

УДК: 582.284: 616.006

Inonotus rickii (瑞克纤孔菌) 提取物对肌肉收缩强度影响的评估

©2021. K.R. Ranadive¹, N.V. Jagtap², P.N. Jagtap³, I.V. Zmitrovich⁴, V.V. Perelygin⁵

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

本研究的目的是测试木腐真菌*Inonotus Rickii*子实体的水提取物、酯提取物和醇提取物对动物横切肌和平滑肌收缩引起的运动活性的影响。采用“剂量-反应”曲线法(平滑肌)和口服提取物实验(CNS介导的对横断面肌的影响) *in vitro* 测定了*I. rickii*原料的药理活性。菌类材料水提取物与标准咖啡因相比,平滑肌运动活性呈现增加,这说明菌类提取物具有对突触的刺激作用。研究发现,*I. rickii*提取物具有类似神经递质乙酰胆碱的平滑肌收缩作用。同时,水提取物显示了最大的刺激活性,这可能与乙醚和乙醇对胆碱能受体的抑制作用有关。所描述的效应将活性提取物的分馏和所描述效应的治疗应用的进一步实验都提上了议事日程。该物质可能应用的领域包括心血管重塑,在一系列手术中维持平滑肌张力,以及对恶性肿瘤的姑息治疗。

关键词: 乙酰胆碱;受体激动剂;安定;咖啡因;药用真菌;运动活性刺激;CNS; *Inonotus*

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

前言

Inonotus rickii (Pat.) D.A. Reid (Basidiomycota: Agaricomycetes: Hymenochaetales) 是一种致病性的木腐真菌。在该属中, 已知有几种具有经济意义的树种的病原体。一系列物种, 如 *I. obliquus*, 在药理学上已得到很好的研究 [1, 2]。

这些物种中的主要活性物质是贝塔-葡聚糖、三萜类化合物和激素样小分子, 这些小分子具有能够激活或失活许多类型细胞受体的断片, 包括免疫细胞, 上皮细胞, 内皮细胞, 神经细胞和肌肉细胞。这些真菌的许多作用鲜有研究。因此, 真菌提取物对脑节律和肌肉活动影响的研究已经开始 [3]。

本研究的目的是测试 *I. rickii* 的水、醚和醇提取物对横断面肌和平滑肌运动活性强度的影响。同时研究了口服时和 *in vitro* 实验中回肠收缩活动试验中 CNS 介导的运动活性。

材料和方法

采集真菌原料

从生长在普纳(印度马哈拉施特拉邦)植物园校园内种植的 *Delonix regia* 有生命力的树上采集了厚垣孢子阶段的 *I. rickii* 样本。用 Magnus C×40 显微镜对干燥箱中干燥的物料进行微观形貌特征诊断。制剂在 5% Kon, Melzer 试剂和 Cotton-Blue 中按标准方法制备 [4]。

中枢神经系统介导的自发运动的研究

采用口服 *I. rickii* 的水、醚和醇提取物, 在实验动物(小鼠)上研究了 CNS 介导的运动活性。对动物进行标记和称重。以光度测定方式记录了 10 分钟内在单独隔离室中的运动活性(运动次数)。测试、标准和待测提取物均于实验开始前 30 分钟给药。实验后 30 分钟, 对每只动物进行十分钟内的二次活动评估试验。观察了测试、标样和待测提取物注射前后的活性差异。实验研究得到了动物伦理委员会的认可 (SGRS/IAEC/05-2017-2018) (表 1)。

平滑肌收缩活动的研究

鸡回肠置入玻璃轴颈箱, 保存组织器官。在研究肠肌组织的反应时, 遵循了五分钟的时间间隔, 即 30 秒基线记录, 90 秒接触时间(对药物的反应)和随

后的三次冲洗, 每次间隔一分钟。以标准方法采用 *Inonotus* 提取物进行了生物分析, 以获得统一记录 [5] (表 2)。

结果和讨论

真菌原料说明

子实体-一年生, 短叶柄, 从扁平到蹄状, 单生到复瓦状, 可达十厘米厚。开始时柔软、肉质, 然后变硬, 最后随着衣原体孢子的发育而变脆, 碎裂成粉末。

最初的顶面毡状, 为金棕色, 然后呈现粗糙具刚毛。孔表面淡褐色, 角状孔, 每毫米 2-3 个。

组织呈深锈棕色, 同心状分区、坚硬, 最后呈粉末状, 厚度可达六厘米。

菌丝系统单生, 具有刚毛状菌丝, 菌丝具有单隔, 直径 3.5-5 微米。在管花束中有明显刚毛状菌丝, 平行于其纵轴延伸, 有时, 向小管分叉, 厚壁, 具一狭窄、弯曲的管腔, 接近末端, 没有隔膜, 渐狭至末端。

常见层担子菌刚毛, 锥形厚壁, KON 深棕色, 在末端很少分叉, 在 4-6 微米上有 15-20 直立刚毛。衣原体孢子--在组织中丰富, 厚壁, 在 KON 中呈深红褐色, 梅尔泽阴性, 形状不规则, 光滑, 球状至椭圆形, 或经常有细长的圆柱状附属物, 最大尺寸为 9~25 微米, 壁厚达 3 微米。

真菌生长在北半球暖带的阔叶树种上(在印度, *Delonix regia*, *Pongamia glabra*, *Tamarindus indica*, *Sapthodia campanulata*) [6]。

平滑肌收缩活动的研究结果

研究鸡回肠肌 (mm) 在天然神经递质(乙酰胆碱)和 *I. rickii* 的酯、乙醇和水提取物作用下收缩范围的主要结果见表 2 和图 1。

如上所见, 全部 *I. rickii* 提取物具有明显效应, 就像自然界中通过乙酰胆碱加强平滑肌收缩。0.1 毫升乙醚、乙醇和水提取物的剂量使收缩活性分别增加 20%, 18% 和 25% (天然乙酰胆碱增加 24%)。分步增加剂量 (0.2, 0.4, 0.8 和 1.6 毫升) 对 *I. rickii* 的乙醚提取物和乙醇提取物的作用没有什么影响, 它们会导致收缩活性增加 19% 至 24%, 但对水提取物的作用却有明显的影响。这种作用在剂量为 0.1, 0.2 和 0.4 毫升时以 1% 的比例更有效, 在剂量为 0.8 时 6% 更有效,

研究 *Inonotus rickii* 提取物对 CNS 的刺激作用药物的剂量 (ml)

表. 1.

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

Table 1.

咖啡因	安定	乙醚(提取物)	乙醇(提取物)	水(提取物)
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



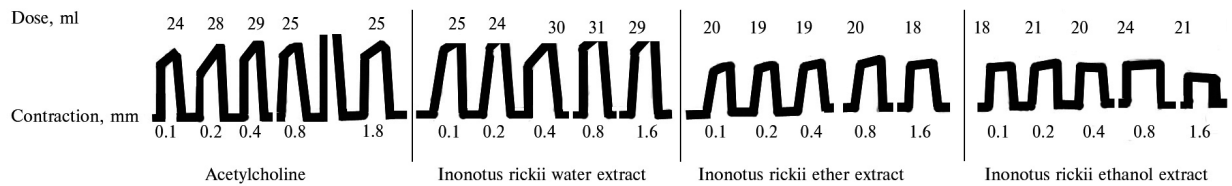


图1.鸡回肠肌(MM)在天然神经递质(乙酰胆碱)和 *Inonotus rickii* 提取物作用下收缩范围的研究纪要
Fig. 1. Protocol for studying the range of contraction of the muscles of the chicken ileum (mm) under the action of a natural neurotransmitter (acetylcholine) and extracts of *Inonotus rickii*

鸡回肠肌(MM)在天然神经递质和 *Inonotus rickii* 提取物作用下收缩范围的研究结果

表. 2.

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

Table 2.

剂量(毫升)	乙酰胆碱	二乙醚(提取物)	乙醇(提取物)	水(提取物)
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

表. 3.
Inonotus rickii 提取物影响下CNS介导的自发运动的研究结果

Table 3.

Results of studying the CNS-mediated spontaneous locomotor activity under the influence of *Inonotus rickii* extracts

制剂	运动活性增加(%)
咖啡因	23
安定	12
乙醚提取物	20
乙醇提取物	19
水提取物	26

在1.6毫升的剂量下-3%。真菌水提取物的功效与解除乙醚和乙醇对胆碱能受体的抑制作用有关。

CNS介导的自发运动的研究结果

研究中枢神经系统介导的实验动物在 *I. rickii* 提取物作用下自发运动活性的主要结果见表3, 见图2。

从这些材料中可以看出, *I. rickii* 的水提取物显示, 与标准咖啡因相比, 运动活性增加了3%, 即, 显示出CNS刺激活动。*I. rickii*水提取物显示平滑肌收缩, 类似于标准乙酰胆碱。安定, 以及 *I. rickii* 的乙醚和醇提取物引起自发运动的轻微增强(分别为12%, 20%和19%)。

综合我们得到的数据可以得出结论, *I. rickii*的原料表现出肌肉收缩的药理活性。因此, 它含有胆碱能受体激动剂的物质。所观察到的部分效应是由中枢神经系统通过内脏功能调节线介导的。

我们将与乙醚和乙醇提取物相比较的大部分水提取物与乙醇和乙醚对中枢神经系统和突触受体的抑制作用相关联。

将 *I. rickii*提取物分馏提上日程, 以纯化受体生物活性物质。真菌的衣原体孢子阶段以多数孢子团为代表; 众所周知, 真菌的孢子比含有更多水分的菌丝体含有更丰富的可提取有机物。

此类物质可能应用的领域包括心血管重塑, 在一系列手术中维持平滑肌张力, 以及对恶性肿瘤的姑息治疗。

结论

I. Inonotus rickii 是木属真菌的一个属, 有一系列被研究的对象(主要是 *I. obliquus*)。

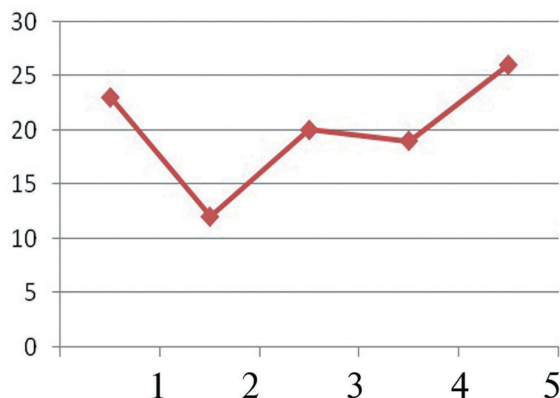


图2.在 *Inonotus rickii* 提取物的作用下, CNS介导的自发运动的研究结果如下: 1-咖啡因, 2-安定, 3-乙醚提取物, 4-乙醇提取物, 5-水提取物。
Fig. 2. Results of studying the CNS-mediated spontaneous locomotor activity under the influence of *Inonotus rickii* extracts: 1 - caffeine, 2 - diazepam, 3 - ether extract, 4 - ethanol extract, 5 - aqueous extract

2. 以孢子丰富的可萃取有机物含量为代表的 *I. rickii* 衣原体孢子周期作为制备萃取物和测试其生物活性的原料而引起人们的兴趣。

3. 木腐真菌 *I. rickii* 子实体的水提取物、乙醚提取物和醇提取物对横切肌和平滑肌收缩所产生的运动活动的影响已得到研究。

4. 对天然神经递质(乙酰胆碱)和 *I. rickii* 的乙醚、乙醇和水提取物作用下鸡回肠肌收缩范围的主要研究结果表

明, *I. rickii* 的所有提取物都表现出明显的作用, 即就像自然界一样通过乙酰胆碱增强平滑肌收缩。

5. 对 *I. rickii* 提取物作用下 CNS 介导的实验动物自发运动的研究表明, 水提取物表现出与标准乙酰胆碱相似的平滑肌收缩。

6. 将 *I. rickii* 提取物分馏提上日程, 以纯化受体生物活性物质。

7. 此类物质可能应用的领域包括心血管重塑, 在一系列手术中维持平滑肌张力, 以及对恶性肿瘤的姑息治疗

感谢

致谢作者 Pandit Selka 博士 (A.M. Makhavidyalaya, Hadapsar), Sushma Bhosala 博士 (Vagir 学院, Saswad), R.U. 帕蒂尔博士 (SGRS 药学院), 感谢他们热情授权为这项研究工作进行实验。首先, 我们要感谢化学系主任 S.M. 多尔格教授, 感谢他的宝贵建议。同时, 对 Bhagyashri Viapari 女士和 Prachali Chavan 女士对在实验室的工作提供的实际帮助深表感谢。兹米特洛维奇 I.V. 论文在俄罗斯科学院科马罗夫 V.L. 生物学院国家项目 № AAAA-A19-119020890079-6 框架下完成

The authors are thankful to Principal Dr. Pandit Shelke, P.D.E.A.'s A.M. Mahavidyalaya, Hadapsar, Principal Dr. Sushma Bhosale, Waghire College Saswad, Principal Dr. Patil R.Y., SGRS College of Pharmacy, for their kind permission to conduct the experiments for this research work. At the outset we would like to thank Prof. Dhorge S.M. Head, Department of Chemistry, for his valuable guidance. The authors also express their deep sense of gratitude towards Miss. Bhagyashree Vyapari and Miss. Prachali Chavan for the actual help in experimentation work in the laboratory. The research was carried out by I.V. Zmitrovich within the BIN RAS State Assignment No AAAA-A19-119020890079-6

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 полипоридных 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.

关于作者的更多信息

Kiran Ramchandra Ranadive, 硕士, 博士, 助理教授, Annasaheb Magar Mahavidyalaya 院, Mahadevnagar, Hadapsar, 印度; e-mail: ranadive.kiran@gmail.com

Neeta Vijayrao Jagtap, 硕士, 助理, Waghira学院化学系, Saswad, Taluka-Purandar, 普纳区, 印度; e-mail: neetuvj7@gmail.com

Pradnya Nilesh Jagtap, 药理学硕士, SGRS P.D.E.A.药学院药理学系副教授, Saswad, Taluka-Purandar, 普纳区, 印度; e-mail: pnj1511@gmail.com

Ivan V. Zmitrovich, 生物学教授, V.L.科马洛夫俄罗斯圣彼得堡科学院植物研究所真菌系统学和地理实验室的首席研究员; e-mail: iv_zmitrovich@mail.ru

Vladimir V. Perelygin, 医学博士, 俄罗斯圣彼得堡, 俄罗斯联邦卫生部圣彼得堡国立化学制药学院工业环保系主任; e-mail: vladimir.pereligin@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. Perelygin, Doctor of Medicine (MD), Professor, Head of the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia; e-mail: vladimir.pereligin@pharminnotech.com

The authors declare that they have no conflicts of interest.

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. Perelygin⁵

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*