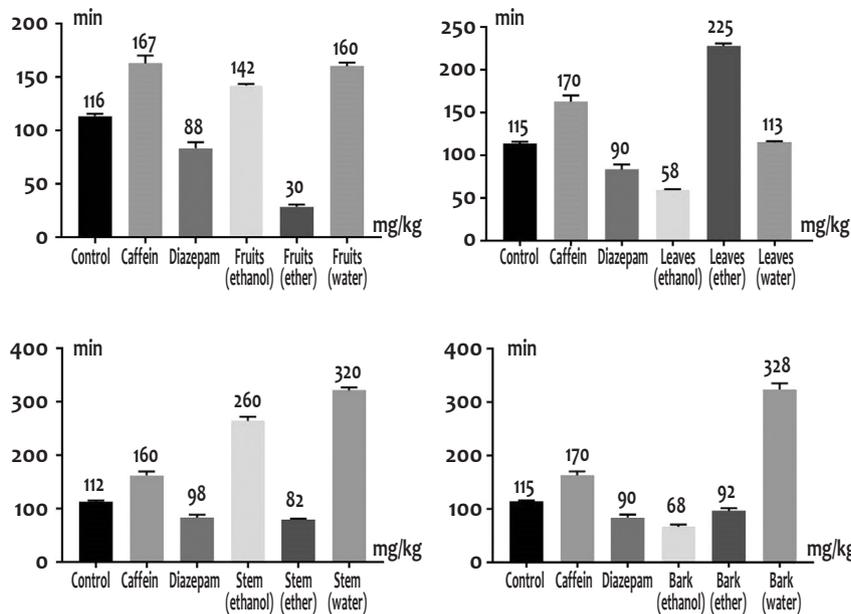


Рис. 1. Время физиологического ответа, соответствующее оптимальному значению эффективной дозы экстрактов
 Fig. 1. Physiological response time corresponding to the optimal value of the effective dose of extracts

Введенные дозы экстрактов *Cassia fistula* L. и контрольных стимуляторов нервно-мышечных контактов, сопряженные с физиологическим ответом

Табл. 1.

Administered doses of *Cassia fistula* L. extracts and control neuromuscular stimulators associated with physiological response

Table 1.

Происхождение экстрактов	Вещества, мл				
	Контроль		Эфирный экстракт	Этаноловый экстракт	Водный экстракт
	Кофеин	Диазепам			
Плоды	167	88	141	28	160
	160	78	145	30	155
	155	75	142	25	165
	170	90	140	30	161
	171	85	142	31	162
	155	85	142	28	160
Листья	167	88	59	115	232
	160	78	60	117	225
	155	75	61	115	230
	170	90	58	113	225
	171	85	59	116	230
	155	85	59	115	228
Молодые побеги	167	88	90	71	330
	160	78	102	65	300
	155	75	100	62	332
	170	90	92	68	328
	171	85	94	63	327
	155	85	98	70	325
Корни	167	88	81	254	315
	160	98	82	260	318
	155	75	80	277	320
	170	90	79	264	329
	171	85	77	270	324
	155	85	76	268	326

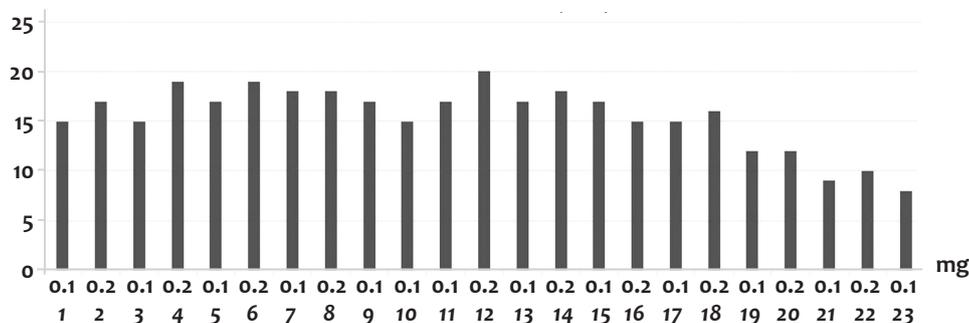


Рис. 2. Зависимость величины мышечного расслабления (мм) от дозы контрольных препаратов и экстрактов *Cassia fistula* L. (mg) – водного (аббревиатура А в легенде), этанолового (EN) и эфирного (E) различных частей растения – плодов (аббревиатура F в легенде), листьев (L), побегов (S), коры (B): 1 – EL; 2 – EL; 3 – AL; 4 – ENL; 5 – ENL; 6 – EF; 7 – EF; 8 – ENF; 9 – ENF; 10 – AF; 11 – AF; 12 – ES; 13 – ES; 14 – ENS; 15 – ENS; 16 – AS; 17 – AS; 18 – EB; 19 – EB; 20 – AB; 21 – AB; 22 – ENB; 23 – ENB

Fig. 2. Dependence of amplitude of muscle relaxation (mm) on the dose of control preparations and extracts of *Cassia fistula* L. (mg), namely, aqueous (abbreviation A in the legend), ethanol (EN) and ether (E) ones of various parts of the plant, namely, fruits (abbreviation F in the legend), leaves (L), shoots (S), bark (B): 1 – EL; 2 – EL; 3 – AL; 4 – ENL; 5 – ENL; 6 – EF; 7 – EF; 8 – ENF; 9 – ENF; 10 – AF; 11 – AF; 12 – ES; 13 – ES; 14 – ENS; 15 – ENS; 16 – AS; 17 – AS; 18 – EB; 19 – EB; 20 – AB; 21 – AB; 22 – ENB; 23 – ENB

Табл. 2.
Экстракты *Cassia fistula* L., сгруппированные в порядке возрастания силы физиологического ответа

Table 2.
Extracts of *Cassia fistula* L., grouped in order of increasing strength of the physiological response

Экстракт	Доза препарата	Удлинение при релаксации (мм)
Кора (этанольный)	0,1 мг	8
Кора (водный)	0,1 мг	9
Кора (водный)	0,2 мг	10
Кора (этанольный)	0,2 мг	10
Кора (эфирный)	0,1 мг	12
Кора (эфирный)	0,2 мг	12
Листья (эфирный)	0,1 мг	15
Листья (водный)	0,1 мг	15
Побеги (этанольный)	0,2 мг	15
Побеги (водный)	0,1 мг	15
Побеги (водный)	0,2 мг	16
Листья (эфирный)	0,2 мг	17
Листья (этанольный)	0,1 мг	17
Плоды (этанольный)	0,1 мг	17
Плоды (водный)	0,1 мг	17
Побеги (эфирный)	0,1 мг	17
Побеги (этанольный)	0,1 мг	17
Плоды (эфирный)	0,1 мг	18
Плоды (эфирный)	0,2 мг	18
Побеги (эфирный)	0,2 мг	18
Листья (эфирный)	0,2 мг	19
Листья (этанольный)	0,2 мг	19
Плоды (водный)	0,2 мг	20

Наиболее существенный ответ – увеличение длины на 20 мм – был зафиксирован при воздействии на ткань водного экстракта плодов. Также высокой активностью обладали эфирный и спиртовой экстракты листьев, эфирный экстракт плодов, эфирный и этаноловый экстракты побегов.

В табл. 2 результаты исследования зависимости «доза – эффект» представлены для каждого типа экстракта в порядке возрастания силы реакции экспериментальной ткани. Это позволяет выделить наиболее перспективные для дальнейшего изучения экстракты: водный, спиртовой и эфирный экстракты плодов и спиртовой и эфирный экстракты листьев.

Табл. 3.
Сравнительная активность экстрактов *Cassia fistula* L. (% приращения активности в сравнении с контролем)

Table 3.
Comparative activity of *Cassia fistula* L. extracts (% increase in activity compared to control)

Экстракты	%
Плоды (водный)	10
Листья (водный)	15
Молодые побеги (этаноловый)	17
Кора (водный)	21
Молодые побеги (водный)	21

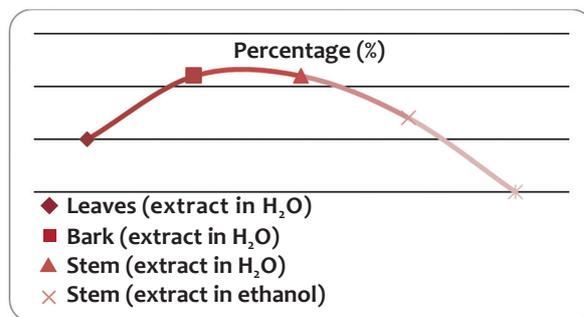


Рис. 3. График активности экстрактов *Cassia fistula* L. (% приращения активности в сравнении с контролем)
Fig. 3. Graph of the activity of extracts of *Cassia fistula* L. (% increase in activity compared to the control)

Следует рассмотреть еще один параметр – приращение биологической активности экстрактов в сравнении с контролем (растворитель без пула экстрагированных веществ). Он позволяет оценить иммобилизуемость пула метаболитов тем или иным растворителем и также должен быть учтен при отборе наиболее перспективных композиций для углубленных биохимических и биомедицинских исследований. Эти данные представлены в табл. 3 и на рис. 3.

По этому параметру можно выделить водные экстракты молодых побегов и коры, что косвенно может свидетельствовать о заметном содержании в этом сы-

рье гидрофильных глюканов, а также этаноловый экстракт молодых побегов.

Контрольное вещество диазепам (7-хлор-1,3-дигидро-1-метил-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он) было отобрано нами как миорелаксант и агонист ГАМК-эргических рецепторов, способствующее расслаблению гладкой мускулатуры и тормозной сигнализации в ВНС. Кофеин (1,3,7-триметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион), воздействуя на кальциевые каналы миоцитов и эндотелиоцитов, также способствует миорелаксации.

В проведенных нами экспериментах выраженный миорелаксирующий эффект, причем в некоторых случаях превышающий таковой диазепама и кофеина, был обнаружен у экстрактов *Cassia fistula* L. До тех пор, пока экстрагированные вещества не будут фракционированы и идентифицированы, мы можем ограничиться следующим предположением.

Известно, что экстракты *Cassia fistula* L. обладают проапоптотической активностью и речь идет не о нервной или мышечной, но о переродившейся эпителиальной ткани (рак), причем экспериментально показано, что апоптоз, запускаемый этими экстрактами, идет по митохондриально-зависимому пути [21, 22]. Это позволяет предположить, что основными мишенями экстрагируемых из кассии пулов БАВ являются не холиновые и не ГАМК-эргические рецепторы, связанные с ведением мембранного потенциала, а рецепторы ростовых факторов, связанные с реакциями клеточного выживания. Разветвленные глюканы с их пластичной структурой нередко выступают антагонистами рецепторов ростовых факторов, делая их нечувствительными к паракринной сигнализации. Для проверки этого предположения необходимо собственно химическое изучение экстрактов *Cassia fistula* L.

Проведенная здесь первичная оценка активности экстрактов *Cassia fistula* L. позволяет выделить в качестве наиболее перспективных для дальнейшего изучения 1) этаноловый экстракт плодов, проявляющий минимальную эффективную дозу, 2) эфирные экстракты плодов и коры, демонстрирующие наименьшее время реакции и 3) водные экстракты молодых побегов и коры, демонстрирующие наивысший процент приращения активности в сравнении с контролем.

ВЫВОДЫ

1. Растение *Cassia fistula* L., широко используемое в традиционной медицине, в последнее время привлекает внимание фармакологов, а в настоящей работе в ходе экспериментов на мышечной ткани была проведена первичная оценка водных, спиртовых и эфирных экстрактов этого растения.

2. Эфирный, этаноловый и водный экстракты плодов *Cassia fistula* L. проявляли в целом высокую релаксирующую активность в сравнении с контрольными релакс-стимуляторами, экстракты листьев проявляли более скром-

ную релаксирующую активность, подобная ситуация наблюдалась в ходе тестирования экстрактов молодых побегов, причем водные экстракты показали еще более скромные результаты, в то время как эфирный и этаноловый экстракты молодых побегов проявили себя лучше, чем соответствующие экстракты листьев, а наиболее скромные результаты с точки зрения дозы, достаточной для физиологического ответа, продемонстрировали экстракты корней.

3. Наименьшее время, предшествовавшее физиологическому ответу экспериментальной ткани, проявили эфирные экстракты плодов и коры, под воздействием которых физиологический ответ был получен менее, чем за 1 ч; этаноловые экстракты плодов, листьев, побегов и коры демонстрируют довольно существенное время экспонирования, превышающее таковое, демонстрируемое контрольными препаратами кофеином и диазепамом.

4. Наибольший процент приращения активности в сравнении с контролем давали водные экстракты молодых побегов и коры, что косвенно может свидетельствовать о заметном содержании в этом сырье гидрофильных глюканов, а также этаноловый экстракт молодых побегов.

5. Проведенная первичная оценка активности экстрактов *Cassia fistula* L. позволяет выделить в качестве наиболее перспективных для дальнейшего химического изучения пулы веществ, концентрирующихся в этаноловом экстракте плодов, проявляющем минимальную эффективную дозу, в эфирных экстрактах плодов и коры, демонстрирующих наименьшее время реакции и в водных экстрактах молодых побегов и коры, демонстрирующих наивысший процент приращения активности в сравнении с контролем.

6. Механизм воздействия экстрактов *Cassia fistula* L. станет понятен после метаболомного профилирования соответствующего растительного сырья, но, учитывая уже открытую проапоптотическую и антипролиферативную активность экстрактов кассии, действующие БАВ этого растения следует считать неспецифическими миорелаксантами, направленными на рецепторы роста и выживания скорее, чем на рецепторы медиаторов торможения и деполяризации мембраны. Вероятно, большую фракцию БАВ *Cassia fistula* L. составляют гидрофильные глюканы и гетерогликаны.

Благодарности

Авторы выражают благодарность д-р Нитину Горпаде (А. М. Махавидьялая, Хадапсар), д-р Чавану (Фармацевтический колледж SGRS) за их любезное разрешение на проведение экспериментов для этой исследовательской работы. Прежде всего, мы хотели бы поблагодарить заведующего кафедрой химии за его ценное руководство. Авторы также выражают глубокую признательность мисс Бхагьяшри Вяяпари и мисс Прачали Чавану за реальную помощь в экспериментальной работе в лаборатории.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Legume Phylogeny Working Group (LPWG), Andrela G. C., Atahuachi Burgos M., Bagnatori Sartori A. L., Balan A., Bandyopadhyay S., Barbosa Pinto R., Barrett R. L., Boatwright J. S., Borges L. M., Broich S. L., Brullo S., Bruneau A., Cardinal-McTeague W., Cardoso D., Castro Silva I. C., Cer-

vantes A., Choo L. M., Clarke R., et al. (2022). The World Checklist of Vascular Plants (WCVP): Fabaceae. In O. Bánki, Y. Roskov, M. Döring, G. Ower, L. Vandepitte, D. Hobern, D. Remsen, P. Schalk, R. E. DeWalt, M. Keping, J. Miller, T. Orrell, R. Aalbu, R. Adlard, E. M. Adriaenssens, C. Aedo,

E. Aesch, N. Akkari, S. Alexander, et al., Catalogue of Life Checklist (2022. v2). The Royal Botanic Gardens, Kew. <https://doi.org/10.48580/dfq8-4rh>

2. Introduction to phytoremediation, national risk management research laboratory office of research and development, U.S. Environmental Protection Agency: Cincinnati, Ohio; 2000.

3. Indian herbal pharmacopoeia revised new edition, Indian Drug Manufacturers Association Mumbai; 2002.

4. Ayurvedic pharmacopoeia of India, Pt 1, V. 5. Government of India Publication: New Delhi; 2001.

5. The wealth of India, first supplement series (Raw materials) National Institute of Science Communication and Information Resources; 2007.

6. Mondal Phenolic constituents and traditional uses of Cassia (Fabaceae) plants: an update J. Org. Biomol. Chem., 3 (2014), pp. 93-141 (Accessed 10 September 2021). [Online]. Available <<https://docplayer.net/92001323-Phenolic-constituents-and-traditional-uses-of-cassia-fabaceae-plants-an-update.html>>

7. Bhalerao S. A., Kelkar T. S. Traditional medicinal uses, phytochemical profile and pharmacological activities of Cassia fistula Linn. International Research Journal of Biological Sciences. 2012; 1(5): 79–84.

8. Roskov Y., Zarucchi J., Novoselova M., Bisby F. (eds). ILDIS World Database of Legumes (version 12, May 2014). In: Roskov Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P. M., Bourgoin T., DeWalt R. E., Decock W., Nieuwerkerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. Species 2000 and ITIS Catalogue of Life, 2019 Annual Checklist. Digital resource at www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019. Species 2000: Naturalis, Leiden; 2019.

9. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. [Internet]. 2022 [cited September 11, 2022]. Available from: <https://tropicos.org>

10. Life catalog: 2019 Annual Checklist. Species details: Cassia fistula L. 2022 [cited September 11, 2022]. Available from: catalogueoflife.org

11. Mwangi R. W., Macharia J. M., Wagara I. N., Bence R. L. The medicinal properties of Cassia fistula L: A review. Biomed Pharmacother. 2021 Dec;144:112240. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112240>. Epub 2021 Oct 1. PMID: 34601194.

12. Nagpal M. A., Nagpal N., Rahar S., Shah G., Swami G., Kapoor R., and others. Phytochemical investigation of

methanolic extract of Cassia fistula leaves, J. Pharmacogn. 2011; 3 (26), 61–69. <https://doi.org/10.5530/pj.2011.26.11>.

13. Ajay K. K., Satish S., Ibrahim S., Hedge K. Therapeutic uses of Cassia fistula: Review. International Journal of Pharmacology and Chemical Research. 2017; 3(1): 38–43.

14. Guzman L., Taron A., Núñez A. Seed powder Cassia fistula as a natural coagulant in the treatment of raw water. Biotechnology in the Agricultural and Agroindustrial Sector. 2015. 13 (2):123–29.

15. Jung H. A., Ali M. Y., Choi J. S. Promising inhibitory effects of anthraquinones, naphthopyrone, and naphthalene glycosides, from Cassia obtusifolia on α -glucosidase and human protein tyrosine phosphatases 1B, Molecules 22 (1) (2017) 28–43, <https://doi.org/10.3390/molecules22010028>

16. Soxhlet F. Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes. Dinglers Polytechnisches Journal. 1879;232: 461–65.

17. Jensen W. B. The Origin of the Soxhlet extractor. Journal of Chemical Education. 2007. <https://doi.org/10.1021/ED084P1913>.

18. Jain G., Bodakse S. H., Namdev K., Rajput M. S., Mishra S. Development of an ex vivo model for pharmacological experimentation on isolated tissue preparation. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research. 2012; 3(3):176–81. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.101013>.

19. Kulkarni SK. Handbook of Experimental Pharmacology. Delhi: Vallabh Prakashan; 2012.

20. Ranadive K. R., Jagtap N. V., Jagtap P. N., Zmitrovich I. V., Perelygin V. V. Investigating the effects of Inonotus rickii extracts on the muscle contraction intensity // Pharmacy Formulas. – 2021. – Vol. 3. – N. 1. – P. 92–96. doi: 10.17816/phf63224. (in Russ.).

21. Kaur S., Kumar A., Thakur S., et al. Antioxidant, antiproliferative and apoptosis-inducing efficacy of fractions from Cassia fistula L. leaves. Antioxidants (Basel). 2020;9(3): 173. <https://doi.org/10.3390/antiox9020173>

22. Kaur S., Pandit K., Chandel M., et al. Antiproliferative and apoptogenic effects of Cassia fistula L. n-hexane fraction against human cervical cancer (HeLa) cells. Environmental Science and Pollution Research. 2020;27:32017–033. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08916-9>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Киран Рамчандра Ранадив – магистр, доктор философии, доцент, колледж Аннасахеб Магар Махавидьяля, Махадевнагар, Хадапсар, Индия, ranadive.kiran@gmail.com

Неета Виджайрао Джагтап – магистр, ассистент, химический факультет колледжа Вагхира, Сасвад, Талука-Пурандар, округ Пуна, Индия; e-mail: neetuvj7@gmail.com

Прадья Нилеш Джагтап – магистр фармакологии, доцент, кафедра фармакологии фармацевтического колледжа SGRS P.D.E.A., Сасвад, Талука-Пурандар, округ Пуна, Индия, pnj1511@gmail.com

Владимир Вениаминович Перелыгин – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, vladimir.pereligin@pharminnotech.com

Михаил Владимирович Жариков – магистрант кафедры промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, zharikov.mihail@pharminnotech.com

Иван Викторович Змитрович – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории систематики и географии грибов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия, iv_zmitrovich@mail.ru

Гайквад Санджай – магистр фармакологии, доцент, Кафедра химии, Колледж искусств, торговли и науки, Ваголи, Пуна, Индия, ranadive.kiran@gmail.com

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 15.06.2022 г., одобрена после рецензирования 29.06.2022 г., принята к публикации 30.07.2022 г.

Pharmacy Formulas. 2022. Vol. 4, no. 2. P. 10-19

PHARMACEUTICAL SCIENCES

Experimental article

DOI: <https://doi.org/10.17816/phf112225>

Evaluation of the effect of *Cassia fistula* L. extracts on the muscle contraction intensity using an *ex vivo* model

© 2022. Kiran R. Ranadive¹, Jagtap N. Vijayrao², Jagtap N. Pradnya³, Vladimir V. Perelygin⁴, Mikhail V. Zharikov⁴, Ivan V. Zmitrovich⁵, Gaikwad D. Sanjay⁶

¹Department of Botany, Annasaheb Magar Mahavidyalaya College, Hadapsar, India

²Department of Chemistry, Waghira College, Saswad, India

³Department of Pharmacology, SGRS P.D.E.A. College of Pharmacy, Saswad, India

⁴Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia

⁵Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

⁶Department of Chemistry, College of Arts, Commerce and Science, Vagoli, Pune, India

Corresponding author: Kiran R. Ranadive, ranadive.kiran@gmail.com

ABSTRACT. *Cassia fistula* L. is a *Fabaceae* representative that has long been used in traditional medicine. The purpose of this study is to evaluate the effect of *Cassia fistula* L. herbal extracts in the form of solutions of a certain concentration on the smooth muscles of the intestine of the animal. The design of the experiment involved the identification of raw materials, their drying, grinding, extraction of soluble fractions, purification of aqueous, ethereal (diethyl ether) and ethanol extracts and their testing on the tissues of the ileum of the domestic chicken (*Gallus gallus domesticus* L.) extracted *ex vivo*.

The ethereal, alcoholic and aqueous extracts of *Cassia fistula* L. fruits showed to exhibit high relaxation activity compared to the control relaxation stimulants, whereas the leaf extracts showed a more modest relaxing activity. A similar situation was observed in testing extracts of young shoots, with aqueous extracts showing even more modest results, while alcohol and ethanol extracts of young shoots performed better than the corresponding leaf extracts, and the most modest results in terms of a dose sufficient for a physiological response was demonstrated by root extracts.

The initial assessment of the activity of *Cassia fistula* L. extracts makes it possible to identify as the most promising for further chemical study the pools of substances concentrated in the ethanol fruits extract exhibiting the minimum effective dose, in the ether extracts of fruits and bark demonstrating the shortest reaction time, and in the aqueous extracts of young shoots and cortex showing the highest percentage increase in the activity compared to the control.

KEYWORDS: *Cassia fistula* L.; biologically active substances; medicines; plant raw material; aqueous extracts of the plant; ileum of domestic chicken; traditional medicine; chamber for isolated tissues

REFERENCES

1. Legume Phylogeny Working Group (LPWG), Andrella G. C., Atahuachi Burgos M., Bagnatori Sartori Á. L., Balan A., Bandyopadhyay S., Barbosa Pinto R., Barrett R. L., Boatwright J. S., Borges L. M., Broich S. L., Brullo S., Bruneau A., Cardinal-McTeague W., Cardoso D., Castro Silva I. C., Cervantes A., Choo L. M., Clarke R., et al. (2022). The World Checklist of Vascular Plants (WCVP): Fabaceae. In O. Bánki, Y. Roskov, M. Döring, G. Ower, L. Vandepitte, D. Hobern, D. Remsen, P. Schalk, R. E. DeWalt, M. Keping, J. Miller, T. Orrell, R. Aalbu, R. Adlard, E. M. Adriaenssens, C. Aedo, E. Aescht, N. Akkari, S. Alexander, et al., Catalogue of Life Checklist (2022.v2). The Royal Botanic Gardens, Kew. <https://doi.org/10.48580/dfq8-4rh>
2. Introduction to phytoremediation, national risk management research laboratory office of research and development, U.S. Environmental Protection Agency: Cincinnati, Ohio; 2000.

3. Indian herbal pharmacopoeia revised new edition, Indian Drug Manufacturers Association Mumbai; 2002.
4. Ayurvedic pharmacopoeia of India, Pt 1, V. 5. Government of India Publication: New Delhi; 2001.
5. The wealth of India, first supplement series (Raw materials) National Institute of Science Communication and Information Resources; 2007.
6. Mondal Phenolic constituents and traditional uses of Cassia (Fabaceae) plants: an update *J. Org. Biomol. Chem.*, 3 (2014), pp. 93–141 (Accessed 10 September 2021). [Online]. Available <<https://docplayer.net/92001323-Phenolic-constituents-and-traditional-uses-of-cassia-fabaceae-plants-an-update.html>>
7. Bhalerao S. A., Kelkar T. S. Traditional medicinal uses, phytochemical profile and pharmacological activities of *Cassia fistula* Linn. *International Research Journal of Biological Sciences*. 2012; 1(5): 79–84.
8. Roskov Y., Zarucchi J., Novoselova M., Bisby F. (eds). ILDIS World Database of Legumes (version 12, May 2014). In: Roskov Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P. M., Bourgoin T., DeWalt R. E., Decock W., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. *Species 2000 and ITIS Catalogue of Life, 2019 Annual Checklist*. Digital resource at www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019. *Species 2000: Naturalis*, Leiden; 2019.
9. Tropics. 2019. *Cassia L fistula*. Retrieved from: tropicos.org
10. Life catalog: 2019 Annual Checklist. Species details: *Cassia fistula* L. Retrieved from: catalogueoflife.org
11. Mwangi R. W., Macharia J. M., Wagara I. N., Bence R. L. The medicinal properties of *Cassia fistula* L: A review. *Biomed Pharmacother.* 2021 Dec;144:112240. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112240>. Epub 2021 Oct 1. PMID: 34601194.
12. Nagpal M. A., Nagpal N., Rahar S., Shah G., Swami G., Kapoor R., and others. Phytochemical investigation of methanolic extract of *Cassia fistula* leaves, *J. Pharmacogn.* 2011; 3 (26), 61–69. <https://doi.org/10.5530/pj.2011.26.11>.
13. Ajay K. K., Satish S., Ibrahim S., Hedge K. Therapeutic uses of *Cassia fistula*: Review. *International Journal of Pharmacology and Chemical Research*. 2017; 3(1): 38–43.
14. Guzman L., Taron A., Núñez A. Seed powder *Cassia fistula* as a natural coagulant in the treatment of raw water. *Biotechnology in the Agricultural and Agroindustrial Sector*. 2015. 13 (2): 123–29.
15. Jung H. A., Ali M. Y., Choi J. S. Promising inhibitory effects of anthraquinones, naphthopyrone, and naphthalene glycosides, from *Cassia obtusifolia* on α -glucosidase and human protein tyrosine phosphatases 1B, *Molecules* 22 (1) (2017) 28–43, <https://doi.org/10.3390/molecules22010028>
16. Soxhlet F. Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes. *Dinglers Polytechnisches Journal*. 1879; 232: 461–65.
17. Jensen W. B. The Origin of the Soxhlet extractor. *Journal of Chemical Education*. 2007. <https://doi.org/10.1021/ED084P1913>.
18. Jain G., Bodakse S. H., Namdev K., Rajput M.S., Mishra S. Development of an ex vivo model for pharmacological experimentation on isolated tissue preparation. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*. 2012; 3(3): 176–81. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.101013>.
19. Kulkarni SK. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Delhi: Vallabh Prakashan; 2012.
20. Ranadive K.R., Jagtap N.V., Jagtap P.N., Zmitrovich I.V., Perelygin V.V. Investigating the effects of *Inonotus rickii* extracts on the muscle contraction intensity // *Pharmacy Formulas*. – 2021. – Vol. 3. – N. 1. – P. 92–96. <https://doi.org/10.17816/phf63224>
21. Kaur S., Kumar A., Thakur S., et al. Antioxidant, antiproliferative and apoptosis-inducing efficacy of fractions from *Cassia fistula* L. leaves. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(3): 173. <https://doi.org/10.3390/antiox9020173>
22. Kaur S., Pandit K., Chandel M., et al. Antiproliferative and apoptogenic effects of *Cassia fistula* L. n-hexane fraction against human cervical cancer (HeLa) cells. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27:32017–033. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08916-9>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Kiran Ramchandra Ranadive – M.Sc., Ph.D., Associate Professor, P.D.E.A.'s Annasaheb Magar Mahavidyalaya, Mahadevnagar, Hadapsar, India, ranadive.kiran@gmail.com

Jagtap Neeta Vijayrao – M. Sci. and M. Phil., Assistant Professor, Department of Chemistry, P.D.E.A.'s Waghire College Saswad, Taluka-Purandar, District-Pune, India, neetuvj7@gmail.com

Jagtap Nilesh Pradnya – M. Pharm., Assistant Professor, Department of Pharmacology, P.D.E.A.'s SGRS College of Pharmacy, Saswad, Taluka-Purandar, District-Pune, India, pnj1511@gmail.com

Vladimir V. Perelygin – Doctor of Medicine (MD), Professor, Head of the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia, vladimir.pereligin@pharminnotech.com

Mikhail V. Zharikov – Master’s Degree Student of the Department of Industrial Ecology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia, zharikov.mihail@pharminnotech.com

Ivan V. Zmitrovich – D.Sc. in Biology, Leading Researcher, Laboratory of Systematics and Geography of the Fungi, Komarov Botanical Institute RAS, Saint Petersburg, Russia, iv_zmitrovich@mail.ru

Gaikwad D. Sanjay – M. Pharmacology, Associate Professor, Department of Chemistry, College of Arts, Commerce and Science, Vagoli, Pune, India, ranadive.kiran@gmail.com

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted June 15, 2022; approved after reviewing June 29, 2022;
accepted for publication July 30, 2022.