

Medicinski fakultet, Niš
Institut za fiziologiju¹
Integrirane akademske studije farmacije²
Medicinski fakultet, Novi Sad
Zavod za fiziologiju³

Originalni naučni rad
Original study
UDK 612.33.08:[615.246:635.14
DOI: DOI:10.2298/MPNS1008475B

SPAZMOLITIČKO DEJSTVO VODENOG I ETANOLNOG EKSTRAKTA PERŠUNA
(*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex A.W. Hill, Apiaceae)
NA IZOLOVANOM ILEUMU PACOVA

RELAXANT ACTIVITY OF AQUEOUS AND ETHANOL EXTRACTS OF PARSLEY
*(*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex A.W. Hill, Apiaceae) ON ISOLATED ILEUM OF RAT*

**Suzana BRANKOVIĆ¹, Dušanka KITIĆ², Mirjana RADENKOVIĆ¹, Vesna IVETIĆ³,
Slavimir VELJKOVIĆ¹ i Milkica NEŠIĆ¹**

Sažetak – Peršun (*Petroselinum crispum*) jeste biljna vrsta koja se u tradicionalnoj medicini koristi kod oboljenja digestivnog trakta. Cilj ovog rada bio je da se prouče efekti vodenog i etanolnog ekstrakta peršuna na spontane i kontrakcije ileuma pacova indukovane acetilholinom. U prvoj eksperimentalnoj seriji, registrovan je uticaj vodenog (etanolnog) ekstrakta peršuna na spontane kontrakcije ileuma pacova. U drugoj eksperimentalnoj seriji, kontrakcije ileuma su stimulirane acetilholinom, a zatim su efekti acetilholina registrovani u prisustvu vodenog (etanolnog) ekstrakta peršuna. Rezultati pokazuju da su ekstrakti peršuna umanjili tonus spontanih kontrakcija ileuma, vodeni za $62,22 \pm 7,15\%$ i etanolni za $79,16 \pm 9,34\%$. Ekstrakti peršuna su inhibisali kontrakcije ileuma pacova indukovane acetilholinom, vodeni za $32,16 \pm 2,75\%$ i etanolni za $53,96 \pm 4,86\%$. Rezultati koji su dobijeni pokazuju da su vodeni i etanolni ekstrakt peršuna inhibisali spontane i acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova. Relaksantni efekti etanolnog ekstrakta znatno su veći od efekata vodenog ekstrakta peršuna.

Ključne reči: Peršun; Ekstrakti biljaka; Acetilholin; Ileum; Wistar pacovi; Parasimpatolitici

Uvod

Peršun (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex A.W. Hill, Apiaceae) jeste dvogodišnja, zeljasta, aromatična biljka, koja se u tradicionalnoj medicini upotrebljava za lečenje oboljenja digestivnog trakta [1] i dijabetesa [2], ali i kao diuretik, abortifacijent i antiseptik [3].

Fiziološka dejstva peršuna veoma su brojna. Poznato je da ekstrakti peršuna poseduju jako antioksidantno dejstvo. Unošenjem svežeg lista peršuna povećana je antioksidantna aktivnost [4,5]. Ekstrakti lista i korena peršuna umanjuju produkciju kiseoničkih radikala i oksidativni stres miševa tretiranih hepatotoksičnim agensom [6]. Peršun može da utiče na farmakodinamičku aktivnost lekova, delujući na enzime jetre [7]. Dokazano je antibakterijsko dejstvo ekstrakata peršuna [8–10]. Sastojci peršuna preveniraju pojavu malignih oboljenja [11,12] i sprečavaju alteraciju reproduktivne funkcije miševa [13].

Oralnom primenom ekstrakta peršuna smanjivana je koncentracija glukoze u krvi hiperglikemijskih pacova [14,15]. Peršun poseduje estrogenu aktivnost [16] i izaziva diuretične efekte [17]. Peršun inhibitorno deluje u kardiovaskularnom sistemu pacova. Ekstrakti peršuna snižavaju frekvenciju i amplitudu kontrakcija prekomora pacova, kao i krvni pritisak [18,19].

Poznata su hronična dejstva peršuna na funkciju gastrointestinalnog sistema. Etanolni ekstrakt peršuna umanjuje želudačnu sekreciju i štiti sluzokožu želuca od dejstva agresivnih agenasa [20]. U kolonu pacova peršun smanjuje apsorpciju vode i izaziva laksantne efekte [21].

Nema mnogo podataka o akutnom uticaju peršuna na kontraktilnost miškulature digestivnog trakta. Cilj našeg istraživanja je bio proučavanje akutnog dejstva vodenog i etanolnog ekstrakta peršuna na spontanu kontraktilnost ileuma pacova, kao i na kontrakcije ileuma indukovane acetilholinom.

Materijal i metode

Ekstrakti peršuna su dobijeni ekstrahovanjem očišćene i usitnjene droge u destilovanoj vodi (za dobijanje vodenog ekstrakta) ili u 96% etanolu (za dobijanje etanolnog ekstrakta), u ultrazvučnom kupatilu 20 min. Koncentrovanje ekstrakata vršeno je u rotatornom evaporatoru. Dobijeni materijal je rastvaran u destilovanoj vodi ili u 96% etanolu.

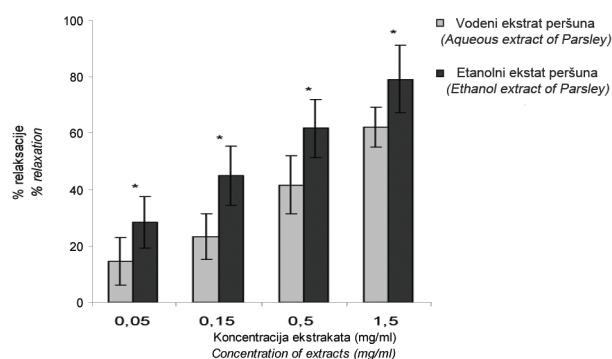
Korišćeni su pacovi soja *Wistar*, telesne mase 250–300 g. Isečki ileuma postavljani su u kupatilo za izolovane organe ispunjeno Tirodovim rastvorom, koji je aerisan smesom 5% ugljen-dioksida i kiseonika i zagrevan do temperature od 37 °C. Registrovanje kontrakcija izolovanog ileuma vršeno je pomoću transdju-sera F-50, a na fiziografu (*Narco-bio system, Houston*).

U prvoj eksperimentalnoj seriji registrovan je kumulativni uticaj vodenog (etanolnog) ekstrakta peršuna (0,05 mg/ml – 1,5 mg/ml) na spontane kontrakcije ileuma pacova. U drugoj eksperimentalnoj seriji ispitivani su kumulativni efekti acetilholina (1–30 nmol) na kontrakcije ileuma pacova, a zatim je dejstvo acetilholina ispitivano u prisustvu vodenog (etanolnog) ekstrakta peršuna (0,15–1,5 mg/ml).

Statistička obrada dobijenih rezultata vršena je na osnovu izračunavanja srednje vrednosti i standardne devijacije. Statistička značajnost dobijenih razlika određivana je Studentovim t-testom, pri čemu je kao statistički značajna uzimana vrednost $p < 0,05$.

Rezultati

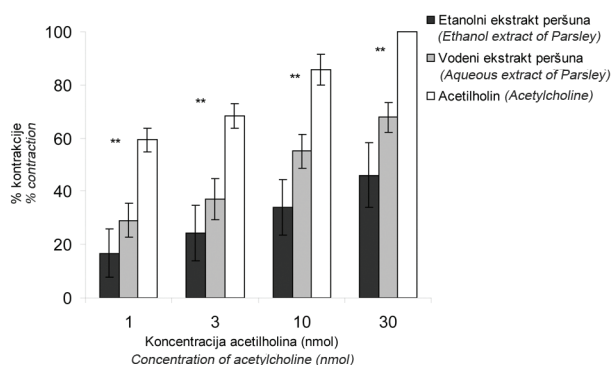
Dobijeni rezultati pokazuju da vodeni i etanolni ekstrakti peršuna izazivaju koncentracijski zavisnu relaksaciju ileuma pacova (**Grafikon 1**). Etanolni ekstrakt peršuna izaziva statistički znatno veće inhibitorne efekte tonusa ileuma ($79,16 \pm 9,34\%$) nego vodeni ekstrakt peršuna ($62,22 \pm 7,15\%$) ($p < 0,05$).



Grafikon 1. Relaksantni efekti vodenog i etanolnog ekstrakta peršuna na izolovanom ileumu pacova; * $p < 0,05$

Graph 1. Relaxant effect of aqueous and ethanol extracts of parsley on isolated ileum of rats; * $p < 0,05$

Acetilholin izaziva koncentracijski zavisnu stimulaciju tonusa ileuma pacova. Ekstrakti peršuna inhibišu kontrakcije ileuma pacova indukovane acetilholinom, vodeni za $32,16 \pm 2,75\%$ i etanolni za $53,96 \pm 4,86\%$ ($p < 0,01$) (**Grafikon 2**). Svi efekti vodenog i etanolnog ekstrakta peršuna jesu reverzibilni.



Grafikon 2. Inhibitorni uticaj vodenog i etanolnog ekstrakta peršuna koncentracije 1,5 mg/ml na acetilholinom indukovane kontrakcije ileuma pacova; ** $p < 0,01$

Graph 2. Inhibitory effect of aqueous and ethanol extracts of parsley (1,5 mg/ml) on acetylcholine induced contractions on rat ileum; ** $p < 0,01$

Diskusija

Rezultati koji su dobijeni pokazuju da vodeni i etanolni ekstrakti peršuna statistički značajno umanjuju tonus spontanijih kontrakcija izolovanog ileuma pacova, to jest izazivaju spazmolitičke efekte. Spontane ritmičke kontrakcije i relaksacije glatke muskulature intestinuma regulišu nervni i humoralni faktori, to jest brojni transmittori nervnog sistema [22,23]. Ekstrakti koji utiču na kontraktilnost intestinuma poseduju neurofiziološku aktivnost [24]. Inhibitorni efekti ekstrakata reverzibilni su nakon ispiranja preparata, što ukazuje na to da spazmolitički efekti ekstrakata nisu posledica ireverzibilnih oštećenja ileuma.

Naši rezultati potvrđeni su u radu Moazedija i saradnika [1]. Oni su pokazali da hidroalkoholni ekstrakt semena peršuna umanjuje kontrakcije ileuma stimulisane rastvorom kalijum-hlorida. Takođe su utvrdili da ekstrakt peršuna umanjuje kontrakcije ileuma pacova stimulisane kalcijum-hloridom.

Acetilholin, najzastupljeniji neurotransmiter gastrointestinalnog sistema, povećava kontraktilnost muskulature intestinuma. U digestivnom traktu, acetilholin može delovati na nikotinske receptore u vegetativnim ganglijama ili muskarinske receptore nervnih vlakana ili mišićnih ćelija [25,26]. Stimulacijom muskarinskih receptora na membrani glatko-mišićnih ćelija povećava se intracelularna koncentracija kalcijuma [27–29]. Vodeni i etanolni ekstrakt peršuna inhibišu kontrakcije ileuma pacova indukovane acetilholinom, što ukazuje na to da ekstrakti peršuna mogu izazivati spazmolitičke efekte interakcijom sa holinergetičkim receptorima.

Naši rezultati pokazuju da etanolni ekstrakt peršuna izaziva statistički znatno veću inhibiciju kontrakcija ileuma stimulisane acetilholinom nego vodeni ekstrakt peršuna. Ovi podaci navode na zaključak da se etanolnom vrši bolja ekstrakcija spazmolitičkih agenasa sadržanih u peršunu.

Zaključak

Inhibitorni uticaj ekstrakata peršuna pokazan je na modelu izolovanih pretkomora pacova. Vodeni i etanolni ekstrakti peršuna izazivaju negativne inotropne i hronotropne efekte. Takođe je poznato da intravenozna primena ekstrakata peršuna uzrokuje snižavanje krvnog pritiska kod anesteziranih normotenzivnih pacova.

Rezultati koji su dobijeni ukazuju na to da vodeni i etanolni ekstrakti peršuna umanjuju tonus spontanijih kontrakcija ileuma pacova, što potvrđuje tradicionalnu primenu peršuna u terapiji gastrointestinalnih oboljenja. Ekstrakti peršuna umanjuju kontrakcije ileuma indukovane acetilholinom, što pokazuje da se efekti peršuna bar delimično ostvaruju blokadom holinergetičkih receptora u ileumu pacova. Vodeni ekstrakt peršuna, u odnosu na etanolni ekstrakt, izaziva slabije spazmolitičke efekte.

Literatura

1. Moazedi A, Mirzaie D, Seyyednejad S, Zadkarami M, Amirzargar A. Spasmolytic effect of *Petroselinum crispum* (Parsley) on rats ileum at different calcium chloride concentrations. Pak J Biol Sci 2007;10:4036-42.
2. Ozsoy-Sacan O, Yanardag R, Orak H, Ozgey Y, Yarat A, Tunali T. Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol 2006;104:175-81.
3. Darias V, Martin-Herrera D, Abdala S, Fluente D. Plants used in urinary pathologies in the Canary islands. Pharm Biol 2001;39:170.
4. Hempel J, Pforte H, Raab B, Engst W, Bohm H, Jacobasch G. Flavonols and flavones of parsley cell suspension culture change the antioxidative capacity of plasma in rats. Nahrung 1999;43:201-4.
5. Nielsen SE, Young JF, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knut-hsen P, Sandstrom B. Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidative enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subject. Br J Nutr 1999;81:447-55.
6. Popovic M, Kaurinovic B, Jakovljevic V, Mimica-Dukic N, Bursac M. Effect of parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. Ex A.W. Hill, Apiaceae) extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with CCl₄. Phytother Res 2007;21:717-23.
7. Zhang H, Chen F, Wang X. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Res Inter 2006;39: 833-9.
8. Jakovljević V, Rasković A, Popović M, Sabo J. The effect of celery and parsley juices on pharmacodynamic activity of drugs involving cytochrome P450 in their metabolism. Eur J Drug Metab Pharmacokin 2002;27(3):153-6.
9. Kim OM, Kim MK, Lee SO, Lee KR, Kim SD. Antimicrobial effect of ethanol extracts from spices against *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from kimchi. J Korean Soc Food Sci Nutr 1998;27:455-60.
10. Ulate-Rodriguez J, Schafer HW, Zottola EA, Davidson D, Vardar-Unlu G. Inhibition of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Micrococcus luteus* by linear furanocoumarins in a model food system. J Food Protect 1997;60:1050-4.
11. Zheng G, Kenney M, Zhang J. Inhibition of benzo [a] pyrene-induced tumorigenesis by myristicin, a volatile aroma constituent of parsley leaf oil. Carcinogenesis 1992;13:1921-3.
12. Fejes S, Blazovics A, Lemberkovics E, Petri G, Szoke E, Kery A. Free radical scavenging and membrane protective effects of methanol extracts from *Anthriscus cerefolium* L. (Hoffm) and *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym Ex A W Hill. Phytother Res 2000;14:362-5.
13. Abdel-Wahhab MA, Abbes S, Salah-Abbes J, Hassan A, Oueslati R. Parsley oil protects against Zearalenone-induced alteration in reproductive function in male mice. Toxicol Lett 2006;164(Suppl):S324.
14. Tunali T, Yarat A, Yanardag R. Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) on the skin of STZ (induced diabetic rats). Phytother Res 1999;13:138-41.
15. Yanardag R, Bolkent S, Tabakoqlu-Oquz A, Ozsoy-Sacan O. Effects of *Petroselinum crispum* extract on pancreatic B cells and blood glucose of streptozotocin induced diabetic rats. Biol Pharm Bull 2003;28:1206-10.
16. Yoshikawa M, Uemuka T, Shimoda H. Medicinal food-stuffs. XVIII phytoestrogen from the aerial part of *Petroselinum crispum* MI 11 (Parsley) and structures of 6 acetylappiin and a new monoterpen glycoside, petroside. Chem Pharm Bull (Tokyo) 2000;48:1039-44.
17. Kreydiyyeh S, Usta J. Diuretic effect and mechanism of action of parsley. J Ethnopharmacol 2002;79:353-7.
18. Branković S, Radenković M, Veljković S, Cekić S, Nešić M, Čirić M. Acute effects of the *Petroselinum crispum* extracts on the mean arterial blood pressure in rats. Yugoslav Physiol Pharmacol Acta 2002;38:33-40.
19. Branković S, Došev S, Kitić D, Radenković M, Veljković S, Nešić M, et al. Hypotensive and negative chronotropic and inotropic effects of the aqueous and ethanol extract from parsley leaves (*Petroselinum crispum*). J Clin Lipidol 2008;2(Suppl): S191.
20. Al-Howiriny T, Al-Sohaibani M, El-Tahir K. Prevention of experimentally-induced gastric ulcer in rats by an ethanolic extract of parsley *Petroselinum crispum*. Am J Chin Med 2003;31:699-711.
21. Kreydiyyeh S, Usta J, Kaouk I. The mechanism underlying the laxative properties of parsley extract. Phytomedicine 2001;42: 382-8.
22. Walsh JV, Singer JJ. Calcium action potentials in single freshly isolated smooth muscle cells. Am J Physiol 1980;239:C162-C174.
23. Pilića V, Ivetić V, Mihalj M, Draganić-Gajić S, Popović M. Effects of ginkgo biloba extract on an experimental model of epilepsy. Med Pregl 2004;57:541-4.
24. Radenkovic M, Ivetic V, Popovic M, Mimica-Dukic N, Veljkovic S. Neurophysiological effects of mistletoe (*Viscum album* L.) on isolated rat intestines. Phytother Res 2006;20:374-7.
25. Radenkovic M, Samardzic R, Veljkovic S, Beleslin D. Excitatory muscarinic M1 receptors in the control of the pendular movements of the rabbit distal colon. Yugoslav Physiol Pharmacol Acta 1998;34:569-75.
26. Radenkovic M, Samardzic R, Veljkovic S, Brankovic S, Nesic M, Velickovic D. Regional differences in motor responsiveness to hyoscine butylbromide in rabbit isolated small and large intestine. Facta Univers 2003;10:84-7.
27. Caulfield P. Muscarinic receptor: characterization, coupling and function. Pharmacol Ther 1993;58:319-79.
28. Eglen M, Hedge S, Watson N. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. Pharmacol Rev 1996;48:531-65.
29. Elorriaga M, Anselmi E, Hernandez J. The source of Ca²⁺ for muscarinic receptor-induced contraction in rat ileum. J Pharm Pharmacol 1996;48:817-9.

Summary

Introduction

Parsley (*Petroselinum crispum*) is used in the traditional herbal medicine to treat intestinal disorders. The aim of this study was to examine the effect of aqueous and ethanol extracts of parsley on spontaneous and acetylcholine induced contractions on isolated rat ileum.

Material and methods

Wistar albino rats (250–300g) were used in this study. The ileum portions were isolated out and cleaned off mesenteries. Preparations 2 cm long were mounted in 20 ml tissue baths containing Tyrode's solution maintained at 37°C and aerated with a mixture of 5% carbon dioxide in oxygen. In the first part of experiments, contractile responses to the aqueous (ethanol) extracts of parsley were recorded. In the second part, increasing concentrations of acetylcholine were added to the organ bath for a full concentration response curve and then concentration response cur-

ves were obtained after adding the aqueous (ethanol) extracts of parsley.

Results and discussion

Our results showed that aqueous ($62.22 \pm 7.15\%$) and ethanol ($79.16 \pm 9.34\%$) extracts of parsley in dose dependent manner decreased the tonus of spontaneous contractions of isolated rat ileum. The aqueous ($32.16 \pm 2.75\%$) and ethanol ($53.96 \pm 4.86\%$) extracts of parsley reduced the acetylcholine induced contraction, the reduction was greater with ethanol extract than with the aqueous one.

Conclusion

It can be concluded that the aqueous and ethanol extracts of parsley exert antispasmodic activity on rat ileum. The relaxant effect of ethanol extract was better comparing to aqueous extract of parsley.

Key words: *Petroselinum*; Plant Extracts; Acetylcholine; Ileum; Rats, Wistar; Parasympatholytics

Rad je primljen 27. I 2009.

Prihvaćen za štampu 01. VII 2009.

BIBLID.0025-8105:(2010):LXIII:7-8:475-478.