

February 2021

TECHNOLOGY OF OBTAINING A FOOD ADDITIVE FROM CITRULLUS COLOCYNTHIS AND ITS HYPOGLYCEMIC ACTIVITY

Isomiddin BOBAEV

Tashkent Chemical-Technological Institute, bobaev-isom@mail.ru

Markhabokhon MAKHMUDOVA

Institute of the Chemistry of Plant Substances, m.makhmudova77@mail.ru

Khayrulla BOBAKULOV

Institute of the Chemistry of Plant Substances, khayrulla@rambler.ru

Vladimir SYROV

Institute of the Chemistry of Plant Substances, syrov46@mail.ru

Nasrulla ABDULLAEV

Institute of the Chemistry of Plant Substances, n_abdullaev@rambler.ru

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/cce>

 Part of the [Food Processing Commons](#)

Recommended Citation

BOBAEV, Isomiddin; MAKHMUDOVA, Markhabokhon; BOBAKULOV, Khayrulla; SYROV, Vladimir; and ABDULLAEV, Nasrulla (2021) "TECHNOLOGY OF OBTAINING A FOOD ADDITIVE FROM CITRULLUS COLOCYNTHIS AND ITS HYPOGLYCEMIC ACTIVITY," *CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING*: Vol. 2021 : No. 1 , Article 13.

DOI: 10.51348/TXGZ2036

Available at: <https://uzjournals.edu.uz/cce/vol2021/iss1/13>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact sh.erkinov@edu.uz.

TECHNOLOGY OF OBTAINING A FOOD ADDITIVE FROM CITRULLUS COLOCYNTHIS AND ITS HYPOGLYCEMIC ACTIVITY

Isomiddin BOBAEV^{1,2} (bobaev-isom@mail.ru), Marhaboxon MAKHMUDOVA¹ (m.makhmudova77@mail.ru), Khayrulla BOBAKULOV² (khayrulla@rambler.ru), Vladimir SYROV¹ (syrov46@mail.ru), Nasrulla ABDULLAEV² (n_abdullaev@rambler.ru)
¹Tashkent Chemical-Technological Institute, Tashkent, Uzbekistan
²Institute of the Chemistry of Plant Substances, Tashkent, Uzbekistan

The aim of the study is to develop a technology for obtaining a food additive for the extract of the pulp of bitter watermelon - *Citrullus colocynthis*, introduced in Uzbekistan as a hypoglycemic agent. Pharmacological studies have shown the presence of a hypoglycemic effect for aqueous and alcoholic extracts and 2-O-β-glucopyranosyl-cucurbitacin E in rats with alloxan diabetes mellitus. Cucurbitacins were isolated from the extract - cucurbitacin E, 2-O-β-glucopyranosyl-cucurbitacin E and other bioactive substances.

The food supplement obtained from bitter watermelon (*Citrullus colocynthis* (family Cucurbitaceae)) according to the developed technology showed a higher hypoglycemic activity compared to the drug arfazetin.

Keywords: citrullus colocynthis pulp extract, cucurbitacin E, 2-O-β-glucopyranosyl-cucurbitacin E, alloxan, arfazetin, hypoglycemic action, food supplement

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ИЗ ГОРЬКОГО АРБУЗА И ЕЁ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Исомиддин БОБАЕВ^{1,2} (bobaev-isom@mail.ru), Мархабоxon МАХМУДОВА² (m.makhmudova77@mail.ru), Хайрулла БОБАКУЛОВ² (khayrulla@rambler.ru), Владимир СЫРОВ² (syrov46@mail.ru), Насрулла АБДУЛЛАЕВ² (n_abdullaev@rambler.ru)
¹Ташкентский химико-технологический институт, Ташкент, Узбекистан
²Институт химии растительных веществ, Ташкент, Узбекистан

Целью исследования является разработка технологии получения пищевой добавки экстракта мякоти горького арбуза - *Citrullus colocynthis*, интродуцированного в Узбекистане, в качестве гипогликемического средства. Фармакологические исследования показали наличие гипогликемического эффекта для водного и спиртового экстрактов и 2-O-β-глюкопиранозил-кукурбитацина E у крыс с аллоксановым сахарным диабетом. Из экстракта были выделены кукурбитацины - кукурбитацин E, 2-O-β-глюкопиранозил-кукурбитацин E и другие биоактивные вещества.

Пищевая добавка, полученная из горького арбуза (*Citrullus colocynthis* (семейство Cucurbitaceae)) по разработанной технологии, показала более высокую гипогликемическую активность по сравнению с лекарственным средством арфазетин.

Ключевые слова: экстракция, хроматография, ЯМР спектроскопия, кукурбитацин E, 2-O-β-глюкопиранозил-кукурбитацин E, аллоксан, арфазетин, пищевая добавка

ACHCHIQ TARVUZDAN OZIQA QO'SHIMCHASI OLIISH TEXNOLOGIYASI VA UNING GIPOGLIKEMIK FAOLLIGI

Isomiddin BOBAEV^{1,2} (bobaev-isom@mail.ru), Markhaboxon MAXMUDOVA² (m.makhmudova77@mail.ru), Khayrulla BOBAKULOV² (khayrulla@rambler.ru), Vladimir SYROV² (syrov46@mail.ru), Nasrulla ABDULLAEV² (n_abdullaev@rambler.ru)
¹Toshkent kimyo-tekhnologiya instituti, Toshkent, O'zbekiston
²O'simlik moddalari kimyosi instituti, Toshkent, O'zbekiston

Tadqiqotning maqsadi - achchiq tarvuz pulpasi ekstrakti uchun oziq-ovqat qo'shimchasini olish texnologiyasini ishlab chiqish - bu gipoglikemik vosita sifatida O'zbekistonda joriy qilingan *Citrullus colocynthis*. Farmakologik tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, alloxan diabet mellitusli kalamushlarda suvli va alkogolli ekstraktlar va 2-O-β-glyukopiranosil-kukurbitatsin E uchun gipoglikemik ta'sir mavjud. Ekstraktidan kukurbitatsinlar ajratilgan - kukurbitatsin E, 2-O-β-glyukopiranosil-kukurbitatsin E va boshqa bioaktiv moddalar.

Achchiq tarvuzdan olingan oziq-ovqat qo'shimchasi (*Citrullus colocynthis* (oil Cucurbitaceae)) ishlab chiqilgan texnologiya bo'yicha arfazetin preparatiga nisbatan yuqori gipoglikemik faolligni ko'rsatdi.

Kalit so'zlar: citrullus colocynthis mag'zini ekstrakti, kukurbitatsin E, 2-O-β-glyukopiranosil-kukurbitatsin E, alloxan, arfazetin, gipoglikemik ta'sir, oziqa qo'shimchasi

DOI: 10.51348/TXGZ2036

Введение

Citrullus colocynthis Schard. (семейства Cucurbitaceae) - растение, известное как горький арбуз, широко распространенное в Сахаро-Аравийском фитогеографическом регионе Африки, обильно растет на юге Ирана, в Судане, в средние века было завезено в Испанию, на Кипр и в Средиземноморский регион. Для вида характерны его угловатые и грубые стебли, глубоко 3-7 лопастные листья от 5 до 10 см и одиночные бледно-желтые цветки [1-2]. Из этого растения был получен ряд растительных вторичных метаболитов, включая кукурбитацин, соколинная кислота, производные кофеиновой кислоты и три-терпеноиды, углеводы: глюкоза, фруктоза, фруктозаны, циклитолы: инозит [2-8]. В листьях и цветках содержатся флавоноиды (кверцетин, кемпферол) [9], в плодах - тритерпеноиды (элатеридин, гексано-кукурбитацин I, 16-O-ацетилгексано-кукурбитацин I) [10], в гидроли-

зате – кукурбитацины I, J, T [11]; 2-O-β-D-глюкопиранозид кукурбитацина I, 2-O-β-D-глюкопиранозид кукурбитацина E, 2-O-β-D-глюкопиранозид кукурбитацина L, 2-O-β-D-глюкопиранозид (22,27)-гексанор-кукурбитацина I [10, 12, 13].

Было проведено исследование для оценки противораковой активности плодов *Citrullus colocynthis*. Экстракты различных растворителей плодов *Citrullus colocynthis* были протестированы на его противораковую активность в различных клеточных линиях, таких как MCF-7 и HepG2 [14], MDA-MB-231, SiHa, PBMС и J774A [15], AGS [16] и клетки HeLa [17].

Несколько исследований противораковой активности было проведено на моделях больных мышей, таких как модель опухоли, вызванной DAL [18], поликистоз яичников у самок крыс [19] и генотоксичность, вызванная циклофосфамидом у крыс, клетки костного мозга мышей

для оценки ангиогенеза и уменьшения размера опухоли [20].

Кукурбитацены были выделены из различных видов растений, принадлежащих к семействам растений, отличных от *Cucurbitaceae*, и они ингибировали пролиферацию и индуцировали апоптоз в большом наборе моделей раковых клеток *in vitro* и *in vivo*.

Экстракты плодов *Citrullus colocynthis* обладают антигенотоксическим действием в отношении вызванного циклофосфамидом окислительного повреждения ДНК у мышей [20]. Следовательно, его можно использовать одновременно в качестве добавки для защиты людей, проходящих химиотерапию [21].

Целью исследования является разработка технологии получения пищевой добавки экстракта мякоти горького арбуза - *Citrullus colocynthis*, интродуцированного в Узбекистане, в качестве гипогликемического средства.

Объекты и методы исследования

При разработке технологии получения пищевой добавки из 5,6 кг свежей мякоти горького арбуза после очистки от семян выделяли сок. После фильтрации сок сгущали на ротормном испарителе при температуре 60 °С, полученный смолообразный экстракт высушивали досуха. Выход сухого экстракта из мякоти составил 128,80 г (2,3 %). 60 г сухого экстракта из мякоти растворили в 180 мл воды и водный раствор обрабатывали хлороформом 3 раза по 60 мл. Хлороформную часть объединили и упарили под вакуумом. Получили 1,8 г (0,032 % от сухого сырья) хлороформной фракции. После удаления хлороформной части, оставшийся водный раствор обрабатывали бутанолом 5 раз по 60 мл. После отделения и объединения бутанольную фракцию сгущали под вакуумом и выделили 2,63 г (0,047 % от сухого сырья) бутанольной фракции.

Из бутанольной вытяжки хроматографическим разделением на колонке с силикагелем были выделены фракции, которые рехроматографированием, элюируя системами хлороформ-метанол 20 : 1, 10 : 1, 4 : 1 (хлороформ-метанол) разделили на индивидуальные компоненты бета-ситостерин, кукурбитацин Е, 2-О-β-глюкопиранозил-кукурбитацин Е и смесь БАВ.

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Unity 400plus (Varian) с рабочей частотой 400 МГц в растворе дейтеропиридина.

Гипогликемическую активность СЭМ (сухой экстракт мякоти) горького арбуза изучали на крысах самцах массой 180-200 г в условиях развившегося у них аллоксанового диабета. Для этого животным подкожно вводили аллоксан «хемалол» (Чехия), из расчета 150 мг/кг в виде свежеприготовленного 5 % водного раствора. Изучение сахароснижающего действия

СЭМ начинали через 21 день после введения аллоксана, когда у крыс наблюдалась стойкая, держащаяся на относительно постоянном уровне гипергликемия.

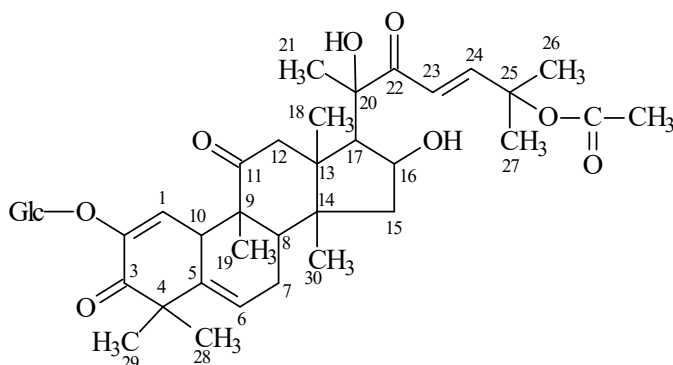
Чувствительность крыс к действию аллоксана очень вариабельна и уровни гликемии у отдельных животных могут сильно различаться. В связи с этим при проведении исследований группы животных формировали так, чтобы средний исходный уровень гликемии был у них примерно одинаков. Были сформированы две группы животных. В первой – уровень сахара в крови в пределах 8,3 ммМ/л (диабет легкой степени), во второй – уровень сахара в крови в пределах 13,8 ммМ/л диабет (средней степени тяжести). В каждой группе животных были три подгруппы: контрольные крысы, получавшие СЭМ из расчета 50 мг/кг и получавшие референс-препарат арфазетин – 50 мг/кг. Исследуемые субстанции вводили орально, начиная с момента введения аллоксана и на протяжении 21 дня. Кровь для анализа на сахар брали из хвостовой вены крыс, содержание сахара определяли с использованием энзимо-калориметрического метода с помощью наборов реактивов Cypress diagnostics на биохимическом анализаторе Secomam Basic (Франция).

Статистическую обработку полученного материала проводили с использованием t - критерия Стьюдента в программе Statistica version 6. Statsoft, Inc (2001).

Результаты и обсуждение

Изучен химический состав экстракта мякоти горького арбуза - *Citrullus colocynthis*, интродуцированного в Узбекистане.

Методом ¹H, ¹³C ЯМР – спектроскопии определено, что индивидуальное соединение - 2-О-β-глюкопиранозил-кукурбитацин Е, имеет следующую структуру.



Спектр ¹³C-ЯМР показал сигналы три кето-группы при δ_C 197.41, 214.49, 204.90 м.д., два четвертичных кислородсодержащих углерода при δ_C 80.22 и 80.28 м.д., и один СН-О при 71.14 м.д., восемь метильных-групп при 18.73, 20.63, 21.07, 21.25, 26.13, 26.66, 26.99, 27.93 м.д. и

Влияние многократного введения сухого экстракта из мякоти горького арбуза (СЭМ) и арфазетина на уровень сахара в крови (УСК) у крыс с легкой и средней степенью диабета ($M \pm m$, $n=6$)

Условия эксперимента	Исследуемые субстанции	Уровень гликемии, мМ/л			
		исходный	через 7 дней	через 14 дней	через 21 день
Диабет легкой степени (УСК до 8,3 мМ/л)	Контроль (дистиллированная вода)	8,2 ± 0,24	8,6 ± 0,25	8,5 ± 0,22	8,8 ± 0,28
	СЭМ	8,0 ± 0,22	6,2 ± 0,28 ^{*.1}	5,5 ± 0,26 ^{*.1}	5,2 ± 0,22 ^{*.1}
	Арфазетин	8,3 ± 0,25	6,6 ± 0,30 ^{*.1}	6,5 ± 0,36 ^{*.1}	6,0 ± 0,32 ^{*.1}
Диабет средней тяжести (УСК до 13,8 мМ/л)	Контроль (дистиллированная вода)	13,2 ± 0,53	13,4 ± 0,56	14,0 ± 0,60	13,8 ± 0,42
	СЭМ	13,8 ± 0,62	11,6 ± 0,52 ^{*.1}	10,4 ± 0,44 ^{*.1}	9,8 ± 0,29 ^{*.1,2}
	Арфазетин	13,4 ± 0,56	11,8 ± 0,48	11,2 ± 0,46 ^{*.1}	11,0 ± 0,36 ^{*.1}

Примечание. * - Достоверно к исходным показателям, ¹ - достоверно по отношению к соответствующему контролю, ² - достоверно между группами, получавшими СЭМ и арфазетин ($p < 0,05$).

высокое значение метиленового поля при δ_C 24.39 (C-7) м.д., ацетатный фрагмент находится в положении C-25 при 22.21 м.д., что является характерным признаком молекулы 2-О-β-глюкопиранозил-кукурбитацина Е.

Спектр ¹H-ЯМР показал сигналы, которые можно связать с β-глюкопиранозильной составляющей протона Н-1' при δ_H 6.46 (д, J=2.7), восемь метилов при δ_H 1.04, 1.22, 1.28, 1.44, 1.54, 1.57, 1.61, 1.76. Другие особенности включают протоны, относящиеся к двум тризамещенным олефинам 5.68 (1H, уш.с, Н-6), 6.46 (1H, д, J=2.7, Н-1), транс-олефиновой группы 7.43 (1H, д, J =15.8 Гц, Н-23), 7.38 (1H, д, J=15.8 Гц, Н-24) и ацетатный фрагмент 1.92 (3H, с, CH₃CO-). На этой стадии все сигналы ЯМР хорошо согласуются с сигналами 2-О-β-глюкопиранозил-кукурбитацина Е, замещенного глюкозой и ацетильными группами.

Полученные в проведенных экспериментах данные показали, что многократное введение СЭМ крысам как с легкой степенью диабета, так и с диабетом средней тяжести оказывает определенное гипогликемическое действие, не уступающее известному растительному гипогликемическому препарату арфазетину (Species "Arfasetinum"), и в отдельных случаях это действие проявляется даже более отчетливо (табл.). Так через 7 дней поступления субстанции СЭМ в организм аллоксан-диабетических крыс с уровнем гликемии до 8,3 мМ/л её эффект составлял по отношению к исходному уровню 22,5 % (по отношению к соответствующему контролю в этот срок уровень гликемии был ниже на 27,9 %).

Через 14 дней введения СЭМ горького арбуза уровень гликемии у животных этой же группы был ниже исходного на 31,3% (ниже соответствующего контроля на 35,3%). И, наконец, через 21 день у этих же крыс под действием

СЭМ гликемия снизилась по отношению к исходному уровню на 35,0% (ниже уровня сахара в крови контрольных крыс к этому сроку на 40,9%). Что касается препарата сравнения арфазетина, то под его влиянием на 7-ой, 15-й и 21-й дни наблюдения уровень гликемии понижался на 20,5; 21,7 и 27,7%. По сравнению с контролем это понижение составляло 23,3; 23,5 и 31,8%.

Сходная картина в целом наблюдалась и в серии экспериментов на животных с уровнем гликемии до 13,8 мМ /л (т.е. диабет средней тяжести). У крыс, получавших СЭМ горького арбуза и арфазетин через 7; 14 и 21 день их введения сахар крови понижался по отношению к исходному уровню соответственно на 15,9-11,9; 24,6-16,4 и 28,9-17,9% (по отношению к соответствующему контролю – на 13,4-11,9; 25,7-20,0 и 28,9-20,3%). То есть, СЭМ горького арбуза, также как и арфазетин, наиболее выражено действовал у крыс с легкой степенью диабета, у крыс с диабетом средней тяжести эффект ослабевал, но на всём протяжении наблюдений был статистически достоверным. У крыс с диабетом средней тяжести, получавших арфазетин в течение 7 дней, гипогликемический эффект не носил достоверного характера, в последующие сроки он хотя и возрастал, но уступал эффекту СЭМ горького арбуза (на 21 день его эффект даже был достоверно слабее).

Закключение

Разработана технология получения пищевой добавки из сухого экстракта мякоти горького арбуза - *Citrullus colocynthis* интродуцированного в Узбекистане. Выделены соединения - кукурбитацин Е, 2-О-β-глюкопиранозил-кукурбитацин Е и гликозид бета-ситостерина.

При введении сухого экстракта мякоти горького арбуза крысам с аллоксановым диабетом как с уровнем гликемии до 8,3 мМ/л, так и с уровнем гликемии до 13,8 мМ/л проявляется отчетливое гипогликемическое

действие, не уступающее, а в отдельных случаях превосходящее соответствующий эффект известного гипогликемического средства растительного происхождения - арфазетина.

REFERENCES

1. Benariba N., Djaziri R., Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse W., Sener A. Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts Asian Pacific. *J. Trop. Biomed.*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 35-40.
2. Borhade P., Deshmufch T., Patil V., Khandelwal K. Review on *Citrullus colocynthis*. *Int. J. Phar. Chem.*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 46-53.
3. Yankov L.K., Hussein S.M. Fatty acid from the oil of the seeds of *Citrullus colocynthis*. *Dokl. Bolg. Akad. Nouk*, 1975, vol. 28, pp. 209-212.
4. Hatam N.A.R., Donald A.W., Yousif N.J. Cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*, 1989, vol. 59, pp. 1268-1271.
5. Maatoq G.T., El-Sharkawy S.H., Afifi M.S., Rosazza J.P.N. C-phydroxybenzoyl glycoflavones from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*, 1997, vol. 44, pp. 187-190.
6. Nmila R., Gross R., Rchid H., Roye M., Manteghetti M., Petit P., Tijane M., Ribes G., Sauvaire Y. Insulinotropic effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Plant Medica*, 2000, vol. 66, pp. 418-423.
7. Satyawati G.V., Raina M.K., Ellmerer E.P., Stuppner H. ¹H and ¹³C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus Colocynthis* L. Scharder and Ecballium Elaterium L. (Cucurcurbitaceae). *Mag Reson Chem.*, 2005, vol. 43, pp. 489-491.
8. Hatam N.A.R., Whiting D.A., Yousif N.J. Cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*, 1989, vol. 28, no. 4, pp. 1268-1271.
9. Harsh M.L., Nag T.N. Flavonoids with antimicrobial activities of arid zone plants. *Geobios.*, 1988, vol. 15, no. 1, pp. 32-35.
10. Basalah M.O., Al-Whaibi M.H., Muhammad S. Comparative study of some metabolites of *Citrullus colocynthis* Schrad. and *Cucumis prophetarum* L. *J. Biol. Sci. Res.*, 1985, vol. 16, no 1, pp. 105-123.
11. Bobaev I.D., Ramazonov N.Sh., Topvoldiev T., Makhmudova M.M., Yuldasheva N.Kh., Syrov V.N., Khushbaktova Z.A., Bobakulov Kh.M., Abdullaev N.D., Sagdullaev Sh.Sh. *Sposob polucheniya sredstva s gipoglikemicheskoy aktivnost'yu* [A method for producing an agent with hypoglycemic activity]. Patent UZ, no. 20150190, 2019.
12. Garg S.P., Gupta U. Chemical constituents of *Citrullus coiocynthis*. *J. Indian Chem. Soc.*, 1987, vol. 64, no. 7, pp. 448-449.
13. Gamlath C.B. Gunatilaka A.A.L., Alvi K.A., A.-Ur-Rahman, Balasubramaniam S. Cucurbitacins of *Colocynthis vulgaris*. *Phytochemistry*, 1988, vol. 27, no 10, pp. 3225-3229.
14. Aniruddha M., Savita P. Effects of alkaloid rich extract of *Citrullus colocynthis* fruits on *Artemia salina* and human cancerous (MCF-7 AND HEPG-2) cells. *J. Pharma Sci. Tech.*, 2012, vol. 1, no 2, pp. 15-19.
15. Kaushik C., Ankit S., Suresh K., Gyanesh G., Alo N., Chandi M. Colocynth extracts prevent epithelial to mesenchymal transition and stemness of breast cancer cells. *Front. Pharmacol.*, 2017, vol. 8. DOI: 10.3389/fphar.2017.00593
16. Masumeh R., Ali D., Mohsen A., Mohammad A. Cytotoxic activity of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad fruit extract on gastric adenocarcinoma and breast cancer cell lines. *Int. J. Pharm Sci Rev Res.*, 2017, vol. 45, no. 1, pp. 175-178.
17. Hajjar D., Kremb S., Sioud S., Emwas Ah., Voolstra C., Ravasi T. Anti-cancer agents in Saudi Arabian herbals revealed by automated high content imaging. *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 6. DOI: 10.1371/journal.pone.0177316
18. Kunal G, Jeevan H, Sowmya P, Jagadish K. Pre-clinical evaluation of anti-cancer activity of *Citrullus colocynthis* Linn. fruit extract. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 2019, vol. 54, no. 2, pp. 92-94.
19. Sowmya M, Sudha M. Evaluation of *Citrullus colocynthis* (L) Schrad. fruit extract in letrozole induced polycystic ovarian disease in female rats. *World J. Pharm. Sci.*, 2017, vol. 6, no. 6, pp. 1167-1180.
20. Shokrzadeh M, Chabra A, Naghshvar F, Ahmadi A. The mitigating effect of *Citrullus colocynthis* (L.) fruit extract against genotoxicity induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells. *Sci. World J.*, 2013, vol. 7, pp. 980480.
21. Gaikwad M., Shirsat V., Bulbule M., Kalekar S., Munshi R. Ethyl acetate extract of *Citrullus colocynthis* (Linn.) Schrad. fruit suppresses angiogenesis. *J. Pharmacy & Pharmacology Research*, 2019, vol. 7, no. 5, pp. 331-342.