

УДК: 582.284: 616.006

Оценка влияния экстрактов *Inonotus rickii* на интенсивность мышечного сокращения

©2021. К.Р. Ранадив¹, Н.В. Джагтап², П.Н. Джагтап³, И.В. Змитрович⁴, В.В. Перельгин⁵¹ Колледж Аннасахеб Магар Махавидьялая, Хадапсар, Индия² Колледж Уэгхира, Сасвад, Индия³ Фармацевтический колледж SGRS P.D.E.A., Сасвад, Индия⁴ Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург, Россия⁵ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: ranadive.kiran@gmail.com

Поступила в редакцию 05.03.2021 г.

После доработки 12.03.2021 г.

Принята к публикации 24.03.2021 г.

Целью настоящего исследования является тестирование воздействия водного, эфирного и спиртового экстрактов плодовых тел дереворазрушающего гриба *Inonotus rickii* на двигательную активность животных, являющуюся результатом сокращения как поперечноисчерченной, так и гладкой мускулатуры. Фармакологическая активность сырья *I. rickii* была определена in vitro с использованием метода кривой «доза-ответ» (гладкая мускулатура), так и в экспериментах с пероральным приемом экстрактов (эффекты на поперечноисчерченную мускулатуру, опосредованные ЦНС). Водный экстракт грибного материала показал увеличение двигательной активности гладкой мускулатуры по сравнению со стандартным кофеином, что говорит о способности грибного экстракта оказывать стимулирующее действие на синапсы. Было выяснено, что экстракты *I. rickii* оказывают влияние на сокращение гладкой мускулатуры наподобие нейромедиатора ацетилхолина. При этом было показано, что наибольшую стимулирующую активность проявляет водный экстракт, что может быть связано с тормозным действием диэтилового эфира и этанола на холинэргические рецепторы. Описанные эффекты ставят на повестку дня как фракционирование активных экстрактов, так и дальнейшие эксперименты по терапевтическим приложениям описанных эффектов. Область возможного приложения такого рода веществ – кардиоваскулярное ремоделирование, поддержание тонуса гладкой мускулатуры при ряде оперативных вмешательств, а также паллиативная терапия злокачественных новообразований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ацетилхолин; агонисты рецепторов; диазепам; кофеин; лекарственные грибы; стимуляция двигательной активности; ЦНС; *Inonotus*

DOI: 10.17816/phf63224/2713-153X-2021-1-3-92-96

СОКРАЩЕНИЯ:

ЦНС – центральная нервная система;

КОН – гидроксид калия.

ВВЕДЕНИЕ

Inonotus rickii (Pat.) D.A. Reid (*Basidiomycota, Agaricomycetes, Hymenochaetales*) – патогенный дереворазрушающий гриб. В этом роде известно несколько патогенов хозяйственно значимых древесных пород. Ряд видов, как, например, *I. obliquus*, хорошо изучены в фармакологическом отношении [1, 2].

Основными действующими веществами у этих видов являются бета-глюканы, тритерпеноиды и малые гормоноподобные молекулы, имеющие фрагменты, способные активировать или дезактивировать рецепторы многих типов клеток, как иммунных, так и эпителиальных, эндотелиальных, нервных и мышечных. Многие эффекты этих грибов мало изучены. При этом начаты исследования воздействия грибных экстрактов на мозговые ритмы и мышечную активность [3].

Целью настоящего исследования является проверка воздействия водных, эфирных и спиртовых экстрактов *I. rickii* на интенсивность двигательной активности как поперечноисчерченной, так и гладкой мускулатуры. При этом исследовали как ЦНС-опосредованную двигательную активность при пероральном приеме, так и в экспериментах по изучению сократительной активности подвздошной кишки in vitro эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор грибного сырья

Образец *I. rickii* на хламидоспоровой стадии был собран на живом дереве *Delonix regia*, растущем в кампусе Ботанического сада в г. Пуна (штат Махараштра, Индия). Высушенный в сушильном шкафу материал диагностировали по микроморфологическим признакам с помощью микроскопа Magnus C×40. Препараты готовили в 5% KOH, реактиве Мельцера и Cotton-Blue по стандартным методикам [4].

Изучение ЦНС-опосредованной спонтанной двигательной активности

Опосредованная ЦНС двигательная активность изучалась на подопытных животных (мыши) с использованием перорального приема водного, эфирного и спиртового экстрактов *I. rickii*. Животных помечали и взвешивали. Двигательную активность (количество движений) фиксировали фотометрически в индивидуальных боксах в течение десяти минут. Контрольный, стандартный и тестируемый экстракты вводили за 30 мин. до начала эксперимента. Через 30 мин. после эксперимента каждому животному проводили повторный тест на оценку активности в течение десяти минут. Отмечалась разница в активности до и после введения контрольного, стандартного и тестируемого экстрактов. Экспериментальные исследования были одобрены Институциональным комитетом по этике животных (SGRS/IAEC/05-2017-2018) (табл. 1).

Изучение сократительной активности гладкой мускулатуры

Куриную подвздошную кишку помещали в стеклянную бексу для сохранения тканей и органов. При изучении ответов кишечной мышечной ткани был соблюден пятиминутный временной интервал, т.е. 30 секунд записи базовой линии, 90 сек времени контакта (реакция на препарат) и последующие три промывания с интервалом в минуту каждый. Биологический анализ был выполнен стандартными методами с использованием экстрактов *Inonotus* для получения единогообразных записей [5] (табл. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описание грибного сырья

Плодовые тела – однолетние, сидячие, от плоских до копытообразных, одиночные до черепитчатых, до десяти сантиметров толщиной. Вначале мягкие и мясистые, затем твердеющие и, наконец, по мере развития хламидоспор, хрупкие и рассыпающиеся в порошок.

Верхняя поверхность вначале войлочная, золотисто-коричневая, затем грубощетинистая. Поверхность пор бледно-коричневая, поры угловатые, 2-3 на миллиметр.

Ткань темно-ржаво-коричневая, концентрически-зональная, твердая и, под конец, порошащая, до шести сантиметров толщиной.

Гифальная система мономитическая, с щетинковидными гифами, гифы с простыми септами, 3,5–5 мкм в диаметре. Щетинковидные гифы, заметные в траме трубочек, проходят параллельно их продольной оси и, иногда, расходятся в трубочки, толстостенные, с узким извилистым просветом, доходющим почти до кончика, без перегородок, суживающиеся к концу.

Гимениальные щетинки частые, шиловидные толстостенные, темно-коричневые в KOH, редко раздвоенные на конце, 15–20 на 4–6 мкм, прямые. Хламидоспоры – в изобилии в тканях, толстостенные, темно-красновато-коричневые в KOH, Мельцер-негативные, неправильной формы, гладкие, шаровидные до эллипсовидных или часто с удлиненными цилиндрическими отростками, 9–25 мкм в наибольшем измерении, стенка – до трех мкм толщиной.

Гриб растет на листовых породах теплого пояса северного полушария (в Индии на *Delonix regia*, *Pongamia glabra*, *Tamarindus indica*, *Sapthodia campanulata*) [6].

Результаты изучения сократительной активности гладкой мускулатуры

Основные результаты изучения диапазона сокращения мускулатуры куриной подвздошной кишки (мм) под действием как природного нейромедиатора (ацетилхолин), так и эфирного, этанольного и водного экстрактов *I. rickii* показаны в табл. 2 и на рис. 1.

Дозы (мл) препаратов для изучения стимулирующего воздействия на ЦНС экстрактов *Inonotus rickii*

Табл. 1.

Doses (ml) of preparations for studying the stimulating effect on the central nervous system of *Inonotus rickii* extracts

Table 1.

Кофеин	Диазепам	Диэтиловый эфир (экстракт)	Этанол (экстракт)	Вода (экстракт)
167	88	134	135	179
160	78	140	138	175
155	75	139	130	182
170	90	142	126	172
171	85	136	134	178
155	85	137	122	180

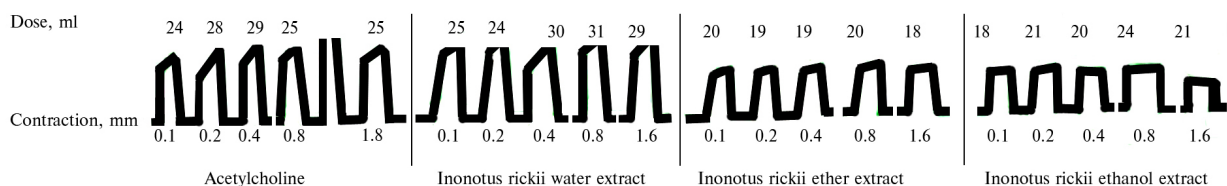


Рис. 1. Протокол изучения диапазона сокращения мускулатуры куриной подвздошной кишки (мм) под действием природного нейромедиатора (ацетилхолин) и экстрактов *Inonotus rickii*
 Fig. 1. Protocol for studying the range of contraction of the muscles of the chicken ileum (mm) under the action of a natural neurotransmitter (acetylcholine) and extracts of *Inonotus rickii*

Дозы (мл) препаратов для изучения стимулирующего воздействия на ЦНС экстрактов *Inonotus rickii*
 Doses (ml) of preparations for studying the stimulating effect on the central nervous system of *Inonotus rickii* extracts

Табл. 2.
 Table 2.

Доза (мл)	Ацетилхолин	Диэтиловый эфир (экстракт)	Этанол (экстракт)	Вода (экстракт)
0.1	24	20	18	25
0.2	28	19	21	29
0.4	29	19	20	30
0.8	25	20	24	31
1.6	26	19	21	29

Табл. 3.
 Результаты изучения ЦНС-опосредованной спонтанной двигательной активности под воздействием экстрактов *Inonotus rickii*
 Table 3.
 Results of studying the CNS-mediated spontaneous locomotor activity under the influence of *Inonotus rickii* extracts

Препарат	Усиление двигательной активности (%)
Кофеин	23
Диазепам	12
Эфирный экстракт	20
Этанольный экстракт	19
Водный экстракт	26

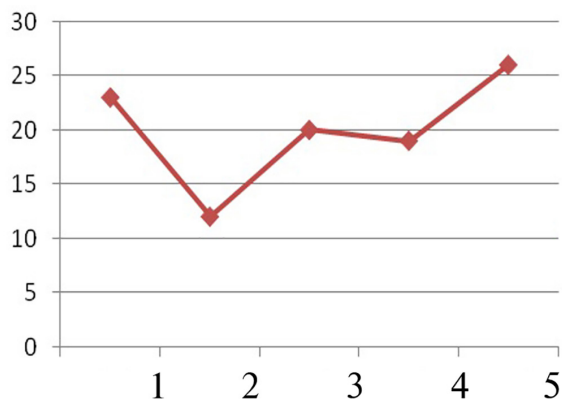


Рис. 2. Результаты изучения ЦНС-опосредованной спонтанной двигательной активности под воздействием экстрактов *Inonotus rickii*: 1 – кофеин, 2 – диазепам, 3 – эфирный экстракт, 4 – этанольный экстракт, 5 – водный экстракт
 Fig. 2. Results of studying the CNS-mediated spontaneous locomotor activity under the influence of *Inonotus rickii* extracts: 1 – caffeine, 2 – diazepam, 3 – ether extract, 4 – ethanol extract, 5 – aqueous extract

Как видим, все экстракты *I. rickii* показывают заметный эффект – усиление сокращения гладких мышц, как это имеет место и в природе, посредством ацетилхолина. Дозировка в 0,1 мл эфирного, этанольного и водного экстрактов дает приращение сократительной активности на 20, 18 и 25% соответственно (природный ацетилхолин дает приращение в 24%). Ступенчатое увеличение дозировки (0,2, 0,4, 0,8 и 1,6 мл) мало сказывается на действии эфирного и этанольного экстрактов *I. rickii*, которые вызывают увеличение сократительной активности в пределах 19–24%, но довольно отчетливо – на действии водного экстракта. Это действие эффективнее на 1% при дозировках в 0,1, 0,2 и 0,4 мл, на 6% при дозировке в 0,8 мл и 3% при дозировке в 1,6 мл. Эффективность водного экстракта гриба связана со снятием тормозящего действия диэтилового эфира и этанола на холинэргические рецепторы.

Результаты изучения ЦНС-опосредованной спонтанной двигательной активности

Основные результаты изучения опосредованной ЦНС-спонтанной двигательной активности подопытных животных под воздействием экстрактов *I. rickii* сведены в табл. 3 и визуализированы на рис. 2.

Как видно из этих материалов, водный экстракт *I. rickii* показал увеличение двигательной активности по сравнению со стандартным кофеином на 3%, т.е. проявляет стимулирующую ЦНС активность. Водный экстракт *I. rickii* показывает сокращение гладкой мускулатуры подобно стандартному ацетилхолину. Диазепам, а также эфирный и спиртовой экстракты *I. rickii* вызывали незначительное усиление спонтанной двигательной активности (12, 20 и 19% соответственно).

Обобщая полученные нами данные, можно заключить, что сырье *I. rickii* проявляет фармакологическую активность в отношении мышечных сокращений. Следовательно, оно содержит вещества, являющиеся агонистами холинэргических рецепторов. Часть наблюдавшихся эффектов опосредованы ЦНС по линии висцеральной регуляции функций.

Большую активность водных экстрактов в сравнении с эфирным и спиртовым мы связываем с тормозным

влиянием этанола и диэтилового эфира на рецепторы ЦНС и синапсы.

На повестку дня встает фракционирование экстрактов *I. rickii* с целью очистки действующего на рецепторы биоактивного вещества. Хламидоспоровая стадия гриба представлена большей частью споровой массой; как известно, споры гриба более богаты экстрагируемыми органическими веществами, нежели мицелий, содержащий большее количество воды.

Область возможного приложения такого рода веществ – кардиоваскулярное ремоделирование, поддержание тонуса гладкой мускулатуры при ряде оперативных вмешательств, а также паллиативная терапия злокачественных новообразований.

ВЫВОДЫ

1. *Inonotus rickii* принадлежит к роду деревообитающих грибов, ряд изученных представителей которого (прежде всего, *I. obliquus*), хорошо изучены в фармакологическом отношении.

2. Хламидоспоровая стадия *I. rickii*, представленная богатыми содержанием экстрагируемых органических веществ спорами, представляет интерес как сырье для приготовления экстрактов и тестирования их биологической активности.

3. Изучено воздействие водного, эфирного и спиртового экстрактов плодовых тел дереворазрушающего гриба *I. rickii* на двигательную активность, являющуюся результатом сокращения как поперечноисчерченной, так и гладкой мускулатуры.

4. Основные результаты изучения диапазона сокращения мускулатуры куриной подвздошной кишки под воздействием как природного нейромедиатора (ацетилхолин), так и эфирного, этанольного и водного экстрактов *I. rickii* показали, что все экстракты *I. rickii* показывают заметный эффект: усиление сокращения гладких мышц, как это имеет место и в природе, посредством ацетилхолина.

5. Изучение опосредованной ЦНС-спонтанной двигательной активности подопытных животных под воздействием экстрактов *I. rickii* показали, что водный экстракт проявляет сокращение гладкой мускулатуры подобно стандартному ацетилхолину.

6. На повестку дня встает фракционирование экстрактов *I. rickii* с целью очистки действующего на рецепторы биоактивного вещества.

7. Область возможного приложения такого рода веществ – кардиоваскулярное ремоделирование, поддержание тонуса гладкой мускулатуры при ряде оперативных вмешательств, а также паллиативная терапия злокачественных новообразований.

Благодарности

Авторы благодарны д-ру Пандиту Шелке (А.М. Махавидьялая, Хадапсар), д-ру Сушма Бхосале (колледж Вагир, Сасвад), д-ру Р.Ю. Патил (фармацевтический колледж SGRS) за их любезное разрешение на проведение экспериментов для этой исследовательской работы. Прежде всего, мы хотели бы поблагодарить профессора С.М. Дорге, заведующего кафедрой химии, за ценные советы. Авторы также выражают глубокую благодарность мисс Бхагьяшри Вяпари и мисс Прачали Чаван за реальную помощь в экспериментальной работе в лаборатории. Работа И.В. Змитровича выполнена в рамках государственного задания БИН РАН № АААА-А19-119020890079-6

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Змитрович, И.В. Чага и ее биоактивные комплексы: история и перспективы / И.В. Змитрович, Н.П. Денисова, М.Э. Баландакин [и др.] // Формулы Фармации. – 2020. – Т. 2. – № 2. – С. 84–93. DOI: 10.17816/phf34803/2713-153X-2020-2-2-84-93.

2. Змитрович, И.В. Профилактика и лечение рака с использованием сырья «лекарственных грибов»: критика, факты, перспективные проблемы / И.В. Змитрович, В.В. Перельгин, В.А. Власенко [и др.] // Формулы Фармации. – 2020. – Т. 2. – № 4. – С. 18–26. DOI: 10.17816/phf55224.

3. Макромицеты: лекарственные свойства и биологические особенности / под редакцией С.П. Вас-

сера. – Киев: Институт ботаники им Н.Г. Холодного, 2012. – 285 с.

4. Змитрович, И.В. Типы гиф полипороидных и плевротоидных грибов: терминологическая ревизия / И.В. Змитрович, В.Ф. Малышева, Е.Ф. Малышева // Украинский ботанический журнал. – 2009. – Т. 66. – № 1. – С. 71–87.

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

6. Pegler DN. A survey of the genus *Inonotus* (*Polyporaceae*). Transactions of the British Mycological Society. 1964; 47 (2): 175–95.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Киран Рамчандра Ранадив, магистр, доктор философии, доцент, колледж Аннасахеб Магар Махавидьялая, Махадевнагар, Хадапсар, Индия; e-mail: 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; e-mail: pnj1511@gmail.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; e-mail: iv_zmitrovich@mail.ru

Владимир Вениаминович Перельгин, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: vladimir.perelgin@pharminnotech.com

ADDITIONAL INFORMATION ABOUT AUTHORS

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

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

Pradnya Nilesh Jagtap, M. Pharm., Assistant Professor, Department of Pharmacology, P.D.E.A.'s SGRS College of Pharmacy, Saswad, Taluka-Purandar, District-Pune, India; e-mail: pnj1511@gmail.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; e-mail: iv_zmitrovich@mail.ru

Vladimir V. Perelgin, Doctor of Medicine (MD), Professor, Head of the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: vladimir.perelgin@pharminnotech.com

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Investigating the effects of *Inonotus rickii* extracts on the muscle contraction intensity

©2021. K.R. Ranadive¹, N.V. Jagtap², P.N. Jagtap³, I.V. Zmitrovich⁴, V.V. Perelgin⁵

¹ Department of Botany, P.D.E.A.'s Annasaheb Magar Mahavidyalaya, Mahadevnagar, Hadapsar, Pune-411028

² Department of Chemistry, P.D.E.A.'s Waghire College Saswad, Taluka-Purandar, District-Pune, Pune-412301

³ Department of Pharmacology, P.D.E.A.'s SGRS College of Pharmacy, Saswad, Taluka-Purandar, District-Pune, Pune-412301

⁴ Laboratory of Systematics and Geography of Fungi, Komarov Botanical Institute, Saint Petersburg, Russia

⁵ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

* e-mail: ranadive.kiran@gmail.com

Received March 05, 2021;

Revised March 12, 2021;

Accepted March 24, 2021

The aim of this study is to test the effect of aqueous, ethereal and alcoholic extracts of the fruit bodies of the wood-destroying fungus *Inonotus rickii* on locomotor activity resulting from contraction of both cross-striated and smooth muscles. The pharmacological activity of *I. rickii* raw materials was determined in vitro using the dose-response curve method (smooth muscles) and in experiments with oral intake of extracts (CNS-mediated effects on cross-lacing muscles). The aqueous extract of fungal material showed an increase in the motor activity of smooth muscles compared to standard caffeine, which indicates the ability of fungal extract to have a stimulating effect on the synapses. It was found that *I. rickii* extracts have an effect on smooth muscle contraction similar to the acetylcholine. It was shown that the greatest stimulating activity demonstrates an aqueous extract that may be a result of inhibitory effect of diethyl ether and ethanol on synapses. The described effects put on the agenda both the fractionation of active extracts and further experiments on the therapeutic applications of their described properties. As a field of possible application of this kind of substances can be considered the cardiovascular remodeling, the maintenance of smooth muscle tone during a number of surgical interventions, and the palliative cure of disseminated cancers.

KEYWORDS: acetylcholine; central nervous system; diazepam; caffeine; medicinal mushrooms; receptor agonists; stimulation of motor activity; *Inonotus*